(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 338 946**

(51) Int. Cl.:
A61K 31/65 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **08075016 .9**
(96) Fecha de presentación : **12.02.1999**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1917966**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **07.05.2008**

(54) Título: **Agentes y procedimientos para la protección, tratamiento y reparación del tejido conjuntivo.**

(30) Prioridad: **13.02.1998 US 74594 P**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.05.2010

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.05.2010

(73) Titular/es: **NUTRAMAX LABORATORIES, Inc.**
2208 Lakeside Boulevard
Edgewood, Maryland 21040, US

(72) Inventor/es: **Henderson, Todd R.;**
Corson, Barbara E.;
Hammad, Tarek;
Soliman, Medat y
Lippiello, Louis

(74) Agente: **Temiño Ceniceros, Ignacio**

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).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Agentes y procedimientos para la protección, tratamiento y reparación del tejido conjuntivo.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones para la protección, tratamiento y reparación de tejidos conjuntivos en humanos y animales.

Antecedentes de la invención

Los tejidos de los mamíferos, incluidos los humanos, se encuentran en un estado de cambio constante entre los procesos anabólicos que crean tejidos y los procesos catabólicos que degradan tejidos. El estado de salud se da cuando hay un equilibrio entre estos dos procesos y los trastornos del equilibrio producen enfermedad. Esto es válido para todos los tejidos del cuerpo. Los tejidos conjuntivos son de especial importancia por varias razones. En primer lugar, dan soporte a las "células funcionales" del cuerpo, es decir, células epiteliales, musculares y neuronales. En segundo lugar, juegan papeles críticos en la comunicación intercelular, que es esencial para la vida multicelular.

El proceso inflamatorio ocupa una posición clave en este equilibrio. Cuando tiene lugar una lesión en los tejidos, la inflamación inicia los procesos bioquímicos que dan como resultado la reparación del tejido. Como la inflamación da como resultado síntomas de dolor, inflamación e hinchamiento de los tejidos implicados, con frecuencia se considera por parte de los pacientes y de los médicos como un estado anormal e indeseable, que debe tratarse y aliviarse tan pronto y de forma tan completa como sea posible. Como resultado, las farmacias están llenas de "fármacos antiinflamatorios" (tales como fármacos corticosteroides y fármacos antiinflamatorios no esteroideos, como la aspirina). Bajo determinadas circunstancias, la inflamación puede de hecho ser destructiva; no obstante, es importante recordar que la inflamación está estrechamente relacionada con la cicatrización del tejido. De hecho, la inflamación no se clasifica fácilmente como estrictamente anabólica o catabólica -- puede tener ambos efectos. Su propósito en el cuerpo es eliminar, diluir o aislar el (los) agente(s) perjudicial(es). También pone en marcha los procesos bioquímicos que reparan y reconstruyen el tejido dañado. Como es esencial para la cicatrización y debido a que también puede causar la destrucción del tejido, la inflamación y sus mediadores son factores importantes en el equilibrio anabólico y catabólico.

Un tipo muy importante de mediadores inflamatorios es el grupo eicosanoide. Los eicosanoides se sintetizan en el cuerpo a partir de ácidos grasos esenciales ("AGEs"). A través de una serie de reacciones bioquímicas, los ácidos grasos precursores se modifican para producir metabolitos intermedios, ácido araquidónico (AA), un AG omega-6 y ácido eicosapentanóico ("AEP"), un AG omega-3. Los eicosanoides producidos a partir de ácido araquidónico incluyen la serie 2- de prostaglandinas y la serie 4- de leucotrienos, que normalmente son proinflamatorias. Los eicosanoides procedentes del AEP, tales como las prostaglandinas de la serie 3- y el ácido hidroxieicosapentanóico ("HEPE"), son menos inflamatorios que los procedentes del AA. Además, dichos eicosanoides pueden tener incluso efectos antiinflamatorios.

Como tipo, los eicosanoides poseen una vida corta y son activos localmente. Son los responsables de los fenómenos iniciales de la inflamación, que incluyen la vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y quimiotaxis. Por otra parte, los eicosanoides contribuyen positivamente en las etapas tempranas del proceso de cicatrización. Por ejemplo, los eicosanoides provocan la liberación de citoquinas tales como la TGF-β, que a su vez estimula la migración y la proliferación de las células de tejido conjuntivo y la deposición de la matriz extracelular. Los eicosanoides constitutivos específicos también tienen efectos protectores en la mucosa gastrointestinal y en los riñones, debido a que mantienen la síntesis de glicosaminoglicano y la perfusión normal de estos órganos.

Debido a procesos anabólicos tales como estos y debido a la influencia de los agentes anticatabólicos y antioxidantes naturales en el cuerpo, el resultado final de la mayoría de los casos de inflamación es la resolución de la lesión y la cicatrización de los tejidos dañados. Solo en situaciones patológicas la propia inflamación se convierte en una colaboradora de la enfermedad.

La investigación sobre el uso terapéutico de AGEs precursores eicosanoides (que incluyen ácidos cis-linoléico y alfa-linoléico, los denominados ácidos grasos omega-3 y omega-6) se ha dirigido principalmente hacia su utilización como inhibidores competitivos de la síntesis de eicosanoides y, por consiguiente, a sus efectos antiinflamatorios. Excepto en los casos de trastorno nutricional agudo o absoluto, se ha dado poca atención a los efectos beneficiosos, anabólicos, que tienen los eicosanoides en los tejidos conjuntivos. No obstante, las deficiencias "subclínicas" de origen natural de eicosanoides probablemente contribuyen de forma significativa a la enfermedad y se encuentran subdiagnosticadas. Por ejemplo, la enzima delta-6-desaturasa es la responsable de la etapa implicada en la síntesis del AA. La actividad de esta enzima (delta-6-desaturasa) disminuye con la edad. Esto probablemente demuestra la existencia de un factor importante en la mayor incidencia existente en los segmentos de población de mayor edad de la disfunción del tejido conjuntivo, ya que una deficiencia de AA disminuirla los procesos anabólicos y permitirla que predominasen los fenómenos catabólicos.

Dada la importancia de la inflamación en la cicatrización de los tejidos y dado el papel protector que juegan algunos eicosanoides, no resulta sorprendente que las composiciones farmacéuticas que disminuyen la inflamación mediante

el bloqueo de la producción de eicosanoides también tengan efectos negativos en la cicatrización y en los procesos anabólicos. Hace tiempo que se ha descubierto que los fármacos corticosteroides, que son fuertemente antiinflamatorios, también retrasan la cicatrización y disminuyen la producción componentes de la matriz celular. Esto es así porque el cortisol y los compuestos relacionados estabilizan las membranas celulares y, por consiguiente, inhiben la liberación de fosfolipasa A2, el precursor del AA. Recientemente la atención se ha dirigido hacia los fármacos antiinflamatorios no esteroideos ("AINEs"). Numerosos estudios han mostrado que los AINEs, como los corticosteroides, pueden disminuir la síntesis de los componentes de la matriz por las células del tejido conjuntivo, porque inhiben la prostaglandina endoperóxido sintasa y, así, bloquean la vía de la ciclooxigenasa.

Como el proceso inflamatorio es la condición *sine qua non* de la cicatrización del tejido y dado que los eicosanoides son los mediadores del procedimiento inflamatorio, el uso de AA (y de otros compuestos eicosanoides) es un nuevo enfoque para la terapia de los tejidos lesionados. Kirkpatrick y col. investigaron el uso de precursores de prostanoides en cartílago de embrión de pollo en el cultivo de órganos y no encontraron efectos significativos. [Kirkpatrick, C.J., "Effects of Prostanoid Precursors and Indomethacin on Chick Embryonic Cartilage Growth in Organ Culture", *Expl. Cell Biol*., 51:192-200 (1993)]. El modelo experimental empleado en este trabajo puede haber contribuido a la ausencia de efectos significativos, ya que el cartílago de ave y el cartílago de embrión difieren significativamente del cartílago postnatal de mamíferos. Por ejemplo, el cartílago de embrión de cualquier especie es inicialmente hipermetabólico y anabólico ya que se encuentra en un periodo de crecimiento exponencial. Kent y col. examinaron los efectos del AA en cartílago de conejo y encontraron un efecto positivo, aunque las investigaciones anteriores y posteriores no confirmaron este efecto. [Kent, L. y col., "Differential Response of Articular Chondrocyte Populations to Thromboxane B2 and Analogs of Prostaglandin Cyclic Endoperoxidases", *Prostaglandins*, 19:391-406 (1980)]. Kirkpatrick y Gardner encontraron que el AA y diversos metabolitos del AA tenían efectos insignificantes o inhibidores en la biosíntesis [Kirkpatrick C.J. y Gardner. D.L., "Influence of PGA1 on Cartilage Growth", *Experientia*, 33(4):504 (1976)]. Estos resultados variables no son inesperados, ya que el equilibrio entre los procesos anabólicos y catabólicos en el cuerpo es delicado y se perturba fácilmente. Phan y col. sugieren que los productos del AA obtenidos a través de la vía de la ciclooxigenasa son antifibrogénicos, mientras que los productos del AA obtenidos a través de la vía de la lipooxigenasa son profibrogénicos. Este fenómeno demuestra la complejidad de las interacciones de los eicosanoides.

Los efectos catabólicos se encuentran típicamente intermediados en el cuerpo por enzimas que separan componentes del cuerpo. El catabolismo es esencial para la salud y un déficit de las enzimas necesarias da como resultado una enfermedad, tales como las denominadas enfermedades de almacenamiento como la mucopolisacaridosis. Un catabolismo excesivo también puede dar como resultado la rotura de los tejidos y conducir a una enfermedad, tal como en los casos de enfermedades degenerativas como la osteoartritis o las enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple. En el cuerpo varias sustancias anticatabólicas ayudan a contener y a equilibrar el catabolismo. Por ejemplo, el sulfato de condroitina contrarresta las metaloproteinasas que catabolizan el colágeno y los proteoglicanos en la matriz del cartílago. De forma similar, la alfa-uno antitripsina inhibe los efectos de la elastasa, lo que contribuye a la rotura alveolar en el enfisema.

El daño oxidativo también tiene un impacto en el equilibrio del anabolismo y el catabolismo en el cuerpo. Este daño es el resultado de los efectos de los radicales libres, sustancias que tienen un electrón desapareado. Los radicales libres se forman constantemente en el cuerpo como resultado de reacciones normales como la producción de ATP. Éstos también se forman durante el proceso inflamatorio. Los radicales libres causan daño celular porque son químicamente muy reactivos. Debido a que solo tienen un electrón individual, (un estado que la naturaleza aborrece tal como lo hace con el vacío), estas sustancias "roban" electrones de moléculas que se encuentren en sus proximidades. Las moléculas que constituyen estructuras celulares, tales como la membrana celular o el ADN se convierten de ese modo en estructuras deficientes en electrones. La deficiencia de electrones, a su vez, vuelve inestable a la estructura celular y tiene lugar la disfunción celular, que incluye la producción de proteínas anormales, ruptura celular y muerte celular. El daño oxidativo se encuentra implicado en muchos efectos catabólicos en el cuerpo, incluyendo el proceso de envejecimiento. Los antioxidantes, tales como la vitamina C, vitamina E, superóxido dismutasa (SOD), selenio y glutationa son sustancias que captan radicales libres antes de que tenga lugar el daño oxidativo. En el sentido de que evitan el daño celular, los antioxidantes son un tipo especifico de agente anticatabólico.

El cuerpo también contiene compuestos anabólicos que estimulan el crecimiento del tejido. La glucosamina es un amino azúcar que se forma en el cuerpo de manera natural a partir de la glucosa. Cuando se suministra de forma exógena, la glucosamina estimula la síntesis celular de tejido conjuntivo y, por consiguiente, aumenta las cantidades de matriz extracelular normal. La glucosamina también es el componente básico de los glicosaminoglicanos en el cartílago y en otros tejidos conjuntivos. El suministro de glucosamina adicional proporciona así al cuerpo materias primas extra para la síntesis de matriz en los tejidos conjuntivos. Otros ejemplos de compuestos anabólicos en el cuerpo incluyen la somatotropina, que estimula la síntesis de proteínas y las somatomedinas o factores de crecimiento similares a la insulina, que estimulan la proliferación de condrocitos y de fibroblastos y aumentan la síntesis de la matriz.

Las acciones e interacciones de estos compuestos son complejas. Un compuesto dado puede tener distintos efectos en distintos tejidos. Por ejemplo, la somatotropina aumenta la síntesis de proteínas (anabolismo), aunque también acelera la descomposición de las grasas (catabolismo). Los efectos que tendrán un compuesto o una combinación de compuestos en particular dependen de muchos factores, que incluyen la vía de administración, dosis y duración de la terapia.

Investigadores anteriores han investigado el uso de compuestos individuales en lo relativo a sus efectos anabólicos, antioxidantes o anticatabólicos. Se ha descubierto que en los cultivos celulares la glucosamina estimula a las células del tejido conjuntivo para producir los componentes de la matriz: colágeno y glicosaminoglicanos (GAGs). [Jimenez, S., "The Effects of Glucosamine sulfate on Chondrocyte Gene Expression", *Eular Symposium*, Madrid October 1996 Proceedings, páginas 8-10] . Se sabe que la S-adenosilmetionina participa en varias reacciones de síntesis, que incluyen la sulfatación de GAGs. [Champe, P. *Biochemistrv*, 2ª edición, J.B. Lippincott Co, Philadelphia. 1994, págs. 248, 250, 265]. Se ha descubierto que el ácido araquidónico estimula la cicatrización corneal. [Nakamura. M., "Arachidonic Acid Stimulates Corneal Epithelial Migration", *J. Ocul. Pharmacol*., Summer:10(2): 453-9 (1994)]. Por consiguiente, estos compuestos tienen efectos anabólicos.

El sulfato de condroitina ha mostrado que inhibe a las enzimas degradantes, que incluyen a las metaloproteinasas que destruyen la matriz del cartílago. [Bartolucci, C., "Chondroprotective action of chondroitin sulfate", *Int. J. Tiss. Reac*., XIII (6):311-317 (1991)]. Estudios con pentosan sulfato han mostrado que éste evita el daño mediado por complemento en células de miocardio de conejo. [Kilgore, K., "The Semisynthetic Polysaccharide Pentosan Polysulfate Prevents Complement-Mediated Myocardial Injury in the Rabbit Perfused Heart", *J. Pharmocol. Exp. Ther*., 285(3):987-94 (1998)]. La administración por vía oral de colágeno tipo II ha mostrado que disminuye la respuesta inmune perjudicial que destruye el tejido de las articulaciones en la artritis reumatoide. Los análogos de tetraciclina son potentes inhibidores de las metaloproteinasas de la matriz. [Ryan, M., "Potential of Tetracyclines to Modify Cartilage Breakdown in Osteoartritis", [*Curr. Opin. Rheumatol*., 8(3): 238-47 (1996)]. La diacereína modifica el proceso inflamatorio mediante la inhibición de la actividad de la interleucina-1 y también mediante efectos directos sobre los linfocitos y los neutrófilos. [Beccerica, E., "Diacetylrhein and rhein: *in vivo* and *in vitro* effect on lymphocyte membrane fluidity", *Pharmocol. Res*., 22(3):277-85 (1990); Mian. M., "Experimental Studies on Diacerhein: Effects on the Phagocytosis of Neutrophil Cells from Subcutaneous Carregeenan-Induced Exúdate", *Drugs Exp. Clin. Res*., 13(11):695-8 (1987): Spencer, C., "Diacerein", *Drugs*, 53(1): 98-106 (1997)]. Estos compuestos se pueden clasificar como agentes anticatabólicos.

La L-ergotionina capta radicales hidroxilo y puede inhibir la formación de oxigeno singlete, [Han JS. "Effects of Various Chemical Compounds on Spontaneous and Hydrogen Peroxide Induced Reversión in Strain TA104 of *Salmonella lyphimuriu*", *Mutant Res*., 266(2):77-84 (1992)], mientras que la superóxido dismutasa capta radicales superóxido [Mathews C., *Biochemistry* 2ª ed., Benjamin/Cummings Pub. Co., Menlo Park CA, 1996, página 551]. Estos compuestos se pueden clasificar como antioxidantes.

Aunque estos compuestos se han investigado de forma individual, según lo que sabemos nadie aparte de los presentes inventores ha examinado los efectos de determinadas combinaciones de algunos o de todos los agentes anabólicos, anticatabólicos y antioxidantes para mantener la salud y para promover la cicatrización. De acuerdo con la presente invención, se pueden usar combinaciones de estos agentes para maximizar los efectos anabólicos adecuados (cicatrización) y para reducir los efectos catabólicos (degradación) y el daño oxidativo indeseados, mientras que al mismo tiempo, no causan reacciones adversas o causan reacciones adversas mínimas. Por consiguiente, se puede observar que existe una necesidad de proporcionar composiciones que saquen provecho de los efectos beneficiosos de las combinaciones de agentes anabólicos, agentes anticatabólicos y agentes antioxidantes para el mantenimiento y la reparación de tejidos conjuntivos en humanos y animales.

Resumen de la invención

La presente invención da a conocer nuevas composiciones para el tratamiento, reparación y prevención del daño de tejidos conjuntivos en humanos y animales utilizando dichas composiciones. Por consiguiente, un objetivo de la presente invención es dar a conocer nuevas composiciones de alguno o de todos los agentes anabólicos, anticatabólicos y antioxidantes para la protección, tratamiento y reparación de tejidos conjuntivos en humanos y animales.

Otro objetivo de la presente invención es dar a conocer procedimientos de tratamiento y de reparación de tejido conjuntivo en humanos y animales con composiciones que contienen alguno o todos los agentes anabólicos, anticatabólicos y antioxidantes.

Además otro objetivo de la presente invención es dar a conocer composiciones de alguno o de todos los agentes anabólicos, anticatabólicos y antioxidantes seleccionados entre el grupo compuesto por aminoazúcar, S-adenosilmetionina (SAMe), ácido araquidónico (AA), GAG, pentosan sulfato, colágeno tipo II, tetraciclinas, diacerina, superóxido dismutasa (SOD) y L-ergotionina.

Un objetivo más de la presente invención es dar a conocer composiciones para reparar, tratar y evitar daño al tejido conjuntivo en humanos y animales que contengan uno o más de los elementos seleccionados entre el grupo compuesto por aminoazúcar, SAMe, ácido araquidónico, GAG, pentosan sulfato, colágeno tipo II, tetraciclinas, diacerina, SOD y L-ergotionina.

Estos y otros objetivos de la presente invención son obvios a partir de la descripción detallada y de las reivindicaciones que siguen a continuación.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 da a conocer una descripción detallada de la vía biosintética para la creación de GAGs tales como sulfato de condroitina.

La figura 2 es la estructura molecular de SAMe y su precursor inmediato.

La figura 3 da a conocer un esquema simplificado de la función de la SOD.

Descripción detallada de la invención

Las composiciones de la presente invención, usadas para tratar, reparar y evitar el daño al tejido conjuntivo, constan de agentes anabólicos, anticatabólicos y antioxidantes seleccionados entre el grupo constituido por glucosamina, SAMe, AA, sulfato de condroitina, pentosan sulfato, colágeno tipo II, tetraciclinas, diacerina, SOD y L-ergotionina. Además, la presente invención cubre los procedimientos de administración de estas nuevas composiciones a humanos y animales necesitados de las mismas.

La glucosamina -un ejemplo de aminoazúcar- se forma de manera natural en el cuerpo a partir de la glucosa. Cuando se suministra de forma exógena, la glucosamina estimula la síntesis celular de tejido conjuntivo, aumentando las cantidades de matriz extracelular normal. La glucosamina también es el componente básico de los glicosaminoglicanos ("GAGs") en el cartílago y en otros tejidos conjuntivos y, de ese modo, el suministro de glucosamina adicional le proporciona al cuerpo materias primas extra para la síntesis de matriz en los tejidos conjuntivos. El componente de aminoazúcar de las composiciones de la presente invención puede comprender aminoazúcares naturales, sintéticos o semisintéticos, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, sales de glucosamina, que incluyen clorhidrato de glucosamina y sulfato de glucosamina y N-acetilglucosamina y sales y/o mezclas de los mismos. Además, en esta invención el término aminoazúcar también se usa para abarcar aminoazúcares que pueden haber sido modificados químicamente pero que aún conservan su función. Dichas modificaciones químicas incluyen, pero no se limitan a ellas, esterificación, sulfatación, polisulfatación, acetilación y metilación. Por otra parte, se contempla que el término aminoazúcar se puede extender a cualquier composición de la materia que sea insustancialmente distinta del aminoazúcar anteriormente descrito.

El componente de GAG de la composición de la presente invención puede comprender GAGs naturales, sintéticos o semisintéticos, compuestos similares al GAG, o precursores del GAG incluyendo, pero sin limitarse a ellos, condroitina, ácido hialurónico, ácido glucurónico, ácido idurónico, sulfato de queratano, sulfato de heparano, sulfato de dermatán y mezclas de los mismos. Además, tal como se usa en esta invención el término GAG abarca además GAGs que han sido alterados químicamente pero aún conservan su función. Dichas modificaciones incluyen, pero sin limitarse a ellas, esterificación, sulfatación, polisulfatación y metilación. De hecho, los GAGs sulfatados son un componente preferente de las composiciones de la presente invención. Por lo tanto, los GAGs monosulfatados y polisulfatados (o sobresulfatados) son componentes de GAG preferentes de las composiciones de la presente invención. También se pretende que el término GAGs abarque la nomenclatura alternativa para el mismo grupo de compuestos anteriormente descritos - por ejemplo, mucopolisacáridos, proteoglicanos y heparinoides. Además, el componente de GAG o similar al GAG de las composiciones de la presente invención puede proceder de fuentes vegetales o animales incluyendo, pero sin limitarse a ellos, madera de haya, formas de cartílago animal que incluyen cartílago de tiburón, traquea bovina, tabique de ballena y fosas nasales de cerdo y pueden proceder de invertebrados tales como *Perna canaliculus* y cohombro de mar.

El sulfato de condroitina es un GAG preferente. El sulfato de condroitina es el glicosaminoglicano más abundante en el cartílago articular y también se encuentra presente en muchos otros tejidos conjuntivos del cuerpo. Además, el sulfato de condroitina inhibe de forma competitiva a las enzimas degradantes que degradan los tejidos conjuntivos bajo condiciones de inflamación excesiva, anormal. El sulfato de condroitina es un polímero compuesto de unidades repetitivas de ácido glucurónico y galactosamina sulfatada. [Lester M. Morrison, M.D. y O. Arne Schjeide, Ph.D., *Coronary Heart Disease and the Mucopolysaccharides (Glycosaminoglycans)* 12 (1974); Philip C. Champe y Richard A. Harvey, *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*, 148-50 (2ª ed. 1994)]. Una persona con experiencia ordinaria en la técnica sobreentiende que el sulfato de condroitina debe tener como mínimo dos, y potencialmente muchas, de estas unidades repetitivas de ácido glucurónico y galactosamina sulfatada.

La figura 1 da a conocer una descripción detallada de la vía biosintética para la creación de GAGs, tales como sulfato de condroitina. Además, la presente invención puede incluir fragmentos de GAGs, tales como fragmentos de sulfato de condroitina. Una persona con experiencia ordinaria en la técnica en el momento de la invención sobreentiende que "fragmentos de glicosaminoglicanos" son grupos de sacáridos que constituyen menos de dos unidades repetitivas del glicosaminoglicano. Por lo tanto, se sobreentiende que los fragmentos de estas sustancias estarían compuestos de grupos de sacáridos que constituyen menos de dos de las unidades repetitivas del polímero respectivo.

Por ejemplo, una persona con experiencia ordinaria en la técnica sobreentiende que los fragmentos de sulfato de condroitina son moléculas compuestas por los sacáridos que comprenden las unidades repetitivas del sulfato de condroitina, pero que se encuentran presentes en grupos de menos de las dos unidades repetitivas descritas anteriormente. Por lo tanto, una molécula compuesta por ácido glucurónico y galactosamina sulfatada constituiría un fragmento de

sulfato de condroitina. De hecho, hay ocho estructuras distintas de disacárido que pueden constituir fragmentos de sulfato de condroitina. [Timothy E. Hardingham y Amanda J. Fosang, *Proteoglycans: Many Forms and Many Functions*, *FASEB J*., 6:861-862 (1992)].

En esta invención se pueden usar otros glicosaminoglicanos de origen natural, por ejemplo, ácido hialurónico. Además, también se pueden utilizar fragmentos de glicosaminoglicanos. Una persona con experiencia ordinaria en la técnica entiende las expresiones "fragmentos de condroitina", "fragmentos de sulfato de condroitina", "fragmentos de sales de condroitina", "fragmentos de glicosaminoglicano" y "fragmentos de sulfato de condroitina" y además entiende que quieren decir grupos de sacáridos (o sales de los mismos) que constituyen menos de dos unidades repetitivas del glicosaminoglicano.

Una persona con experiencia esperarla que los fragmentos de sulfato de condroitina, por ejemplo, tendrían la misma utilidad que el propio sulfato de condroitina. El sulfato de condroitina se descompone en unidades más pequeñas dentro del cuerpo y éstas se reformulan en la producción de cartílago y de otros tejidos conjuntivos. Por consiguiente, se sobreentiende que el cuerpo utiliza fragmentos de sulfato de condroitina de la misma forma que utiliza el propio sulfato de condroitina. Lo mismo es cierto en lo que respecta a los "fragmentos de condroitina", "fragmentos de sales de condroitina" y "fragmentos de glicosaminoglicano". Si se ingieren, cada uno de las condroitinas, sales de condroitina y otros glicosaminoglicanos se descomponen por parte del cuerpo y se reformulan en la producción de cartílago y de otros tejidos conjuntivos. Por consiguiente, el cuerpo utiliza fragmentos de condroitina de la misma forma que si utilizase la propia condroitina, utiliza fragmentos de sales de condroitina de la misma forma que si utilizase sales de condroitina y utiliza fragmentos de glicosaminoglicanos de la misma forma que si utilizase glicosaminoglicanos.

Además, se pretende que el término GAG se pueda extender a cualquier composición de la materia que sea insustancialmente distinta de los GAGs anteriormente descritos. Un ejemplo de dicho compuesto similar a un GAG que se encuentra dentro del alcance de la presente invención es el pentosan polisulfato (PPS) así como las sales del mismo, tales como PPS derivado de calcio y PPS de sodio. Por consiguiente, un compuesto preferente similar al GAG que se puede usar en las composiciones de la presente invención es el PPS.

El PPS es un xilano polisulfatado semisintético que es una forma sulfatada de un compuesto extraído de la hemicelulosa de madera de haya, constituido por unidades repetitivas de β-D-xilano-piranosas (1-4) enlazadas. Más específicamente, el PPS se produce mediante la extracción de la madera de estos compuestos de hemicelulosa a través de una serie de reacciones químicas y, a continuación, mediante la adición de numerosos grupos sulfato a las cadenas de polisacárido purificado. Este procedimiento da como resultado cadenas de polisacárido lineales de bajo peso molecular que portan numerosos grupos sulfato cargados negativamente. El PPS es un heparinoide semisintético que se considera una forma sobresulfatada de un GAG.

Hay varias formas de PPS que muestran las actividades anteriormente descritas. Tanto el PPS de sodio, como un PPS derivado de calcio (denominado CAPPS) se pueden usar para llevar a cabo las funciones del PPS. Cada una de estas formas de PPS muestra una actividad similar a la del GAG y en lo sucesivo se denominarán como compuestos similares al GAG.

El mecanismo de acción del pentosano se puede resumir del modo siguiente:

1. Actividades antiinflamatorias a través de la estabilización y de la mejora de la microcirculación en los tejidos inflamados y a través de los efectos anticomplemento (disminuye la liberación de los mediadores humorales de inflamación denominados cascada del complemento).

2. Inhibición de la quimiotaxis de los granulocitos, que son leucocitos que contribuyen a la inflamación.

3. Efecto estimulador en la síntesis de proteoglicano.

4. Efectos estimuladores en la síntesis de ácido hialurónico por parte de los fibroblastos sinoviales.

5. Potente inhibición de las enzimas catabólicas, incluyendo a la elastasa de granulocito (inhibición no competitiva), hialuronidasa (inhibición competitiva), condroitin-4-sulfatasa y N-acetil-glucosaminidasa humanas a concentraciones mucho más bajas que las de los AINEs.

En esta invención se pueden usar otros glicosaminoglicanos sintéticos o semisintéticos u otros compuestos similares a los glicosaminoglicanos, tales como glicosaminoglicanos polisulfatados.

La diacereína, un compuesto orgánico recientemente identificado que se encuentra en las plantas del género *Cassia* tiene efectos antiinflamatorios a través de la inhibición de la interleucina-1β; por consiguiente se reduce la producción de colagenasa en el cartílago articular. Ésta también reduce la actividad fibrinolítica de los fibroblastos sinoviales. También inhibe de forma dependiente de la dosis la quimiotaxis (atracción de leucocitos) y la producción del anión de superóxido (esta es una de las "especies tóxicas de oxigeno" o "radicales libres"). Estos compuestos perjudiciales aparecen en el cuerpo de forma espontánea, especialmente durante la inflamación destructiva. La diacereína tiene actividades analgésicas y antipiréticas. Reduce la producción de condroitin-4-sulfato, lo que da como resultado una

reducción en la proporción de condroitin-6-sulfato a condroitin-4-sulfato. (Esta proporción se incrementa patológicamente en las articulaciones artríticas). Aumenta ligeramente la síntesis de prostaglandina, lo que le permite tener efectos protectores sobre la mucosa gástrica.

La S-adenosilmetionina (SAMe) es un importante compuesto endógeno, presente por todo el cuerpo y que toma parte en un gran número de reacciones biológicas, tales como las reacciones de trans-sulfatación. En esta función es un reactivo importante en la síntesis de muchos componentes estructurales de los tejidos conjuntivos, incluyendo las proteínas y los proteoglicanos. Por lo tanto, la SAMe tiene efectos anabólicos importantes que potenciarían las acciones de otros agentes anabólicos. La SAMe también tiene efectos antiinflamatorios debido a su acción antioxidante.

La SAMe es un compuesto sintetizado en el cuerpo a partir de trifosfato de adenosina ("ATP") (figura 2). Se encuentra presente en muchos tejidos, incluyendo el sistema nervioso central. La función principal de la SAMe en el SNC es donar grupos metilo en las reacciones que sintetizan distintos compuestos cruciales, que incluyen neurotransmisores y fosfolípidos. Por ejemplo, la SAMe facilita la conversión de la fosfatidiletanolamina en fosfatidilcolina, que forma parte de la capa lipídica interna de la membrana plasmática. De este modo, la SAMe aumenta la fluidez de la membrana y potencia la eficacia de la unión receptor/ligando. [Champ y Harvey, Biochemistry, 1994; Stramentinoli, G., "Pharmacologic Aspects of S-Adenosylmethionine", *American J. Med*., 83(5A):35 (1987); Baldessarini, F., "Neuropharmacology of S-Adenosyl Methionine", *American J. Med*., 83(5A):95 (1987); Carney, M., "Neuropharmacology of S-Adenosyl Methionine", *Clin. Neuropharmacol*., 9(3):235 (1986); Janicak, P., "S-Adenosylmethionine in Depression", *Alabama J. Med. Sci*., 25(3):306 (1988)]. Estas funciones también pueden estar relacionadas con otros donantes de metilo, tales como la betaína (trimetilglicina), 5-metiltetrahidrofolato, ácido fólico y dimetilglicina, [Champ y Harvey, *Biochemistry*, 1994].

La superóxido dismutasa es una enzima presente de forma natural en los tejidos de los animales, que se ha investigado recientemente como agente en el tratamiento de la inflamación. Actúa mediante la intercepción de los radicales tóxicos de oxigeno en el espacio intracelular durante los procesos inflamatorios destructivos. No inhibe la biosíntesis de prostaglandina, sino que detiene la sobreproducción de prostaglandinas procedentes de la inflamación destructiva. Algunos de sus efectos incluyen la inhibición de la formación de edemas y la inhibición de los signos agudos de inflamación y de los cambios articulares secundarios (rigidez y calcificación) en la artritis inducida por adyuvante. Al no tener efectos analgésicos, no contribuye al uso excesivo de las articulaciones afectadas, lo que con el tiempo conduce a más daño del cartílago articular, tal como pueden hacer los AINEs. Además, no tiene efectos adversos en los sistemas cardiovascular, nervioso central o endocrino. La figura 3 da a conocer un esquema simplificado de la función de la SOD.

La L-ergotionina es un antioxidante intracelular de origen natural presente en vegetales y animales, aunque no se sintetiza en el cuerpo humano: procede solo de fuentes alimenticias. Las propiedades antioxidantes de la L-ergotionina parecen estar relacionadas con su capacidad para captar especies reactivas de oxigeno (radicales libres), quelar distintos cationes metálicos, activar enzimas antioxidantes tales como la glutationa peroxidasa (SeGPx) y la superóxido dismutasa de manganeso (Mn SOD) y para inhibir a las enzimas generadoras de superóxido, tales como la NADPH-citocromo C reductasa y para afectar la oxidación de distintas hemoproteínas, tales como la hemoglobina y la mioglobina. Como todos los tejidos del cuerpo dependen de estas dos moléculas portadoras de oxigeno, esta característica es extremadamente beneficiosa. [Brummel, M.C., "In Search of a Physiological Function for L-ergothioneine", *Med. Hypotheses*, 18(4):351-70 (Dic. 1985); Brummel, M.C., "In Search of a Physiological Function for L-ergothioneine, --II", *Med. Hypotheses*, 30(1):39-48 (Sept. 1989); Han, J.S., "Effects of Various Chemical Compounds on Spontaneous and Hydrogen Peroxide-Induced Reversión in Strain TA104 of *Salmonella typhimurium*", *Mutat. Res*., 266(2):77-84 (Abril 1992); Arduini, A., "Possible Mechanism of Inhibition of Nitrite-Induced Oxidation of Oxyhemoglobin by Ergothioneine and Uric Acid", *Arch. Biochem. Biophys*., 294(2):398-402 (Mayo 1992)].

El colágeno tipo II también tiene efectos beneficiosos que ayudan a mantener el equilibrio normal entre anabolismo y catabolismo. De forma especifica, las enfermedades del tejido conjuntivo pueden proceder de procesos autoinmunes, en los que el sistema inmunitario ataca y cataboliza a los tejidos conjuntivos del propio individuo como si éste fuese un "invasor exterior". La administración por vía oral de colágeno tipo II puede insensibilizar el sistema inmunitario, lo que evita el ataque adicional y normaliza las respuestas inmunitarias en estos individuos. Esto disminuye los procesos catabólicos en los tejidos conjuntivos y maximiza el anabolismo. La ingestión de colágeno tipo II presenta esta molécula a las células del sistema inmunitario en los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT, a.k.a., parches de Peyer). Las interacciones entre la molécula de colágeno y células especificas dentro del GALT activan a las células móviles del sistema inmunitario denominadas células T supresoras. A su vez, estas células moderan la reacción inmunológica destructiva contra el colágeno tipo II del propio individuo (en los tejidos conjuntivos).

Los compuestos de la familia de la tetraciclina incluyen tetraciclina, doxiciclina, análogos de tetraciclina y compuestos "similares a la tetraciclina" y se han usado terapéuticamente debido a sus efectos antimicrobianos. La investigación actual se ha centrado en los compuestos "similares a la tetraciclina" que poseen unos efectos antimicrobianos insignificantes, pero que tienen efectos anticatabólicos. De forma especifica, los compuestos "similares a la tetraciclina" son compuestos policíclicos que inhiben a las metaloproteinasas del tejido que degradan a los componentes de la matriz extracelular que incluyen colágeno y los proteoglicanos tienen incluso efectos antimicrobianos insustanciales. Esta función de estos compuestos, así como de otros compuestos de la familia de la tetraciclina, puede estar relacionada con la capacidad de estos compuestos para quelar los iones de calcio y de cinc. Por ejemplo, la doxiciclina ha mostrado que inhibe la actividad de la colagenasa en el cartílago articular.

Aunque los efectos de estos compuestos han sido investigados por separado, la presente invención comprende nuevas combinaciones de agentes anabólicos, agentes anticatabólicos y agentes antioxidantes que maximizan los efectos anabólicos beneficiosos (cicatrización) y minimizan cualquier efecto negativo potencial. De este modo, la presente invención da a conocer nuevas combinaciones de estos agentes y de agentes antioxidantes, para la protección, tratamiento y reparación de tejidos conjuntivos en humanos y animales.

Estos compuestos tienen una diversidad de efectos beneficiosos en los tejidos conjuntivos animales y humanos y, debido a que actúan a través de una diversidad de mecanismos, funcionan bien en combinación entre ellos. Aunque cada compuesto tiene una serie de funciones, en líneas generales pueden agruparse como: (1) agentes anabólicos, que incluyen glucosamina, SAMe y AA, que promueven procesos de crecimiento en el cuerpo; (2) agentes anticatabólicos, tales como sulfato de condroitina, pentosan sulfato, colágeno tipo II, tetraciclinas y diacerina, que inhiben los procesos catabólicos o destructivos y (3) antioxidantes, tales como la SOD y la L-ergotionina, que evitan el daño tisular mediante la captación de especies tóxicas de oxigeno (radicales libres). Naturalmente, algunos compuestos se podrían colocar en más de un grupo, debido al solapamiento de sus funciones. La presente invención establece que las combinaciones de estos compuestos funcionarían bien. Así, la presente invención consta de distintas combinaciones de dos o más de los siguientes agentes: AA, glucosamina, sulfato de condroitina, pentosano, diacerina, S-adenosilmetionina, superóxido dismutasa, L-ergotionina, colágeno tipo II y compuestos similares a la tetraciclina. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a ellos, a dichas combinaciones como: dos agentes anabólicos (por ejemplo, AA y glucosamina); un agente anabólico y un agente anticatabólico (por ejemplo, glucosamina y colágeno tipo II) ; un anticatabólico y un antioxidante (por ejemplo, tetraciclina y superóxido dismutasa); o combinaciones de más de dos agentes (por ejemplo, glucosamina, SAMe y AA).

La siguiente tabla muestra combinaciones posibles de parejas de los compuestos tratados anteriormente. La letra "X" indica nuevas combinaciones de compuestos que forman las nuevas composiciones de la presente invención. La invención también incluye combinaciones de tres o más agentes de los siguientes compuestos en las combinaciones mostradas en la tabla:

Glucosamina

Condroitina

SAMe

Pentosano

Superóxido dismutasa (SOD)

L-Ergotiomna

Colágeno tipo II

Diacerina

Ácido araquidónico

Compuestos similares a la tetraciclina

Tal como se explicó anteriormente, los ejemplos de las combinaciones deseadas se encuentran marcados mediante una X. Por ejemplo, la primera X en la primera fila significa una combinación de glucosamina y L-ergotionina. Las composiciones de la presente invención comprenden además cualquier agregación o adición de las combinaciones marcadas mediante una X en cualquier fila o columna dada. Por ejemplo, las composiciones descritas en la primera fila incluyen combinaciones de glucosamina mas L-ergotionina mas diacerina, o glucosamina mas diacerina mas compuestos similares a la tetraciclina o glucosamina mas L-ergotionina mas diacerina mas AA mas compuestos similares a la tetraciclina y así sucesivamente. Los ejemplos de composiciones descritas en la columna designada "colágeno tipo II" incluirían combinaciones de colágeno tipo II mas SAMe mas pentosano, o colágeno tipo II mas SAMe mas pentosano mas superóxido dismutasa mas L-ergotionina y así sucesivamente.

	Superóxido dismutasa (SOD)	L-Ergotionina	Colágeno tipo II	Diacerina	Ácido araquidónico	Compuestos similares a la tetraciclina
Glucosamina		X		X	X	X
Condroitina		X		X	X	X
SAMe	X	X	X	X	X	X
Pentosano	X	X	X	X	X	X
Superóxido dismutasa (SOD)		X	X	X	X	X
L-Ergotionina			X	X	X	X
Colágeno tipo II				X	X	X
Diacerina					X	X
Ácido araquidónico						X

Los presentes inventores han investigado ciertas combinaciones de los agentes anteriores y han documentado una nueva respuesta en varias combinaciones. Los efectos de ciertas combinaciones de sulfato de condroitina, glucosamina, SAMe, ácido araquidónico, colágeno, pentosano y superóxido dismutasa se estudiaron en cultivos de células de cartílago de bovino adulto en distintos experimentos (véase el ejemplo 2). En este estudio en particular ciertas combinaciones tuvieron un efecto inhibitorio (hipometabólico). Tanto las nuevas interacciones estimuladoras, como las inhibitorias podrían ser beneficiosas bajo distintos estados de enfermedad. Por ejemplo, un estado hipermetabólico es parte de la patogénesis de algunas enfermedades. En dichas enfermedades, una respuesta inhibitoria (hipometabólica) seria beneficiosa para el individuo. Se proyectan estudios futuros para investigar los efectos de un intervalo de concentraciones en los agentes estudiados bajo distintos modelos experimentales. Obsérvese que tanto los aumentos como las disminuciones en la actividad biosintética son nuevas interacciones y podrían ser beneficiosas para los organismos bajo circunstancias seleccionadas. Por ejemplo, en la actualidad muchos investigadores creen que la osteoartritis tiene un componente hipermetabólico, especialmente en las etapas tempranas de la patogénesis. Los investigadores se en-

cuentran divididos en cuanto a si el tratamiento debería centrarse en agentes que estimulen la producción de matriz de cartílago, o en agentes que sean inhibidores y que por consiguiente hagan que el ambiente del cartílago sea más hipometabólico, lo que a su vez podría tener un efecto estabilizante en el tejido del cartílago.

Las composiciones de la presente invención se pueden administrar a través de cualquier vía, incluyendo por vía intramuscular, intravenosa, oral, subcutánea, rectal, tópica, transcutánea, intranasal e intra-articular, sublingual, intraperitoneal. Además, se puede usar cualquier sal de cualquiera de los compuestos de la presente invención para ayudar en la absorción, *por ejemplo*, glucosamina HCl, sulfato de glucosamina, sulfato de condroitina de sodio, etc. Además, la composición se puede suministrar en todas las formas farmacéuticas comunes que incluyen formas farmacéuticas de liberación prolongada, por ejemplo, píldoras, comprimidos, cápsulas, etc.

Los intervalos de dosificación de las composiciones de la presente invención variarán dependiendo de las necesidades del humano o del animal al que se administren las composiciones. Los intervalos de dosificación para los distintos componentes de las composiciones reivindicadas en este momento son como sigue a continuación:

Compuesto	**Dosis diaria**
Glucosamina	Intervalo de dosificación total: entre 25 mg y 12 g animal pequeño: 25 mg - 3 g. humano: 100 mg - 4 g animal grande: 300 mg - 12 g
Sulfato de condroitina	Intervalo de dosificación total: 15 mg - 12 g animal pequeño: 15 mg - 2 g humano: 75 mg - 4 g animal grande: 300 mg - 12 g
SAMe	Intervalo de dosificación total: 10 mg - 8 g animal pequeño: 10 mg - 1 g humano: 75 mg - 3 g animal grande: 400 mg - 8 g
Pentosano	Intervalo de dosificación total: entre 3 mg y 3 g animal pequeño: 3 mg - 1 g humano: 50 mg - 2 g animal grande: 100 mg - 3 g
Superóxido dismutasa	Intervalo de dosificación total: entre 3 mg y 6 g (cada mg contiene > 3000 unidades McCord - Fridovich) animal pequeño: 3 mg - 2 g humano: 5 mg - 3 g animal grande: 50 mg - 6 g

Compuesto	Dosis diaria
L-ergotionina	Intervalo de dosificación total: entre 50 mg y 25 g animal pequeño: 50 mg - 10 g humano: 50 mg - 15 g animal grande: 100 mg - 25 g
Colágeno tipo II	Intervalo de dosificación total: entre 0,1 mg y 10 g animal pequeño: 0,1 mg - 10 g humano: 0,1 mg - 7,5 g animal grande: 1,0 mg - 10 g
Diacerina	Intervalo de dosificación total: entre 5 mg y 5 g animal pequeño: 5 mg - 1 g humano: 20 mg - 3 g animal grande: 50 mg - 5 g
Ácido araquidónico	Intervalo de dosificación total: entre 10 mg y 12 g animal pequeño: 10 mg - 5 g humano: 10 mg - 8 g animal grande: 50 mg - 12 g
Tetraciclinas	Intervalo de dosificación total: entre 1,0 mg y 2 g animal pequeño: 1,0 mg - 1 g humano: 2 mg - 1,5 g animal grande: 50 mg - 2 g

Las dosis están diseñadas para cubrir el espectro de pesos corporales de animales pequeños a animales grandes, con los humanos situados en el medio. Los siguientes ejemplos son ilustrativos y no limitan en ningún sentido la presente invención.

Ejemplo 1

En nuestras investigaciones preliminares, se indujo inestabilidad quirúrgica en la babilla de conejos blancos de Nueva Zelanda mediante modificación de la técnica de Hulth. Después de la operación, los animales se ejercitaron durante 1 hora al día. Se evaluaron fórmulas dietéticas experimentales para observar su efecto en la estabilización del cartílago. Se investigaron la dieta Harland estándar de conejo (control); una dieta estándar que también contenía un 2% de aceite de hongo que contenía el 40% en peso de AA (Arasco) y una dieta estándar que también contenía ácido araquidónico y glucosamina/condroitina. A las 16 semanas, se separaron los cóndilos femorales medios de todos los conejos y se evaluó cuantitativamente la degeneración del cartílago con un sistema de clasificación histológico-histoquímico de Mankin modificado con portaobjetos teñidos con safranina-O. El cartílago de todas las articulaciones con inestabilidad quirúrgica mostraba distintos grados de lesiones degenerativas macroscópicas. Nuestros resultados preliminares indicaron que la adición de ácido araquidónico a glucosamina/sulfato de condroitina tiene el potencial de producir una nueva interacción en el cartílago. Esta nueva interacción tiene el potencial de tener un efecto modulador del cartílago.

Ejemplo 2

Procedimiento

Se reseccionó de forma aséptica cartílago articular de articulaciones humanas o animales y se colocó en una placa de Petri grande en una pequeña cantidad de DMEM/F-12 o F-12. El tejido se cortó en trocitos de 1-2 mm de tamaño y se transfirió a un matraz de cultivo pequeño que contenía 20 mL de DMEM o F-12 + 400 u/mL de colagenasa. El matraz se colocó en el agitador y se incubó durante la noche.

La digestión celular se aspiró repetidas veces para aumentar la liberación de células. A continuación la digestión celular se colocó en un tubo de centrifuga esterilizado de 50 mL y se centrifugó en una centrifugadora Beckman a 1000 rpm durante 10 minutos. El medio se desechó mediante pipeteado y se añadió DMEM/F-12 fresco que contenía 1% de SFB. Dependiendo del tamaño del sedimento, se añadieron aproximadamente entre 20-40 mL de medio. Los recuentos celulares se determinaron mediante un hemocitómetro y la digestión se preparó hasta una concentración de 100.000 células/0,2 mL.

Síntesis de GAG

Para llevar a cabo la síntesis de GAG, se añadieron alícuotas de 0,2 mL dentro de cada pocillo de una placa de 96 pocillos mediante la utilización de un pipeteador de 8 canales y se dejó que las células se uniesen durante 24 horas. Se separó el medio y se añadieron 0,3 mL de medio con 1% de SFB durante 2-3 días. En el día del experimento, se separó el medio y se añadieron las disoluciones experimentales que contenían isótopo 35-sulfato. La incubación se mantuvo durante 4 horas. Terminación: al final del periodo de incubación, se retiró el medio de mareaje, la capa celular se enjuagó de forma repetida con 0,3 mL de DMEM o de F-12 frío (aproximadamente 5x) y la capa celular se congeló para el recuento.

Recuento de placas de 96 pocillos

La capa celular de ambos experimentos de síntesis se calentó a 50 grados después de añadir 100 μL de NaOH 1 N durante un periodo de 2 horas. Se añadieron 200 μL de material de centelleo y las placas se colocaron en el contador. Se usó el programa n sulfato con un tiempo de recuento de 1 minuto. El dato se expresó como CPM/100.000 células.

(Tabla pasa a página siguiente)

Agente de evaluación	Agentes indiv.: CPM/ 100.000 células	Suma (CPM)	Agentes combinados (CPM)	Diferencia (CPM)
ChSO4-L	64			
AA	70	134	18	-116
ChSO4-H	50			
AA	70	120	81	-39
Glu-H	117			
AA	70	187	16	-177
1%Sam	123			
10Paleos	86	209	62	-147
1%Sam	123			
1Paleos	74	197	80	-117
3%Sam	42			
1Paleos	74	116	100	-16
3%Sam	42			
10Paleos	86	128	83	-45
3%Sam	42			
Colágeno	118	160	90	-70
3%Sam	42			
AA	70	112	104	-8
AA	70			
10Pentos	76	146	106	-40
Colágeno	70			

Agente de evaluación	Agentes indiv.: CPM/ 100.000 células	Suma (CPM)	Agentes combinados (CPM)	Diferencia (CPM)
10Paleos	86	156	82	-74
Colágeno	118			
10 Pentos	76	194	65	-129
Colágeno	118			
10 Paleos	86	204	77	-127

ChSO4 = Condroitina

AA = Ácido araquidónico

SAMe = S-adenosilmetionina

Paleos = SOD

Colágeno = Colágeno

Pentos = Pentosano

H = Concentración alta

L = Concentración baja

En este modelo, en las concentraciones estudiadas, las combinaciones representantes tuvieron un efecto inhibitorio (hipometabólico) en este estudio en particular. Este efecto hipometabólico podría ser beneficioso bajo diversos estados de enfermedad, de hecho tanto las nuevas interacciones estimuladoras, como las inhibidoras podrían ser beneficiosas bajo diversos estados de enfermedad. Por ejemplo, un estado hipermetabólico es parte de la patogénesis de algunas enfermedades. En dichas enfermedades, una respuesta inhibitoria (hipometabólica) seria beneficiosa para el individuo. Se proyectan estudios futuros para investigar los efectos de un intervalo de concentraciones en los agentes estudiados bajo distintos modelos experimentales. Obsérvese que tanto los aumentos como las disminuciones en la actividad biosintética son nuevas interacciones y podrían ser beneficiosas para los organismos bajo circunstancias seleccionadas. Por ejemplo, en la actualidad muchos investigadores creen que la osteoartritis tiene un componente hipermetabólico, especialmente en las etapas tempranas de la patogénesis. Los investigadores se encuentran divididos en cuanto a si el tratamiento debería centrarse en agentes que estimulen la producción de matriz de cartílago, o en agentes que sean inhibidores y que por consiguiente hagan que el ambiente del cartílago sea más hipometabólico, lo que a su vez podría tener un efecto estabilizante en el tejido del cartílago.

Ejemplo 3

Un niño de 4 años tiene artritis reumatoide juvenil en la que el sistema inmunitario apunta de forma inadecuada al tejido conjuntivo endógeno con anticuerpos contra el colágeno tipo II nativo. La inflamación resultante y la degradación del cartílago provocan dolor y disfunción en las articulaciones sinoviales. Los tratamientos actuales incluyen corticosteroides que suprimen de forma no selectiva el sistema inmunitario, lo que deja así al cuerpo vulnerable frente a enfermedades infecciosas, o incluyen metotrexato, que inhibe la síntesis, reparación y replicación celular de ADN, lo que afecta de este modo no solo al sistema inmunitario, sino también a la mucosa intestinal y a la médula ósea. A este niño se le administran diariamente 2 mg de colágeno tipo II y 10 mg de SOD diariamente. El colágeno reduce el ataque inmunitario inadecuado y el SOD inactiva a los radicales libres destructivos que dañan las células. Evitando el

daño celular, el SOD ayuda a maximizar la función normal de las células del tejido de las articulaciones. Esta combinación no tiene efectos secundarios perjudiciales en dosis terapéuticas y es una adición beneficiosa para las terapias existentes para la artritis reumatoide.

Ejemplo 4

Un caballo pura sangre de carreras de 6 años tiene inflamación neutrofílica del carpo. En este estado, el traumatismo a los tejidos de la articulación lesiona a las células y por consiguiente da como resultado la liberación de citoquinas que atraen a una gran cantidad de neutrófilos hacia el interior del espacio sinovial. Esta respuesta es beneficiosa en los casos de asepsia, pero en condiciones no asépticas los neutrófilos no proporcionan un servicio útil al animal. De hecho, debido a que los neutrófilos producen distintos compuestos degradantes, que incluyen moléculas de superóxido, su presencia en la articulación contribuye a alimentar el circulo vicioso de inflamación, daño tisular e inflamación cada vez mayor. En la actualidad esta dolencia se trata con fármacos antiinflamatorios no esteroideos, que suprimen la síntesis de prostaglandina y, por consiguiente, tienen muchos efectos secundarios. A este caballo se le administra una mezcla de 100 mg de diacerina, 200 mg de pentosano y 1000 mg SAMe. Tanto la diacerina como el pentosano inhiben la quimiotaxis (la atracción de leucocitos hacia el interior del área afectada) y reducen de ese modo la cifra de neutrófilos en la articulación. Además, el pentosano estimula la síntesis de fluido sinovial y de ese modo da soporte al funcionamiento normal de la articulación. La diacerina inhibe la producción de superóxido; dado que la producción de superóxido es uno de los mecanismos a través de los que los neutrófilos tienen sus efectos perjudiciales, evidentemente esta acción de la diacerina es beneficiosa. El SAMe da soporte a la estructura y al funcionamiento de las membranas celulares y, por consiguiente, ayuda a reparar las células del tejido de la articulación lesionada, lo que bloquea de ese modo los fenómenos que inician la inflamación perjudicial. Esta combinación no tiene efectos secundarios perjudiciales en las dosis terapéuticas y es un gran adelanto sobre las terapias existentes.

Un experto en la materia entenderla que las combinaciones de los compuestos enseñadas por la presente invención actuarían de forma sinérgica. Por ejemplo, se sobreentiende que la glucosamina tiene efectos estimulantes en el metabolismo del condrocito lo que, por sí mismo, ayuda en la mejoría de los estados de degradación del cartílago. No obstante, un aumento en el metabolismo celular también puede producir un aumento en la producción de radicales libres, como subproducto natural de la fosforilación oxidativa. El aumento en la producción de radicales libres atenuarla los efectos beneficiosos de la administración de glucosamina. Mediante la combinación de L-ergotionina con glucosamina, se esperaría un aumento en el metabolismo y una reducción en el daño producido por los radicales libres, lo que proporciona un mayor beneficio que si se suministrasen los compuestos que conducen a uno de estos efectos. Por consiguiente, un experto en la materia, en base a las explicaciones de la presente invención, entendería que la combinación de glucosamina con L-ergotionina sería más beneficiosa que la administración de ambos de forma aislada. La sinergia que existe entre determinados compuestos en la presente invención también permite el uso de dosis más bajas de cada compuesto. Aunque estos compuestos tienen un uso bastante seguro, puede existir un potencial para la aparición de efectos secundarios. Por ejemplo, en algunos individuos dosis grandes de sulfato de glucosamina o de sulfato de condroitina pueden dar lugar a trastornos gastrointestinales. Además, estos compuestos son costosos; por estas razones, la capacidad de minimizar la dosis y alcanzar no obstante efectos beneficiosos es deseable.

Por lo tanto, las reivindicaciones adjuntas pretenden cubrir la invención representada en las reivindicaciones y en las reivindicaciones sustancialmente equivalentes a ellas.

REIVINDICACIONES

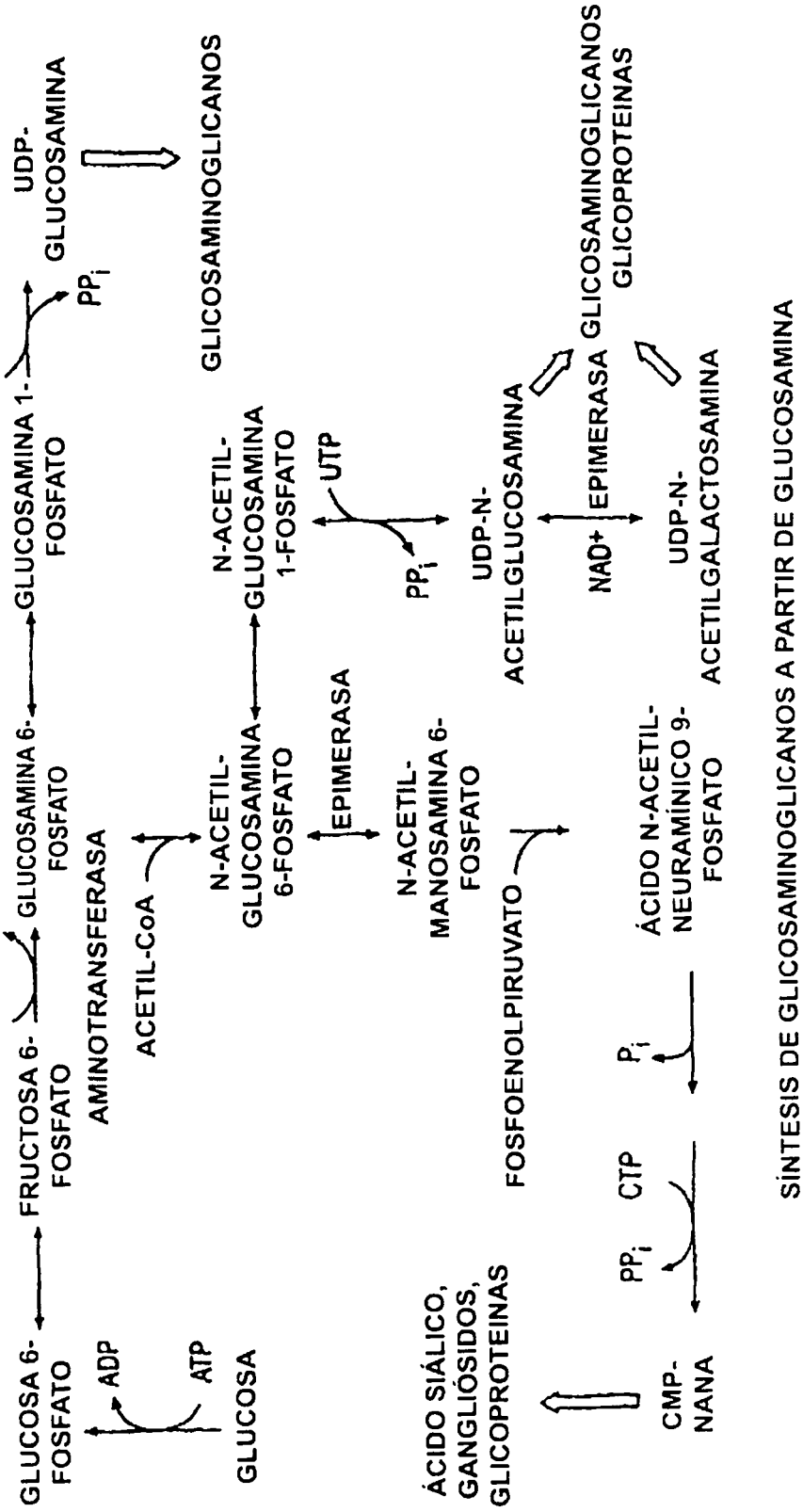
1. Composición farmacéutica que comprende SAMe y uno o más compuestos seleccionados entre el grupo constituido por SOD, L-ergotionina y colágeno tipo II.

2. Composición farmacéutica, según la reivindicación 1, que comprende SAMe y L-ergotionina.

3. Composición farmacéutica, según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para uso en medicina.

4. Composición farmacéutica, según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para uso en el tratamiento, reparación o prevención del daño a tejido conjuntivo.

5. Uso de una composición farmacéutica, según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la preparación de un agente para el tratamiento, reparación o prevención del daño a tejido conjuntivo.



SÍNTESIS DE GLICOSAMINOGLICANOS A PARTIR DE GLUCOSAMINA

FIG. 1

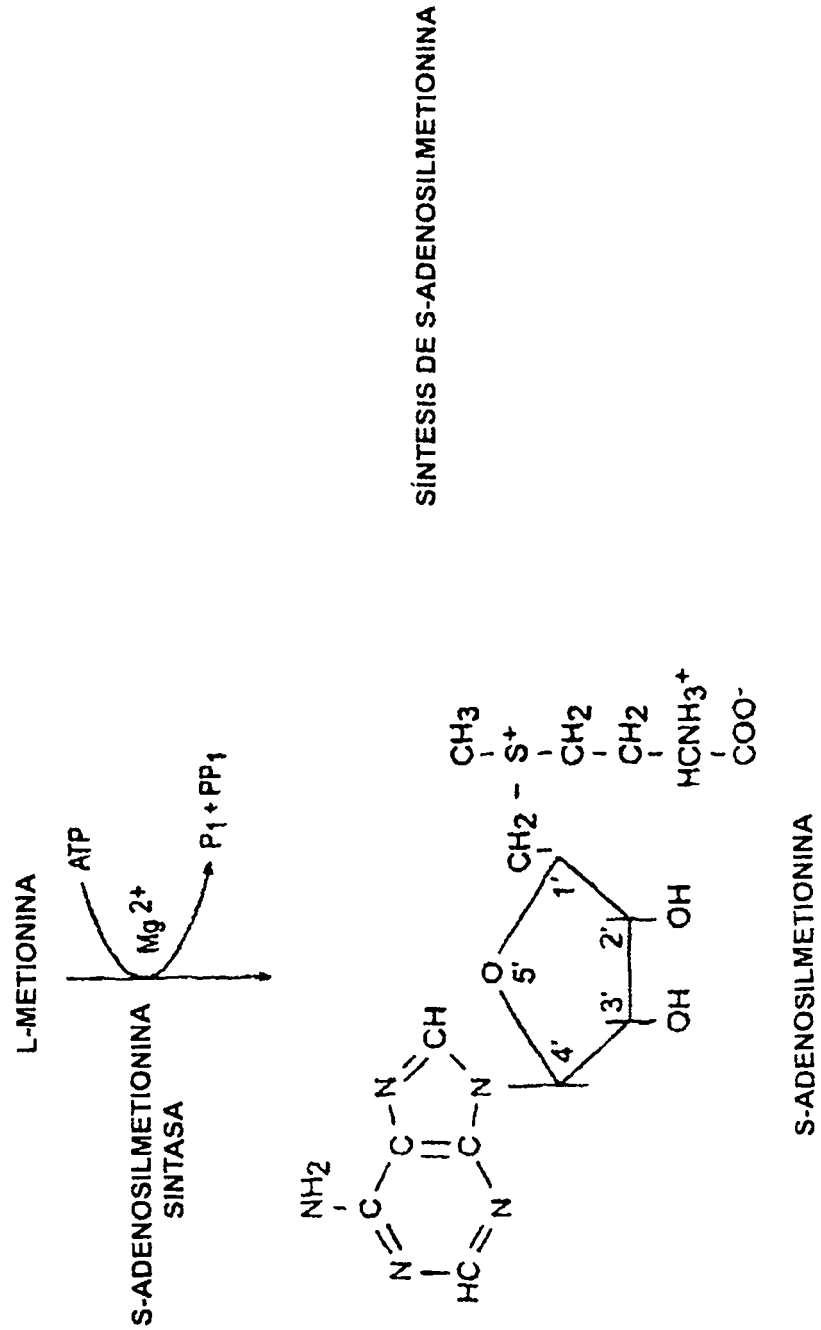
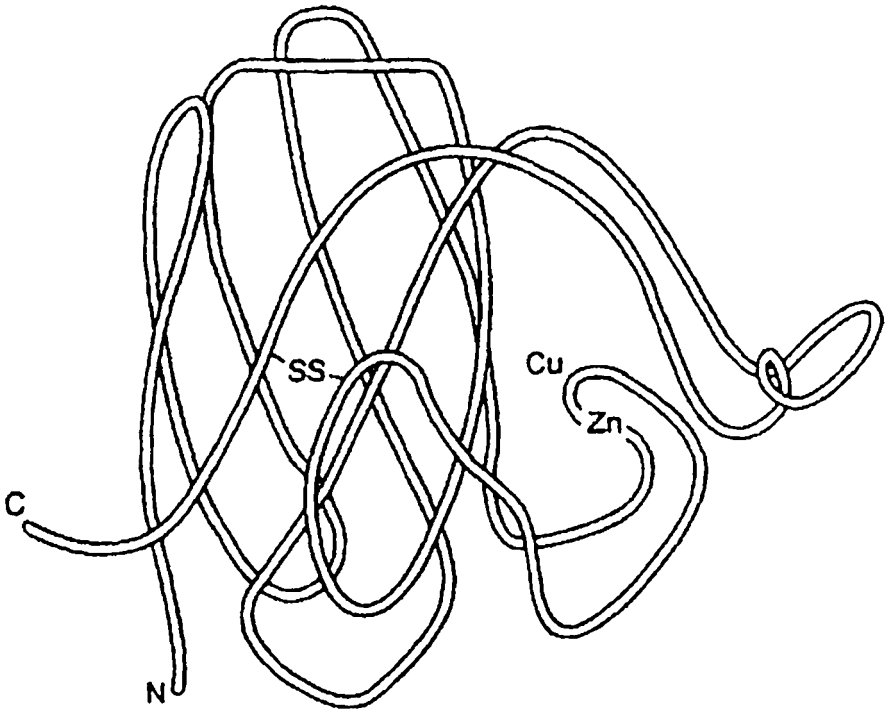

SÍNTESIS DE S-ADENOSILMETIONINA
L-METIONINA
ATP
Mg 2+
P1 + PP1
S-ADENOSILMETIONINA SINTASA
S-ADENOSILMETIONINA

FIG. 2



ESQUEMA SIMPLIFICADO DE LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL DE UNA SUBUNIDAD DE SUPERÓXIDO DISMUTASA BOVINA

FIG. 3