

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 800 915**

51 Int. Cl.:

A61L 26/00 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.06.2013** E 16196808 (6)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2020** EP 3153185

54 Título: **Composición que contienen glucosilglicerol para promover la regeneración de tejidos corporales lesionados**

30 Prioridad:

09.07.2012 DE 102012013482

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

05.01.2021

73 Titular/es:

**BITOP AG (100.0%)
Stockumer Strasse 28
58453 Witten , DE**

72 Inventor/es:

**BILSTEIN, ANDREAS;
SCHERNER, OLAF y
LENTZEN, GEORG**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 800 915 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 que contienen glucosilglicerol para promover la regeneración de tejidos corporales lesionados

La invención se refiere a una composición con la que se puede promover la regeneración de tejido corporal lesionado.

5 Las lesiones a los tejidos corporales pueden ocurrir de diferentes maneras. En particular, los tejidos pueden verse afectados por influencias externas; es decir, pueden surgir de una manera traumática. Tales lesiones tisulares, particularmente en el área de la piel o la membrana mucosa, generalmente también se conocen como heridas. Además de las lesiones tisulares que pueden atribuirse a influencias externas, las lesiones no traumáticas también se conocen como úlceras (llagas).

10 Por lo general, la regeneración del tejido corporal dañado comienza naturalmente poco después de la lesión. En el caso de una herida, la coagulación de la sangre empieza muy rápidamente, de modo que el vaso sanguíneo destruido se cierra por un tapón (coágulo) de sangre. En la fase de exudación posterior, emergen secreciones de la herida, por lo que se extraen cuerpos extraños y gérmenes de la herida. El sistema inmunitario se ocupa de la destrucción de las bacterias.

15 En una fase de proliferación posterior, se crea nuevo tejido conjuntivo de modo que se rellena el defecto causado por la herida. Finalmente, en una fase de regeneración, la herida se cierra por crecimiento excesivo con células epiteliales que se originan a partir del tejido epitelial intacto en el área de los bordes de la herida.

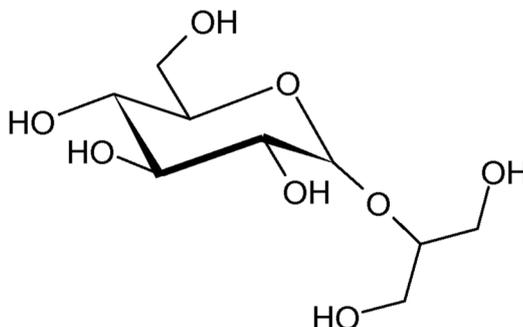
20 Mientras que la cicatrización natural por regla general y en el caso de heridas no demasiado grandes discurre relativamente sin problemas, pueden producirse complicaciones en el caso de heridas de gran superficie entre otras cosas debido a la fuerte formación de exudado. Lo mismo se aplica para distintas úlceras. Además, son especialmente problemáticas las heridas crónicas que pueden atribuirse a una carga de presión permanente (decúbito) o también una cicatrización retardada como consecuencia de la Diabetes mellitus. Esto último conduce en algunos pacientes al denominado síndrome del pie diabético, que es responsable de 2/3 de todas las amputaciones en Alemania.

Por consiguiente, se plantea el objetivo de proporcionar un producto con el que pueda soportarse y fomentarse la regeneración de mucosa lesionada.

25 Este objetivo se logra de acuerdo con la invención mediante una composición para su uso según la reivindicación 1.

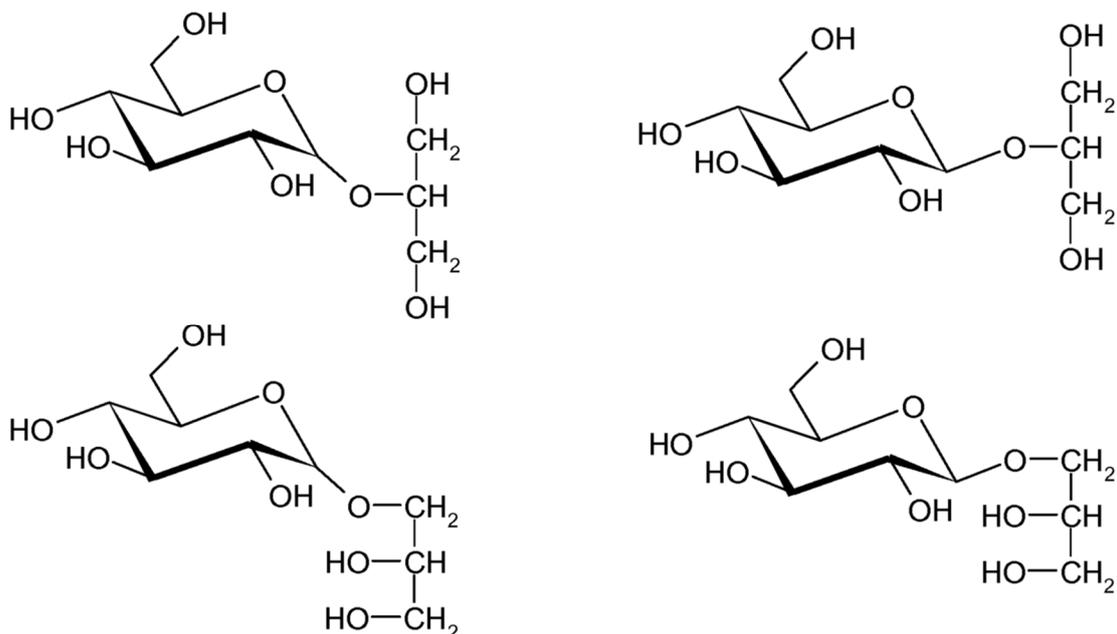
El glucosilglicerol, más exactamente el 2-O- α -D-glucosilglicerol, se conoce como un producto natural y se sintetiza, por ejemplo, por las cianobacterias, para las cuales sirve como sustancia osmoprotectora. De esta manera, se les permite a las cianobacterias el crecimiento en medios salinos con una concentración de hasta 1,5 M de NaCl. La molécula se acumula en altas concentraciones en el citoplasma para reducir de esta manera la presión osmótica presente en el medio ambiente debido a la alta concentración de sal y proteger a la célula de la pérdida de agua. Un ejemplo es la cianobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803.

35 Además, la molécula también es sintetizada por plantas del género *Myrothamnus*. Estas plantas son poikilohídricas; *Myrothamnus flabellifolia* es un pequeño arbusto del sur de África que crece en losas de roca y mide hasta 60 centímetros de altura. La planta sobrevive en estado seco sin daños a los varios meses de sequía que se presentan allí. Sin embargo, tan pronto como llueve, la planta se vuelve verde nuevamente en unas pocas horas, por lo que también se le da el sobrenombre de "planta de resurrección". El uso de glucosilglicerol como humectante es conocido en el campo de la cosmética y la dermatología (publicación DE 195 40 749 A1). Además, la publicación DE 10 2008 039 231 A1 también muestra el uso de glucosilgliceroles para aumentar la expresión de enzimas protectoras celulares. La publicación japonesa JP 2009-161564 A divulga el uso de glucosilglicerol para el tratamiento de dermatitis atópica. La estructura del 2-O- α -D-glucosilglicerol es la siguiente:



El glucosilglicerol es preferiblemente el 2-O- α -D-glucosilglicerol que existe en la naturaleza, como se acumula, por ejemplo, por las cianobacterias del género *Synechocystis*. Sin embargo, también se pueden esperar efectos correspondientes en el caso de que la glucosa esté unida a la molécula de glicerol por un enlace β -glicosídico o en el

caso de la unión de la glucosa con la molécula de glicerol en la posición 1. En particular, además del uso de glucosilglicerol natural, también es concebible el uso de 1-O- α -glucosilglicerol, 1-O- β -glucosilglicerol y 2-O- β -glucosilglicerol en la configuración D y L. Las moléculas individuales (aquí solo la configuración D) se representan a continuación:



El tejido corporal, cuya regeneración puede promoverse según la invención mediante las composiciones que contienen glucosilglicerol, puede ser en particular piel o membrana mucosa. En particular, la lesión puede ser de naturaleza traumática. Por esta se entiende que la lesión es provocada por influencias externas; por ejemplo, golpes, cortes, pinchazos, mordeduras o similares. Tales heridas causadas mecánicamente pueden surgir, por ejemplo, de accidentes o durante operaciones.

En el caso de las membranas mucosas dañadas, también se habla de mucositis, cuyo tratamiento también se incluye en la promoción de la regeneración del tejido corporal lesionado de acuerdo con la invención. Una mucositis puede tener diferentes causas. Debido a que las células de las membranas mucosas tienen una alta tasa de regeneración, la mucositis, por ejemplo, a menudo ocurre como un efecto secundario en el tratamiento del cáncer mediante quimioterapia o radioterapia. Además, un sistema inmunitario debilitado, por ejemplo, en pacientes inmunodeprimidos, provoca un aumento de las infecciones, lo que a su vez puede provocar inflamación de la membrana mucosa. En particular pueden verse afectadas las membranas mucosas orales y las membranas mucosas del sistema digestivo (estómago, intestinos).

Sin embargo, aparte de las heridas causadas mecánicamente, existen otros tipos de lesiones tisulares que también pueden tratarse con la ayuda de la composición según la invención. Estas incluyen, por ejemplo, heridas térmicas debido a combustión, escaldadura o congelamiento, quemaduras, quemaduras químicas o heridas que pueden atribuirse a la radiación ionizante.

Además de promover la regeneración del tejido corporal lesionado, en cuyo caso la lesión es atribuible a influencias externas, la composición según la invención también es adecuada para el tratamiento de úlceras (llagas). Estas pueden tener diferentes causas; por ejemplo, trastornos circulatorios, tumores o infecciones. Con la ayuda de la composición según la invención son tratables úlceras como las úlceras varicosas ("pierna abierta"), úlceras por presión (decúbito), malum perforans (úlceras por presión en el pie), chancro (Ulcus durum), chancroide (Ulcus molle), crecimiento ulceroso primitivo (Ulcus rodens) y úlceras corneales (Ulcus corneae) y otras.

La composición es particularmente importante en el tratamiento de lesiones crónicas, en particular heridas crónicas o úlceras crónicas. Un ejemplo es el síndrome del pie diabético (DFS), también conocido coloquialmente como pie diabético. En este caso se originan lesiones menores, especialmente en el pie o la parte inferior de la pierna, que se curarían por sí mismas sin ningún problema, pero a menudo son permanentes debido a la mala cicatrización de heridas en pacientes con diabetes. La mala cicatrización de heridas puede atribuirse, entre otras cosas, a trastornos circulatorios en pacientes con diabetes. Con el síndrome del pie diabético, las llagas pueden extenderse profundamente en la parte del cuerpo, con el riesgo adicional de infección por gérmenes. El número de amputaciones requeridas anualmente debido al síndrome del pie diabético es considerable, lo que resulta en la necesidad de proporcionar una opción de tratamiento eficaz.

Otro daño tisular que se presenta de manera común se conoce como úlceras por presión (úlceras por presión, úlcera de decúbito). Las úlceras de decúbito se producen especialmente en personas que necesitan atención y que están confinadas en la cama y en las que ciertas partes del cuerpo están expuestas a una presión constante. Si la presión que actúa sobre los vasos excede la presión capilar de los vasos, las células tienen un suministro insuficiente de oxígeno y nutrientes y se daña el tejido. Mientras que las úlceras por presión generalmente no ocurren en personas sanas, ya que se reposicionan regularmente y alivian áreas de la piel en riesgo, en personas que necesitan atención los reflejos correspondientes a veces solo están presentes de forma limitada. Las úlceras por presión pueden ocurrir particularmente en aquellas áreas de la piel donde los huesos están particularmente cerca de la superficie de la piel. Finalmente, también existe el riesgo de que una úlcera de decúbito abierta conduzca a la penetración de gérmenes. Dada la cantidad de personas que necesitan atención y las considerables consecuencias de las úlceras por presión, existe una necesidad particular de opciones de tratamiento para esta indicación.

La promoción de la regeneración del tejido corporal lesionado también es ventajosa porque puede prevenir la formación de cicatrices. Se ha demostrado que mediante la composición según la invención se curan mejor las heridas, en particular de la piel y, por razones estéticas, previene cicatrices no deseadas.

La composición de acuerdo con la invención está destinada en particular a la administración sobre el tejido corporal lesionado; es decir que la aplicación se efectúa particularmente a nivel local o tópico. Por consiguiente, la composición puede presentarse como una pomada, crema, loción, leche, líquido, emulsión, microemulsión, aerosol, suspensión, pasta, polvo o como otro sólido.

La composición puede contener adyuvantes habituales, por ejemplo, soportes, conservantes, bactericidas, solubilizantes, vitaminas, estabilizadores, sustancias para evitar la formación de espuma, espesantes, colorantes, sustancias tensioactivas, emulsionantes, sustancias hidratantes, entre otros.

Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener los soportes habituales, por ejemplo, grasas animales y vegetales, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, sílice, talco y óxido de zinc o mezclas de estas sustancias.

Las composiciones pueden contener ingredientes activos adicionales, pero en particular también es posible y suficiente para promover la regeneración del tejido corporal, usar composiciones que contienen solo glucosilglicerol o ésteres correspondientes como ingrediente activo.

Por ejemplo, es posible la combinación de glucosilglicerol o derivados correspondientes con uno o más ingredientes activos seleccionados de: dexpantenol o derivados, extracto de árnica montana (árnica), capsaicina, extracto de pimiento (capsicum), extracto de hypericum perforatum (hierba de San Juan o hipérico), cardiospermum halicacabum (farolillos de enredadera, semillas de corazón), extracto de Hamamelis virginiana (hamamelis), tocoferol, alantoína, bisabolol, extracto de cacao, plata, nanoplata, microplata, plata amorfa, sales de plata, zinc, óxido de zinc, extracto de calendula officinalis (caléndula), miel y extractos de miel, propóleos, extracto de Melilotus officinalis (trébol dulce, memiloto amarillo), extracto de consuelda (Symphytum), extracto de Echium vulgare (viborera, buglosa, chupamieles, hierba azul, lengua de vaca), comino, extracto de Angelica sinensis (ginseng), ácido ferúlico, ácido hialurónico, extracto de aloe vera, extracto de matricaria recutita (manzanilla), extracto de Allium cepa (cebolla), extracto de Achillea millefolium (milenrama), extracto de Glycyrrhiza inflata (regaliz), Licochalcona A, silicona, urea, extracto de Echinacea purpurea (equinácea), ácido chicórico.

La concentración de glucosilglicerol y/o ésteres correspondientes puede estar en particular en un intervalo entre 0,01 y 50% en peso, en particular entre 0,5 y 20% en peso y particularmente preferiblemente entre 1 y 10 % en peso.

Ejemplo 3: Promoción de la cicatrización de heridas por hidroxietoína (no según la invención) y glucosilglicerol usando punzones de piel porcina ex vivo.

Se usó un modelo de curación de heridas porcino ex vivo, como se describe en la patente DE 103 17 400 B4.

Muestras:		
	Concentración (% en peso)	Osmolaridad
Hidroxietoína I	3,84	302
Hidroxietoína hipertónica	6	454
Glucosilglicerol I	4,76	305
Glucosilglicerol hipertónico	7,55	476
PBS hipertónico		463
PBS isotónico		
PBS: solución salina con pH regulado por fosfato		

Se retiraron punzones con un diámetro de 6 mm de las capas de orejas de cerdo lavadas y esterilizadas. La epidermis y la dermis superior se eliminaron del centro de los punzones en una región de 3 mm. Inmediatamente después de la

generación de los modelos, se agregaron 5 µl de las sustancias de prueba a las heridas y se aplicaron 5 µl de PBS a los modelos de control. Después de 48 h (t_{48h}), los modelos se congelaron rápidamente y se almacenaron a -80 °C.

Se llevaron a cabo 14 series de experimentos, de modo que para cada muestra estaban disponibles 8 a 11 modelos evaluables.

5 Elaboración de cortes de los modelos:

Los modelos se incrustaron completamente en medio de congelación de tejidos (Leica, Nussloch) y se elaboraron cortes delgados de 6 µm con el criostato. Se aseguró de que estuviera en el centro del modelo respectivo. Los cortes se colocaron en portaobjetos SuperFrost, se secaron al aire, se fijaron en acetona a -20 °C durante 10 minutos y se almacenaron a -80 °C.

10 Todos los modelos se tiñeron con hematoxilina/eosina (2 cortes cada uno). El transcurso de la coloración fue el siguiente:

- 1) 6 min de incubación con hematoxilina
- 2) enjuague brevemente con agua corriente
- 3) enjuague brevemente en HCl-alcohol

15

- 4) 15 min enjuague en agua corriente
- 5) enjuague brevemente en agua destilada
- 6) 1 min incubación en eosina (0,2%)
- 7) enjuague brevemente con agua corriente
- 8) 20 segundos de incubación en agua destilada

20

- 9) de a 20 segundos de incubación en serie de alcohol ascendente (50%, 50%, 96%, 2 x 100%)
- 10) 20 segundos de incubación en xileno
- 11) luego: secar cortes y cubrir con Eukitt

Las tinciones se evaluaron en un microscopio óptico Leica DM LS y una cámara digital Olympus Camedia.

Evaluaciones estadísticas (puntuación de cicatrización de heridas):

25

- 0: sin progreso de curación de heridas
- 1: pequeña lengüeta de herida
- 2: gran lengüeta de herida
- 3: lámina cerrada
- 4: lámina cerrada de múltiples capas

30

Si ambos bordes de la herida fueron evaluables, se formó el centro entre el borde de la herida izquierdo y derecho. Las evaluaciones estadísticas se llevaron a cabo utilizando la prueba t de Student emparejada.

Evaluación:

35

1) Progreso absoluto en la cicatrización de heridas (todos evaluables a partir de 14 modelos; es decir, sin modelos con 2 folículos pilosos en la herida o grandes cráteres), HE: Hidroxiectoína; GG: glucosilglicerol; MW: valor medio; σ : desviación estándar:

	MW	σ	SEM
HE I	1,92	0,96	0,30
HE hipertónica	2,08	0,72	0,23
GG I	2,12	0,81	0,31
GG hipertónico	1,66	0,93	0,30
PBS hipertónico	1,60	0,84	0,28
PBS isotónico	1,84	0,81	0,26

La figura 1 muestra el resultado en forma de gráficos de barras. Las desviaciones estándar se muestran como líneas sobre la barra (PBS = PBS isotónico).

2) Progreso de cicatrización de heridas relacionado con el control de PBS; esta evaluación se lleva a cabo para tener en cuenta el potencial de cicatrización de heridas del cerdo individual, que se determina mediante los valores obtenidos con PBS:

	MW	σ	SEM
HE I	1,05	0,62	0,20
HE hipertónica	1,21	0,53	0,17
GG I	1,42	0,67	0,25
GG hipertónico	1,17	0,78	0,25
PBS hipertónico	0,78	0,30	0,10
PBS isotónico	1,00	0	0

5 La figura 2 muestra el resultado en forma de gráficos de barras. Las desviaciones estándar se muestran como líneas sobre la barra (PBS = PBS isotónico).

Tanto la hidroxietoína, como también el glucosilglicerol muestran una mejor cicatrización de heridas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que contiene como principio activo glucosilglicerol y/o ésteres de este compuesto para usar en la promoción de la regeneración de tejidos corporales lesionados, en donde la lesión del tejido corporal es una herida, el síndrome de pie diabético o una úlcera; en donde la úlcera es úlcera varicosa, úlcera por presión (decúbito), malum perforans (úlcera por presión en el pie), chancro (Ulcus durum), chancroide (Ulcus molle), carcinoma basocelular (Ulcus rodens) o úlcera corneal (Ulcus corneae).
2. Composición para usar según la reivindicación 1, **caracterizada porque** el tejido corporal es una piel o una mucosa.
- 10 3. Composición para usar según las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizada porque** la lesión del tejido corporal es una herida térmica debido a combustión, escaldadura o congelamiento, quemadura, quemadura química o una herida que puede atribuirse a radiación ionizante.
4. Composición para usar según las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizada porque** la lesión del tejido corporal es una fisura anal o una lesión de hemorroides.
5. Composición para usar según una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizada porque** el glucosilglicerol es 2-O- α -glucosilglicerol o 2-O- β -glucosilglicerol.
- 15 6. Composición para usar según la reivindicación 5, **caracterizada porque** el glucosilglicerol es 2-O- α -D-glucosilglicerol.
- 20 7. Composición para usar según una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada porque** la composición contiene uno o varios principios activos seleccionados de: dexpanthenol o derivados, extracto de Arnica montana (árnica), capsaicina, extracto de cápsico, extracto de Hipericum perforatum (hierba de San Juan o hipérico), cardiospermum halicacabum (farolillos de enredadera, semillas de corazón), extracto de Hamamelis virginiana (hamamelis), tocoferol, alantoína, bisabolol, extracto de cacao, plata, nanoplata, microplata, plata amorfa, sales de plata, zinc, óxido de zinc, extracto de calendula officinalis (caléndula), miel y extractos de miel, propóleos, extracto de Melilotus officinalis (trébol dulce, memiloto amarillo), extracto de consuelda (Symphitum), extracto de Echium vulgare (viborera, buglosa, chupamieles, hierba azul, lengua de vaca), comino, extracto de Angelica sinensis (ginseng), ácido ferúlico, ácido hialurónico, extracto de aloe vera, extracto de Matricaria recutita (manzanilla), extracto de Allium cepa (cebolla),
- 25 extracto de Achillea millefolium (milenrama), extracto de Glycyrrhiza inflata (regaliz), Licochalcona A, silicona, urea, extracto de Echinacea purpurea (equinácea), ácido chicórico.

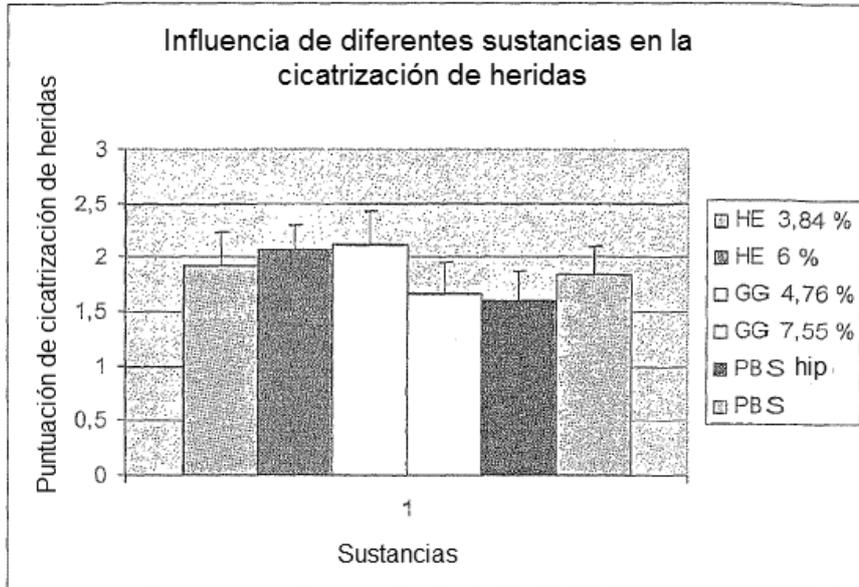


Figura 1

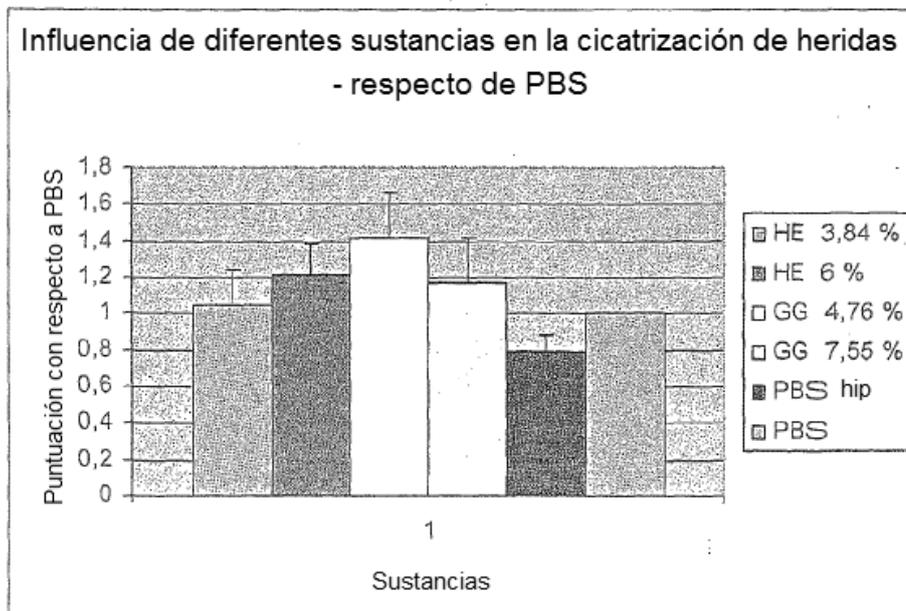


Figura 2