

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 667 854**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.07.2011 E 11173000 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2543357**

54 Título: **Composición para uso en el tratamiento y la prevención de trastornos relacionados con la inflamación**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.05.2018

73 Titular/es:

**HOLY STONE HEALTHCARE CO., LTD. (100.0%)
1FL., No. 56, Section 2 Huan Shan Road Neihu
District
Taipei City, TW**

72 Inventor/es:

LIN, SHYH-SHYAN

74 Agente/Representante:

DE PABLOS RIBA, Juan Ramón

ES 2 667 854 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**Composición para uso en el tratamiento y la prevención de trastornos relacionados con la inflamación**

La presente invención proporciona una composición de ácidos hialurónicos en combinación con un fármaco para tratar y prevenir trastornos relacionados con la inflamación, en especial en los que el inicio del trastorno se produce principalmente en el tejido mucoso del tracto gastrointestinal.

El ácido hialurónico, también conocido como hialuronano, hialuronato y hialuronato de sodio, y referido en general como AH, es una macromolécula de glucosaminoglucano natural que incluye disacáridos compuestos de N-acetil-D-glucosamina y ácido D-glucurónico alternativos unidos mediante enlaces glucosídicos α -1,3 y β -1,4 alternativos. El AH se encuentra en la naturaleza con un peso molecular (PM) de entre 50000 Dalton (Da) y unos pocos millones de Dalton, normalmente con una gran viscosidad.

El AH que se encuentra en la naturaleza es el material extracelular con elasticidad que rellena el espacio entre las células y las fibras de colágeno y cubre algunos tejidos epidérmicos, principalmente para proteger y lubricar las células, para proporcionar una plataforma para transportar los linfocitos T reguladores y también para estabilizar la red de colágeno y proteger la red de colágeno del daño mecánico. El AH también es un lubricante importante en los tendones y la vaina tendinosa y en la superficie de la membrana sinovial debido a las características lubricantes y como gran amortiguador, y el AH ayuda a la mecánica reológica del tejido, a su movimiento y a la proliferación celular (en referencia a Delpech, B. et al., 1997. Hyaluronan: fundamental principles and applications in cancer. J. Intern. Med. 242, 41-48) y participa en la interacción de los receptores en la superficie de algunas células, particularmente en el principal receptor de CD44. El CD44 está ampliamente aceptado como marcador de los linfocitos activos (en referencia a Teder P, et al., 2002, Resolution of lung inflammation by CD44. Science).

Recientemente, se ha aplicado el AH en tratamientos clínicos en forma de sal sódica en tratamientos en ojos, piel, ortopedia, cirugía, artritis, tratamiento arterial y en el ámbito de la cosmética. El AH con iones metálicos alcali, iones alcalinotérreos (como por ejemplo el ion magnesio), el ion aluminio, el ion amonio y la forma de sal del reemplazo del ion amonio puede ser la transportadora para contribuir en la absorción de fármacos (en referencia a la patente de Bélgica 904.547). La sal de plata se utiliza como micocida y la sal de oro se utiliza para tratar la artritis reumatoide entre las sales de metales pesados del AH (en referencia a WO 87/05517).

El término antiinflamatorio se refiere a la propiedad de una sustancia o un tratamiento que reduce la inflamación. Los fármacos antiinflamatorios constituyen alrededor de la mitad de los analgésicos y palian el dolor mediante la reducción de la inflamación al contrario que los opiáceos, que afectan al sistema nervioso central. Los fármacos relacionados se describen de la siguiente forma:

1. Los esteroides, de forma más específica los glucocorticoides, reducen la inflamación o la hinchazón mediante su unión con los receptores

de glucocorticoides. A estos fármacos a menudo se les denomina corticoesteroides.

2. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) alivian el dolor contrarrestando la enzima ciclooxigenasa (COX). Por sí misma, la enzima COX sintetiza prostaglandinas, provocando la inflamación. En general, los AINE impiden que se sinteticen las prostaglandinas, lo que reduce o
5 elimina el dolor. Algunos ejemplos comunes de AINE son: el ácido acetilsalicílico, el ibuprofeno y el naproxeno. Los inhibidores de la COX modernos, aunque se presupone que comparten un modo de acción similar, no se clasifican junto con los AINE tradicionales.

3. A los derivados antiinflamatorios inmunoselectivos (DAIS) se les atribuyeron diversas propiedades biológicas, incluidas propiedades antiinflamatorias. Los DAIS funcionan alterando la
10 activación y la migración de las células inflamatorias, que son células inmunes responsables de amplificar la respuesta inflamatoria (Bao F, John SM, Chen Y, Mathison RD, Weaver LC. The tripeptide phenylalanine-(D) glutamate-(D) glycine modulates leukocyte infiltration and oxidative damage in rat injured spinal cord. *Neuroscience.*, 2006, 140(3): 1011-22; Epubon 2006 Apr 3). Los DAIS representan una nueva categoría de fármacos antiinflamatorios y no están relacionados con
15 las hormonas esteroideas o los antiinflamatorios no esteroideos.

La patente estadounidense 6.159.955 expone un método para tratar aftas que incluye la administración de una cantidad efectiva de un compuesto que incluye un AINE y una formulación de ácido hialurónico seleccionada a partir de ácido hialurónico, sus correspondientes sales farmacéuticamente aceptables, sus correspondientes fragmentos o sus correspondientes
20 subunidades. Sin embargo, no manifestó que se utilizara una dosis menor de AINE, considerando que la mesalamina no pertenece a los AINE.

Las membranas mucosas (o simplemente las mucosas) son revestimientos de origen principalmente endodérmico, cubiertas de epitelio e implicadas en la absorción (tracto gastrointestinal) y la secreción (tracto gastrointestinal y respiratorio). Revisten cavidades que están
25 expuestas al medio externo y a los órganos internos y contiguos con piel en varias zonas corporales: en los orificios nasales, la boca, los labios, los párpados, las orejas, la zona inguinal y el ano. Al fluido pegajoso y denso secretado por las membranas y glándulas mucosas se le denomina mucosidad o moco. El término membrana mucosa se refiere al lugar del cuerpo en el que se encuentran y no a cada membrana mucosa que segrega moco.

30 Conjuntivitis se refiere a la inflamación de la conjuntiva (la capa más externa del ojo y la superficie interior de los párpados).

Otitis es un término general para referirse a la inflamación o infección del oído, tanto en humanos como en otros animales.

Rinitis se define como la inflamación de las membranas nasales y se caracteriza por un complejo
35 sintomático que consiste en cualquier combinación de los siguientes: estornudos, congestión nasal, picor nasal y rinorrea. Los ojos, los oídos, los senos y la garganta también pueden verse afectados. La petición de patente de Estados Unidos 20050107330 expuso una composición

farmacéutica para el tratamiento tópico curativo de la rinitis que incluía al menos un glucosaminoglucano ácido. Sin embargo, esta invención también contiene al menos un simpaticomimético indicado para la aplicación tópica y que tiene una acción vasoconstrictora o una acción detumesciente en las membranas mucosas o sus sales o derivados fisiológicamente aceptables. No expuso el concepto técnico de que menos dosis de un fármaco pudiera utilizarse según la necesidad combinándolo con AH.

La mucosa oral es el epitelio de la membrana mucosa de la boca. Una úlcera oral es una llaga dentro de la boca o raramente una rotura en la membrana mucosa o en el epitelio de los labios o de alrededor de la boca. Una vez formada, la úlcera puede mantenerse mediante la inflamación o una infección secundaria.

Una bronquitis es una inflamación de las membranas mucosas de los bronquios, las vías respiratorias que llevan el flujo aéreo desde la tráquea hasta los pulmones. La bronquitis puede dividirse en dos categorías, aguda y crónica, cada una de las cuales tiene etiologías, patologías y tratamientos únicos. La petición de patente estadounidense 20030171332 expone un método de tratamiento de afecciones respiratorias con un polisacárido capaz de unirse al CD44. Sin embargo, solo pudo incluirse una única especie de AH y la técnica anterior no expuso la combinación de AH con un fármaco, ni siquiera mencionó simplemente el uso de una dosis inferior del fármaco.

La mucosa es la capa interna de la pared gastrointestinal que rodea la luz, o el espacio abierto dentro del tubo. Dicha capa está en contacto directo con el bolo alimenticio y es responsable de la absorción, digestión y secreción, que son los procesos importantes en la digestión.

Conocida generalmente como úlcera péptica y también conocida como enfermedad ulcerosa péptica o EUP, la úlcera péptica es una úlcera (definida como erosiones en la mucosa iguales o mayores de 0,5 cm) de un área del tracto gastrointestinal que es normalmente ácida y que, por tanto, produce un dolor extremo. Las úlceras también pueden estar causadas o empeorar por fármacos tales como el ácido acetilsalicílico, Plavix (clopidogrel), ibuprofeno y otros AINE (antiinflamatorios no esteroideos).

La mesalamina, también conocida como mesalazina o ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), es un fármaco antiinflamatorio utilizado para tratar la inflamación del tracto digestivo, la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn leve o moderada. La mesalamina es un fármaco aminosalicilato específico para el intestino que actúa de manera local en el intestino y realiza sus acciones predominantes en el mismo, lo que por tanto provoca algunos efectos secundarios sistémicos. Como derivado del ácido salicílico, la mesalamina también se considera un antioxidante que atrapa los radicales libres, que dañan potencialmente los subproductos del metabolismo. La mesalamina se considera la porción activa de la sulfasalazina, que se metaboliza en sulfapiridina y mesalamina (Lippencott's Illustrated Reviews: Pharmacology, 4th Ed. Finkel, Cubeddu and Clark). La mesalamina se formula para la ingestión oral en forma de comprimidos o gránulos y para la administración rectal en forma de supositorios rectales, suspensiones o enemas. Aquí desarrollamos la dosis terapéutica normal de tres medicamentos comerciales de mesalamina.

Enema de retención por vía rectal para adultos con proctitis ulcerosa (activa, crónica) y proctosigmoiditis (activa, ulcerosa): 4 g de enema de retención por vía rectal cada día antes de acostarse (mantener durante 8 horas) entre 3 y 6 semanas (Colasa®). Para el tratamiento de colitis ulcerosa activa leve o moderada: La dosis normal en adultos es de dos comprimidos de 400 mg tres veces al día con una dosis diaria total de 2,4 gramos durante 6 semanas (Asacol®). La dosis recomendada para la inducción de la remisión y el tratamiento sintomático de colitis ulcerosa activa leve o moderada es de 1 g (4 cápsulas de PENTASA 250 mg o 2 cápsulas PENTASA de 500 mg) 4 veces al día para una dosis diaria total de 4 g. La duración del tratamiento en ensayos controlados fue de hasta 8 semanas. (PENTASA®). En una forma de representación preferible, el fármaco es un corticoesteroide, la prednisona. La dosis inicial de prednisona varía dependiendo de la afección que se esté tratando y de la edad del paciente. La dosis inicial puede ser de entre 5 y 60 mg al día y a menudo se ajusta según la respuesta de la afección que se esté tratando (Prednesol®). En una forma de representación preferible, el fármaco es un AINE, el naproxeno. Para la artritis reumatoide, la artrosis y la espondilitis anquilosante: Se administran 250-500 mg de Naproxen por vía oral dos veces al día y puede aumentarse a 1,5 g/día la base de naproxeno durante un periodo de tiempo limitado. (Naprosyn®).

Respecto a la interacción entre moléculas, las fuerzas intermoleculares se clasifican primero en enlaces de hidrógeno y enlaces no covalentes. Los enlaces de hidrógeno son esencialmente electrostáticos en la naturaleza, aunque la energía del enlace de hidrógeno puede descomponerse en contribuciones adicionales a causa de la polarización, la repulsión de intercambio, la transferencia de carga y el mezclado. Un enlace de hidrógeno es la fuerza de atracción entre un átomo de hidrógeno y un átomo electronegativo, como el nitrógeno, el oxígeno o el flúor. El enlace de hidrógeno a menudo se describe como una fuerte interacción electrostática dipolo-dipolo. Los enlaces de hidrógeno más comunes en los sistemas biológicos incluyen átomos de oxígeno y de nitrógeno.

A modo de otro tipo de interacción entre moléculas, el enlace no covalente es el tipo dominante de interacción entre supramoléculas en química supramolecular. Los enlaces no covalentes son críticos a la hora de mantener la estructura tridimensional de las moléculas grandes y están implicados en muchos procesos biológicos en los que las moléculas grandes se enlazan de manera específica pero transitoria las unas a la otras. Hay cuatro tipos de fuerzas: (1) fuerzas dipolo-dipolo, (2) fuerzas ion-dipolo, (3) fuerzas dipolo-dipolo inducido o fuerzas Debye y (4) fuerzas dipolo instantáneo-dipolo inducido o fuerzas de dispersión de London. Las interacciones moleculares son fundamentalmente electrostáticas en la naturaleza y pueden describirse según la Ley de Coulomb. La ley de Coulomb describe correctamente las fuerzas que enlazan (1) electrones a núcleos de átomos, (2) átomos a átomos en moléculas y (3) moléculas a otras moléculas en líquidos y sólidos. Las descripciones detalladas de dichas fuerzas son conocimientos científicos generales que se van a omitir aquí.

EP 2 292 243 A1 expone una fórmula de ácido hialurónico que incluye una mezcla de ácidos hialurónicos que tienen distinto peso molecular medio y opcionalmente un fármaco antiinflamatorio para el tratamiento y la prevención de la enfermedad inflamatoria intestinal.

5 EP 2 289 522 A1 expone una composición de ácido hialurónico con una mezcla binaria de ácidos hialurónicos que tienen principalmente un peso molecular medio diferente para el tratamiento de úlceras pépticas y duodenales.

US2009/143331 A1 expone hidrogeles de polisacáridos, que incluyen preferiblemente ácido hialurónico que a su vez puede incluir fármacos, tales como agentes antiinflamatorios, como por ejemplo la mesalamina. La presente invención se encuentra en la reclamación 1 adjunta. El
10 objetivo de la presente invención es proporcionar una composición para su uso en el tratamiento y prevención de la mucositis, que requiere una dosis más baja de fármaco antiinflamatorio y, por lo tanto, se darán menos efectos secundarios de dicho fármaco una vez administrada la composición a sujetos que padecen trastornos relacionados con la inflamación o alergia.

En consecuencia, se expone un compuesto para su uso en el tratamiento y prevención de
15 trastornos relacionados con la inflamación o alergia en mamíferos o humanos que comprende:

un fármaco adecuado para el tratamiento de una inflamación o alergia en una dosis menor de la dosis terapéutica normal correspondiente y ácido hialurónico (AH) o una mezcla de AH, por la cual el AH o la mezcla de AH se utiliza del mismo modo que un vehículo de distribución, entrega el fármaco especialmente al tejido inflamatorio mientras que la composición se administra al mamífero
20 o humano que padece el trastorno relacionado con la inflamación o la alergia.

Se pondrán de manifiesto otros objetivos, ventajas y características más novedosas de la invención a partir de la siguiente descripción detallada cuando se examine junto a las figuras adjuntas.

EN LAS FIGURAS

25 La Fig. 1 muestra la estructura química general del ácido hialurónico;

La Fig. 2 muestra la afinidad del AH según el índice de fluorescencia en tejidos normales o tejidos del colon lesionados (* $p < 0.05$);

La Fig. 3 muestra la duración de las biopsias de tejido del colon, los perfiles de concentración de mesalamina tras la administración de Colasa® (una marca de preparación de enema con 20 mg
30 de mesalamina en una solución de 1 ml) o de AH-mesalamina;

La Fig. 4 muestra una comparación entre el efecto de la mesalamina y AH-mesalamina con un grupo de control en el tratamiento de EII indicado según el peso corporal medio de ratas (media \pm DE) desde el día de pruebas 1 al 14 (* $p < 0.05$ frente al grupo A); y

La Fig. 5 muestra la comparación entre el efecto de la mesalamina y AH-mesalamina con grupo de control en el tratamiento contra EII indicado según la tasa de recuperación en ratas (media±DE) entre el día de pruebas 9 (D9) y el día 14 (D14) (* $p < 0.05$ frente al grupo A).

5 La hipótesis de la presente invención se basa en los resultados de los test previos de los inventores, en los cuales la cantidad de ácido hialurónico (AH) que se une a la superficie inflamatoria era mayor que en la zona no inflamatoria. Además, los resultados de la presente invención indican que el AH puede utilizarse como un vehículo de distribución para llevar un fármaco apropiado para el tratamiento a una inflamación o alergia, en una forma de representación preferible, la mesalamina. A pesar de que el mecanismo detallado entre el AH y la mesalamina no
10 está tan claro todavía, los resultados de la presente invención demuestran que una composición que incluye AH y mesalamina puede sostener la concentración de mesalamina en el colon. En adelante se expondrá la descripción detallada de la hipótesis.

El AH basado en la repetición de sus disacáridos forma una estructura lineal (Fig. 1). Sin embargo, en la media elevada del PM del AH, a causa de la reacción del AH con una amina, los grupos
15 carboxilos de las macromoléculas de AH lineales reaccionan con las di/tri/poliaminas en las mismas u otras macromoléculas de AH para formar un enlace amida y forma un puente inter o intramolecular. A causa de dicha reacción, la estructura inicial en espiral del AH se transforma en una nanopartícula esférica globular (en referencia a la patente estadounidense n.º 7.879.818). En una forma de representación preferible de la presente invención, se establece una mezcla de AH
20 incluyendo al menos dos especies de AH de diferente peso molecular incluyendo ácido hialurónico de bajo peso molecular (AHBPM) y ácido hialurónico de alto peso molecular (AHAPM). Los AH de diferente peso molecular tienen diferente reología, adherencia, funciones de soporte de tejidos y propiedades de degradación en la solución.

Se cree que la hidrólisis del AH catalizada por la hialuronidasa está implicada en el control del
25 equilibrio entre las cadenas de AH más largas y las más cortas. Las cadenas de AH más cortas parecen ser demasiado cortas para formar un complejo estable y las cadenas de AH más largas encuentran dificultades a la hora de formar un complejo, probablemente a causa del impedimento estérico.

En virtud de la presente invención, al contrario que las técnicas convencionales en las que se
30 utiliza una única especie de AH para cada situación simple y regular, en una forma de representación preferible también está implicada la mezcla específica de AH proporcionada por los inventores. La mezcla específica de AH incluye al menos AHBPM y AHAPM. El AH con un peso molecular medio menor que 1,5 millones de Da se clasifica como AHBPM. El intervalo preferible del peso molecular medio es de entre 50.000 Da y 1,5 millones de Da. El intervalo más preferible de peso molecular medio es de entre 0,1 y 1,5 millones de Da. El intervalo más preferible de todos
35 de peso molecular medio es de entre 0,1 y 0,5 millones de Da. El AH con un peso molecular medio mayor de 1,5 millones de Da se clasifica como AHAPM. El intervalo preferible de peso molecular medio es de entre 1,5 y 5 millones de Da y el intervalo más preferible de peso molecular medio es de entre 1,5 y 3,5 millones de Da. En una forma de representación preferible, el peso molecular

medio del AHBPM es, al margen del peso molecular medio del AHAPM, de al menos 0,5 millones de Da. La estructura química general del AH está ilustrada en la Fig. 1.

Otra forma de representación preferible de la composición según la presente invención incluye, entre otros, una mezcla 1:1 (peso/peso) de AHBPM y AHAPM según el peso en forma de sal de AH y una forma de representación más preferible de la proporción entre AHBPM y AHAPM puede ajustarse según el propósito clínico entre 20:80 y 80:20 según el peso. La mezcla de AH en una proporción más alta de AHBPM que de AHAPM puede ser de más ayuda a la hora de acelerar el tratamiento; por el contrario, una proporción más alta de AHBPM que de AHAPM puede proporcionar un índice de degradación más largo para prolongar el efecto del tratamiento.

El término mucosa utilizado en adelante se refiere a la mucosa del tracto gastrointestinal. La forma de representación preferible del trastorno relacionado con la inflamación incluye la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), la esofagitis, la gastritis, la enteritis, la úlcera péptica, la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), la enfermedad de Crohn, el síndrome del intestino irritable (SII), la inflamación intestinal, la proctitis o la gastroenteritis eosinofílica. La forma de representación preferible de la úlcera péptica incluye, entre otros, la úlcera gástrica, la úlcera duodenal, la úlcera esofágica y la úlcera del divertículo de Meckel. La forma de representación preferible del EII incluye, entre otros, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. La forma de representación preferible de la SII incluye, entre otros, la intolerancia a la fructosa, infecciones leves, infecciones parasitarias como la giardiasis, el estreñimiento crónico funcional y el dolor abdominal funcional crónico.

El resultado de la presente invención muestra que el AH se absorbe en los tejidos lesionados del colon de una manera obviamente más alta que en los tejidos normales del colon ($P < 0,01$; Fig. 2). Si se comparan las diferencias entre los AH de tres pesos moleculares medios absorbidos en los tejidos lesionados del colon, el índice de fluorescencia de absorción de AH de 350 kDa por parte de los tejidos lesionados del colon era obviamente más alto que los AH de los otros dos pesos moleculares medios (2 MDa y 1 MDa). Además, el índice de fluorescencia de absorción de 1 MDa de AH incluso por parte de los tejidos del colon normales o lesionados era más alto de 2 MDa de AH. Este resultado explica el rápido efecto disperso y cubierto del AH de bajo PM que produce la instantánea cicatrización de la herida y la protección del tejido frente a nuevas lesiones.

Una representación alternativa de una composición no comprendida en la presente invención incluye un AH o una mezcla de AH que incluye un excipiente para formular una forma farmacéutica para uso ocular, ótico, oral, nasal, en el tracto respiratorio, en el tracto intestinal o tópico. La forma de representación preferible de la formulación para la administración oral se selecciona a partir de un grupo que consiste en una forma farmacéutica sólida, incluida una solución pero sin estar limitada a una suspensión, incluidos los comprimidos pero sin estar limitados a comprimidos de liberación controlada, e incluidas las cápsulas pero sin estar limitado a cápsulas de cubierta entérica. La representación preferible de la formulación para la administración en el tracto gastrointestinal se selecciona a partir de un grupo que consiste en una forma farmacéutica sólida, perfusión, enema, supositorio y solución, incluyendo, entre otros, la

suspensión. La representación preferible de la formulación para la administración tópica se selecciona a partir de un grupo que consiste en perfusión, enema, supositorio, aerosol, inhalación y gotas.

5 Según la presente invención, el fármaco adecuado para el tratamiento de una inflamación para la presente invención incluye un esteroide, un antiinflamatorio no esteroideo (AINE), mesalamina y derivados de la misma.

10 La forma de representación alternativa para el tratamiento de la rinitis o la bronquitis alérgica se puede llevar a cabo mediante la administración de la composición que incluye un fármaco antihistamínico, antialérgico, anticongestivo, corticoesteroide o antiasmático a un sujeto que lo necesite. La forma de representación preferible para el tratamiento de la enteritis puede llevarse a cabo mediante la administración de la composición de la presente invención que incluye un fármaco antibiótico o espasmolítico para un sujeto que lo necesite. La forma de representación preferible para el tratamiento de la úlcera péptica puede llevarse a cabo mediante la administración de la composición de la presente invención que incluye un fármaco coagulante,
15 antibiótico, antiácido, antagonista de los receptores H₂, inhibidor de la bomba de protones potasio-hidrógeno (IBP), citoprotectores o protectores de la mucosa para un sujeto que lo necesite. La forma de representación preferible para el tratamiento de la EII puede llevarse a cabo mediante la administración de la presente invención que incluye un fármaco que incluye un corticoesteroide, inmunodepresor, antibiótico, ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) y derivados o un antiinflamatorio para
20 un sujeto que lo necesite.

La forma de representación preferible para el tratamiento de la SII puede llevarse a cabo mediante la administración de la presente invención que incluye un fármaco con antialérgico, espasmolítico, antidiarreico, neurolítico, tranquilizante, analgésico opiáceo, antidepresivo o antiserotoninico para un sujeto que lo necesite. En una forma de representación más preferible, el fármaco en la
25 composición de la presente invención incluye un antihistamínico, antialérgico, antiinflamatorio, inmunodepresor o una combinación de los mismos.

En una forma de representación alternativa de formulación oral (por ejemplo, de comprimido comprimido con cubierta entérica), la cubierta entérica proporciona una mayor resistencia a la disolución y a la digestión en el estómago y, tras alcanzar el intestino y el colon, la cubierta
30 entérica se disolverá y el AH en su interior se liberará para formar una membrana de protección en el colon inflamatorio (la región del colon ascendente o transversal).

En la forma de representación preferible de formulación en forma de supositorio, el supositorio que contiene la composición aquí dispuesta puede introducirse en el ano y la composición se disolverá en el recto y extenderá a otras regiones del colon (por ejemplo, la región descendente) para formar
35 una membrana de protección en el colon inflamatorio.

En la forma de representación preferible de formulación en forma de perfusión (por ejemplo, enema), el AH o la mezcla de AH en la composición aquí dispuesta es el principio activo principal mezclado con el excipiente (por ejemplo, solución salina amortiguada con fosfato [formulación en

forma de solución PBS o suspensión]) utilizada directamente o en un tubo blando para inyectar la composición arriba mencionada en el colon. La composición se cargará en el colon y se extenderá a otras regiones del colon (por ejemplo, el colon descendente) para formar una membrana de protección en el colon inflamatorio y tratar la inflamación con el fármaco.

- 5 La forma de representación preferible del sujeto que recibe el tratamiento mediante la composición aquí utilizada es la de mamífero. La forma de representación preferida del sujeto es la de humano.

La composición de la presente invención se realiza mediante fuerzas físicas y químicas naturales. La fuerza intermolecular entre el AH y un fármaco de la presente invención es muy probablemente la quelación, la interacción electrostática o la adherencia. La quelación es la formación o la presencia de dos o más enlaces coordinados separados entre un ligando polidentado (con múltiples enlaces) y un único átomo central. Normalmente estos ligandos son compuestos orgánicos. Aunque todas las interacciones moleculares son inherentemente electrostáticas en la naturaleza, la interacción electrostática normalmente representa de manera específica a cualquiera de las fuerzas de atracción o repulsión entre átomos o grupos de átomos o moléculas que se deben a la presencia de entidades químicas ionizadas y a las propiedades electronegativas y electropositivas de estos átomos, grupos o moléculas. La adherencia es cualquier proceso de atracción entre especies moleculares diferentes que pueden ponerles potencialmente en «contacto directo». La adherencia es la tendencia de las partículas diferentes o superficies diferentes a pegarse las unas a las otras.

- 20 En una forma de representación preferible, el fármaco debe estar encapsulado o recubierto por AH o una mezcla de AH como se ha mencionado con anterioridad para formar un polímero o un revestimiento globular. En esta situación, tanto el propio AH como un excipiente añadido pueden mantener cierta cantidad del fármaco y hacer que el fármaco funcione de manera eficiente en la región inflamatoria.

25 La mayor contribución de la presente invención es la de proporcionar una composición de una formulación de AH con un fármaco que puede disminuir de manera significativa la dosis terapéutica del fármaco. Debido a que las dosis de los diferentes fármacos dependen de las diversas situaciones de los diferentes pacientes, la presente invención solo proporciona formas de representación preferibles de manera representativa. La forma de representación preferible del fármaco de la presente invención es la mesalamina, un fármaco conocido como tratamiento para la EII. El resultado de la presente invención muestra que solo se utilizó un cuarto de la dosis terapéutica normal, pero que tuvo casi la misma eficacia a la hora de reducir la inflamación por EII inducida de manera artificial en ratas. En una forma de representación más preferible, se utilizó un octavo de la dosis terapéutica normal en la presente invención. Otra forma de representación preferible es que el AH prefiere reconocer y adherirse a la región inflamatoria (Fig. 2). En una forma de representación preferible, cuando solo se utiliza una especie de AH en lugar de una mezcla de AH como se ha mencionado anteriormente que contenga al menos dos especies de AH, su peso molecular medio es de entre 50 kDa y 5 millones de Da. A pesar de que el mecanismo real de fuerza intermolecular entre el AH y el fármaco todavía no está claro, la

presente invención ha proporcionado varias pruebas de que mezclar AH y mesalamina puede contribuir a la combinación de las ventajas de ambos, lo que se confirma con los resultados del Ejemplo 2 de más abajo como se muestra en la Fig. 3 y los del Ejemplo 3 tal y como muestran las Figuras 4 y 5. El concepto técnico que combina el AH con una capacidad especial de dirigir (como un vehículo de distribución) hacia la región inflamatoria con un fármaco con menos dosis nunca ha sido expuesto hasta la presente invención, especialmente el AH por sí solo también puede tener la capacidad de tratar la inflamación. Por lo tanto, la presente invención proporciona una manera inteligente, fácil y simple de reducir la dosis del fármaco y concentrar el efecto del fármaco en la región inflamatoria. Una forma de presentación preferible de la presente invención es que actúa sobre el tejido mucoso por la característica propia del AH. Preferiblemente, la presente invención reduce la dosis o la cantidad de fármaco requerida y, por consiguiente, reduce el coste del fármaco.

Otra forma de representación preferible de la presente invención es la de proporcionar un método para tratar o prevenir el trastorno relacionado con la inflamación que comprende la administración a un mamífero o humano que lo necesite de una composición de un fármaco adecuado para el tratamiento de la inflamación en una dosis menor que la dosis terapéutica normal y ácido hialurónico (AH), en el que el AH utilizado a modo de vehículo de distribución para distribuir el fármaco especialmente al tejido inflamatorio.

Según la presente invención, el fármaco adecuado para el tratamiento de la inflamación de las mucosas es UNA forma de presentación preferible de la composición de acuerdo con la presente invención que comprende una o más unidades de toma separadas, que cada una incluye el fármaco apropiado para el tratamiento de la inflamación en una dosis menor de 250 mg.

Según la presente invención, la dosis terapéutica normal del fármaco adecuada para el tratamiento para la inflamación también es la conocida en el ámbito profesional. Por ejemplo, la dosis terapéutica normal de mesalamina es de 4 g al día. Por lo tanto, el fármaco adecuado para el tratamiento de una inflamación en la composición de acuerdo con la presente invención es una dosis preferiblemente inferior a 4 g al día; más preferiblemente de entre 250 mg y 4 g al día; la más preferible de todas, de entre 250 y 1 g al día.

Aunque la invención se ha descrito en combinación con el mejor modo específico, se debe entender que podrá dar lugar a muchas alternativas, modificaciones y variaciones para los expertos en el ámbito en vista de la descripción anterior. Todas las cuestiones aquí expuestas o mostradas en las figuras adjuntas deben interpretarse con un sentido ilustrativo y no limitativo.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: La adherencia de AH al tejido del colon (sistema de imágenes IVIS - visión 3)

Procedimiento:

1. Se añadieron 0,25 g de polvo de hialuronato de sodio de alto peso molecular (AAH; PM: 2 MDa; Freda) y 0,25 g de polvo de hialuronato de sodio de bajo peso molecular (BAH; PM: 0,35 MDa;

Freda) a 50 ml de amortiguador PBS (solución salina amortiguada con fosfato) respectivamente para formar una solución al 0,5 % y después se removió durante 6 horas hasta que el polvo quedó totalmente disuelto.

5 Se añadieron 0,05 g de BAH y 0,2 g de AAH (proporción 2:8, MAH polvo de hialuronato de sodio de peso molecular medio) a 50 ml de amortiguador PBS y después se removió durante 6 horas hasta que el polvo quedó totalmente disuelto.

2. Se preparó el AH fluorescente (AH-f) mediante (1) 0,39 g de ácido libre MES (ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico, Calbiochem) y se disolvió en 100 ml de agua destilada desionizada. (2) Solución A: se disolvieron 65 mg de polvo de fluoresceinamina, isómero I, Fluka) en 9 ml de
10 solución de EtOH al 95 % y después se removió durante 10 minutos en condiciones en las que se prohíbe la luz. (3) Solución B: se disolvieron 359 mg de polvo de EDC (N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida clorhidrato, Sigma) en 9 ml de amortiguador MES y después se removió durante 10 minutos. (3) Solución C: se disolvieron 216 mg de polvo de NHS (N-hidroxisuccinimida, Sigma) en 9 ml de amortiguador MES y después se removió durante 10 minutos. (4) Se dejaron
15 caer lentamente gota a gota 3 ml de Solución A en 50 ml de solución de AH al 0,5 % y después se removió durante 10 minutos en condiciones en las que se prohíbe la luz. (5) Se dejaron caer gota a gota por separado 3 ml de Solución B y 5 ml de Solución C en la solución del paso (4) y después se removieron durante 10 minutos en condiciones en las que se prohíbe la luz. (6) Se añadieron lentamente 0,02 M de amortiguador MES a la solución del paso (5) hasta que el volumen alcanzó
20 100 ml y después se removió durante 24 horas a temperatura ambiente en condiciones en las que se prohíbe la luz. (7) El producto tras la reacción se vertió en un tubo de diálisis (PM: 12000-14000) en 5 L de agua destilada desionizada y después se removió durante 5 días a 4 °C en condiciones en las que se prohíbe la luz con una solución de diálisis que se cambiaba cada 12 horas hasta que la solución de diálisis no tenía fluorescencia. (8) El líquido tras la diálisis se asignó
25 a tubos de centrifugadora de plástico de 50 cm³ y después se conservó a -20 °C en el frigorífico durante la noche seguido de un secado en una máquina de liofilización en condiciones en las que se prohíbe la luz. (9) El polvo de AH-f seco se conservó a -20 °C en el frigorífico. (10) Se añadieron lentamente 50 mg de polvo de AH-f a 10 ml de amortiguador PBS y después se removió durante 6 horas hasta que el polvo quedó disuelto por completo.

30 3. Se cortó el tejido del colon de las ratas SD (Sprague-Dawley) de entre 7 y 8 semanas de edad con un bisturí, después se lavó con amortiguador PBS, seguidamente se cortó en trozos de 3-4 cm de longitud y por último se puso en remojo en amortiguador PBS.

4. Se preparó el tejido del colon lesionado cepillándolo con un cepillo de dientes 20 veces de manera longitudinal y después poniéndolo en remojo en amortiguador PBS.

35 5. Se colocaron los tejidos de colon normales y lesionados en placas de 12 pocillos y después se añadió 1 ml de solución de AH-f al 0,5% a cada pocillo y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La solución AH-f sobrante se absorbió con una punta de pipeta 2 horas

más tarde, después se pudo a remojo en amortiguador PBS durante 10 minutos y seguidamente se retiró el amortiguador PBS de forma repetida en 3 ocasiones.

6. Se colocó el tejido del colon limpio en una placa de 12 pocillos con el tejido de revestimiento hacia arriba y después se colocó en el soporte del IVIS (sistema de imágenes *in vivo*, XENOGEN).

El parámetro determinado se estableció como PFV (proteína fluorescente verde) considerando que la excitación era de 465 nm y la emisión era de 500 nm y después se capturó la imagen usando software.

7. Todos los valores de la tabla están expresados como las medias aritméticas de n observaciones. El índice histológico se analizó mediante la prueba t de Student.

Resultados:

El índice de fluorescencia se cuantificó y dispuso como se muestra en la Fig. 2. El índice de fluorescencia del tejido de colon normal se definió como 1. El resto de pruebas de los tejidos del colon se calibraron a partir del valor definido. El resultado mostró que los AH con el mismo PM medio se absorbían en los tejidos lesionados de manera obviamente mayor que en los tejidos del colon normales ($P < 0,01$). Al comparar la diferencia entre AH de tres diferentes pesos moleculares medios absorbidos en los tejidos del colon lesionados, el índice de fluorescencia de absorción de AH de 350 kDa por los tejidos del colon lesionados era obviamente mayor que los de los otros dos AH de los otros dos pesos moleculares medios (2 MDa y 1 MDa). Además, el índice de fluorescencia de absorción de AH de 1 MDa incluso por los tejidos normales y lesionados era más alto que el de AH de 2 MDa.

Ejemplo 2: Estudio comparativo de la concentración de mesalamina en el tejido del colon tras la instilación intraluminal de diferentes preparados de mesalamina

Procedimiento:

1. Animales de experimentación: Ratas Sprague-Dawley macho exentas de gérmenes patogénicos específicos de 8 semanas de edad (280-330 g) fueron suministradas por BioLASCOTaiwan Co. Ltd.

2. Muestras de la prueba: A: Enema Colasa® (20 mg/ml, UnitedBiomedical, Inc. Asia), B: Mezcla de AH (8:2=2000 KDa HA: 350 kDa AH) al 0,25% (peso/peso) en PBS (pH 7,4) que contiene 5 mg/mL de mesalamina (AH-M).

3. Muestras de la prueba de instilación intraluminal: tras anestesarlas ligeramente con Zoletil 50, se llevó a cabo una incisión ventral a las ratas con tijeras quirúrgicas, se identificó el colon, se ataron 2 segmentos de colon (de 2 cm cada uno) con hilos de algodón, se inyectaron 0,5 ml de muestras de la prueba en la luz de los segmentos de colon aislados, tras 0,5, 1, 1,5 o 2 horas, se sacrificó a las ratas y se extrajeron los segmentos de colon. Se utilizaron tres ratas por cada punto temporal de instilación intraluminal.

4. Preparación de las muestras biológicas: se lavaron las piezas de la biopsia de tejidos con PBS para eliminar la contaminación de la superficie, se pesaron y se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C hasta su uso. Las piezas de la biopsia se machacaron y se añadieron 50 mM de solución de KH_2PO_4 (pH 7,4). Las células del tejido se rompieron mediante ultrasonidos utilizando una microsonda insertada en la suspensión durante 10 segundos y después se detuvo la ruptura mediante ultrasonidos

durante 20 segundos a 25 W durante un total de 10 minutos. Tras la mezcla con Vortex, las muestras se mantuvieron durante 30 minutos a temperatura ambiente para permitir la precipitación de proteínas y se centrifugaron a 13000 g durante 30 minutos.

10 5. Análisis de la concentración de mesalamina en las piezas de biopsia de tejidos del colon: se midió la mesalamina mediante cromatografía de líquidos de ultra alto rendimiento (UPLC). El método ha sido validado. Se utilizó el sistema ACQUITY de Waters (Reino Unido) y un detector de fluorescencia (excitación 315 nm, emisión 430 nm) y se analizaron los datos utilizando Empower 2. Se protegió una columna de ACQUITY (C18, 100x2,1 mm de diámetro interno, partícula de 1,7 um) adquirida de Waters (Reino Unido) mediante una precolumna Van (Waters, C18, 5x2,1 mm de diámetro interno, partículas de 1,7 um). La fase móvil consistía en 0,1 M de ácido acético con trietilamina a pH 4,3 y acetonitrilo (850:150). El caudal era de 0,2 mL/min, con una presión resultante de 5400 psi y el análisis se llevó a cabo a 40 °C. El volumen de inyección era de 5 ul. Las muestras se derivaron utilizando anhídrido propiónico para aumentar las características de fluorescencia de la mesalamina. Se utilizó la trietilamina como agente emparejador de iones para mejorar la simetría de pico. El método UPLC de análisis de mesalamina se validó para medir la mesalamina en un rango lineal nominal de entre 10 y 1000 ng/ml. El coeficiente de correlación lineal (R2) del método utilizado en este estudio es 1,00.

Resultados:

25 La concentración (mediana) de mesalamina en las piezas de biopsia de tejido del colon tras la instilación de Colasa® alcanzó su punto máximo una hora después de la instilación. Después de esto, la concentración de mesalamina cayó rápidamente. Por el contrario, el AH-M liberó mesalamina de forma continua durante el periodo de dos horas y la concentración de mesalamina ascendía y era mucho más alta que la de Colasa® dos horas después de la instilación (Fig. 3). El resultado de la presente invención expuso que el AH-M mantenía la liberación de mesalamina mucho más tiempo si se compara con el enema de mesalamina comercial (Colasa®); sin embargo, contenía solo un cuarto de la concentración de mesalamina que contiene Colasa®.

Ejemplo 3: El efecto comparativo de administrar AH y AH-mesalamina (AH-M) para reducir la inflamación de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII)

35 Procedimiento:

1. Propósito de la prueba: introducir la EII en las ratas SD (Sprague-Dawley) exentas de gérmenes patogénicos con TNBS para evaluar el efecto comparativo de administrar AH y AH-M para reducir la inflamación.

2. Objetivo de la prueba: La mezcla de AH, que incluye AHBPM y AHAPM, considerando que el AHAPM era de 2 millones de Da y el AHBPM era de 1 millón de Da y de 350 kDa, mezclados en una proporción de mezcla de 8:2 según peso, que se categorizaron en el grupo C y el grupo D, respectivamente, y se disolvieron en disolución PBS para producir una concentración de 0,0625 % (p/v).

3. Método: (1) Objetivo de la prueba: Se seleccionaron y clasificaron ratas de 8 semanas de edad en cuatro grupos: se trató al grupo A con PBS, al grupo B con Colasa® (20 mg mesalamina/mL), el grupo C representó AHAPM:AHBPM de 2 MDa:1 MDa en la proporción de mezcla de 8:2, el grupo D representó AHAPM:AHBPM de 2 MDa:350 kDa en la proporción de mezcla de 8:2. Cada grupo estaba formado por 10 ratas. (2) Pruebas con animales: se sometió a ayuno a todas las ratas del grupo en tratamiento durante 2 días; en el día 1 de la prueba, se anestesió a las ratas para administrarles 1 ml de TNBS (50 mg/mL) a través del recto; entre los días 5 y 8 de la prueba y los días 10 y 13, se les administró 1 ml de diferentes fármacos de la prueba con mesalamina (M) y dos categorías de AH-M a través del recto a los grupos B, C, y D cada día; el día 9 de la prueba, se sacrificó a la mitad de las ratas de cada grupo para observar y registrar los cambios en el peso corporal y la zona de la inflamación. Se sacrificó a la otra mitad de las ratas para observar y registrar los cambios en el peso corporal y la zona de la inflamación el día 14. Se sometió a ayuno a todas las ratas del grupo de control durante 2 días en el día 1 de la prueba, se anestesió a las ratas para administrarles 1 ml de TNBS (50 mg/mL) a través del recto; entre los días 5 y 8 de la prueba y los días 10 y 13, se les administró 1 ml de PBS a través del recto al grupo A cada día; el día 9 de la prueba, se sacrificó a la mitad de las ratas para observar y registrar los cambios en el peso corporal y la zona de la inflamación. Se sacrificó a la otra mitad de las ratas para observar y registrar los cambios en el peso corporal y la zona de la inflamación el día 14.

Resultados:

1. Índice inflamatorio: la presente invención utilizó cambios en la peso corporal y la zona media de la inflamación como índice para visualizar la mejoría de la EII.

2. La tendencia a los cambios de peso corporal mostró que los grupos B, C y D tenían un mejor efecto de alivio sobre la EII que el grupo A entre los días 3 y 14 (Fig. 4). Especialmente entre los días 12 y 14, los cambios en el peso corporal de los tres grupos en tratamiento fueron estadísticamente más significativos que los del grupo A. Asimismo, el índice de recuperación de la inflamación fue mejor en los tres grupos en tratamiento que el del grupo de control el día 14 de la prueba (D14) (Fig. 5). Debido a que la cantidad de mesalamina de la formulación AH-M de la presente invención era 4 veces inferior a la dosis terapéutica normal de Colasa®, el resultado de la

presente invención indicó que solo un cuarto de la dosis normal (esto es, de la dosis rutinaria del mencionado fármaco) pudo conseguir casi el mismo efecto que el mencionado fármaco.

5

10

15

20

25

Reivindicaciones

1. Una composición para su uso en el tratamiento y prevención de la inflamación de las mucosas en mamíferos o humanos que incluye un fármaco adecuado para el tratamiento de la inflamación en una dosis menor de la dosis terapéutica normal y ácido hialurónico (AH) o una mezcla de AH, considerando que el fármaco antiinflamatorio es la mesalamina y la dosis terapéutica reducida es de entre 250 mg y 1 g por día, donde la mucosa de la inflamación de las mucosas es la mucosa del tracto intestinal.
2. La composición de la reivindicación 1, en la que el AH es de un peso molecular medio (PM) de entre 50 kilo Dalton y 5 millones de Dalton.
3. La composición de la reivindicación 1, en la que la mezcla de AH incluye al menos dos ácidos hialurónicos que incluyen AH de bajo peso molecular (AHBPM) y AH de alto peso molecular (AHAPM), en la que el PM medio del AHBPM es de entre 50 kDa y 1,5 millones de Da, y el PM medio del AHAPM está entre 1,5 millones de Da y 5 millones de Da, en la que el AHBPM y el AHAPM están separados el uno del otro por al menos 0,5 millones de Da y la proporción de mezcla del AHBPM y el AHAPM está en un rango de entre 20:80 y 80:20 según el peso.
4. La composición de la reivindicación 1, que está hecha formando fuerzas físicas o químicas naturales entre el AH y el fármaco, donde la fuerza física o química se realiza mediante quelación, interacción electrostática, adherencia para formar un polímero o un revestimiento globular para alojar el fármaco.
5. La composición de la reivindicación 1, donde el trastorno relacionado con la inflamación es la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), la esofagitis, la gastritis, la enteritis, la úlcera péptica, la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), la enfermedad de Crohn, el síndrome del intestino irritable (SII), la inflamación intestinal, la proctitis o la gastroenteritis eosinofílica.
6. La composición de la reivindicación 1, que además incluye un excipiente para formular la composición en una forma farmacéutica para el tracto gastrointestinal.
7. La composición de la reivindicación 6, donde la formulación para la administración en el tracto gastrointestinal se selecciona a partir de un grupo que consiste en una forma farmacéutica sólida, perfusión, enema, supositorio y solución, incluyendo, entre otros, la suspensión.

30

35

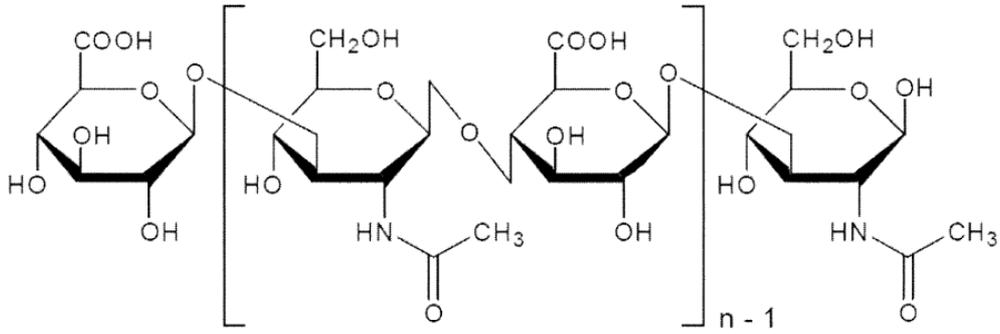
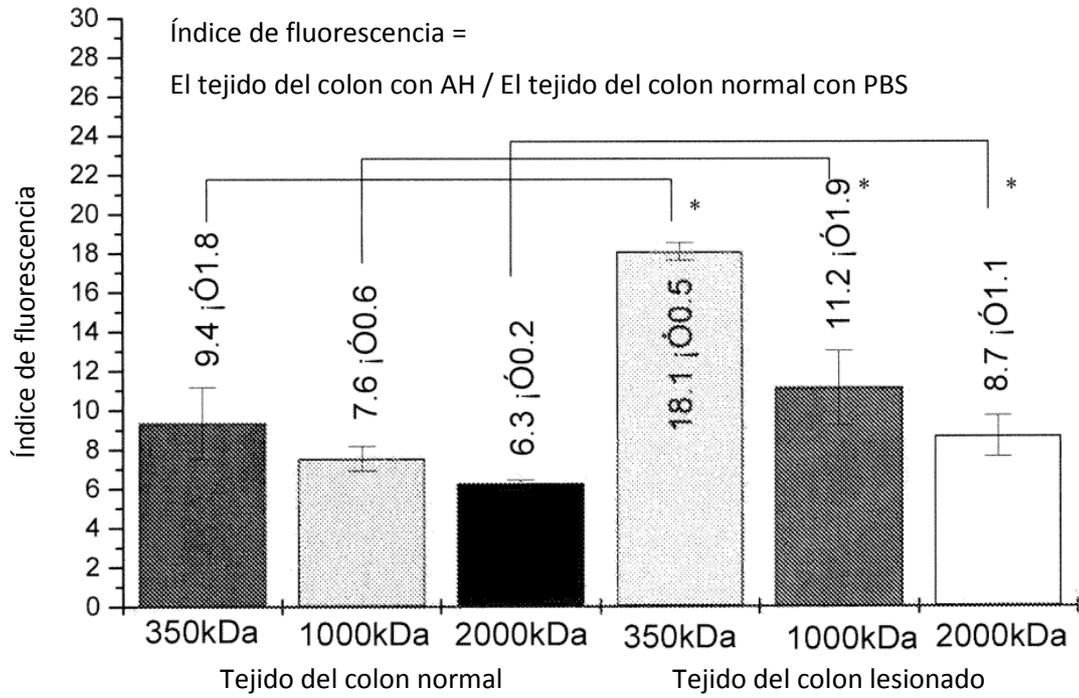


FIG. 1



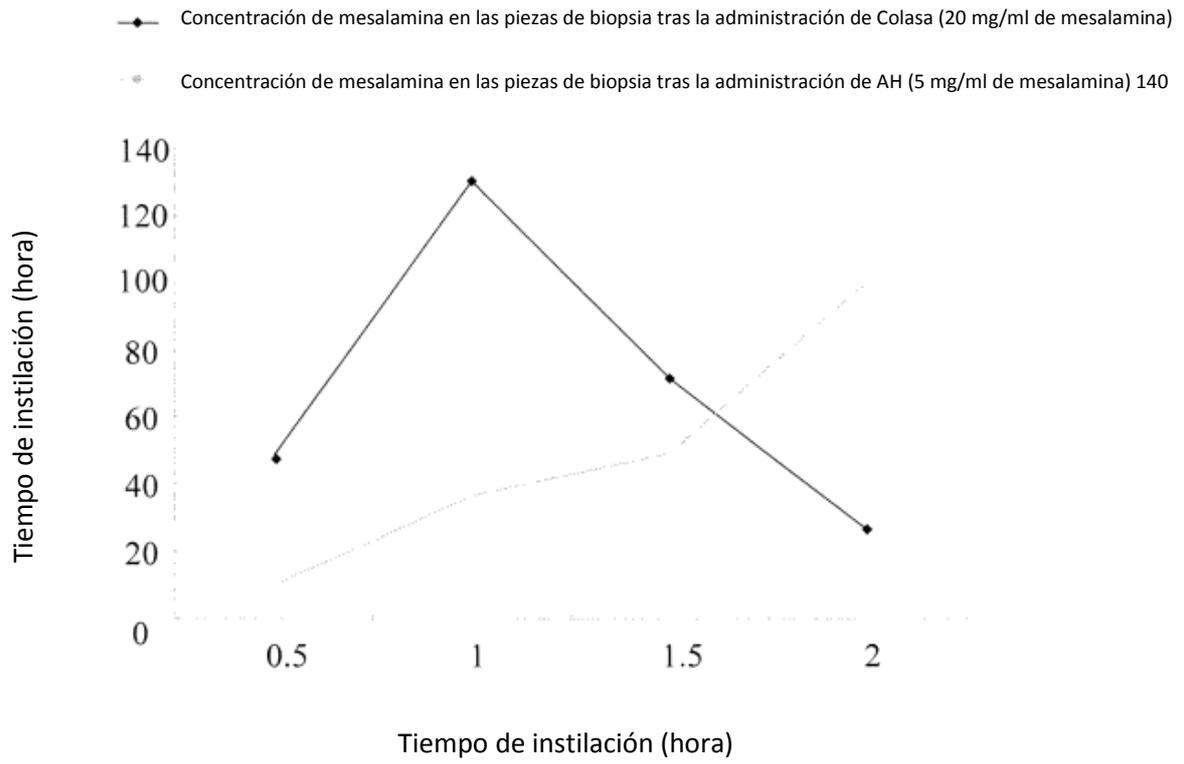


FIG. 3

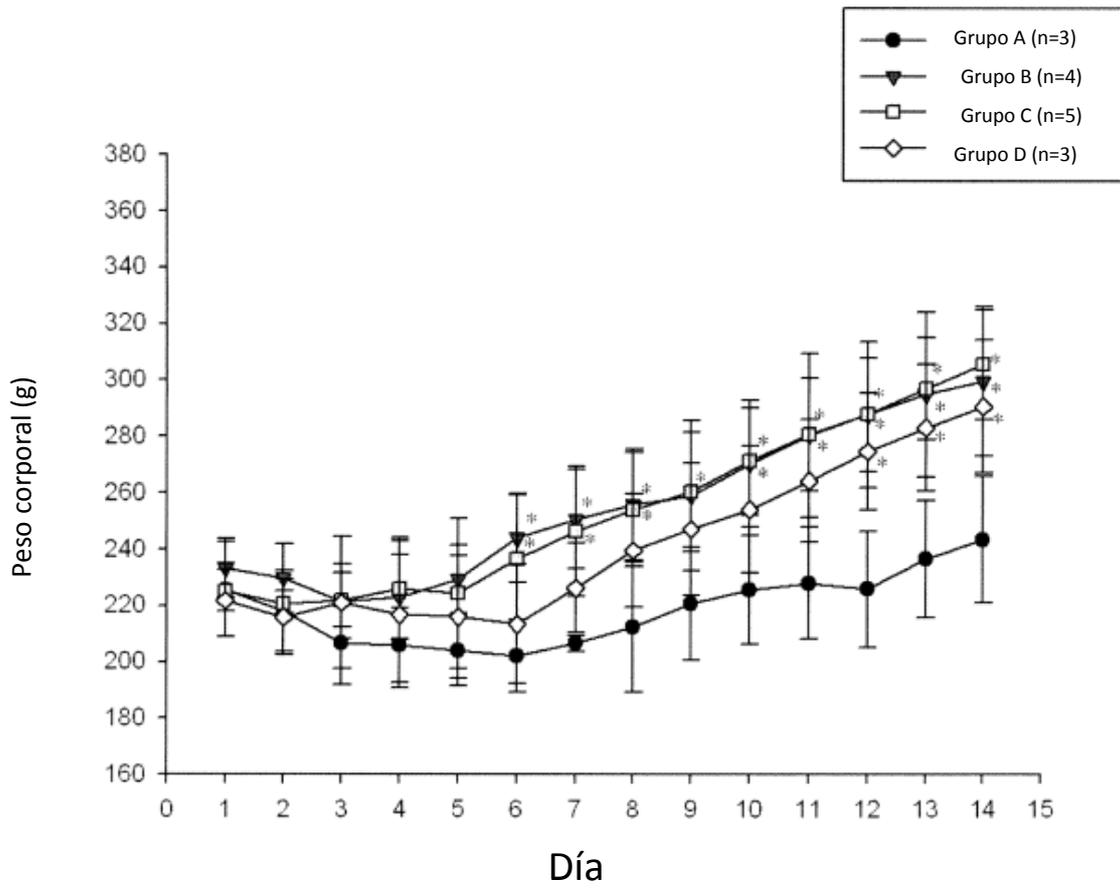


FIG. 4

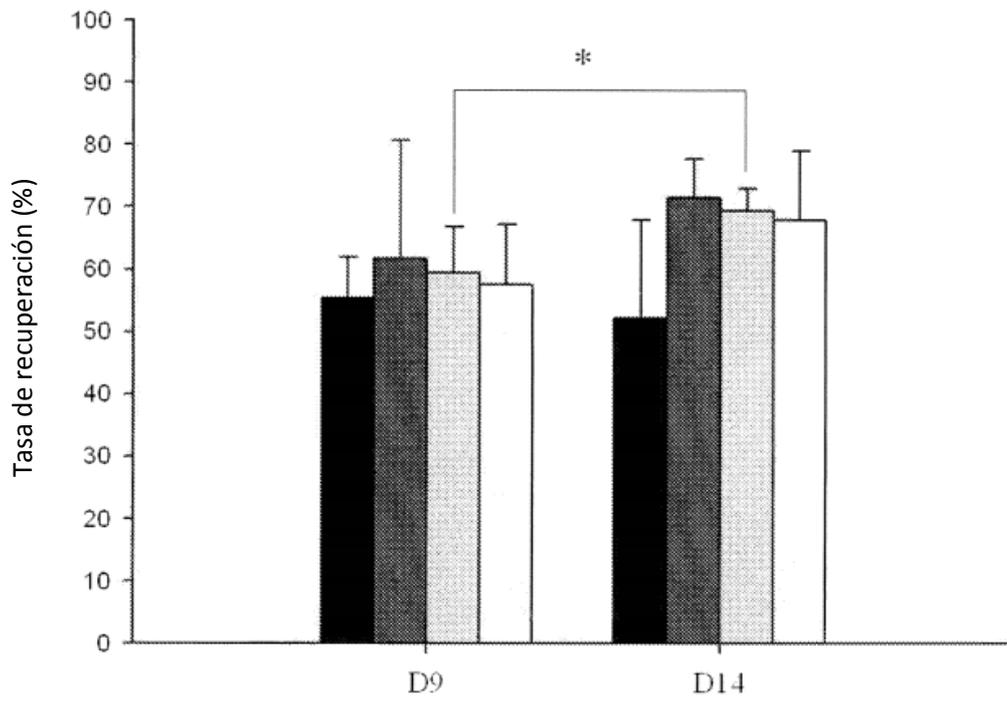


FIG. 5