



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 267 186**

51 Int. Cl.:
A61K 38/47 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Número de solicitud europea: **98921978 .7**
86 Fecha de presentación : **06.05.1998**
87 Número de publicación de la solicitud: **0994719**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **26.04.2000**

54 Título: **Uso de hialuronidasa en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de la inflamación.**

30 Prioridad: **09.07.1997 SE 9702657**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2007

73 Titular/es: **Äpplet MBJ AB.**
P.O. Box 625
194 26 Upplands Väsby, SE

72 Inventor/es: **Johnsson, Cecilia;**
Tufveson, Gunnar y
Hallgren, Roger

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Uso de hialuronidasa en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de la inflamación.

La presente invención se refiere al uso de hialuronidasa en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de un mamífero que padece inflamación asociada con un aumento de la síntesis local de hialuronan. Más específicamente se refiere al uso de hialuronidasa en la fabricación de un fármaco para la prevención de la infiltración de células inflamatorias causada por hialuronan.

Antecedentes de la invención

La hialuronidasa es una enzima que producen, por ejemplo, los mamíferos, las sanguijuelas y los camarones y que se puede extraer de diversos tejidos. La hialuronidasa degrada un mucopolisacárido llamado hialuronan, denominado también ácido hialurónico (Balazs EA *et al.*, *Biochem J.* 1986; 235: 903). El hialuronan es un importante constituyente estabilizante del tejido conjuntivo laxo y es producido por las células mesenquimatosas (Comper WD, Laurent TC, *Physiol. Rev.* 1978; 58: 255 - 315).

Se ha demostrado que el contenido de hialuronan en un órgano aumenta en diferentes procesos de inflamación de dicho órgano. De esta forma, se ha mostrado un aumento en la concentración de hialuronan en tejidos de diferentes órganos caracterizados por un estado de lesión inflamatorio-inmunológica tal como alveolitis (Nettelblatt O *et al.*, *Am. Rev. Resp. Dis.* 1989; 139: 759 - 762) e infarto de miocardio (Waldenström *et al.*, *J. Clin. Invest.* 1991; 88(5): 1622 - 1628). Otros ejemplos de este tipo de estados son el rechazo de aloinjerto después de un trasplante renal (Hällgren *et al.*, *J. Exp. Med.* 1990a; 171: 2063 - 2076; Wells *et al.*, *Transplantation* 1990; 50: 240 - 243), de intestino delgado (Wallander *et al.*, *Transplant Int.* 1993; 6: 133 - 137) o cardíaco (Hällgren *et al.*, *J. Clin. Invest.* 1990b; 85: 668 - 673); o una inflamación del miocardio de origen viral (Waldenström *et al.*, *Eur. J. Clin. Invest.* 1993; 23: 277 - 282).

La solicitud de patente internacional WO98/08538 que se publicó después de la fecha de prioridad de la presente solicitud, describe el uso del ácido hialurónico para el tratamiento de edema intersticial asociado con el trasplante de órganos.

La solicitud de patente internacional WO98/00553 que se publicó después de la fecha de prioridad de la presente solicitud, describe el uso del ácido hialurónico en procesos que están asociados con la presencia de ácido hialurónico. Describe adicionalmente que la hialuronidasa evitó las reacciones de inflamación locales que se observan comúnmente después de las inyecciones subcutáneas de vinblastina. Se describe también que la modulación selectiva de la expresión y actividad de una hialuronidasa nueva puede permitir el manejo exitoso de enfermedades asociadas con el ácido hialurónico, tales como cáncer y enfermedades inflamatorias.

El hialuronan es un compuesto con una marcada capacidad de unión con el agua (Mason RM, *Progr. Clin. Biol.* 1981; Res 54: 87 - 112). Una producción local potenciada y acumulación de hialuronan en el tejido conjuntivo de un órgano conduce por lo tanto a una acumulación local de líquido, con un riesgo de edema dañino en el tejido intersticial, que a su vez puede conducir a un deterioro de la función de dicho órgano.

Está claro que esta acumulación de hialuronan en, por ejemplo, un órgano inflamado puede ocasionar consecuencias muy graves. En el caso de un trasplante de órganos puede conducir también a la irreversibilidad de un rechazo de un trasplante del órgano y en algunos casos finalmente a una situación de amenaza para la vida. Por lo tanto existe una gran demanda de un método para aliviar este estado de riesgo. El objeto de la presente invención es proporcionar un medio para conseguirlo.

La hialuronidasa se había usado previamente, en los años setenta, para reducir los efectos del infarto de miocardio (Maroko PR *et al.*, *Circulation* 1972; 46(3): 430 - 7; Maclean D, *et al.*, *Science* 1976; 194(4261): 199 - 200). Sin embargo no se entendía el modo de actuación. En un modelo animal *in vitro* la actuación cardíaca después de un daño isquémico mejoró tras la administración de hialuronidasa (Rovetto MJ, *Circ-Res* 1977; 41(3): 373 - 9; Fischer JH *et al.*, *Transplantation* 1994; 58(6): 748 - 53).

A pesar del hecho de que durante cierto tiempo ya se conocía que el edema intersticial provocado por el rechazo de un injerto podía ser el resultado de una acumulación intersticial de hialuronan, nunca se había propuesto hacer uso de hialuronidasa para vencer el grave problema clínico del rechazo de aloinjertos debido a inflamación.

De hecho existían varias razones para que los expertos en la técnica no creyeran que ésta fuera una solución operable al problema.

En primer lugar, se consideró como lo más improbable que la enzima alcanzara el tejido inflamado.

En segundo lugar, incluso si la enzima alcanzaba el tejido inflamado, se consideró improbable que fuera funcional, ya que los pH óptimos de la hialuronidasa son bastante ácidos, mientras que el pH del tejido es neutro.

Finalmente, se consideró que si aún así la enzima estaba activa, entonces esto podría conducir a una degradación de hialuronan en todo el cuerpo, y no sólo básicamente en el tejido inflamado.

De esta forma, aunque la hialuronidasa se ha usado en pruebas de laboratorio en cultivos celulares y animales de laboratorio, ha habido un prejuicio general entre los expertos en la técnica contra el uso en seres humanos.

Actualmente, la mayoría de los científicos creen que las células inflamatorias son reclutadas hacia los órganos por medio de ellos estando en una misión específica en el órgano. Para nuestra mayor sorpresa, no sólo el edema de injerto disminuyó por el tratamiento con hialuronidasa sino que también se redujo la infiltración de células inflamatorias. Ésto significa que la hialuronidasa actúa como un imán para el reclutamiento de células inflamatorias. Ésto se puede explicar por el hecho de que los linfocitos transportan receptores para el hialuronan. La función de estos receptores no se entendía con anterioridad.

Descripción general de la invención

Los presentes inventores han sido capaces de demostrar que el tratamiento profiláctico con hialuronidasa retrasa el rechazo de un aloinjerto no inmunosuprimido y reduce los infiltrados de células inflamatorias. Este hallazgo significa, bastante inesperadamente, que el hialuronan actúa como un imán para las células inflamatorias. Este mecanismo se podría aplicar universalmente para reducir la inflamación en desarrollo por medio de la reducción del reclutamiento

inflamatorio. Este hallazgo, muy sorprendente para un experto en la técnica, condujo a los presentes inventores a desarrollar un fármaco basado en hialuronidasa para el tratamiento de estados de inflamación asociados con un aumento en la síntesis local de hialuronan.

Por consiguiente, el objeto de la presente invención es el uso de hialuronidasa en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de estados de inflamación.

La invención se describirá en más detalle en la presente memoria a continuación y se define en las reivindicaciones adjuntas.

Descripción detallada de la invención

Una realización preferida de la invención se refiere al uso de hialuronidasa en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de estados de inflamación en un mamífero de origen animal o humano. Este tratamiento puede tener un carácter preventivo o curativo.

En una realización especialmente preferida, la hialuronidasa se usa en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de un estado de inflamación asociado con un trasplante de órganos. El órgano puede ser, por ejemplo, un hígado, un riñón o un corazón, de un mamífero de origen animal o humano.

Según la invención la hialuronidasa se usa en la fabricación de un fármaco para ser administrado de forma sistémica o local.

La hialuronidasa debería incorporarse en el fármaco en una cantidad tal para proporcionar una dosis diaria de 1 UI a 20.000 UI por kg de peso corporal, más preferentemente de 100 UI a 15.000 UI por kg de peso corporal, o de 500 UI a 10.000 UI por kg de peso corporal, por administración sistémica o local del fármaco.

El fármaco de la invención se prepara de una forma convencional, conocida por los expertos en la técnica. El fármaco aplicado de forma local puede con-

tener además de hialuronidasa, constituyentes de soluciones conservadoras de órganos convencionales, tal como dextrano, aniones, cationes, y moléculas osmóticas. Su forma de uso sistémico puede contener agentes estabilizantes y solución salina.

En el método descrito en la invención el fármaco es para administrarse de forma sistémica o local a un mamífero en una cantidad que proporciona una dosis diaria de 1 UI a 80.000 UI de hialuronidasa/kg de peso corporal de dicho mamífero, más preferentemente de 100 UI a 20.000 UI por kg de peso corporal por administración local o sistémica del fármaco.

Hasta el momento la invención se ha probado en un modelo de rata de ratas macho de Wistar que pesaban aproximadamente 180 g. Las ratas se trasplantaron de forma heterotópica con un trasplante cardíaco vascularizado. Se realizaron 20 trasplantes. 10 animales recibieron inyecciones diarias intravenosas (iv) de hialuronidasa de 20.000 UI/kg de peso corporal/día. Los trasplantes del grupo tratado (determinado por palpación diaria del latido del trasplante) sobrevivieron durante 9,7 +/- 0,5 días y los animales del grupo de control (no tratado) sobrevivieron durante sólo 8,3 +/- 0,3 días (diferencia que es significativa, $p < 0,01$). En el día sexto se examinaron otros 21 trasplantes para determinar el contenido de células inflamatorias. Se clasificaron secuencialmente por su contenido en células inflamatorias. La figura de la clasificación para la normalidad fue significativamente mejor en los animales tratados (tratados con hialuronidasa como anteriormente). El experimento demuestra de este modo que los infiltrados celulares son menores cuando se suministra hialuronidasa. Parece que el hialuronan es al menos parcialmente responsable del reclutamiento de células inflamatorias que a su vez causa el rechazo del trasplante.

REIVINDICACIONES

1. El uso de hialuronidasa, en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de la inflamación.

2. El uso según la reivindicación 1, de hialuronidasa en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de estados de inflamación en relación con el trasplante de órganos.

3. El uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la fabricación de un fármaco que comprende hialuronidasa en una cantidad que propor-

ciona una dosis diaria de 1 a 80.000 UI/kg de peso corporal cuando se administra de forma local o sistémica a un mamífero.

4. El uso según la reivindicación 3, en la fabricación de un fármaco que comprende hialuronidasa en una cantidad que proporciona una dosis diaria de 100 a 20.000 UI/kg de peso corporal.

5. El uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la fabricación de un fármaco para ser administrado de forma preventiva o curativa.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65