



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 296 975**

51 Int. Cl.:
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/616 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02754135 .8**
86 Fecha de presentación : **18.06.2002**
87 Número de publicación de la solicitud: **1405639**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **07.04.2004**

54 Título: **Uso de compuestos bloqueantes de canales de sodio y aspirina en la producción de fármacos para producir efectos analgésicos sinérgicos en mamíferos.**

30 Prioridad: **22.06.2001 CN 01 1 15990**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2008

73 Titular/es: **Wex Medical Limited
Unit A, 34/F, Manulife Tower
169 Electric Road, North Point
Hong Kong, CN**

72 Inventor/es: **Ku, Baoshan y
Shum, Hay Kong**

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 296 975 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

Uso de compuestos bloqueantes de canales de sodio y aspirina en la producción de fármacos para producir efectos analgésicos sinérgicos en mamíferos.

La invención se refiere al uso de combinaciones de un compuesto bloqueante de canales de sodio que se une a un sitio SS1 o SS2 de la región extracelular de la subunidad alpha de un canal de sodio, y un compuesto semejante a aspirina en la producción de fármacos para producir efectos analgésicos de forma sinérgica en mamíferos. Las composiciones farmacéuticas basadas en esta invención pueden aumentar el efecto analgésico y reducir la dosis de aspirina, por lo tanto se reducen los efectos secundarios y las reacciones adversas de acuerdo con esto.

Farmacológicamente, los fármacos antiinflamatorios consisten en dos tipos principales: aspirinas y esteroides. La aspirina es un analgésico ampliamente utilizado no esteroide, así como un analgésico antiinflamatorio. Perteneciente a la categoría de ácidos acetilsalicílicos, las aspirinas comprenden principalmente ácidos acetilsalicílicos (conocidos normalmente como aspirina), salicilatos (principalmente salicilatos de sodio) y diflunisal¹. El ácido salicílico es el principio activo en un salicilato.

La inhibición de la síntesis de prostaglandinas (PG) es el mecanismo de acción principal de los fármacos semejantes a aspirina para producir efectos farmacológicos, terapéuticos, y tóxicos y secundarios. La aspirina tiene tales efectos como inhibir la síntesis de sustancias excitantes de la sensación de dolor como bradiquinina e histamina, reprimir la actividad de los glóbulos blancos de la sangre, influenciar el centro de ajuste de la temperatura del cuerpo en el hipotálamo, produciendo de este modo efectos analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos. La aspirina también disminuye la síntesis de tromboxano (TXA₂) inhibiendo la ciclooxigenasa de prostaglandinas en plaquetas, inhibiendo de esta forma la agregación de plaquetas. (Xiaozhi CHENG, Pingtian XIAO, Zhongshen WANG, New Edition of Practical Manual for Drugs, 1994, SS10034400, Chaoxing Digital Library).

La aspirina tiene un efecto analgésico notable en mitigar el dolor causado por el resfriado común, así como en el tratamiento del dolor de cabeza y fiebre inducidos por la tensión nerviosa general. Se utiliza principalmente para el tratamiento de las siguientes indicaciones:

1. Resfriado común, fiebre, dolor de leve a moderado (dolor de cabeza, dolor de muelas, dolor neuromuscular, dolor menstrual, etcétera,);
2. Reuma, artritis reumatoide de las articulaciones;
3. Generación de trombos. Es necesaria una pauta de dosis pequeñas a largo plazo.

La aspirina puede producir los siguientes efectos secundarios (Quinwei SUN, Yi HOU Novel Clinical Uses of Aspirin-Alike Drugs and Adverse Effects, 1998, SS10034347, Chaoxing Digital Library):

1. Dolor de estómago, ocasionalmente úlcera de estómago y hemorragia; asma, erupción cutánea en reacciones alérgicas; ocasionalmente daño hepático o renal reversible.
2. Reacciones a sobredosis: las reacciones leves incluyen salicismo; las graves comprenden hematuria, convulsión, alucinación, trastorno psiquiátrico, y dificultad en la respiración.
3. El uso de la aspirina a largo plazo se asocia con resultados falsos positivos en el examen de azúcar en orina, falso aumento de ácido úrico en suero, niveles anormales de transaminasas, descenso de colesterol, hipopotasemia, y trombinogénesis prolongada.

En los años 1990s, se determinó que la aspirina tenía un efecto estadísticamente significativo para prevenir el ictus y la enfermedad coronaria en personas de mediana edad si se tomaba con frecuencia. Aparentemente, la aspirina tiene tal propiedad anticoagulante leve que previene los coágulos de sangre, mejorando de esta manera la circulación sanguínea.

La aspirina es barata al tiempo que produce efectos terapéuticos sanos con efectos secundarios menores, de modo que se utiliza ampliamente como un medicamento de venta sin receta. Sin embargo, la aspirina a dosis altas en algunas ocasiones, particularmente cuando se necesita para producir efectos terapéuticos deseables tales como mitigar el dolor refractario producido por el reuma y la artritis, podría producir úlcera de estómago, isquemia, o hemorragia en el aparato digestivo superior. Aunque la hemorragia no sea demasiado grande, se puede convertir en un problema serio si se toma la aspirina a grandes dosis durante un período continuo. Especialmente cuando ha habido enfermedad en el aparato digestivo, la sobredosis de aspirina podría causar incluso la muerte, o al menos síntomas de intoxicación como úlcera, dilatación gástrica, y estrechamiento de las ramificaciones gástricas anteriores. En la patente de EE.UU. 4491574, Seifer y col. proporcionaron en 1985 una solución para disminuir la intoxicación de la aspirina tomando

¹ Diflunisal es un derivado difluorofenilo del ácido salicílico.

ES 2 296 975 T3

vitamina A al mismo tiempo o antes para aumentar la secreción gástrica. Esta invención divulga una aproximación alternativa, que es reducir la dosis de aspirina mediante combinación con un analgésico sinérgico en el caso de que se requieran dosis altas de aspirina para producir analgesia.

5 La tetrodotoxina (TTX) es una neurotoxina potente no proteica que tiene efectos farmacológicos como analgesia, anestesia local y anticonvulsión. La TTX mitiga de forma evidente varios tipos de dolor sordo y dolor agudo, y no induce dependencia. Sin embargo, su valor para la aplicación clínica está limitado por la dosis. Desde la perspectiva de la practicidad, se estudia la interacción sinérgica entre fármacos. Para medir la probabilidad de utilizar TTX como un analgésico sinérgico clínicamente, se utilizó un modelo de estimulación química, es decir una prueba de
10 contorsión inducida por ácido acético en ratones (sensibles a los analgésicos antipiréticos) para observar la interacción entre dosis pequeñas de TTX y aspirina, un fármaco antipirético y analgésico.

WO98/43619 describe el uso de TTX o saxitoxina sola o combinada con un AINE para producir anestesia mediante administración tópica. JP55 094319 describe el uso de TTX como un analgésico. Se describe que se puede aplicar TTX
15 a quemaduras y hemorroides. Myer (1998), *Gastroenterology* 114, 527-535 describe que la ranitidina y TTX suprimen los efectos inhibidores de la aspirina y el etanol sobre la secreción de bicarbonato estimulada por PGE, pero no la basal. Yotsu (1999) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 289, 1688-1696 describe las afinidades de unión a canales de sodio de la saxitoxina y varios derivados de TTX utilizando preparaciones de membranas de cerebro de rata.

20 El objetivo de esta invención se refiere al uso de combinaciones de un compuesto bloqueante de canales de sodio que se une a un sitio SS1 o SS2 de la región extracelular de una subunidad alfa de un canal de sodio y aspirina en la producción de fármacos para producir de forma sinérgica un efecto analgésico en mamíferos.

Según esta invención, el compuesto bloqueante de canales de sodio y compuesto semejante a aspirina anteriormente
25 mencionados se diseñan para ser administrados en formas de dosis separadas, o juntos en una forma de dosis individual para producir un efecto analgésico sinérgico. La vía de administración incluye inyección.

Según esta invención, el compuesto bloqueante de canales de sodio anteriormente mencionado es tetrodotoxina
30 y/o sus derivados, que comprenden al menos uno de tetrodotoxina, deshidotetrodotoxina, aminotetrodotoxina, metoxitetrodotoxina, etoxitetrodotoxina, desoxitetrodotoxina o ácido tetrodónico. Su intervalo de dosis es desde 0.01 μg a 20 μg por kilogramo de peso corporal del sujeto.

Según esta invención, el compuesto semejante a aspirina anteriormente mencionado es un ácido salicílico o un
35 salicilato, y el intervalo de dosis del mismo es desde 0.02 mg hasta 200 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto. En otra forma de realización, el compuesto semejante a aspirina se selecciona de ácido acetilsalicílico o diflunisal.

Los compuestos bloqueantes de canales de sodio anteriormente mencionados incluyen saxitoxina, un compuesto que tiene una fórmula molecular $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_4$ o derivados de la misma.

40 Esta invención proporciona una aproximación nueva para tratar el dolor clínicamente, particularmente algunos tipos de dolor agudo y crónico que no responden bien a los analgésicos antipiréticos actuales, mediante el uso de dosis pequeñas de tetrodotoxina en combinación de modo que se mejore el efecto analgésico y se reduzca la dosis de los fármacos implicados, reduciendo de esta manera las reacciones adversas.

45 A continuación, se proporciona una descripción detallada sobre esta invención con referencia a algunos ejemplos.

El mecanismo de acción para que TTX produzca analgesia es inhibir la generación y transmisión de pulsos neuronales bloqueando los canales de sodio sensibles a TTX (TTX-S) y de esta manera la corriente de sodio hacia el interior. La aspirina como un fármaco antipirético y analgésico inhibe la ciclooxigenasa de modo que disminuye la
50 síntesis de prostaglandina (PG) y reduce el efecto inductor de dolor e hiperalérgico de la prostaglandina (PGE2), y también mitiga el efecto inductor de dolor de la bradiquinina.

Se ha divulgado en la bibliografía (Cesare P., Mcnaughton P., *Peripheral pain mechanisms*, *Curr. Opin. Neurobiol.* 7(4): 493-9, agosto de 1997) que la hiperalgesia causada mediante lesión de tejido está relacionada al menos con dos mecanismos: la corriente de sodio inducida por bradiquinina que aumenta la irritación térmica, y los voltajes de activación de varios tipos de canales de iones influenciado por PGE2 entre otros canales de sodio resistentes a TTX. El efecto de hiperalgesia de PGE2 está relacionado con los canales de sodio TTX-R (Kashar, S.G., Gold, M.S., Levine, J.D., A tetrodotoxin-resistant sodium current mediates inflammatory pain in the rat. *Neurosci. Lett.*, 256(1): 17-20, 30 de octubre de 1998), puesto que PGE2 aumenta la amplitud de la corriente de sodio resistente a TTX (TTX- RI_{Na}), aumenta de esta manera la actividad de los canales de sodio TTX-R. En circunstancias de dolor crónico, la sensibilización de los nociceptores está mediada a través de los canales de sodio TTX-R (Tanaka, M., Cummings, T.R., Ishikawa, K., Dib-Hajj, S.D., Black, J.A., Waxman, S.G., SNS Na^+ channel expression increases in dorsal root ganglion neurons in the carrageenan inflammatory pain model. *Neuroreport* 9(6): 967-72, 20 de abril 1998), (Kral, M.G., Xiong, Z., Study, R.E., Alteration of Na^+ currents in dorsal root ganglion neurons from rats with a painful neuropathy. *Pain* 81(1-2): 15-24, mayo de 1999). Por lo tanto, el efecto de analgesia se puede producir bloqueando los canales de sodio TTX-R (Akopian A.N.; Souslova, V.; England, S.; Okuse, K.; Ogata, N.; Ure, J.; Smith, A.; Kerr, B.J.; McMahon, S.B.; Boyee, S.; Hill, R.; Stanfa, L.C.; Dickenson, A.H.; Wood, J.N., The tetrodotoxin-resistant sodium channel SNS has a specialized function in pain pathways. *Nat. Neurosci.*, 2(6): 541-8, junio de 1999). Esto explica que
65

ES 2 296 975 T3

el efecto analgésico de TTX no aumentara notablemente con dosis crecientes en un ensayo de golpe de la cola inducido por calor en ratones. La aspirina induce analgesia disminuyendo la síntesis de PGE2 y de esta manera reduciendo la corriente de sodio transmitida por los canales TTX-R. Por lo tanto, se hipotetiza la analgesia sinérgica combinando aspirina y TTX puesto que pueden inhibir conjuntamente los canales de sodio sensibles a TTX y los resistentes a TTX de forma simultánea.

La contorsión en ratones inducida por ácido acético indica que la tetrodotoxina produjo una inhibición del 40.6% y el 27.7% a dosis de 1/25 y 1/50 de LD₅₀ (0.79 µg/kg, 0.39 µg/kg), respectivamente, lo que está de acuerdo con la bibliografía (Data and References of Main Pharmacodynamics Studies for Tetrodotoxin Injection, Drug Product File 12). Cuando se combina con aspirina, la tetrodotoxina a los dos niveles de dosis redujo la dosis de inhibición media (ID₅₀) de la aspirina de 44.1 mg/kg sola a 5.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, y la dosis de inhibición del 95% (ID₉₅) desde 361.8 mg/kg sola a 94.5 mg/kg, 154.3 mg/kg, respectivamente. El análisis isoblográfico demostró que había interacción sinérgica significativa entre aspirina y TTX.

15 Ejemplo

1. Materiales y Métodos

1.1 Animales

Ratones Kunming, entre 18-22 gramos, mitad machos y mitad hembras, suministrados por el Centro de Animales Experimentales de la universidad de Pekín, Rama médica. Certificado de calidad No. 013056. Clasificación: una.

1.2 Artículos de ensayo y reactivos

Tetrodotoxina (TTX), pureza del 95%, suministrada por Nanning Maple Leaf Pharmaceutical Co., LTD, lote no. 0324C. Diluida con una solución tampón de ácido cítrico a la concentración requerida. Aspirina (ASP), polvo, pureza del 99%, producida por Shandong Pharmaceutical Factory, lote no. 0005564. Molida y después diluida con una solución de carboximetilcelulosa de sodio (CMC) al 0.5%. Ácido acético glacial, puro analítico, fabricado por la Fábrica química de Pekín 52952, lote no. 9911177.

1.3 Métodos

Prueba de contorsión inducida por ácido acético en ratones (Shuyun XU, Rulian BIAN, Xiu CHEN, Methodology of Pharmacology Experiments). Se seleccionaron 380 ratones, a los que no se les dio alimento pero si agua para beber 12 horas antes del experimento, se dividieron al azar en 19 grupos: grupo control (solución de CMC), grupos de sólo ASP (25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg, 200 mg/kg, en total cinco grupos), grupos de sólo TTX (dosis de 1/25 y 1/50 la LD₅₀, ó 0.79, 0.39 µg/kg, respectivamente), y grupos combinados: TTX (0.39 µg/kg) + ASP (6 mg/kg, 12.5 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg), TTX (0.79 µg/kg) + ASP (3 mg/kg, 6 mg/kg, 12.5 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg). TTX o ASP solas se dieron a los ratones de forma intramuscular. Para los grupos combinados, los fármacos se dieron en ambos lados de un ratón de forma intramuscular a un volumen de 0.1 mL/10 g, respectivamente. Después de 40 minutos, se dio una solución de ácido acético glacial al 40% de forma intraperitoneal para inducir dolor. En los siguientes 15 minutos, se observaron y registraron los movimientos de contorsión. El signo de un movimiento de contorsión se reconoció como positivo cuando un ratón manifestó contracción repetida del músculo lumbar, contracción hacia el interior del estómago, estiramiento del tronco y las extremidades posteriores, movimiento hacia arriba de las nalgas. La tasa de inhibición de la contorsión se calculó según la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de inhibición (\%)} = \frac{\text{incidencias de contorsión en el grupo control} - \text{aquellas del grupo de ensayo}}{\text{incidencias de contorsión en grupo control}} \times 100\%$$

La tasa de inhibición media (ID₅₀) se determinó mediante el método probit.

1.4 Análisis estadísticos

Se utilizó el software SPSS para el análisis estadístico, mientras que se realizó el análisis isoblográfico para ensayar las interacciones fármaco-fármaco. (Duanzheng XU, Application of Biostatistics in Pharmacology, Science Publishing, 1986, 357-359), (Shuqin YANG, Medical Statistics, Encyclopedia of Chinese Medical Sciences, Shanghai Science and Technology Publishing, 1985, 197).

2. Resultados

Como se muestra en la Tabla 1, la aspirina sola tiene una dosis de inhibición media (ID₅₀) de 44.11 mg/kg en la prueba de contorsión inducida por ácido acético en ratones. Combinada con pequeñas dosis de TTX (1/25 y 1/50 de LD₅₀), la aspirina reduce su ID₅₀ a 5.01 mg/kg y 9.96 mg/kg, respectivamente, y el ID₉₅ se reduce a 94.47 mg/kg, 154.33 mg/kg desde 361.77 mg/kg, respectivamente. La reducción tanto del ID₅₀ como del ID₉₅ sobrepasó las dos veces.

Tabla 1. Acción sinérgica entre TTX y Aspirina (i.m.) mediante la prueba de contracción en ratón

Grupos	Dosis (mg/kg)	No. de animales	Movimientos de contracción medios	Tasa de inhibición (%)	ID ₅₀ e Intervalo de confianza al 95% (mg/kg)	ID ₉₅ e Intervalo de confianza al 95% (mg/kg)
solución de carboximetil-celulosa de sodio, control						
TTX	50	20	39.0±15.4	—	—	—
	0.79 × 10 ⁻³	20	23.2±11.7	40.6	—	—
	0.39 × 10 ⁻³	20	28.2±9.65	27.7	—	—
ASP	25	20	25.1±14.5	35.6	—	—
	50	20	19.3±13.8	50.6	—	—
	100	20	12.0±9.2	69.3	44.1 (24.9 ~ 61.9)	361.8 (197.3 ~ 1689.2)
	150	20	5.2±5.7	86.6	—	—
	200	20	2.7±1.9	93.2	—	—
TTX (0.79 μg/kg) +ASP	3.0	20	23.0±8.3	40.9	—	—
	6.0	20	20.3±12.2	47.9	—	—
	12.5	20	9.5±9.0	75.7	—	—
	25.0	20	7.2±6.9	81.6	5.0 (3.8 ~ 6.3)	94.5 (62.7 ~ 170.7)
	50.0	20	4.0±4.6	89.9	—	—
	75.0	20	1.8±1.2	95.4	—	—
TTX (0.39 μg/kg) +ASP	6.0	20	25.0±10.9	35.8	—	—
	12.5	20	17.0±8.9	56.4	—	—
	25.0	20	10.0±11.1	74.5	10.0 (7.6 ~ 12.3)	154.3 (99.8 ~ 301.1)
	50.0	20	5.8±5.3	85.2	—	—
	75.0	20	4.5±3.3	88.6	—	—

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto bloqueante de canales de sodio que se une a un sitio SS1 o SS2 de la región extracelular de una subunidad alfa de un canal de sodio y un compuesto semejante a aspirina seleccionado del grupo que consiste en ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, salicilato(s) y diflunisal.
- 10 2. La composición de la reivindicación 1, en donde el compuesto bloqueante de canales de sodio se selecciona del grupo que consiste en tetrodotoxina, un derivado de tetrodotoxina y saxitoxina.
3. La composición de la reivindicación 2, en donde dicho agente bloqueante de canales de sodio es una saxitoxina que tiene una fórmula molecular $C_{10}H_{17}N_7O_4$.
- 15 4. La composición de la reivindicación 2, en donde el compuesto bloqueante de canales de sodio se selecciona del grupo que consiste en tetrodotoxina, deshidrotetrodotoxina, aminotetrodotoxina, metoxitetrodotoxina, etoxitetrodotoxina, desoxitetrodotoxina y ácido tetrodónico.
- 20 5. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4 que proporciona una dosis de 0.01 a 20 μg de compuesto bloqueante de canales de sodio por kilogramo de peso corporal del sujeto.
- 25 6. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho compuesto semejante a aspirina se selecciona del grupo que consiste en ácido salicílico, salicilato(s) y salicilato de sodio.
7. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho compuesto semejante a aspirina es ácido acetilsalicílico.
- 30 8. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho compuesto semejante a aspirina es diflunisal.
9. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde el compuesto bloqueante de canales de sodio es tetrodotoxina.
- 35 10. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9 que proporciona una dosis de 0.02 mg a 200 mg del compuesto semejante a aspirina por kilogramo de peso corporal del sujeto.
- 40 11. Uso de un compuesto bloqueante de canales de sodio que se une a un sitio SS1 o SS2 de la región extracelular de una subunidad alfa de un canal de sodio y un compuesto semejante a aspirina según se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para la preparación de (una) composición(es) farmacéutica(s) para producir efecto analgésico de forma sinérgica en mamíferos.
- 45 12. El uso de la reivindicación 11, en donde el compuesto bloqueante de canales de sodio y el compuesto semejante a aspirina se diseñan para ser administrados en formas de dosis separadas, o juntos en una forma de dosis individual.
13. El uso de la reivindicación 11, en donde la vía de administración incluye inyección.
- 50 14. El uso de la reivindicación 11, en donde el compuesto bloqueante de canales de sodio es tetrodotoxina y/o un derivado de la misma.
15. El uso de la reivindicación 11, en donde el compuesto semejante a aspirina es un ácido salicílico o un salicilato.
- 55 16. El uso de la reivindicación 14 en donde el intervalo de dosis de la tetrodotoxina es desde 0.01 μg por kilogramo de peso corporal hasta 20 μg por kilogramo de peso corporal.
17. El uso de la reivindicación 15, en donde el intervalo de dosis del compuesto semejante a aspirina es desde 0.02 mg por kilogramo de peso corporal hasta 200 mg por kilogramo de peso corporal.
- 60 18. El uso de la reivindicación 14, en donde el derivado de la tetrodotoxina comprende al menos uno de tetrodotoxina, deshidrotetrodotoxina, aminotetrodotoxina, metoxitetrodotoxina, etoxitetrodotoxina, desoxitetrodotoxina o ácido tetrodónico.
19. EL uso de la reivindicación 11, en donde el compuesto bloqueante de canales de sodio es saxitoxina.
- 65 20. El uso de la reivindicación 19, en donde la saxitoxina es un compuesto que tiene una fórmula molecular $C_{10}H_{17}N_7O_4$ o derivados de la misma.
21. Uso de tetrodotoxina para la preparación de una composición farmacéutica para mejorar los efectos analgésicos de un compuesto semejante a aspirina seleccionado del grupo que consiste en ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, salicilato(s) y diflunisal.