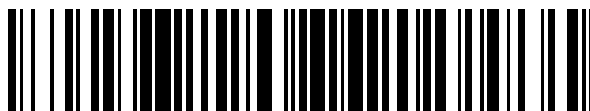


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 762 902**

51 Int. Cl.:

A61K 49/00 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 31/121 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.04.2016 PCT/AT2016/000034**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.04.2017 WO17054018**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2016 E 16718844 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019 EP 3237019**

54 Título: **Formulación de hipericina para el diagnóstico fotodinámico**

30 Prioridad:

28.09.2015 AT 6292015

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

26.05.2020

73 Titular/es:

**SANOCHEMIA PHARMAZEUTIKA AG (100.0%)
Boltzmanngasse 11
1090 WIEN, AT**

72 Inventor/es:

**ABRAHAMSBERG, CHRISTINA;
FRANTSITS, WERNER;
GERDES, KLAUS;
GUNGL, JÓZSEF;
KÄLZ, BEATE y
WELZIG, STEFAN**

74 Agente/Representante:

ROEB DÍAZ-ÁLVAREZ, María

ES 2 762 902 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

Formulación de hipericina para el diagnóstico fotodinámico

- 5 La invención se refiere a una formulación para la preparación de una solución de instilación para su uso en el diagnóstico fotodinámico, que contiene hipericina unida a un agente formador de complejo polimérico, concretamente un polietilenglicol o una poli-N-vinilamida, en forma de una sal de metal alcalino, en particular de la sal de potasio o de la sal de sodio, de acuerdo con las reivindicaciones.
- 10 El cáncer de vejiga es el cáncer más frecuente de las vías urinarias. El cáncer de vejiga afecta a hombres más de tres veces más frecuentemente que a mujeres. Es el séptimo tipo de cáncer diagnosticado más frecuente en hombres (Ferlay *et al.*, 2013). Aproximadamente el 75-85 % de los pacientes con cáncer de vejiga recién diagnosticado muestran tumores de vejiga no músculo invasivos, es decir, tumores que están limitados a la mucosa.
- 15 A este respecto se trata de estadios de tumor carcinoma *in situ* (Tis), Ta, o T1 (Babjuk *et al.*, 2015). Las tasas de recidiva en el caso de carcinoma de vejiga no músculo invasivo son muy frecuentes. La probabilidad de la reaparición se encuentra en del 15 al 61 % dentro del primer año y del 31 al 78 % tras 5 años (Witjes, Douglass, 2007). Las altas tasas de recidiva requieren un control durante años y observación posterior de pacientes anteriormente enfermos.
- 20 El síntoma más frecuente de cáncer de vejiga no músculo invasivo es la hematuria. Además pueden aparecer también síntomas irritativos o dolor en las vías urinarias inferiores. Un estudio corporal no proporciona ninguna conclusión sobre un posible tumor de vejiga no músculo invasivo (Babjuk *et al.*, 2015). La inspección visual de la vejiga con un endoscopio e iluminación con luz blanca (cistoscopia con luz blanca) y una toma de muestra de tejido representa un primer diagnóstico. Este procedimiento es eficaz para tumores exofíticos. Los carcinomas planos (en particular Tis), displasias, crecimiento multifocal y lesiones microscópicas pueden distinguirse de manera mucho más
- 25 difícil y con frecuencia se pasan por alto en una cistoscopia con luz blanca.
- El procedimiento de la cistoscopia de fluorescencia (también denominada diagnóstico fotodinámico (PDD)) mejora las tasas de reconocimiento de cáncer de vejiga no músculo invasivo, en particular de Tis, y reduce por consiguiente la tasa de recidiva (Burger *et al.*, 2013; Kausch *et al.*, 2010; Stenzel *et al.*, 2010).
- 30 El diagnóstico fotodinámico (PDD) aprovecha las propiedades fotoactivas de determinados compuestos, de los denominados fotosensibilizadores, que se acumulan preferentemente en el tejido tumoral y mejoran la limitación óptica entre tejido normal y neoplásico.
- 35 El principio básico del diagnóstico fotodinámico (PDD) se basa en un procedimiento de dos etapas, que comprende un aplicación sistémica o tópica de un fotosensibilizador y la activación del fotosensibilizador mediante radiación con luz visible con una longitud de onda adecuada.
- 40 El "patrón de oro" en la detección de cáncer de vejiga no músculo invasivo es la cistoscopia con luz blanca. En el caso de sospecha de Tis se recomienda sin embargo el uso de una cistoscopia de fluorescencia (Babjuk *et al.*, 2015), mediante lo cual pueden hallarse en promedio un 20 % más de Tis (Witjes *et al.*, 2010).
- 45 El precursor de porfirina ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) y el derivado ácido hexaminolevulínico (HAL) se usan en el diagnóstico de fluorescencia. Las dos sustancias son profármacos. Mediante metabolización del pro-fármaco se produce una molécula fotoactiva, que se usa para el PDD. La única sustancia autorizada como fármaco para el PDD en la indicación carcinoma de vejiga es el ácido hexaminolevulínico (Hexvix®, Cysview®).
- 50 Se conocen las propiedades de hipericina (1,3,4,6,8,13-hexahidroxi-10,11-dimetilfenantro (1,10,9,8-opqra) perilen-7,14-diona) como fotosensibilizador e indicador para células cancerígenas, especialmente para la detección de tumores no músculo invasivos del urotelio. La hipericina no es ningún pro-fármaco y no debe metabolizarse en el tejido, sino que puede estimularse directamente con luz con una longitud de onda adecuada, tan pronto como la hipericina se haya acumulado en el tejido.
- 55 Sin embargo, la hipericina pura es hidrófoba e insoluble en agua. Por este motivo se usaron en el pasado en estudios preclínicos un polímero soluble en agua, polietilenglicol (PEG), o en estudios clínicos proteínas séricas como transportadores/vehículos de hipericina eficaces para llevar la hipericina insoluble a las células diana (D'Hallewin *et al.*, 2000 y 2002; Olivo *et al.*, 2003; Pytel *et al.*, 2002).
- 60 La solubilidad de hipericina puede elevarse mediante la presencia del coadyuvante polivinilpirrolidona ("povidona", PVP) (documento WO 01/89576 A2).
- Una formulación de 25 mg de PVP y 0,25 mg de hipericina se sometió a estudio clínicamente en 57 pacientes (Kubin *et al.*, 2008). Con respecto a lesiones planas (Tis y displasias) se consiguió en el plano de lesión una tasa de detección del 100 % en cuanto a Tis y del 85 % en cuanto a displasias con PDD respaldado con PVP-hipericina, mientras que se detectaron con cistoscopia con luz blanca sólo el 33 % (Tis) y el 31 % (displasias).
- 65

La detección mejorada en el plano de lesión se muestra también en el plano del paciente: en un 16 % de los pacientes, el PDD respaldado con PVP-hipericina detecta lesiones que se pasaron por alto en la cistoscopia con luz blanca. El tiempo de instilación (tiempo de permanencia en la vejiga) de la solución de PVP-hipericina se encontraba en 60-220 minutos (en promedio 111 ± 39 (DE) minutos (Kubin *et al.*, 2008).

Aunque el estudio de PDD conocido ha conseguido buenos resultados, sigue sin solucionar un problema grave. El tiempo de instilación largo (que significa el mantenimiento de la solución administrada en la vejiga del paciente) de al menos 60 minutos representa una carga para pacientes con carcinoma de vejiga no músculo invasivo, que muy frecuentemente padecen dolores y espasmos.

El documento WO 2015/131891 A1 se refiere al uso de hipericina en forma de la sal de sodio tanto para el diagnóstico fotodinámico como también para la terapia fotodinámica.

El producto dado a conocer en el documento WO 2015/131891 A1 se encuentra en forma de una solución libre de agua en alcohol (concretamente etanol) y contiene como solubilizador PEG. La solución ha de diluirse antes de su uso como fotosensibilizador en una solución de vehículo (solución de glucosa).

La solución de infusión así obtenida debe contener de 0,01 a 0,05 mg de hipericinato de sodio y debe administrarse durante un espacio de tiempo de 90 minutos.

La invención se basa en el objetivo de facilitar una formulación farmacéutica estéril de hipericina, que pueda prepararse a escala técnica y presente una correspondiente estabilidad a largo plazo. Esta formulación de hipericina debe poder usarse como diagnóstico para cáncer de vejiga de manera menos problemática que las formulaciones conocidas.

Se soluciona el objetivo mencionado anteriormente con una formulación de hipericina que presenta las características de la reivindicación 1.

Las formas de realización preferentes y ventajosas de la formulación de acuerdo con la invención son objeto de las reivindicaciones dependientes. Sorprendentemente se ha mostrado que la formulación de hipericina de acuerdo con la invención es estable y con ello puede usarse en condiciones clínicas sólo cuando hipericina se encuentra como sal.

En el contexto de un estudio clínico se ha mostrado que es especialmente muy adecuada la formulación de hipericina de acuerdo con la invención para la detección de lesiones malignas en pacientes con sospecha de carcinoma de vejiga no músculo invasivo. Además, la formulación de hipericina de acuerdo con la invención permite sin alteración de los resultados del PDD tiempos de instilación considerablemente más cortos, lo que significa una reducción ventajosa de la carga de los pacientes.

Sorprendentemente ha resultado una aplicación de la formulación de acuerdo con la invención con una dosis de 22,5 mg de PVP y 0,225 mg de hipericina en combinación con un tiempo de instilación de 30 a como máximo 50 minutos para un PDD del carcinoma de vejiga no músculo invasivo como dosis óptima.

Con ayuda de la formulación de acuerdo con la invención, con un tiempo de instilación de 30 a 50 minutos, pudieron identificarse en un 35 % de los pacientes lesiones de Tis que se habían pasado por alto con la cistoscopia con luz blanca.

Una eliminación completa del tumor (resección) representa la primera etapa importante para la terapia de los pacientes. Con frecuencia es difícil una resección completa del tejido del tumor. Esto tiene como consecuencia que se pase por alto el material tumoral y permanezca en la vejiga del paciente. Por este motivo es especialmente importante detectar y eliminar completamente los bordes y límites del tejido tumoral.

La aplicación de la formulación de acuerdo con la invención con un contenido en hipericina de 0,225 mg (ejemplo 1) mostró una mejor capacidad de reconocimiento del detalle de tejido, especialmente en cuanto a las zonas de borde de los tumores. Debido a ello se facilita una discriminación entre tejido maligno y benigno y el tumor puede eliminarse completamente.

Esta mejor diferenciación entre tejido maligno y benigno puede conseguirse igualmente con un contenido en hipericina de 0,500 mg y un tiempo de instilación de sólo 15 minutos.

Después de que se hayan asociado lesiones de Tis con tasas de recidiva extremadamente altas y una probabilidad muy alta del avance (esto significa el desarrollo de un tumor en un estadio más avanzado o la aparición de metástasis), una tasa de detección mejorada y con ello una eliminación completa del tumor con ayuda de la formulación de hipericina de acuerdo con la invención representan una ventaja significativa con respecto al desarrollo posterior de la enfermedad.

El tiempo de instilación necesario en el caso del uso de la formulación de acuerdo con la invención de 15, en promedio de 30 a como máximo 50 minutos es significativamente más corto que cualquier tiempo de instilación, que se usa para un PDD con ácido hexaminolevulínico. Ya tras un tiempo de instilación de en promedio 30 minutos pudieron diagnosticarse lesiones malignas con ayuda de la formulación de hipericina mencionada. Este tipo de instilación claramente acortado representa una gran facilidad para pacientes con carcinoma de vejiga no músculo invasivo y eleva la probabilidad del cumplimiento del tiempo de acción necesario.

A continuación se describen ejemplos de la formulación de hipericina de acuerdo con la invención:

El modo de procedimiento general para la preparación de una formulación con el principio activo hipericinato de sodio:

El objetivo es la preparación de una formulación que contiene hipericina para su uso como fotosensibilizador en el campo del diagnóstico fotodinámico.

La formulación de acuerdo con la invención se prepara a partir de una sal de hipericina, en particular de hipericinato de Na.

Para definir el contenido en hipericina del material de partida, junto a la determinación del contenido se registran sobre todo el contenido en agua y en el caso de hipericinato de sodio la proporción de sodio. Las propiedades químico-físicas pueden tener una influencia sobre la formulación del producto farmacéutico.

Para aplicación clínica es necesaria una estabilidad de la formulación de acuerdo con la invención. La estabilidad se garantiza mediante la composición del producto acabado y se refiere al mismo tiempo también al procedimiento de preparación. Mediante los sistemas tampón usados puede conseguirse también durante la preparación hasta la liofilización del producto acabado una suficiente estabilidad de la solución en bruto.

Como sistemas tampón pueden recurrirse a distintos aditivos que consiguen preferentemente tanto para la solución en bruto como también para la solución reconstituida un valor de pH fisiológicamente compatible y una presión osmótica tras la reconstitución con 50 ml de agua para preparaciones inyectables de 290 mOsmol/kg. Principalmente pueden usarse sistemas de tampón fosfato o citrato.

Tras la preparación de la solución en bruto a partir de las partes constituyentes mencionadas anteriormente se introduce la correspondiente cantidad de la solución en bruto en frascos de inyección y se liofilizan.

Ejemplo 1:

A partir del hipericinato de Na se prepara una solución con un peso diana de 27,0 mg de hipericina.

A 562,5 mg de PVP k25 se añadieron 5,0 g de la solución de hipericina y se disolvieron completamente.

Esta solución se rellena de manera cuantitativa con una solución de tampón fosfato hasta obtener 250,0 g. La concentración final de esta solución es 0,0225 mg de hipericina/g de solución.

Para la liofilización se introduce una cantidad definida de la solución en bruto así obtenida en frascos de inyección y con un correspondiente programa de liofilización se prepara el liofilizado acabado.

Ejemplo 2:

Se trabaja tal como se indica en el ejemplo 1, usándose en lugar de PVP k25 para la complejación de hipericinato de Na PVP k17.

Ejemplo 3:

Se trabaja tal como se indica en el ejemplo 1, usándose en lugar de PVP k25 para la complejación de hipericinato de Na PVP k30.

Ejemplo 4:

Se trabaja tal como se indica en el ejemplo 1, 2 o 3, usándose en lugar de la solución de tampón fosfato una solución tampón de ácido cítrico.

Las soluciones en bruto preparadas tal como se ha descrito en los ejemplos 1 a 4 pueden producirse con distintos contenidos en hipericina.

A partir de la solución madre de hipericina (preparada a partir del hipericinato de sodio) pueden prepararse las

siguientes diluciones antes del procesamiento posterior:

- A 0,4 g de la solución de hipericina mencionada en el ejemplo 1 se añade una cantidad definida de disolvente y se homogeneiza. En este caso se añaden en la etapa posterior sólo 187,5 mg de PVP (son posibles distintos tipos de PVP) para la formación de complejos. Con ello se consigue en la solución en bruto acabada una concentración final de 0,0075 mg de hipericina/g de solución.
- A 0,2 g de la solución de hipericina mencionada en el ejemplo 1 se añade una cantidad definida de disolvente y se homogeneiza. En este caso se añaden en la etapa posterior sólo 62,5 mg de PVP (son posibles distintos tipos de PVP) para la formación de complejos. Con ello se consigue en la solución en bruto acabada una concentración final de 0,0025 mg de hipericina/g de solución.

En un estudio clínico se instiló la formulación de hipericina de acuerdo con el ejemplo 1 con una dosis de 22,5 mg de PVP y 0,225 mg de hipericina durante un periodo de tiempo de en promedio 30 a 35 minutos, como máximo hasta 50 minutos, en la vejiga del paciente. Después se realizó una cistoscopia, en primer lugar con luz blanca, después con luz fluorescente. Las lesiones sospechosas se extrajeron y se clasificaron por medio de estudios histológicos.

En 20 pacientes en total pudieron detectarse lesiones Tis y se comprobaron de manera histológica. El PDD que usa una formulación de hipericina de acuerdo con la invención muestra a este respecto una ventaja decisiva en la detección de Tis en un 35 % de los pacientes. En estos pacientes permanecerían sin detectar las lesiones Tis sin el PDD, que usa la formulación de hipericina de acuerdo con la invención.

Referencias:

Babjuk M, Böhle A, Burger M, Comperat E, Kaasinen E, Palou J, Rouprêt M, van Rhijn BWG, Shariat S, Sylvester S, and Zigeuner R. European Association of Urology Guidelines 2015 edition: Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1 and CIS)

Burger M, Grossman HB, Droller M, Schmidbauer J, Hermann G, Dr Goescu O, Ray E, Fradet Y, Karl A, Burgues JP, Witjes JA, Stenzl A, Jichlinski P, Jocham D. Photodynamic diagnosis of non-muscle-invasive bladder cancer with hexaminolevulinate cystoscopy: a meta-analysis of detection and recurrence based on raw data. Eur Urol. 2013 Nov; 64(5):846-854

D'Hallewin MA, de Witte P A, Waelkens E, Merlevede W, Baert L Fluorescence detection of flat bladder carcinoma in situ after intravesical instillation of Hypericin. J. Urol. 2000; 164 (2) :349-351

D'Hallewin MA, Kamuhabwa AR, Roskams T, de Witte PAM, Baert L. Hypericin-based fluorescence diagnosis of bladder carcinoma. BJU International 2002; 89:760-763

D'Hallewin MA, Bezdetnaya L, Guillemin F. Fluorescence detection of bladder cancer: A review. Eur Urol. 2002; 42(5):417-425

Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. Eur J Cancer. 2013 Apr;49(6):1374-1403

Kausch I, Sommerauer M, Montorsi F, et al.: Photodynamic diagnosis in non-muscleinvasive bladder cancer: a systematic review and cumulative analysis of prospective studies. Eur Urol. Apr 2010; 57 (4) :595-606

Kubin A, Meissner P, Wierrani F, Burner U, Bodenteich A, Pytel A, Schmeller N. Fluorescence diagnosis of bladder cancer with new water soluble hypericin bound to polyvinylpyrrolidone: PVP-Hypericin. Photochem Photobiol. 2008; 84(6):1560-1563

Olivo M, Lau W, Manivasager V, Tan PH, Soo K C, Cheng C. Macromicroscopic fluorescence of human bladder cancer using Hypericin fluorescence cystoscopy and laser confocal microscopy. Int J Oncol 2003; 23(4):983-990

Pytel A, Schmeller N. New aspect of photodynamic diagnosis of bladder tumors: fluorescence cytology. Urology 2002; 59:216-219

Stenzl A, Burger M, Fradet Y, Mynderse LA, Soloway MS, Witjes JA, Kriegmair M, Karl A, Shen Y, Grossman HB. Hexaminolevulinate guided fluorescence cystoscopy reduces recurrence in patients with nonmuscle invasive bladder cancer. J Urol. Nov 2010; 184 (5) :1907-1913

Witjes JA, Douglass J. The role of hexaminolevulinate fluorescence cystoscopy in bladder cancer. Nat Clin Pract Urol. 2007 Oct;4(10) :542-549

Witjes JA, Redorta JP, Jacqmin D, Sofras F, Malmström PU, Riedl C, Jocham D, Conti G, Montorsi F, Arentsen HC, Zaak D, Mostafid AH, Babjuk M. Hexaminolevulinate-guided fluorescence cystoscopy in the diagnosis and follow-up of patients with non-muscle-invasive bladder cancer: review of the evidence and recommendations. *Eur Urol.* 2010 Apr;57(4):607-614

REIVINDICACIONES

- 5 1. Formulaci3n para la preparaci3n de una soluci3n de instilaci3n, que puede usarse en el diagn3stico fotodinámico, que contiene hipericina unida a un agente formador de complejo polimérico, concretamente un polietilenglicol o una poli-N-vinilamida, en forma de una sal de metal alcalino, en particular de la sal de potasio o de la sal de sodio, en la que la soluci3n de instilaci3n contiene 0,225 mg de hipericina, **caracterizada por que** la formulaci3n es un liofilizado estable que se ha obtenido a partir de una soluci3n acuosa que contiene la sal de metal alcalino de hipericina, el agente formador de complejo y un sistema tamp3n, en particular un tamp3n fosfato o una soluci3n tamp3n de ácido cítrico.
- 10 2. Formulaci3n seg3n la reivindicaci3n 1, **caracterizada por que** la poli-N-vinilamida es polivinilpirrolidona (PVP) de distinto grado de polimerizaci3n y de reticulaci3n.
- 15 3. Procedimiento para la preparaci3n de una formulaci3n estable seg3n la reivindicaci3n 1 o 2, **caracterizado por** las siguientes etapas de procedimiento sucesivas,
- 20 a) se prepara una soluci3n acuosa de la sal de metal alcalino de hipericina,
b) la soluci3n obtenida en la etapa a) se ańade al agente formador de complejo, en particular polivinilpirrolidona, y se disuelve,
c) a la soluci3n obtenida en la etapa b) se ańade un tamp3n fosfato o una soluci3n tamp3n de ácido cítrico, para obtener una concentraci3n de 0,0225 mg de hipericina/g de soluci3n y
d) se liofilizan proporciones de la soluci3n en bruto obtenida seg3n la etapa c).