

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 664 951**

51 Int. Cl.:

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 31/728 (2006.01)

A61K 31/737 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.05.2007 PCT/EP2007/055107**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.12.2007 WO07138014**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2007 E 07729534 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2034956**

54 Título: **Composiciones que comprenden glicosaminoglicanos de baja viscosidad y uso de dicha composición en terapia de cistitis crónica**

30 Prioridad:

26.05.2006 IT MI20061030

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.04.2018

73 Titular/es:

**ALTERGON S.A. (100.0%)
VIA DOGANA VECCHIA 2
CH-6903 LUGANO, CH**

72 Inventor/es:

**ZOPPETTI, GIORGIO;
PUPPINI, NADIA y
PIZZUTTI, MARCO**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 664 951 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones que comprenden glicosaminoglicanos de baja viscosidad y uso de dicha composición en terapia de cistitis crónica

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevas composiciones que comprenden macromoléculas, particularmente glicosaminoglicanos, destinadas para su usar en la terapia de la cistitis intersticial.

10

Técnica anterior

La cistitis intersticial (CI) es una enfermedad crónica que ataca principalmente al sexo femenino, provocando un cambio en las paredes de la vejiga de manera que se produce una pérdida gradual de la función de dicho órgano. La etiopatogenia precisa de la enfermedad aún se desconoce y existen varias hipótesis postuladas. Una primera hipótesis es que existe un defecto en las capas de revestimiento que forman la mucosa de la vejiga. Esta capa de la mucosa está formada por los llamados GAG (glicosaminoglicanos), una capa de mucopolisacáridos con propiedades repelentes al agua que revisten la pared interna de la vejiga y la hacen impermeable a la orina. En condiciones patológicas, y por razones todavía parcialmente desconocidas, las paredes se vuelven permeables debido a la pérdida de los GAG, lo que permite que la orina penetre en la pared de la vejiga causando irritación e inflamación. Este cambio puede ser evidente de diferentes maneras, desde un ligero adelgazamiento del urotelio hasta úlceras reales (llamadas úlceras de Hunners).

15

20

Los síntomas parecen ser los típicos de un ataque de cistitis: frecuencia, urgencia, incontinencia, disuria, ardor y/o dolor suprapúbico, dolor pélvico, perineal, vaginal y anorrectal. La ausencia de bacterias en la orina es frecuente, aunque como resultado de cambios adquiridos en la mucosa, se observan casos en los que los gérmenes se superponen a la inflamación. Esto complica aún más el diagnóstico y, en consecuencia, confunde el historial del caso.

25

Las dolencias pueden presentarse por separado, o en casos más severos, simultáneamente. A menudo asociado con la incomodidad funcional (hasta 60 micciones durante un día y una noche) se presenta un dolor intenso que no responde a las terapias analgésicas comunes que evita que el paciente pueda tener una relación y una vida sexual normales. El desarrollo crónico y progresivo de esta patología justifica la necesidad de un diagnóstico correcto y rápido, que permita iniciar la terapia correcta. A pesar de esta consideración, se ha calculado que, con un paciente afectado por cistitis intersticial, se requieren alrededor de 5-7 años y un promedio de 4-5 especialistas antes de alcanzar el diagnóstico correcto. Como se desconocen las causas de la cistitis intersticial, los tratamientos están destinados únicamente a aliviar los síntomas. La efectividad de la mayoría de los tratamientos sigue siendo baja y los síntomas a menudo regresan después de un breve período de mejoría o recuperación momentánea.

30

35

El hialuronato sódico, una molécula que es parte del grupo GAG, se usa actualmente con fines terapéuticos en forma de una solución muy diluida (aproximadamente 0,08-0,5 % en peso) aplicada a través de un catéter. Como ejemplo, existe una solución actualmente en el mercado (con un 0,08 % de principio activo por peso) que comprende 40 mg de hialuronato de sodio (CYSTISTAT®) en unidades de dosificación adecuadas de 50 ml que deben mantenerse dentro de la vejiga durante todo el tiempo posible. Aunque el contenido relativamente bajo del principio activo es desventajoso por una parte para los fines de la terapia, esta limitación deriva, por otra parte, de las características físico-químicas del ácido hialurónico cuyas soluciones acuosas exhiben un aumento sobreproporcional de la viscosidad con la concentración. Por lo tanto, un incremento indiscriminado en la concentración del principio activo (a pesar de su excelente solubilidad en agua) no es factible para los fines terapéuticos considerados en la presente descripción, debido a que el consiguiente aumento sustancial de la viscosidad haría que la aplicación de la solución a través de un catéter sea difícil y cada vez más dolorosa. En consecuencia, al preparar soluciones terapéuticas, no es posible hacer uso de regiones extendidas del intervalo de solubilidad del ácido hialurónico; para intensificar la terapia conocida, por lo tanto, la única opción es aumentar la frecuencia de la extensión completa de las regiones de aplicación de las soluciones diluidas.

40

45

50

Esto se debe a que el ácido hialurónico, a pesar de su estructura química relativamente simple, se sabe que presenta propiedades biofísicas muy complejas en solución acuosa, ver, por ejemplo, T. Hardingham, "Solution Properties of Hyaluronan" (1), propiedades y mecanismos que aún no se han estudiado desde el punto de vista del aumento de las concentraciones terapéuticas para el tratamiento de la cistitis intersticial.

55

Además del ácido hialurónico, el uso de sulfato de condroitina, también un GAG, se ha considerado como un principio activo alternativo, preferentemente como su sal de sodio en una solución acuosa al 0,2% en peso (URACYST®). WO 2004/034980 describe una composición inyectable que comprende ácido hialurónico, sulfato de condroitina y N-acetil D-glucosamina. Se conoce que la asociación del ácido hialurónico con el sulfato de condroitina acentuaría el problema de la baja concentración del principio activo en las soluciones terapéuticas, ya que esta asociación en realidad produce un aumento adicional de la viscosidad sobreproporcional debido a la característica conocida de las dos moléculas para autoagregarse (Scott 2, 3). Esta característica se describe y se usa ya en el campo farmacéutico, aunque es diferente de la discutida en la presente solicitud, por ejemplo, en EP 136782 que enseña que la asociación del ácido hialurónico con el sulfato de condroitina y/o sus sales produce un aumento de la viscosidad en las soluciones que es mayor que la suma de las viscosidades producidas por los componentes individuales. En EP 136782, este efecto se usa después para

60

65

preparar composiciones para proteger el tejido de la superficie corneal. Por lo tanto, a partir de esto, parece que estos dos principios activos combinados en una sola solución para usar en la terapia de la cistitis intersticial reducirían, dado el aumento adicional de la viscosidad, en lugar de aumentar las cantidades del principio activo que pueden transmitirse a la mucosa dañada.

5

En consecuencia, todavía no existe solución al problema técnico de proporcionar nuevas composiciones, preferentemente para la terapia de la cistitis intersticial, que permitan mayores cantidades de principios activos, biopolímeros en particular y preferentemente mezclas de glicosaminoglicanos, para ser transportados a la mucosa dañada. Preferentemente, las nuevas composiciones deberían ser administrables a través de un catéter, particularmente dentro de la esfera de la instilación de la vejiga.

10

Breve descripción de la invención

La presente invención se describe en las reivindicaciones 1-12.

15

Los inventores de la presente solicitud han descubierto ahora sorprendentemente que el problema técnico identificado anteriormente se resuelve mediante la provisión de una nueva composición acuosa que comprende ácido hialurónico, sulfato de condroitina o sus sales e iones de metal bivalente, caracterizada porque la viscosidad de la solución es menor que la de la misma solución, pero sin dichos iones metálicos bivalentes.

20

Descripción detallada de la invención

La presente invención se describe en las reivindicaciones 1-12.

25

Como se indicó anteriormente, los inventores de la presente solicitud han descubierto que es posible preparar composiciones acuosas que comprenden ácido hialurónico, sulfato de condroitina o sus sales e iones de metales bivalentes farmacéuticamente aceptables, particularmente calcio o magnesio, y que exhiben una viscosidad controlada que es más baja que la de la solución sin iones de metales bivalentes. Por primera vez, esto hace posible aumentar las cantidades de principio activo, particularmente combinaciones de glicosaminoglicanos, contenidas en una composición para la terapia, por ejemplo, de la cistitis intersticial, en comparación con la técnica conocida.

30

Esto se debe a que se encontró que la viscosidad de las soluciones de la presente invención es inferior a la viscosidad de las soluciones que comprenden ácido hialurónico y sulfato de condroitina como ácidos, sales de sodio o sales generalmente monovalentes. Este efecto es particularmente pronunciado con el ion calcio.

35

Este resultado es completamente inesperado ya que, como se indicó anteriormente, no solo se conoce y describe bien el efecto de autoagregación entre el ácido hialurónico y el sulfato de condroitina durante algún tiempo, sino que también se considera que este efecto da lugar al conocido efecto reológico natural del tejido conectivo.

40

El documento EP 136782, que se refiere en cambio a soluciones reales para uso terapéutico, enseña que el efecto de la sobreproporcionalidad de la viscosidad obtenida al usar soluciones que contienen ácido hialurónico y sulfato de condroitina no se limita a las sales de sodio más comúnmente usadas, sino que también se extiende al uso de las sales de magnesio, potasio y calcio respectivas.

45

Por lo tanto, la solución al problema técnico mencionado anteriormente, identificado por los inventores de la presente solicitud, según el cual la presencia de iones metálicos bivalentes, y particularmente el ión calcio, en una solución acuosa de ácido hialurónico y sulfato de condroitina o sus sales reduce su viscosidad y por lo tanto permite que las respectivas concentraciones se incrementen, fue inesperada. Alternativamente, esta característica permite obtener una solución para los fines de la terapia de la cistitis intersticial que es más fácil de manejar para la misma concentración de los componentes individuales.

50

Igualmente imprevisibles fueron los resultados particularmente beneficiosos obtenidos por la presente invención descrita hacia la patología, como emerge de los datos clínicos presentados en la presente descripción.

55

Preferentemente, los iones metálicos bivalentes mencionados anteriormente son farmacéuticamente aceptables y se eligen del grupo que consiste en Ca y Mg, donde el Ca es particularmente preferido.

En las composiciones de la invención, se presenta una cantidad de 0,1 a 3,5 equivalentes de iones metálicos bivalentes, con respecto a la suma del ácido hialurónico y el sulfato de condroitina usados. Incluso más preferentemente, está presente una cantidad de 0,5 a 2,0 equivalentes de iones metálicos bivalentes, con respecto a la suma del ácido hialurónico y el sulfato de condroitina usados. Particularmente preferida es una composición de acuerdo con la invención en la que está presente 1 equivalente de iones metálicos bivalentes, con respecto a la suma del ácido hialurónico y el sulfato de condroitina usados.

60

65

Con respecto a las concentraciones de principios activos, se prefieren las composiciones anteriores, en las que el ácido hialurónico o su sal está presente en una concentración de 0,1 % a 3 % p/v, preferentemente de 0,8 % a 2,0 % p/v, y

sulfato de condroitina o su sal está presente de 0,05 % a 3 % p/v, preferentemente de 0,1 % a 2,5 % p/v. Particularmente preferidas son las composiciones en las que el ácido hialurónico y el sulfato de condroitina o sus sales están presentes al 1,6 % y al 2,0 %, respectivamente, en peso/volumen.

- 5 Como se desprende de los siguientes ejemplos, las ventajas obtenidas por la presente invención también se mantienen en el caso de tratamientos posteriores, tales como la esterilización en autoclave.

Parte experimental

- 10 A. Explorar el efecto de agregar un ion bivalente a varias concentraciones de hialuronato sódico, sulfato sódico de condroitina y sus combinaciones

15 En los ejemplos 1-22 que siguen y mostrados en la tabla 1 más abajo, se exploró el efecto de introducir un ion bivalente (calcio, magnesio) en preparaciones que comprenden hialuronato sódico (peso molecular $1,5 \times 10^6$ Da) a concentraciones de 0,8 % y 1,6 % en peso, y/o sulfato sódico de condroitina a concentraciones de 0,2 % y 2,0 % en peso. Las adiciones de CaCl_2 y MgSO_4 como se muestra en la tabla 1 más abajo siempre se realizaron en cantidades equimolares relativas a los principios activos usados.

20 Los valores de viscosidad dinámica [mPa*s] obtenidos se midieron con un viscosímetro rotacional (Contraves, Rheomat 115) a las temperaturas establecidas, y representan las viscosidades medias aparentes del fluido en estudio.

25 Particularmente, para los ejemplos 1-2, 400 mg y 800,1 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en agua purificada hasta un volumen final de 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μm y se midió la viscosidad.

30 Para los ejemplos 3-4, se disolvieron 100,0 mg y 1000,2 mg, respectivamente, de sulfato sódico de condroitina en agua purificada hasta un volumen final de 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μm y se midió la viscosidad.

30 Para los ejemplos 5-8, se prepararon las siguientes soluciones:

Solución A:

35 10,0 g de CaCl_2 disuelto en agua purificada en un matraz de 100 ml.

Ejemplo 5:

40 400,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 40 ml de agua purificada. Se añadieron 0,553 ml de solución A a la solución clara así obtenida, y después agua purificada para llevar el volumen final a 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μm y se midió la viscosidad.

Ejemplo 6:

45 800,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 40 ml de agua purificada. Se añadieron 1,106 ml de solución A a la solución clara así obtenida, y después agua purificada para llevar el volumen final a 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μm y se midió la viscosidad.

Ejemplo 7:

50 Se disolvieron 100,3 mg de sulfato sódico de condroitina en aproximadamente 40 ml de agua purificada. Se añadieron 0,221 ml de solución A a la solución clara así obtenida, y después agua purificada para llevar el volumen final a 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μm y se midió la viscosidad.

Ejemplo 8:

55 1000,0 mg de sulfato sódico de condroitina se disolvieron en aproximadamente 40 ml de agua purificada. Se añadieron 2,205 ml de solución A a la solución clara así obtenida, y después agua purificada para llevar el volumen final a 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μm y se midió la viscosidad.

60 Para los ejemplos 9-11, se prepararon las siguientes soluciones:

Ejemplo 9:

65 400,0 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 40 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,1 ml de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida, y después agua purificada para llevar el volumen final a 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μm y se midió la viscosidad.

Ejemplo 10:

5 800,0 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 40 ml de agua purificada. Se añadieron 100,1 ml de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida, y después agua purificada para llevar el volumen final a 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

Ejemplo 11:

10 800,1 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 40 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,1 ml de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida, y después agua purificada para llevar el volumen final a 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

Para los ejemplos 12-14, se prepararon las siguientes soluciones:

15

Ejemplo 12:

20 400,0 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 2,758 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se sometió a agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y posteriormente se añadieron 1000,0 mg de sulfato sódico de condroitina. La solución clara así obtenida se llevó a un volumen final de 50 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

25

Ejemplo 13:

30 800,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1,327 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se sometió a agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y posteriormente se añadieron 100,3 mg de sulfato sódico de condroitina. La solución clara así obtenida se llevó a un volumen final de 50 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

Ejemplo 14:

35 800,3 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 3,311 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se sometió a agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y posteriormente se añadieron 1000,1 mg de sulfato sódico de condroitina. La solución clara así obtenida se llevó a un volumen final de 50 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

40 Para los ejemplos 15-17, se prepararon las siguientes soluciones:

Ejemplo 15:

45 Se disolvieron 1000,2 mg de sulfato de condroitina en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 2,758 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se sometió a agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y posteriormente se añadieron 400,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da. Se añadió agua purificada a la solución clara para llevar el volumen final a 50 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

50

Ejemplo 16:

55 Se disolvieron 100,3 mg de sulfato de condroitina en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1,327 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se sometió a agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y posteriormente se añadieron 800,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da. Se añadió agua purificada a la solución clara para llevar el volumen final a 50 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

Ejemplo 17:

60 Se disolvieron 1000,1 mg de sulfato de condroitina en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 3,311 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se sometió a agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y posteriormente se añadieron 800,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da. Se añadió agua purificada a la solución clara para llevar el volumen final a 50 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

65

Para los ejemplos 18-20, se prepararon las siguientes soluciones:

Ejemplo 18:

5 400,1 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,1 mg de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida. Se añadieron 2,758 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se mantuvo bajo agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y después se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

10 Ejemplo 19:

15 800,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 100,1 mg de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida. Se añadieron 1,327 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se mantuvo bajo agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y después se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

Ejemplo 20

20 800,1 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,1 mg de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida. Se añadieron 3,311 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución se mantuvo bajo agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y después se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada.

25 La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

Para los ejemplos 21-22, se prepararon las siguientes soluciones:

Solución B

30 10,0 g de MgSO_4 disueltos en agua purificada en un matraz de 100 ml.

Ejemplo 21:

35 400,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,0 mg de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida. Se añadieron 2,993 ml de solución B a la solución clara así obtenida. La solución se mantuvo bajo agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y después se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

40

Ejemplo 22:

45 800,2 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 100,0 mg de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida. Se añadieron 1,440 ml de solución B a la solución clara así obtenida. La solución se mantuvo bajo agitación magnética durante aproximadamente 1 minuto y después se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

Tabla 1

50

Solución Núm,	Solución	Viscosidad a 25°C (mPa*s)	Viscosidad a 37°C (mPa*s)
1	HA 0,8 %	548,51	428,25
2	HA 1,6 %	2578,50	2191,15
3	CHS Na 0,2 %	1,24	0,90
4	CHS Na 2,0 %	2,47	2,03
5	HA 0,8 % + CaCl_2	351,45	247,60
6	HA 1,6 % + CaCl_2	1953,74	1512,24
7	CHS Na 0,2 % + CaCl_2	1,12	0,79

65

8	CHS Na 2,0 % + CaCl ₂	2,07	1,73	
9	HA 0,8 % + CHS Na 2,0 %	646,67	508,79	
5	10	HA 1,6 % + CHS Na 0,2 %	3265,17	2824,02
11	HA 1,6 % + CHS Na 2,0 %	3105,10	2430,32	
12	HA 0,8 % + CaCl ₂ +CHS Na 2,0 %	360,34	268,60	
10	13	HA 1,6 % + CaCl ₂ +CHS Na 0,2 %	2561,74	2187,55
14	Ha 1,6 % + CaCl ₂ +CHS Na 2,0%	2105,75	1840,88	
15	16	CHS Na 2,0 % + CaCl ₂ + HA 0,8 %	364,58	264,78
17	CHS Na 0,2 % + CaCl ₂ + HA 1,6 %	2705,99	2453,19	
18	CHS Na 2,0 % + CaCl ₂ + HA 1,6%	2502,71	2048,27	
19	HA 0,8 % + CHS Na 2,0 % + CaCl ₂	346,15	230,97	
20	19	HA 1,6 % + CHS Na 0,2 % + CaCl ₂	2391,05	1876,94
20	20	HA 1,6 % + CHS Na 2,0 % + CaCl ₂	2401,61	1874,85
21	HA 0,8 % + CHS Na 2,0 % + MgSO ₄	382,81	301,10	
22	HA 1,6 %+ CHS Na 0,2 % + MgSO ₄	2719,15	2232,83	

A partir de los datos anteriores, se deduce que la introducción del ion calcio, y también del ion magnesio, provoca una disminución de la viscosidad de las soluciones que comprenden hialuronato sódico y sulfato sódico de condroitina. También se deduce que dicho efecto no depende en gran medida de la secuencia de preparación de dichas soluciones. Además, también se deduce que dicha disminución de la viscosidad es evidente incluso a una temperatura superior a la temperatura ambiente, por ejemplo, a la temperatura corporal. Por lo tanto, parece que las viscosidades de las soluciones que comprenden hialuronato y sulfato de condroitina (que son más altas que las de las soluciones individuales) pueden reducirse al formularlas conjuntamente con iones metálicos bivalentes. Por lo tanto, al añadir iones metálicos bivalentes, será posible obtener soluciones más concentradas que, no obstante, exhiban la misma viscosidad que las soluciones más diluidas que comprenden los dos principios activos, pero sin iones metálicos bivalentes.

B. Explorar el efecto de añadir un ion bivalente, en presencia de sulfato de condroitina, al hialuronato sódico de varios pesos moleculares

En los ejemplos 23-28 que siguen y mostrados en la tabla 2 más abajo, se exploró el efecto de introducir un ion bivalente (calcio) en preparaciones que comprenden hialuronato sódico (pesos moleculares de $9,33 \times 10^4$ Da, 3×10^5 Da y $1,5 \times 10^6$ Da, respectivamente) a concentraciones de 1,6 % en peso, y sulfato sódico de condroitina a concentraciones de 2,0 % en peso. Las adiciones de CaCl₂ como se muestra más abajo, siempre se realizaron en cantidades equimolares en relación con los principios activos usados. Los valores de viscosidad dinámica [mPa*s] obtenidos se midieron con un viscosímetro rotacional (Contrakes, Rheomat 115) a las temperaturas establecidas, y representan las viscosidades medias aparentes del fluido en estudio.

Particularmente, para los ejemplos 23, 25, y 27, se prepararon las siguientes soluciones:

Ejemplo 23:

800,0 mg de hialuronato sódico, pm $9,33 \times 10^4$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,0 mg de sulfato de condroitina a la solución clara así obtenida. Se añadió agua purificada a la solución clara para llevar el volumen final a 50,0 ml. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μ m y se midió la viscosidad.

Ejemplo 25:

800,0 mg de hialuronato sódico, pm $3,0 \times 10^5$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,0 mg de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida. La solución se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de 0,8 μ m y se midió la viscosidad.

Ejemplo 27:

800,0 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,0 mg de sulfato sódico de condroitina a la solución clara así obtenida. La solución se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

5 Particularmente para los ejemplos 24, 26, y 28, se prepararon las siguientes soluciones:

Ejemplo 24:

10 800,1 mg de hialuronato sódico, pm $9,33 \times 10^4$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,1 mg de sulfato sódico de condroitina y 3,311 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución clara así obtenida se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

15 Ejemplo 26:

800,1 mg de hialuronato sódico, pm $3,0 \times 10^5$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,0 mg de sulfato sódico de condroitina y 3,311 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución clara así obtenida se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

20 Ejemplo 28:

25 800,1 mg de hialuronato sódico, pm $1,5 \times 10^6$ Da, se disolvieron en aproximadamente 35 ml de agua purificada. Se añadieron 1000,0 mg de sulfato sódico de condroitina y 3,311 ml de solución A a la solución clara así obtenida. La solución clara así obtenida se llevó a un volumen final de 50 ml con agua purificada. La solución se filtró a través de un filtro hidrófilo de $0,8 \mu\text{m}$ y se midió la viscosidad.

La viscosidad de las soluciones 23-28 anteriores se midió como tal y después de la esterilización en autoclave ($121 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 15 minutos).

30 Tabla 2

Variación en viscosidad vs PM y esterilización			
Solución		Viscosidad (mPa*s) T25 °C	Viscosidad después de la esterilización (mPa*s) T25 °C
23	HA 1,6 % (PM de aprox, 100000 + CHS Na 2,0 %	26,848	11,845
24	HA 1,6 % (PM de aprox, 100000) + CaCl_2 + CHS Na 2,0 %	20,840	8,629
25	HA 1,6 % (PM 300000) + CHS Na 2,0 %	201,210	47,126
26	HA 1,6 % (PM 300000) + CaCl_2 + CHS Na 2,0 %	164,520	26,720
27	HA 1,6 % (PM 1500000) + CHS Na 2,0 %	3164,610	191,170
28	HA 1,6 % (PM 1500000) + CaCl_2 + CHS Na 2,0 %	2291,350	61,040

55 A partir de los resultados anteriores, se deduce que la capacidad de los iones metálicos bivalentes, particularmente el ión calcio, para reducir la viscosidad de las soluciones acuosas que comprenden hialuronato y sulfato de condroitina es evidente para hialuronatos de diferentes pesos moleculares. Además, parece que dicho efecto se mantiene incluso en condiciones severas, tales como la esterilización en autoclave. Por lo tanto, la formulación conjunta de iones metálicos bivalentes con hialuronato y sulfato de condroitina con el objetivo de reducir la viscosidad resultante también se indica para soluciones sometidas a este tipo de tratamiento.

60 C. Pruebas clínicas

65 La solución preparada en el Ejemplo 29 más abajo se midió con el mismo viscosímetro usado para los Ejemplos precedentes 1-28.

Ejemplo 29

Una solución de 1,6 % (p/v) de hialuronato sódico de alto peso molecular ($1,8 \times 10^6$ Da), 2,0 % (p/v) sulfato sódico de condroitina y CaCl_2 en una cantidad equivalente al sodio total.

Solución A

Disolver 132,52 g de CaCl_2 anhidro en 2000 g de agua destilada bajo agitación magnética.

Solución B

Disolver 319,7 g de hialuronato sódico en 17246 g de agua destilada bajo agitación magnética. Añadir 422,0 g de sulfato sódico de condroitina y solución A a la solución clara y transparente bajo agitación magnética. Dejar bajo agitación durante aproximadamente 1 hora. Filtrar la solución a través de un filtro de 1,2 μm .

Densidad de la solución: 1,006 g/ml.

Viscosidad de la solución: 2364,07 mPa*s.

La solución se esteriliza en una autoclave (121 °C durante 15 minutos).

Viscosidad de la solución después de la esterilización: 49,44 mPa*s.

La solución esterilizada se usó después en las pruebas más abajo.

Ejemplo 30.

10 pacientes afectados por cistitis intersticial durante al menos 2 años se sometieron a tratamiento con el producto derivado del Ejemplo 29. La administración fue por instilación vesical.

Los criterios de inclusión para el diagnóstico de la cistitis intersticial debieron cumplir con los establecidos por la Sociedad Europea de Estudio sobre la Cistitis Intersticial (ESSIC).

Todos los pacientes ya habían recibido tratamiento farmacológico actualmente disponible para esta patología, con resultados insatisfactorios.

Los datos del paciente se manejaron de acuerdo con las leyes de privacidad vigentes.

El objetivo del estudio es confirmar los resultados de dicha terapia mediante la evaluación de sus efectos sobre la función de la vejiga a través de un diario de evacuación y pruebas morfofuncionales, y la evaluación del impacto en la calidad de vida mediante el uso de: Cuestionarios de O'Leary Sant, PUF, Sexualidad y Wexner.

La duración del tratamiento fue de cuatro meses, el tiempo mínimo útil para evaluar los resultados preliminares, y suficiente para fomentar, o de otra forma, continuar la terapia. Particularmente, se evaluaron los efectos sobre los síntomas más significativos de esta patología (dolor, frecuencia y urgencia miccional), además de cualquier mejora o de otra manera que dicha terapia tenga sobre la calidad de vida.

La evaluación del cuestionario O'Leary Sant sobre la CdV, realizada mensualmente, permitió mostrar claramente una tendencia positiva a la mejora, tanto al evaluar el cuestionario en su conjunto como específicamente los dos dominios: síntomas y problemas.

El cuestionario de dolor urgencia frecuencia (DUF) permitió mostrar claramente una mejoría en tres síntomas principales, tanto en conjunto como en los dos dominios: síntomas y molestias. En las siguientes tablas se presentan los resultados subjetivos de acuerdo con O'Leary Sant (Tabla 3) y de dolor urgencia frecuencia (DUF) (Tabla 4), junto con objetivos como el número de micciones, el volumen medio de micción y la capacidad vesical media (Tabla 5). Las últimas dos líneas dan la media y las diferencias porcentuales.

Tabla 3 - Evaluación subjetiva de acuerdo con O'Leary Sant

ES 2 664 951 T3

5

10

15

20

Id.	Edad	Altura	peso	Ps	Po	Tc	Menopausia	Pre O'Leary	O'Leary 12 Semanas
1	64	163	86	0	0	2	SI	30	25
2	34	169	55	0	0	0	NO	20	18
3	59	163	63	0	0	2	SI	23	17
4	49	162	68	2	0	0	SI	24	23
5	51	158	48	1	0	0	SI	26	25
6	65	157	55	2	0	0	SI	36	26
7	49	155	62	0	0	1	SI	22	10
8	44	161	70	2	0	0	NO	26	22
9	46	152	58	1	0	0	SI	26	20
10	63	160	62	2	0	0	SI	37	23
							media	27	21
							% de variación	100	23 %

Tabla 4 - Evaluación subjetiva de acuerdo con el dolor urgencia frecuencia

25

30

35

40

45

Id.	Edad	Altura	peso	Ps	Po	Tc	Menopausia	Pre DUF	DUF 12 Semanas
1	64	163	86	0	0	2	SI	31	18
2	34	169	55	0	0	0	NO	20	13
3	59	163	63	0	0	2	SI	16	6
4	49	162	68	2	0	0	SI	26	17
5	51	158	48	1	0	0	SI	24	17
6	65	157	55	2	0	0	SI	23	20
7	49	155	62	0	0	1	SI	21	12
8	44	161	70	2	0	0	NO	22	24
9	46	152	58	1	0	0	SI	25	26
10	63	160	62	2	0	0	SI	23	15
							media	23	17
							% de variación	100	27 %

Tabla 5 - Evaluación objetiva. Número y volumen de micciones y capacidad de la vejiga

50

55

60

65

Núm. Pre micciones	Media de Pre micciones	Capacidad Media Pre	Núm. de micciones 12 semanas	Media de micciones (12 semanas)	Capacidad media (12 semanas)
39	1400	43	33	1917	58
22	1091	50	25	988	40
10	1772	184	7	1343	192
10	933	97	7	1893	270
18	3300	165	16	2490	158

5	15	2360	157	16	2312	144
	16	3960	238	10	2183	227
	13	2400	189	8	1593	199
	31	3110	103	27	2792	100
10	9	1277	137	9	1400	160
	18	2160	136	16	1891	155
	100	100	100	14 %	12 %	12 %

15 Las evaluaciones subjetivas después de 12 semanas de tratamiento muestran una mejora del 23-27 %, con una disminución del 14 % en el número de micciones, una reducción del 12 % en la micción media y un aumento del 12 % en la capacidad de la vejiga.

Referencias

- 20
1. Tim Hardingham, Solution Properties of Hyaluronan. - From Chemistry and Biology of Hyaluronan - Hari G.Garg and Charles A. Hales Editors-Elsevier (Amsterdam).
 - 2: Scott E.J., Heatley F., Hyaluronan forms specific stable tertiary structures in aqueous solution: A ¹³C NMR study. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA vol 96 4850-4855 (1999).
 - 25 3: Scott E.J. Structure and function in extracellular matrices depend on interaction between anionic glycosaminoglycans. - Pathol. Biol. 49, 284-289 (2001).

Reivindicaciones

- 5 1. Composición acuosa que comprende ácido hialurónico, sulfato de condroitina o sus sales e iones de metal bivalente en solución elegida del grupo que consiste en Ca y Mg, caracterizada porque la viscosidad es menor que la de la misma composición, pero sin iones metálicos bivalentes en los que están presentes de 0,1 a 3,5 equivalentes de iones metálicos bivalentes con respecto a la suma del ácido hialurónico y el sulfato de condroitina usados.
- 10 2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los iones metálicos bivalentes son iones de calcio.
3. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde están presentes de 0,5 a 2,0 equivalentes de iones metálicos bivalentes con respecto a la suma del ácido hialurónico y el sulfato de condroitina usados.
- 15 4. Composición de acuerdo con la reivindicación 3, en donde está presente 1 equivalente de iones metálicos bivalentes con respecto a la suma del ácido hialurónico y el sulfato de condroitina usados.
- 20 5. Composición de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1-4, en donde el ácido hialurónico o su sal está presente en una concentración de 0,1 % a 3 % p/v y el sulfato de condroitina o su sal está presente de 0,05 % a 3 % p/v.
6. Composición de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el ácido hialurónico o su sal está presente en una concentración de 0,8 % a 2,0 % p/v y el sulfato de condroitina o su sal está presente de 0,1 % a 2,5 % p/v.
- 25 7. Composición de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el ácido hialurónico y el sulfato de condroitina o sus sales están presentes a 1,6 % y 2,0 %, respectivamente, en peso/volumen.
8. Composición de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1-7, esterilizada en una autoclave.
- 30 9. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes para usar como un medicamento.
10. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para usar en la terapia de cistitis.
11. Composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde la cistitis es cistitis intersticial.
- 35 12. Composición para usar de acuerdo con las reivindicaciones 10-11, en donde la composición se administra mediante instilación de vejiga.