



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 275 716**

51 Int. Cl.:

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 47/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01963158 .9**

86 Fecha de presentación : **30.08.2001**

87 Número de publicación de la solicitud: **1328252**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **23.07.2003**

54 Título: **Composición farmacéutica de liberación transdérmica.**

30 Prioridad: **30.08.2000 GB 0021317**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2007

73 Titular/es: **QUEEN MARY & WESTFIELD COLLEGE**
Mile End Road
London E1 4NS, GB

72 Inventor/es: **Tucker, Arthur, Tudor y**
Benjamin, Nigel

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 275 716 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica de liberación transdérmica.

5 La presente invención se refiere a una nueva composición para el suministro transdérmico de preparaciones farmacéuticas aplicadas por vía tópica. El sistema comprende el uso del agente farmacéutico y nitrito acidificado, contenido en el interior de un sistema de suministro que permite el paso tanto del agente farmacéutico específico como del óxido nítrico a la piel.

10 La penetración de sustancias a través de la piel es importante tanto desde el punto de vista toxicológico como desde el terapéutico. El aporte pasivo de la mayor parte de los compuestos a través de los diferentes epitelios está limitado debido a las excelentes propiedades de barrera que ofrecen dichos epitelios. El estrato córneo es la barrera principal contra la penetración de la mayoría de las sustancias químicas. Por consiguiente, los sistemas de aporte tópico convencionales están restringidos a sustancias con efectos locales, o a sustancias lipófilas, pequeñas y de elevada potencia para provocar efectos sistémicos. También resulta difícil suministrar mediante sistemas convencionales medicamentos iónicos y de elevado peso molecular en cantidades terapéuticamente suficientes.

15 Por ejemplo, numerosos procedimientos médicos y quirúrgicos requieren anestesia tópica. El uso de anestesia tópica requiere un agente que posea las siguientes propiedades generales: No debe ser irritante para el tejido sobre el que se aplica, ni debe provocar daños permanentes a la estructura nerviosa. Su toxicidad sistémica debe ser baja porque, eventualmente, puede ser absorbido desde el sitio de administración. Habitualmente, es importante que el tiempo necesario para la aparición de la anestesia sea lo más breve posible. Adicionalmente, la acción debe ser suficientemente duradera para permitir la realización de la intervención médica o quirúrgica prevista, pero no tan prolongado como para exigir un período de recuperación extenso (J. Murdoch Ritchie y N.M. Greene, *Local Anaesthetics* en Goodman & Gilman's: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, páginas 311-331, McGraw-Hill Inc. (1992)).

20 Los anestésicos locales se absorben rápidamente en el sistema circulatorio tras la administración tópica a membranas mucosas o la piel desnuda. Resulta extremadamente útil para lograr la pérdida de sensibilidad en un sujeto sin que éste pierda la conciencia o se produzca una alteración del control central de las funciones vitales. Sus usos típicos incluyen procedimientos invasivos menores tales como punción venosa, por ejemplo, para la toma de sangre con fines diagnósticos en un paciente, la administración de agentes terapéuticos, sangre entera o plasma sanguíneo a un paciente, o antes de la administración de un anestésico general a un paciente. Sin embargo, entre los pacientes se frecuenta que el dolor de la inyección pueda causar molestias y en ciertos casos, los pacientes, sobre todo los jóvenes, pueden experimentar una ansiedad intensa o pánico provocado por la visión de una aguja o de la propia inyección. Estos ataques de pánico se pueden caracterizar por desvanecimientos, vómitos u otros síntomas relacionados. Tanto si la reacción adversa es dolor o un ataque de pánico, el problema conduce a una escasa colaboración del paciente en los procedimientos médicos recomendados. Existe, por lo tanto, la necesidad de composiciones anestésicas locales mejoradas, capaces de solventar estos problemas.

25 La piel humana sana e intacta constituye una excelente barrera natural frente al ambiente exterior y restringe la difusión pasiva de sustancias farmacéuticas. Los anestésicos locales no penetran fácilmente en la piel intacta (McCafferty *et al.*, *Br J Anaesth* **60**, páginas 64-69 (1988)).

30 La inserción de una aguja a través de la piel para llevar a cabo procedimientos tales como una flebotomía o vacunación, es dolorosa y puede provocar miedo y ansiedad considerables especialmente en niños y ancianos. Una experiencia dolorosa da lugar a una reducción de la colaboración, con un incremento de la anticipación de ansiedad y miedo. La introducción de preparaciones anestésicas cutáneas, aplicadas por vía cutánea, tales como la crema EMLA[®] (Mezcla Eutéctica de Anestésicos Locales) [Astra Pharmaceuticals Ltd.] (Arts *et al.*, *Paediatrics* **93**, páginas 797-801 (1994)) y, más recientemente, el gel Ametop[®] [Smith & Nephew Healthcare Ltd.] (Freeman *et al.*, *Paediatr Anaesth* **3**, páginas 129-138 (1993)), ha representado un avance definitivo en la práctica clínica y ha contribuido a romper el círculo vicioso de la "fobia a las agujas".

35 Los estudios de los efectos de estas preparaciones han dado resultados variables (Molodecka *et al.*, *Br J Anaesth* **72**, páginas 174-176 (1994); Lawson *et al.*, *Br J Anaesth* **75**, páginas 282-285 (1995)). Sin embargo, unos tiempos relativamente lentos de acción (EMLA[®], 60-90 minutos; gel de Ametop[®], 30-45 minutos) siguen siendo un impedimento para su uso clínico extendido y la aceptación del paciente, con la necesidad de organizar las rutinas de clínica, sala y quirófano en consonancia. Estos métodos no tienen ningún beneficio en situaciones agudas. Adicionalmente, incluso ateniéndose a las recomendaciones del fabricante en cuanto a dosificación y administración, existe la posibilidad de mejorar el grado de anestesia proporcionado por estos tratamientos.

40 Un anestésico percutáneo local, con una acción más rápida y mayor potencia resultaría de utilidad en lo que respecta a la organización en casos de urgencias, medicina comunitaria, y para un creciente número de atenciones médicas y quirúrgicas de día en pediatría. Asimismo, abreviar al máximo la ansiedad de anticipación, alcanzando a la vez la máxima desensibilización de la piel, sería una evidente ventaja clínica.

45 El óxido nítrico [NO] es un potente vasodilatador sintetizado y liberado por las células del endotelio vascular, que juega un papel importante en la regulación de la resistencia vascular local y el flujo de sangre (Palmer *et al.*, *Nature* **327**, páginas 524-526 (1987)). En las células de mamífero, NO se produce junto con L-citrulina por la oxidación en-

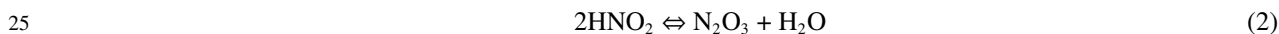
ES 2 275 716 T3

zimática de L-arginina. El óxido nítrico interviene, igualmente, en la inhibición de la agregación y adhesión tanto de plaquetas como de leucocitos, la inhibición de la proliferación celular, la retirada de radicales superóxido, y la modulación de la permeabilidad de la capa endotelial. Asimismo, se ha demostrado que el óxido nítrico posee propiedades antimicrobianas, según F.C. Fang (1997) (*J. Clin. Invest.* **99** (12) 2818-2825 (1997)).

5 En el documento WO 95/22335 se describe una posible utilidad terapéutica de las propiedades antimicrobianas de NO. Se utilizó una composición farmacéutica que comprende nitrito en una crema o ungüento inerte de vehículo, utilizándose ácido salicílico para evidenciar la lisis de cultivos que contienen *E. coli* y *C. albicans*. Adicionalmente, se analizó esta actividad en pacientes con infecciones fúngicas de los pies (“Pie de Atleta” o *Tinea pedis*) y se demostró
10 que la afección era susceptible de tratamiento con la composición de nitrito acidificado. No obstante, la composición de nitrito y ácido orgánico provocó eritema (enrojecimiento) de la piel.

Además de la producción interna, mediada celularmente, también la piel libera continuamente NO de manera externa desde su superficie, a través de un mecanismo que parece ser independiente de la enzima NO-sintasa. El
15 nitrato segregado con el sudor es reduce a nitrito por un mecanismo desconocido, que puede implicar la acción de enzimas nitrito-reductasas, expresadas por las bacterias comensales de la piel. De manera alternativa, en la piel puede haber presentes enzimas nitrito-reductasas de origen mamífero, capaces de reducir rápidamente el nitrato a NO en la superficie de la piel (Weller *et al.*, *J Invest Dermatol* **107**, páginas 327-331 (1996)).

20 Se cree que la producción de NO a partir de nitrito se efectúa a través del siguiente mecanismo:



30 La aplicación tópica de un sistema de nitrito sódico/ácido ascórbico, generador de NO, produce incrementos importantes del flujo sanguíneo de la piel en pacientes con enfermedad de Raynaud y en sujetos sanos normales, sin provocar irritación cutánea local (Tucker *et al.*, *Lancet* **354** (919):1670-5 (1999); Harwick *et al.*, *Clinical Science* **100**, páginas 395-400 (2001)). La reacción se puede finalizar en el plazo de pocos segundos frotando suavemente la piel con un pañuelo de papel.

35 Se ha descubierto ahora que es posible preparar un sistema mejorado de aporte para agentes farmacéuticamente activos por aplicación tópica sobre la piel a partir de un medicamento apropiado y una fuente de iones nitrito en una crema o ungüento inerte de vehículo, cuando se mezcla con un ácido orgánico tal como ácido ascórbico. La fuente de iones nitrito y el ácido orgánico reaccionan produciendo óxidos de nitrógeno que provocan una vasodilatación sostenida de
40 los vasos de la microcirculación sanguínea, sin inflamación importante. Este nuevo uso de composiciones acidificadas que contienen nitrito se desvía de los usos anteriormente conocidos de la composición como agente antimicrobiano. Se ha considerado que los efectos secundarios de eritema asociados con el tratamiento de infecciones fúngicas del pie indican que la composición no se debe utilizar sobre piel dañada, o fuera de la zona infectada que requiere tratamiento terapéutico inmediato y a corto plazo. Adicionalmente, la piel del pie es significativamente más gruesa y dura que en
45 otras zonas del cuerpo del mamífero, pudiendo soportar, de esta forma, un eritema más prolongado que zonas más delgadas de otras partes. Adicionalmente, existe un prejuicio médico muy extendido y generalmente aceptado contra la aplicación de ungüentos o geles sobre heridas abiertas o la piel dañada. Esta práctica está contraindicada debido al riesgo de provocar una infección o envenenamiento de la sangre. La administración de una o múltiples sustancias farmacéuticas con el uso de este sistema presenta ventajas con respecto a formas de administración anteriores.

50 Este sistema supera las limitaciones asociadas con la aplicación farmacéutica transdérmica convencional y es factible para compuestos iónicos, hidrófilos y de mayor peso molecular. Los productos farmacéuticos penetran en la piel a través de los espacios intracelulares y de tejidos especializados tales como los conductos sudoríparos eccrino y apocrinos y los folículos pilosos con glándulas sebáceas.

55 El sistema depende de diversas variables además de factores que afectan a la captación cutánea de medicamentos durante la difusión pasiva. Éstos incluyen pH del vehículo, potencia iónica, número de transporte de iones y agua, conductividad del medicamento, concentraciones solubles, e impedancia de la piel.

60 Con respecto a compuestos con actividad sistémica, el aporte transdérmico presenta múltiples ventajas, en particular la evitación de la incompatibilidad gastrointestinal y del efecto de “primer paso” hepático. Adicionalmente, la vasodilatación de la microcirculación de la piel, inducida por el óxido nítrico, potencia de manera importante la absorción percutánea del agente farmacéutico en la circulación sistémica.

65 De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se ofrece una composición consistente en un agente activo farmacéutico, un agente acidificante farmacológicamente aceptable, y un nitrito de metal alcalino, o un nitrito de metal alcalino-térreo, o un precursor de nitritos de este tipo.

ES 2 275 716 T3

El agente farmacéuticamente activo puede comprender cualquier medicamento o combinación de medicamentos adecuado para tratar una enfermedad en un paciente. El agente puede tener actividad inmediata en la forma administrada, o puede activarse en el organismo del paciente tras su administración tal como, por ejemplo, por hidrólisis o por la acción de una enzima endógena. En principio, es posible administrar cualquier sustancia farmacéuticamente activa usando este sistema de suministro.

Desde el punto de vista terapéutico, el nuevo sistema facilita el suministro de un extenso número de sustancias sistémicamente activas. Sustancias activas incluyen, sin ninguna limitación, antibióticos, hormonas, proteínas, péptidos, proteoglicanos, nucleótidos, oligonucleótidos (tales como ADN, ARN, etc.), vitaminas, minerales, factores de crecimiento, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). En una realización preferida, el sistema de suministro de la presente invención se puede utilizar para aportar formulaciones anestésicas, analgésicas, hormonales, inmunosupresoras, o esteroides. Agentes farmacéuticos adicionales incluyen, sin ninguna limitación, agentes analgésicos tales como ibuprofeno, indometacina, diclofenaco, ácido acetilsalicílico, paracetamol, propranolol, metoprolol, oxicodona, hormona liberadora del tiroides, hormonas sexuales tales como estrógeno, progesterona o testosterona, insulina, verapamilo, vasopresina, hidrocortisona, escopolamina, nitroglicerina, dinitrato de isosorbida, antihistamínicos (tales como terfenadina), clonidina y nicotina, medicamentos inmunosupresores (tales como ciclosporina), o esteroides.

El anestésico puede ser cualquier sustancia adecuada para producir anestesia local, y se puede proporcionar en forma líquida o en polvo, por ejemplo, ametocaína (tetracaína), lignocaína (lidocaína), xilocaína, bupivacaína, prilocaína, ropivacaína, benzocaína, mepivocaína o cocaína, o una mezcla de las mismas, preferentemente en forma de hidrocloruro. El intervalo general de concentración es de alrededor de 1 a 4% en peso, si bien un médico puede determinar empíricamente cantidades mayores o menores. Concentraciones adecuadas preferidas son: tetracaína (0,01 a 10% en peso, adecuadamente 1 a 8% en peso, preferentemente 2% en peso), lidocaína (0,01 a 10% en peso, adecuadamente 1 a 8% en peso, preferentemente 5% en peso), y cocaína (1 a 4% en peso). Las dosificaciones seguras aceptadas generalmente de estos compuestos para la anestesia tópica en un adulto sano de 70 kg de peso son 750 mg para lidocaína, 200 mg para cocaína, y 50 mg para tetracaína. El médico puede optar por otros anestésicos apropiados, que también se pueden utilizar en la composición de la presente invención a las concentraciones pertinentes.

Métodos de la técnica anterior para mejorar la anestesia local sugirieron el uso de bajas concentraciones de vasoconstrictores tales como fenilefrina (al 0,005%). Sin embargo, las composiciones de la presente invención utilizan una propiedad anteriormente desconocida de una composición de nitrito acidificado para producir NO, un vasodilatador, que acelera la transferencia del anestésico hacia la dermis. La combinación del sistema generador de NO y anestésico fomenta la colaboración del paciente en las técnicas de punción venosa y técnicas de extracción de sangre al reducir el dolor experimentado durante el procedimiento.

La elección del agente farmacéuticamente activo puede estar determinada por su adecuación para el régimen de tratamiento de la enfermedad o el trastorno clínico correspondiente, y se pueden utilizar obras de referencia clásicas tales como *Martindale*, el *Índice Merck*, "*The pharmacological basis of therapeutics*" de Goodman y Gilman, octava edición (1992), McGraw Hill.

El agente acidificante farmacológicamente aceptable está adaptado para reducir el pH en el sitio de aplicación y puede incluir cualquier ácido orgánico adecuado. Por ejemplo, el ácido orgánico puede ser un ácido alquil-(C₁-C₅)-carboxílico o un ácido aril-(C₆-C₁₀)-carboxílico-(C₁-C₆).

Tal como se usa en este documento, la expresión "alquilo-(C₁-C₆)" se refiere a grupos hidrocarbonados de cadena lineal o ramificada que tienen uno a seis átomos de carbono. Ejemplos de estos grupos alquilo son metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, neopentilo, y hexilo. La expresión "arilo-(C₆-C₁₀)" incluye fenilo y naftilo.

De acuerdo con *Martindale The Extra Pharmacopoeia*, 28ª edición (1982), agentes acidificantes farmacológicamente aceptables pueden incluir: Ácido clorhídrico diluido, hidrocloruro de betaína, ácido acético, ácido cítrico, ácido cítrico monohidrato, ácido fumárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido tartárico.

Otros agentes acidificantes adecuados incluyen, sin ninguna limitación, moléculas de los azúcares hexosa o pentosa sustituidas con un grupo carboxilo-(C₁-C₆), o moléculas de furanolactona o piranolactona sustituidas con un grupo carboxilo-(C₁-C₆).

Agentes acidificantes preferidos incluyen, sin ninguna limitación, ácido ascórbico (vitamina C), ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, un ácido alquil-(C₁-C₆)-carboxílico, por ejemplo, ácido etanoico (ácido acético), ácido cítrico, o una sal o un derivado de los mismos, en una concentración de hasta 20% en peso, adecuadamente 0,25 a 10% en peso, preferentemente 4 a 6% en peso. Una concentración especialmente preferida es de 4% o 5% en peso. El intervalo preferido de pH es de pH 2 a pH 7, preferentemente pH 4. Agentes acidificantes adicionales incluyen, sin ninguna limitación, amonio o sales de amonio, compuestos de arilo-(C₆-C₁₀) tales como fenol, ácido benzoico o sus derivados. Se pueden utilizar ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico si está suficientemente diluido y/o adecuadamente tamponado. El agente acidificante puede estar presente como sal disuelta o en forma líquida.

ES 2 275 716 T3

La fuente farmacológicamente aceptable de iones nitrito es un nitrito de metal alcalino o un nitrito de metal alcalino-térreo, o un precursor de nitritos de este tipo. Por ejemplo, LiNO_2 , NaNO_2 , KNO_2 , RbNO_2 , CsNO_2 , FrNO_2 , $\text{Be}(\text{NO}_2)_2$, $\text{Mg}(\text{NO}_2)_2$, $\text{Ca}(\text{NO}_2)_2$, $\text{Si}(\text{NO}_2)_2$, $\text{Ba}(\text{NO}_2)_2$, o $\text{Ra}(\text{NO}_2)_2$. El precursor de nitritos puede ser iones nitrato derivados de sales de metal alcalino o metal alcalino-térreo capaces de conversión enzimática en nitritos. Por ejemplo, LiNO_3 , NaNO_3 , KNO_3 , RbNO_3 , CsNO_3 , FrNO_3 , $\text{Be}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$, o $\text{Ra}(\text{NO}_3)_2$. La concentraciones de la fuente de iones nitrato puede ser de hasta 20% en peso, adecuadamente 0,25 a 10%, preferentemente 4 a 6%. Una concentración especialmente preferida es 4% o 5% en peso.

De manera adecuada, la concentración final en iones nitrito presente en la composición es de hasta 20% en peso, por lo general dentro del intervalo de 0,25% hasta 15% en peso, adecuadamente 2% a 10% en peso, preferentemente 4 a 6% en peso. Una concentración en iones nitrito especialmente preferida es 4% o 5% en peso.

En la preparación de un agente según este aspecto a la invención, el agente farmacéuticamente activo, el agente acidificantes y los iones nitrito o la fuente adecuada están formulados en un vehículo o diluyente farmacológicamente aceptable, que puede ser una crema o unguento inerte. En una forma especialmente preferida de la invención, el agente farmacéuticamente activo, el agente acidificante y la fuente de iones nitrito o su precursor están dispuestos separadamente en dicha crema o unguento, que se mezclan para liberar los iones en el entorno de uso.

La composición farmacéutica puede estar adaptada para su administración por cualquier vía tópica adecuada, incluidas las vías bucal, sublingual o transdérmica. Estas composiciones se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica farmacéutica, por ejemplo mezclando el ingrediente activo con el o los vehículos o excipientes bajo condiciones de esterilidad.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas a la administración transdérmica se pueden presentar en forma de parches discretos, diseñados para mantenerse en contacto íntimo de la epidermis del receptor durante un período de tiempo prolongado. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede suministrar desde el parche por iontoforesis, tal como se describe en general en *Pharmaceutical Research*, **3(6):318** (1986).

Las preparaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden formular como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites. Para el tratamiento del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, boca y piel, las composiciones se aplican, preferentemente, en forma de unguento o crema tópica. Cuando están formuladas como unguento, el ingrediente activo se puede emplear con una base para unguento parafínica o miscible en agua. De manera alternativa, el ingrediente activo se puede formular como crema con una base para crema de aceite en agua, o una base de agua en aceite. Composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica al ojo incluyen gotas oftálmicas, en las que el ingrediente activo está disuelto o suspendido en un vehículo apropiado, especialmente un disolvente acuoso. Composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas, tabletas y colutorios bucales.

Las composiciones farmacéuticas pueden contener conservantes, solubilizadores, estabilizadores, humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, odorantes, sales (las propias sustancias de la presente invención se pueden proporcionar en forma de sales farmacéuticamente aceptables), tampones, agentes de recubrimiento, o antioxidantes. También pueden contener agentes terapéuticamente activos adicionales a la sustancia de la presente invención.

Las dosificaciones de la sustancia de la presente invención pueden variar dentro de un amplio intervalo, dependiendo de la enfermedad o trastorno del individuo a tratar, etc., y, en último término, será el médico quien determine las dosificaciones apropiadas que se deben usar.

Esta dosificación se puede repetir con la frecuencia que se considere apropiada. Si se producen efectos secundarios, es posible reducir la cantidad y/o frecuencia de dosificación, de acuerdo con las prácticas clínicas normales.

Estas composiciones se pueden formular para medicina humana o veterinaria. La presente solicitud se debe interpretar como aplicable igualmente tanto a humanos como a animales, salvo que el contexto implique claramente lo contrario.

De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona el uso en medicina de una composición como se ha definido anteriormente. En un tercer aspecto de la invención, se proporciona el uso de una composición, como se ha definido anteriormente, en la preparación de un agente para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno clínico. El trastorno clínico puede incluir anestesia local, inmunosupresión, por ejemplo, para impedir el rechazo de un trasplante. Enfermedades susceptibles de tratamiento utilizando el sistema de suministro de la presente invención incluyen, sin ninguna limitación, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurológicas o enfermedades de sistema nervioso central (por ejemplo, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson), epilepsia, trastornos psiquiátricos (por ejemplo, esquizofrenia), inflamación (por ejemplo, artritis reumatoide, artrosis, asma, gota), en particular inflamación tópica, hipertensión, arritmia, hiperlipoproteinemias, trastornos gastrointestinales (por ejemplo, úlceras pépticas), enfermedades renales, infecciones por parásitos (por ejemplo, infecciones por protozoos, helmintiasis, amebiasis, giardiasis, tricomoniasis, leishmaniasis, tripanosomiasis, malaria), infecciones microbianas (por ejemplo, levaduras, hongos, bacterias), infecciones virales, cáncer, inmunosupresión, trastornos hemáticos (coágulos sanguíneos, etc.), trastornos endocrinos (por ejemplo, hormonales) (por ejemplo, trastornos tiroideos, hipoglucemia), diabetes, trastornos dermatológicos (por ejemplo, psoriasis).

ES 2 275 716 T3

De acuerdo con un cuarto aspecto de la invención, se proporciona una composición como se ha definido anteriormente en forma de preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de una enfermedad o trastorno clínico definido anteriormente.

5 De acuerdo con un quinto aspecto de la invención, se proporciona un kit que comprende una composición como se ha definido anteriormente, para utilizar como preparación combinada en el tratamiento de una enfermedad o trastorno clínico anteriormente definido.

10 De acuerdo con un sexto aspecto de la presente invención, se proporciona una membrana permeable que comprende una composición como se ha definido anteriormente. La membrana puede ser completa o parcialmente permeable, incluida semi-permeable, al paso de óxido nítrico. Esta membrana puede impedir el contacto directo de la composición con la piel, pero puede permitir la difusión de los óxidos nítricos a la piel. Esto representa una ventaja especialmente en el tratamiento de zonas de piel dañada, heridas abiertas o quemaduras graves. De esta forma, se preserva la integridad de la zona de la lesión. Membranas adecuadas incluyen, sin ninguna limitación, materiales polímeros tales como nitro-
15 celulosa, celulosa, agarosa, polietileno, poliéster (por ejemplo, copolímero en bloque de poliéster hidrófilo), etc. Una membrana adecuada que se puede utilizar en la práctica es Sympatex[®], que está compuesta por fibras de copolímero en bloque de poliéster hidrófilo.

20 Características preferidas del segundo y subsiguientes aspectos de la invención son como para el primer aspecto con las variaciones correspondientes.

Seguidamente, la invención se describirá a modo de ilustración sólo, haciendo referencia a los siguientes ejemplos y figuras, que se ofrecen con fines ilustrativos y en ningún caso limitan la invención.

25 Figura 1 muestra el efecto de la aplicación directa y subsiguiente retirada del tratamiento sobre el flujo de microcirculación sanguínea en la piel del antebrazo y las yemas de los dedos de sujetos sanos. Los ejes verticales representan flujo sanguíneo, foto-pletismografía (PPG, en sus siglas en inglés) relativa al volumen microcirculatorio, y flujometría Doppler con láser (LDF) en relación con el flujo microcirculatorio (recuento eritrocitario x velocidad). El eje horizontal es tiempo en minutos; NS = no significativo; los puntos mostrados representan el valor medio; las barras de error son confianza del 95%; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; \uparrow = aplicación del gel, y \downarrow = retirada del gel.
30

Figura 2 muestra el efecto de la aplicación directa y subsiguiente retirada del tratamiento sobre el flujo de microcirculación sanguínea en la piel del antebrazo y las yemas de los dedos de sujetos con fenómeno de Raynaud intenso. Los ejes verticales representan flujo sanguíneo, foto-pletismografía (PPG) relativa al volumen microcirculatorio, y flujometría Doppler con láser (LDF) en relación con el flujo microcirculatorio. El eje horizontal es tiempo en minutos.
35

Figura 3 muestra la difusión de óxido nítrico a través de una selección de membranas, en donde el eje vertical muestra la concentración de óxido nítrico, y el eje horizontal es el tiempo en minutos. Figura 3a muestra los resultados del uso de Seranwrap[®] (SW-01), y Figura 3b muestra los resultados del uso de Clingfilm (CF-02).
40

Figura 4 muestra el efecto de difusión del tratamiento a través de una membrana sobre el flujo microcirculatorio de sangre en la piel del antebrazo en un sujeto sano. El eje vertical es flujo de sangre, foto-pletismografía (PPG) en relación con el volumen microcirculatorio, y el eje horizontal es tiempo en minutos.

45 Figura 5 muestra el efecto de difusión del tratamiento a través de una membrana sobre el flujo microcirculatorio de sangre en la piel del antebrazo en un sujeto sano. El eje vertical es flujo de sangre, flujometría Doppler por láser (LDF) en relación con el flujo microcirculatorio, y el eje horizontal es tiempo en minutos.

Figuras 6 (a)-(i) muestran la difusión transmembranosa de nitrito sódico y ácido ascórbico en gel de agar al 0,8%, utilizando cloruro sódico al 1% como intermedio, a concentraciones finales de 500 mM, 250 mM, 165 mM, 50 mM, 25 mM, 5 mM, 2,5 mM y 0,5 mM. También se utilizó un control de nitrito y gel de agar al 0,8%, usando cloruro sódico al 1% como intermedio. La figura ilustra la difusión de óxido nítrico a través de la membrana Sympatex[®] 10 μm (Akzo Nobel), en donde el eje vertical muestra la concentración de óxido nítrico en partes por millón (ppm), y el eje horizontal muestra el tiempo en minutos. En las Figuras 6(a) y 6(b), los picos iniciales han sido artificialmente
55 aplanados debido a la deflexión a escala total del dispositivo de detección.

Figura 7 muestra los resultados de la aplicación de un gel generador de óxido nítrico, consistente en nitrito sódico 330 mM y ácido ascórbico 330 mM en jalea KY[®] sobre la piel del antebrazo y, simultáneamente, sobre una membrana Sympatex[®] 10 μm (Akzo Nobel) que, a continuación, se aplicó sobre la piel del antebrazo de la extremidad contralateral de nueve sujetos sanos. Las condiciones y los métodos experimentales fueron idénticos a los utilizados para la aplicación del gel generador de NO en los sujetos sanos de las Figuras 1, 2, 4 y 5. El eje vertical muestra las unidades de Flujometría Doppler por Láser, y el eje horizontal muestra el tiempo en minutos.
60

Figura 8 muestra los resultados de los niveles de dolor experimentados por sujetos, utilizando la Puntuación de Calificación Verbal (VRS); los valores son categorías (porcentaje); $n = 100$; $p < 0,0001$ [1] ausencia de dolor; [2] sensación mínima; [3] dolor leve; [4] dolor moderado; [5] dolor intenso (incluida la retirada de la mano).
65

ES 2 275 716 T3

Figura 9 muestra los resultados de la Puntuación Analógica Visual (VAS); los valores son medias \pm IC del 95%; n = 100; p < 0,001.

Ejemplo 1

5

Respuesta microcirculatoria a la aplicación tópica de un gel generador de NO en sujetos sanos

Se preparó un gel generador de óxido nítrico (gel generador de NO) de la forma siguiente. Se agregó nitrato sódico (Analar[®] de categoría de Sigma, Poole, Dorset, RU) a jalea KY[®] (Johnson & Johnson) para preparar una solución al 5% en peso. Se agregó también ácido ascórbico (Sigma) a la jalea KY[®] (Johnson & Johnson) para preparar una solución al 5% en peso. Se mezclaron aproximadamente 0,5 ml de cada solución sobre la piel de un paciente, usando un aplicador de algodón estéril. Al poner en contacto ambas soluciones, la reacción consiguiente da lugar a la generación de óxido nítrico. La reacción se puede interrumpir limpiando la piel con un pañuelo de papel o un aplicador de algodón empapado en alcohol etílico.

15

En referencia a la Figura 1, se midió la respuesta microcirculatoria a la aplicación tópica del gel generador de NO en 10 sujetos sanos. Simultáneamente, se midió el efecto de un tratamiento con placebo en la extremidad contralateral. El volumen de la microcirculación cutánea se midió por foto-pletismografía [PPG] con infrarrojos, y la velocidad de microcirculación por flujometría Doppler por láser [LDF]. Todos los exámenes se llevaron a cabo en un laboratorio tranquilo, sin corrientes de aire, y bajo condiciones de temperatura y humedad controladas ($24 \pm 1^\circ\text{C}$; humedad relativa 30-40%), por la mañana, a aproximadamente la misma hora del día para cada sujeto.

20

El tratamiento con placebo no ejerció ningún efecto sobre el flujo sanguíneo microcirculatorio ni en el antebrazo ni en los dedos de sujetos normales. La respuesta de vasodilatación al tratamiento activo alcanzó una fase de meseta en todos los pacientes al cabo de diez minutos de la aplicación del gel activo. El flujo sanguíneo de la piel del antebrazo y de la yema de los dedos aumentó marcadamente después de la aplicación de un gel generador de NO en los voluntarios sanos.

25

Al aplicar el gel activo sobre la piel del antebrazo, todos los sujetos exhibieron una importante respuesta de vasodilatación al tratamiento con gel, tanto en volumen como en flujo. Este incremento del flujo sanguíneo se mantuvo tras la retirada del gel activo. El gel activo careció de efectos significativos sobre el volumen microcirculatorio del dedo (PPG) (Figura 1: yema del dedo), si bien el flujo microcirculatorio aumentó de forma significativa ($p < 0,01$) y se mantuvo tras la retirada del gel ($p < 0,01$; Figura 1: yema del dedo).

30

Ejemplo 2

35

Respuesta microcirculatoria a la aplicación tópica de gel generador de NO en pacientes con vasoespasma primario intenso

La Figura 2 muestra la respuesta microcirculatoria a la aplicación tópica de gel generador de NO, medida en 20 pacientes con vasoespasma primario grave. Simultáneamente, se midió en la extremidad contralateral el efecto del tratamiento con placebo. Las condiciones fueron idénticas a las utilizadas para la aplicación del tratamiento a sujetos sanos en la Figura 1. El volumen de microcirculación de la piel se midió por foto-pletismografía [PPG] por infrarrojos, y la velocidad de microcirculación se determinó por flujometría Doppler con láser [LDF].

40

El tratamiento con placebo no tuvo efecto alguno sobre el flujo sanguíneo microcirculatorio ni en el antebrazo ni en el dedo de ningún paciente. La respuesta de vasodilatación al tratamiento activo alcanzó una fase de meseta en todos los pacientes al cabo de diez minutos de la aplicación del gel activo. Cuando se aplicó el gel a la piel del antebrazo, todos los pacientes mostraron una intensa respuesta de vasodilatación al tratamiento con gel activo tanto en volumen como en flujo. Este incremento del flujo sanguíneo se mantuvo tras la retirada del gel activo en ambos grupos (Figura 2: Antebrazo y yema de los dedos). La aplicación del gel activo en la yema del dedo provocó un incremento significativo del volumen de microcirculación ($p < 0,05$), que volvió rápidamente al nivel de reposo tras la retirada del gel. El gel activo aumentó también de forma significativa el flujo de microcirculación digital ($p < 0,01$), que alcanzó valores normales. Este aumento se mantuvo, aunque reducido, tras la retirada del gel ($p < 0,05$).

50

55

Ejemplo 3

Generación de óxido nítrico derivado a través de una membrana

La Figura 3 muestra la generación de óxido nítrico derivado de la reacción descrita anteriormente, a través de una membrana. Las concentraciones de óxido nítrico se midieron con un dispositivo de medición sensible al óxido nítrico: El Analizador de NO-NO₂-NO_x por Quimioluminiscencia Modelo 42C (Thermo Environmental Instruments Inc., MA, EE.UU.), conectado a un sistema de adquisición de datos y un ordenador IBM. Las mediciones se realizaron de manera continua y se tomaron lecturas cada 10 segundos durante 275 minutos. El Material 1 fue Clingfilm de uso doméstico, el Material 2 fue Saranwrap[®] (Sigma), y el Material 3 fue Sympatex[®] (Akzo Nobel).

60

65

Ejemplo 4

Respuesta microcirculatoria a la aplicación de gel generador de NO a tres materiales de membrana diferentes

5 La Figura 4 muestra la respuesta microcirculatoria a la aplicación de gel generador de NO a tres membranas diferentes que, seguidamente, se aplicaron a la piel del antebrazo de un sujeto sano. Las condiciones fueron idénticas a las utilizadas para la aplicación del tratamiento en sujetos sanos de la Figura 1. El volumen de microcirculación de la piel se midió por foto-pletismografía [PPG] por infrarrojos. El Material 1 fue Clingfilm doméstico, el Material 2 fue Saranwrap® (Sigma), y el Material 3 fue Sympatex® (Akzo Nobel).

10 El incremento del volumen de sangre microcirculatorio es un reflejo de la difusión de óxido nítrico a través de la membrana hacia la piel. La transferencia de óxido nítrico a través de la membrana es un reflejo de las características físicas del material y es altamente variable. El Material 3 (Sympatex®, Akzo Nobel) exhibió un perfil de difusión superior.

Ejemplo 5

Respuesta microcirculatoria a la aplicación de gel generador de NO a tres materiales de membrana diferentes

20 La Figura 5 muestra la respuesta microcirculatoria a la aplicación de gel generador de NO a tres materiales de membrana diferentes que, seguidamente, se aplicaron a la piel del antebrazo de sujetos sanos. Las condiciones fueron idénticas a las utilizadas en la aplicación del tratamiento de sujetos sanos en la Figura 1. La velocidad de microcirculación de la piel se midió por flujometría Doppler por láser [LDF].

25 El aumento de velocidad de microcirculación es un reflejo de la difusión de óxido nítrico a través de la membrana hacia la piel. La transferencia de óxido nítrico a través de la membrana es reflejo de las características físicas del material y es altamente variable. El Material número 3 (Sympatex®, Akzo Nobel) exhibió un perfil de difusión superior.

Ejemplo 6

Comparación de la generación de óxido nítrico a través de una membrana

30 La Figura 6 muestra la generación de óxido nítrico, derivado de la reacción que se ha descrito anteriormente, a través de una membrana Sympatex® de 10 µm. Las concentraciones de óxido nítrico se midieron con un dispositivo de medición sensible al óxido nítrico: Analizador de NO-NO₂-NO_x por Quimioluminiscencia Modelo 42C (Thermo Environmental Instruments Inc., MA, EE.UU.), conectado a un sistema de adquisición de datos y un ordenador IBM. Las mediciones se realizaron de manera continua y se tomaron lecturas cada 10 segundos durante 1.350 minutos.

40 Los resultados que se muestran en la Figura 6 ponen de manifiesto que el coeficiente de difusión transmembranosa se encuentra estrechamente relacionado con la producción de óxido nítrico, que es producto directo de la concentración tanto de la fuente de iones nitrito como del agente acidificante. Adicionalmente, los resultados demuestran que se mantiene una producción basal de óxido nítrico durante un período de tiempo significativo después de haber mezclado los reactivos.

Ejemplo 7

Respuesta microcirculatoria a la aplicación de gel generador de NO

50 El gel generador de óxido nítrico, consistente en nitrito sódico 330 mM y ácido ascórbico 330 mM en jalea KY®, se aplicó directamente a la piel del antebrazo y, simultáneamente, a la membrana Sympatex® de 10 µm (Akzo Nobel) que, a continuación, se aplicó sobre la piel del antebrazo de la extremidad contralateral de nueve sujetos sanos. Las condiciones y los métodos experimentales fueron idénticos a los utilizados para la aplicación del gel generador de NO a sujetos sanos en las Figuras 1, 2, 4 y 5. Los resultados se muestran en la Figura 7. Se debe señalar que, en la Figura 7, las concentraciones de mezcla se encuentran en una forma de unidad diferente (es decir, mM en lugar de % en peso). El flujo microcirculatorio de la piel se midió por Flujometría Doppler por Láser [LDF].

60 El incremento estadísticamente significativo del flujo microcirculatorio con respecto a los valores de base fue reflejo de la difusión de óxido nítrico a través de la membrana hacia la piel. Esta vasodilatación, indicada por LDF a través de la membrana fue 60-75% (media 64%) de la observada cuando el gel generador de NO se aplicó directamente sobre la piel del antebrazo. Los resultados que se muestran en la Figura 7 confirman las observaciones descritas en la Figura 1, que pone de manifiesto que la respuesta de vasodilatación al tratamiento directo alcanzó una fase de meseta en todos los pacientes dentro de los 10 minutos siguientes a la aplicación del gel. Se alcanzó una fase de meseta, aunque de amplitud reducida, al cabo de 16 minutos cuando el gel generador de NO se aplicó a la membrana, y refleja una fase de retraso que está relacionada con las características de difusión de la membrana.

65

ES 2 275 716 T3

Ejemplo 8

Uso combinado de un anestésico local percutáneo y un sistema generador de NO para la punción venosa

5 El estudio fue un ensayo doble ciego, controlado con placebo. Los efectos de los tratamientos activo y con placebo se midieron simultáneamente, aplicándolos a manos diferentes. La respuesta de dolor a la inserción de una cánula en una vena dorsal de la mano mediante una aguja Butterfly® 20 G se evaluó en 100 voluntarios sanos. El sistema generador de óxido nítrico se preparó mezclando dos geles viscosos. El primer gel fue una solución de jalea KY® y nitrito sódico (al 10% en peso), y el segundo, jalea KY® y ácido ascórbico (al 10% en peso). El gel generador de NO se denominó tratamiento placebo y, al combinarlo con lignocaína en crema acuosa, para producir una concentración anestésica final al 5%, se designó tratamiento activo. Se aplicaron por separado aproximadamente 2 ml de las mezclas de geles sobre la piel del dorso de la mano (3 cm²) durante 10 minutos. Después de finalizar con éxito la inserción de la cánula, se midió la percepción de dolor mediante una puntuación de calificación verbal (VRS) y una puntuación analógica visual (VAS).

15 Estudios piloto de xilocaína al 2,5-5,0% combinada con el gel generador de NO, aplicada sobre la superficie ventral del antebrazo y la superficie dorsal de la mano, indicaron que se alcanzó un nivel importante de anestesia local al cabo de 5-10 minutos, evaluada por las pruebas de pinchazo con un alfiler y sensibilidad térmica. Adicionalmente, la aplicación de xilocaína directamente sobre la piel no produjo ningún nivel discernible de anestesia en un plazo de 20 minutos. El anestésico usado en estos estudios iniciales fue xilocaína, ya que estuvo fácilmente disponible en forma farmacéutica apta para su mezcla.

El objetivo de este estudio fue evaluar las posibilidades de combinar el sistema generador de óxido nítrico, investigado anteriormente, con lignocaína para disminuir el tiempo de aparición e incrementar la eficacia de la anestesia percutánea.

Materiales y métodos

Sujetos

30 El estudio fue un ensayo doble ciego, controlado con placebo. Se reclutaron cien sujetos sanos y normotensos. Se analizaron sus antecedentes médicos, incluidas enfermedades clínicas anteriores, alergias, tabaquismo y consumo de alcohol y de otras sustancias clínicamente activas. En la exploración física se registraron también la tensión arterial, frecuencia y ritmo del pulso, y signos de abuso de drogas y alcohol.

35 Los criterios de exclusión comprendieron: analgesia dentro del período de 24 horas previo; hipersensibilidad conocida a anestésicos; antecedentes de alergias medicamentosas, eccema o psoriasis, o presencia de grietas o ulceraciones de la piel próxima al punto de punción venosa/inserción de la cánula; cualquier enfermedad concomitante importante; gestación o lactancia; consumo por parte del voluntario de medicamentos con actividad conocida o potencial sobre el sistema cardiovascular o sobre la reología sanguínea (por ejemplo, aspirina o cualquier otro AINE), y tensión arterial sistólica > 160 mmHg, o diastólica > 100 mmHg.

45 El estudio recibió la aprobación del Comité de Ética de las Autoridades Sanitarias de Londres Oriental y de la City [ELCHA]. Se aceptó la participación de los voluntarios después de haber recibido una explicación verbal y escrita del estudio, y haber firmado el formulario de consentimiento.

Métodos

50 El sistema generador de óxido nítrico se preparó mezclando dos soluciones viscosas (A y B). La solución A se preparó en jalea KY® [Johnson & Johnson Ltd.], un lubricante estéril, al que se agregó nitrito sódico Analar® para obtener un gel al 10% (peso en volumen) en un recipiente de plástico y estéril para muestras. La solución B se preparó agregando ácido ascórbico (vitamina C) Analar® a jalea KY® para obtener un gel al 10% (peso en volumen) en un recipiente de plástico y estéril separado.

55 El gel generador de NO se designó tratamiento placebo y, después de suplementarlo, adicionalmente, con lignocaína en crema acuosa para alcanzar una concentración final de 5%, se designó tratamiento activo. El gel generador de NO se utilizó como tratamiento placebo porque la aplicación tópica de este sistema da como resultado un eritema pronunciado, que habría impedido el doble enmascaramiento eficaz del estudio. Se elaboraron preparaciones recientes de geles para cada voluntario. Se aplicaron cantidades reducidas (aproximadamente 2,0 ml que contienen sendos 60 50 miligramos de nitrito sódico y ácido ascórbico) de gel activo y placebo sobre el dorso de cada mano, sobre una superficie de 3 cm² y, a continuación, se mezclaron con un palillo de algodón limpio. La aleatorización se llevó a cabo mediante la distribución generada por ordenador. El tratamiento activo se aplicó a la superficie dorsal de una mano seleccionada al azar, aplicando simultáneamente el tratamiento placebo a la mano contralateral. Después de 10 minutos de la aplicación, se limpiaron las dos manos antes de la punción venosa.

65 A continuación, usando una aguja de mariposa 20G, se insertó una cánula en una vena de la mano situada dentro de la zona de tratamiento, siguiendo las directrices establecidas en el *Código para la Práctica de Flebotomía* del

Royal Hospitals NHS Trust en relación con esterilidad, riesgos de infección y contaminación. La cánula se insertó primero en la mano izquierda y, después, en la derecha. El éxito de la inserción de la cánula se determinó por la capacidad para extraer 1 ml de sangre venosa. Si en el primer intento no se consiguió obtener sangre, se consideró como procedimiento fracasado, excluyendo el paciente del estudio. Tras la inserción bilateral de las cánulas, se limpió y vendó adecuadamente cada mano.

Mediciones de eficacia

La percepción del dolor es subjetiva y difícil de medir, por lo que se utilizaron dos mediciones de resultados. La puntuación de calificación verbal (VRS) y la puntuación analógica visual (VAS) son dos criterios bien validados (Bradley L.A., *Arthr Care Res.*, 178-184 (1993); Woolfson *et al.*, *Br J Clin Pharmacol* **30**, 273-239 (1990)). Cada evaluación se llevó a cabo utilizando formularios de informe separados, sin referencia visual a las respuestas anteriores.

Tras la inserción exitosa y bilateral de las cánulas, se utilizó una clasificación del dolor por VRS haciendo referencia, en primer lugar, a la mano izquierda que se repitió, luego, para la mano derecha. Se formuló al voluntario la siguiente pregunta: “¿Qué intensidad de dolor ha sufrido durante el procedimiento?”, con cinco posibles respuestas: [1] ausencia de dolor; [2] sensación mínima; [3] dolor leve; [4] dolor moderado; [5] dolor intenso (incluida la retirada de la mano). El voluntario seleccionó una respuesta para cada mano marcando un círculo alrededor del número elegido.

La intensidad del dolor se midió también por una VAS, consistente en una línea horizontal de 100 mm, cuyos extremos están marcados con las descripciones “ausencia de dolor” y “dolor intenso”. La VAS se efectuó en primer lugar para la mano izquierda y, a continuación, para la derecha. Para cada mano, se preguntó al voluntario “¿qué sensación ha experimentado durante el procedimiento?”, pidiéndole, a continuación, que marcara una línea vertical en la línea horizontal, que indicara la intensidad o grado de molestia del dolor experimentado durante el procedimiento. Los valores se midieron en milímetros a partir del extremo izquierdo de la línea horizontal.

La aplicación de los geles al voluntario, la inserción bilateral de las cánulas en las venas dorsales de la mano, y el registro de datos se llevaron a cabo de forma enmascarada por investigadores separados.

Diseño del estudio y análisis estadístico

Debido a la ausencia de estudios previos de este sistema, fue difícil calcular el número de pacientes necesario para obtener una potencia estadística. Sin embargo, el estudio piloto no controlado permitió realizar los cálculos preliminares de potencia y, junto con una búsqueda bibliográfica de investigaciones similares, se estableció que cien sujetos tendrían una potencia de 80% para detectar una diferencia de 25% en las mediciones primarias de resultados a un nivel de $p < 0,05$. Adicionalmente, la evaluación de cien sujetos reduciría la influencia de cualquier variabilidad en el procedimiento de inserción de la cánula.

Todos los voluntarios recibieron simultáneamente los tratamientos activo y placebo. Todos los análisis y resúmenes se llevaron a cabo usando los paquetes de análisis estadístico de Microsoft Excel 5.0a y SPSS 6.1.3, disponibles en el comercio. Las comparaciones se realizaron entre el tratamiento activo y el de placebo. La Puntuación de Calificación Verbal proporcionó datos categóricos/ordinales, por lo que se utilizó un análisis no paramétrico (prueba exacta de Fisher - una extensión de la prueba de McNemar). Los datos de la Puntuación Analógica Visual constituyeron una escala de intervalos y mostraron una distribución normal, tal como lo confirmaron los trazados de probabilidad de Ryan-Joiner. Por lo tanto, se llevó a cabo un análisis paramétrico usando la prueba *t* de dos muestras. Un valor de *P* menor que 5% se consideró que representaba significación estadística.

Resultados

Para el estudio se reclutaron 100 voluntarios sanos. Los datos demográficos se resumen en la Tabla 1. Adicionalmente, de los 100 sujetos, 83 fueron europeos blancos, 8 africanos/caribeños, 7 asiáticos y 2 de otras razas (turca). 44 voluntarios fumaban una media de 5 cigarrillos diarios (intervalo 1-30) y otros 8 habían dejado de fumar desde más de un mes. 87 voluntarios consumían una media de 14 unidades semanales de alcohol (intervalo 1-60 unidades).

Los procedimientos de inserción de cánulas finalizaron con éxito, al primer intento, en los 100 voluntarios. La tolerancia y colaboración fueron altas en todos los sujetos. No hubo ningún caso de hipersensibilidad a ninguna preparación ni la investigación produjo acontecimientos adversos.

La clasificación establecida por la puntuación de calificación verbal (VRS) registró diferencias significativas en las puntuaciones medianas (Figura 1). El tratamiento activo (lignocaína + sistema de generación de NO) dio como resultado una respuesta de dolor más reducida que el tratamiento placebo (sistema de generación de NO solo) ($p < 0,001$). No obstante, 7 sujetos marcaron la categoría [4] o dolor moderado, para el tratamiento activo, que representa un fracaso de la anestesia. Las VRS medianas fueron similares entre sexos para los tratamientos activo y placebo.

La puntuación analógica visual (VAS) también fue significativamente diferente entre los dos grupos (Figura 2). El tratamiento activo tuvo como consecuencia una respuesta significativamente menor a la inserción de la cánula que el tratamiento placebo ($p < 0,001$). La formulación activa produjo una reducción de la puntuación media de dolor en

VAS de 40,3%. No hubo diferencias entre las puntuaciones de dolor VAS de hombres y mujeres para ninguno de los tratamientos.

TABLA 1

Características demográficas de los voluntarios		
Parámetros	Media ± DE (intervalo)	Mediana
Sexo (Masculino:Femenino)	56:44	
Edad (años)	27,6 ± 5,8 (20 – 40)	27,0
IMC (peso/estatura²)	25,1 ± 4,4 (17,5 – 42,0)	24,5
Tensión arterial media	89,2 ± 10,0 (69,7 – 118,7)	88,7
Frecuencia cardiaca (lpm)	74 ± 11,5 (54 – 111)	74

La tensión arterial media se calculó como:

$$\frac{\text{Tensión arterial sistólica} - \text{tensión arterial diastólica}}{3} + \text{tensión arterial diastólica}$$

Hallazgos

La aplicación tópica de la mezcla de gel generador de NO y lignocaína redujo de manera significativa el dolor asociado con la inserción venosa de una cánula. La formulación dio como resultado una VRS reducida ($p < 0,0001$) y produjo una reducción de la VAS media de $>40\%$ en comparación con el gel de placebo ($p < 0,001$).

Interpretación

La investigación indica que la aplicación tópica durante 10 minutos de la combinación de anestésico con un sistema generador de óxido nítrico puede ofrecer una anestesia eficaz para la inserción de cánulas en el adulto. No se comunicaron efectos adversos con este tratamiento.

Discusión

El presente estudio indica que una aplicación tópica durante 10 minutos de la combinación de lignocaína con un sistema generador de óxido nítrico puede proporcionar anestesia eficaz para la inserción de una cánula venosa en el dorso de la mano de adultos. Estos hallazgos son importantes, puesto que la inserción de cánulas en una vena dorsal de la mano se describe habitualmente como un procedimiento doloroso, en comparación con otras zonas anatómicas. El grado de anestesia obtenido se alcanzó tras sólo 10 minutos de aplicación, lo que no es el caso para los tratamientos existentes, disponibles en el comercio.

La vía principal de penetración de una molécula medicamentosa a través del estrato córneo es la matriz intercelular, en tanto que la penetración de medicamentos a través de los corneocitos intracelulares es muy limitada (Singh S. y Singh J., *Med Res Rev* **13**(5), páginas 569-621 (1993)). Adicionalmente, el medicamento pueden atravesar la piel a través de estructuras especializadas tales como los conductos sudoríparos y los folículos pilosos. La influencia del sistema generador de NO sobre la vía de transmisión de la lignocaína no está todavía claramente establecida y se encuentra a la espera de su identificación, pero puede estar relacionada con el incremento del flujo de sangre cutáneo.

Aun cuando otros investigadores, que utilizan EMLA® y gel Ametop®, comunican niveles variables de eritema, dependientes de la duración de la aplicación (Arrowsmith J. y Campbell C., *Arch Dis Child* **82**(4), páginas 309-310 (2000)), la experiencia clínica indica que afectan de forma importante al tono de los vasos venosos. El componente óxido nítrico de este sistema da como resultado un incremento del diámetro luminal (como consecuencia de la vasodilatación), y la aparente atenuación del vasoespasmo puede ayudar a la inserción de una cánula en vasos pequeños, vasoespásticos o frágiles.

Una observación adicional en la zona de tratamiento consiste en el incremento asociado del contraste de color entre los vasos venosos azules y el eritema rojo de la piel. El zona delimitada de aplicación del gel facilita al médico la identificación del área de tratamiento y de la vena a utilizar. El eritema fue de naturaleza pasajera y no se asoció con edema de los tejidos.

ES 2 275 716 T3

La preparación anestésica percutánea ideal debe satisfacer una serie de requisitos: [a] anestesiar profundamente la superficie de la piel y los tejidos subyacentes; [b] disponer de una instauración de acción más rápida; [c] aumentar la vasodilatación de los vasos venosos; [d] tener una duración de acción prolongada; [e] contener la concentración mínima necesaria de anestésico local; [f] no provocar toxicidad sistémica; [g] no provocar reacciones locales importantes; [h] evitar la sensibilización frente a futuras aplicaciones sobre la piel. La formulación descrita en este estudio parece tener el potencial para satisfacer estos criterios.

La presente investigación es un informe preliminar. Sin embargo, los hallazgos de este ensayo indican que se requieren estudios adicionales para investigar los efectos del tipo, formulación y concentración del anestésico, la duración de acción y profundidad de penetración, variación y comparaciones anatómicas y fisiológicas tanto con EMLA® como con el gel Ametop®. Cabe, además, la posibilidad interesante de que el gel generador de óxido nítrico no sea un placebo verdadero, sino que, de hecho, tenga algún grado de efecto anestésico (Redford *et al.*, *Brain* **120**(12), páginas 2149-2157 (1997); Sousa AM y Prado WA., *Brain Res* **897** (1-2), páginas 9-12 (2001)). No obstante, si se demuestra, este efecto contribuiría claramente a la eficacia del sistema combinado como anestesia de aplicación tópica.

En resumen, se estima que la presente investigación es la primera en describir la adición de un agente farmacéutico primario a un sistema generador de óxido nítrico de aplicación tópica. El sistema combinado podría superar las limitaciones asociadas con la administración transdérmica convencional de medicamentos, convirtiéndose en una tecnología de suministro transdérmico clínicamente útil para una amplia gama de agentes farmacéuticos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición consistente en un agente farmacéuticamente activo, un agente acidificante farmacológicamente aceptable, y un nitrito de metal alcalino, un nitrito de metal alcalino-térreo, o un precursor de nitritos de este tipo.
2. Composición según la reivindicación 1, en la que la concentración de nitrito es de hasta 20%, generalmente en el intervalo de 1% a 15%, preferentemente 2% a 10%.
- 10 3. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que el agente farmacéuticamente activo es un anestésico, un analgésico, una hormona, un medicamento inmunosupresor, o un esteroide.
4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el agente acidificante farmacológicamente aceptable es un ácido orgánico.
- 15 5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el ácido orgánico es ácido ascórbico, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, un ácido alquil-(C₁-C₆)-carboxílico, ácido cítrico, o una sal, o un derivado de los mismos.
- 20 6. Composición farmacéutica consistente en un agente farmacéuticamente activo, un agente acidificante farmacológicamente aceptable, un nitrito de metal alcalino, un nitrito de metal alcalino-térreo, o un precursor de nitritos de este tipo, y un vehículo o diluyente farmacológicamente aceptable.
7. Composición según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para ser usada en medicina.
- 25 8. Uso de un anestésico seleccionado del grupo consistente en ametocaína (tetracaína), lignocaína (lidocaína), xilocaína, bupivacaína, prilocaína, ropivacaína, benzocaína, mepivocaína, cocaína, o una mezcla de las mismas, un agente acidificante farmacológicamente aceptable, y un nitrito de metal alcalino, o un nitrito de metal alcalino-térreo, o un precursor de nitritos de este tipo, en la preparación de un agente para el tratamiento del dolor.
- 30 9. Uso según la reivindicación 8, en el que el tratamiento del dolor es anestesia local.
10. Composición que comprende un anestésico seleccionado del grupo consistente en ametocaína (tetracaína), lignocaína (lidocaína), xilocaína, bupivacaína, prilocaína, ropivacaína, benzocaína, mepivocaína, cocaína, o una mezcla de las mismas, un agente acidificante farmacológicamente aceptable, y un nitrito de metal alcalino, o un nitrito de metal alcalino-térreo, o un precursor de nitritos de este tipo, como preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento del dolor.
- 35 11. Kit de partes que comprende un anestésico seleccionado del grupo consistente en ametocaína (tetracaína), lignocaína (lidocaína), xilocaína, bupivacaína, prilocaína, ropivacaína, benzocaína, mepivocaína, cocaína, o una mezcla de las mismas, un agente acidificante farmacológicamente aceptable, y un nitrito de metal alcalino, o un nitrito de metal alcalino-térreo, o un precursor de nitritos de este tipo, para el tratamiento del dolor.
- 40 12. Membrana que comprende un agente farmacéuticamente activo, un agente acidificante farmacológicamente aceptable, y un nitrito de metal alcalino, o un nitrito de metal alcalino-térreo, o un precursor de nitritos de este tipo.
- 45 13. Composición de membrana consistente en un agente farmacéuticamente activo, un agente acidificante farmacológicamente aceptable, y un nitrito de metal alcalino, o un nitrito de metal alcalino-térreo.
- 50 14. Membrana según se ha definido en la reivindicación 12 ó 13, para ser usada en medicina.
15. Membrana según la reivindicación 12 ó 13, en la que el agente farmacéuticamente activo es un anestésico seleccionado del grupo consistente en ametocaína (tetracaína), lignocaína (lidocaína), xilocaína, bupivacaína, prilocaína, ropivacaína, benzocaína, mepivocaína, cocaína, o una mezcla de las mismas.
- 55 16. Membrana según se ha definido en la reivindicación 12 ó 13, para ser usada en anestesia local.
- 60
- 65

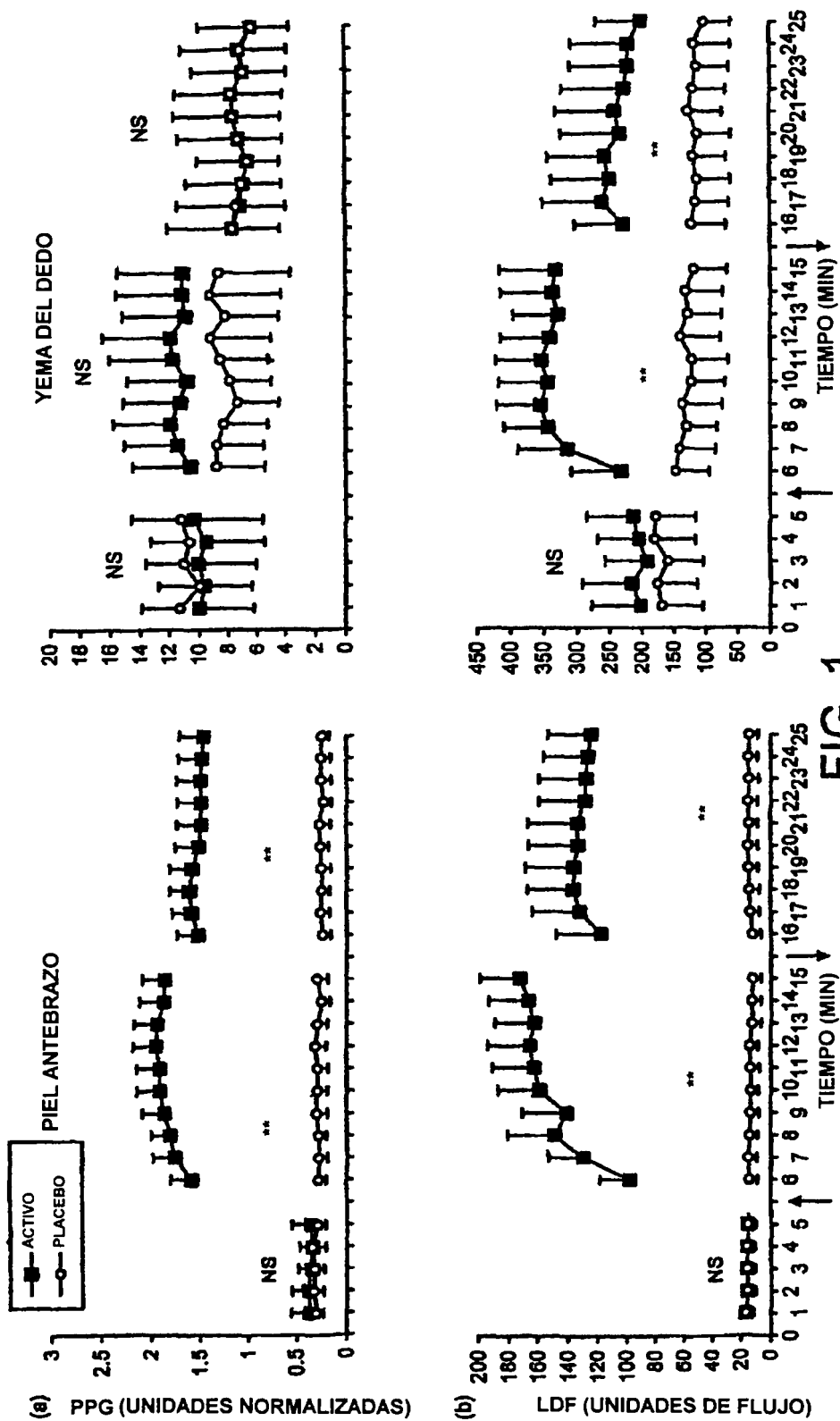


FIG. 1

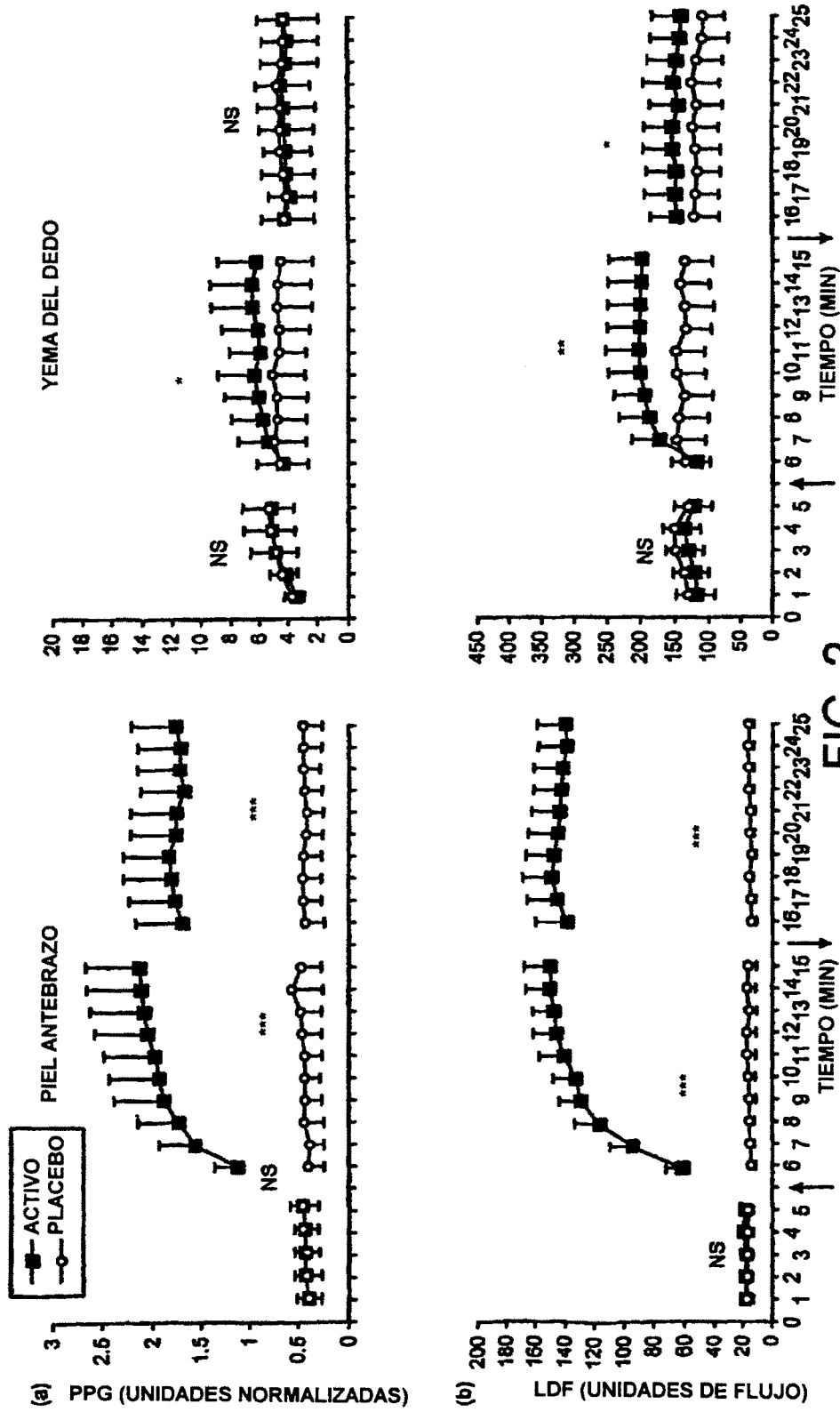


FIG. 2

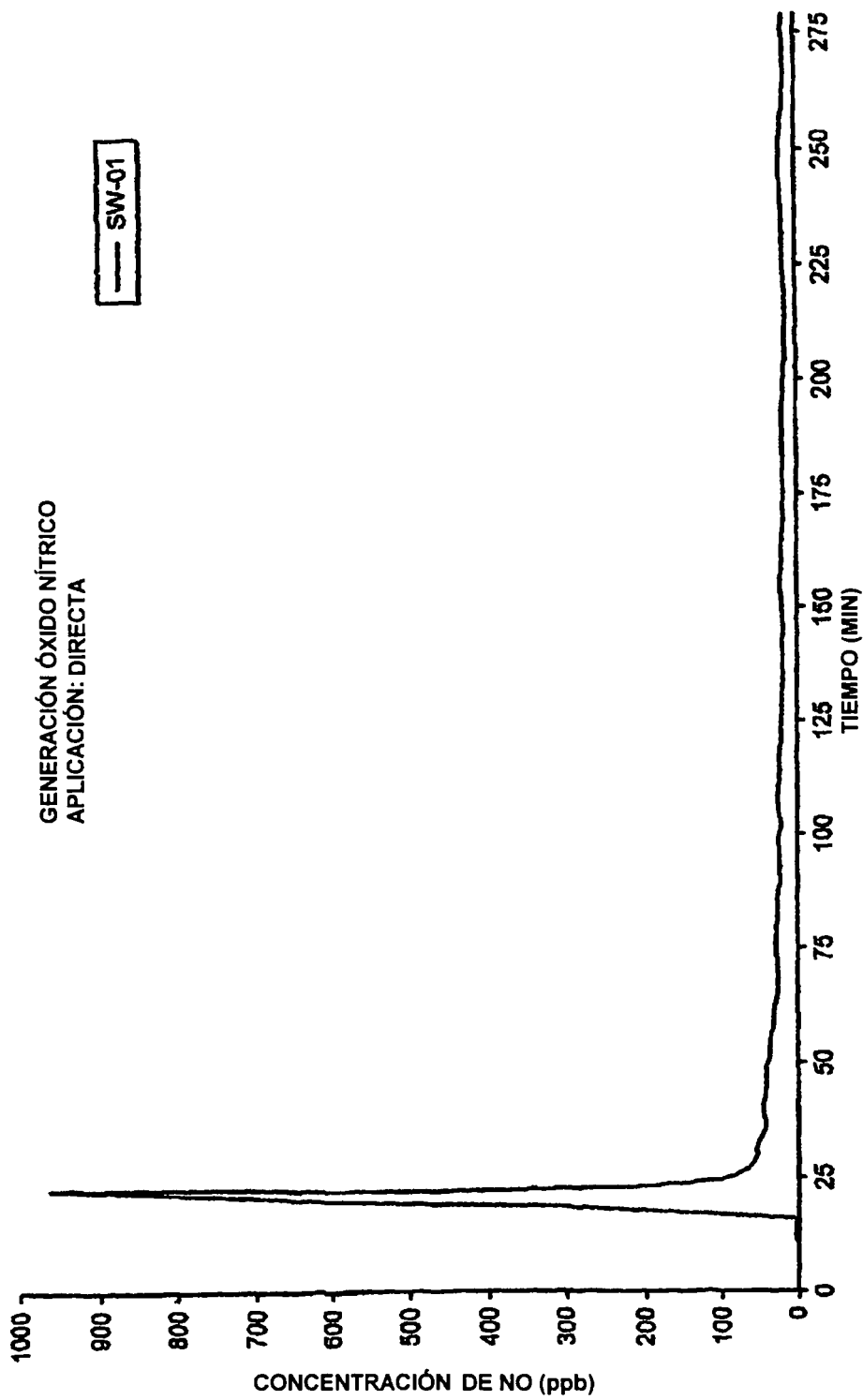


FIG. 3a

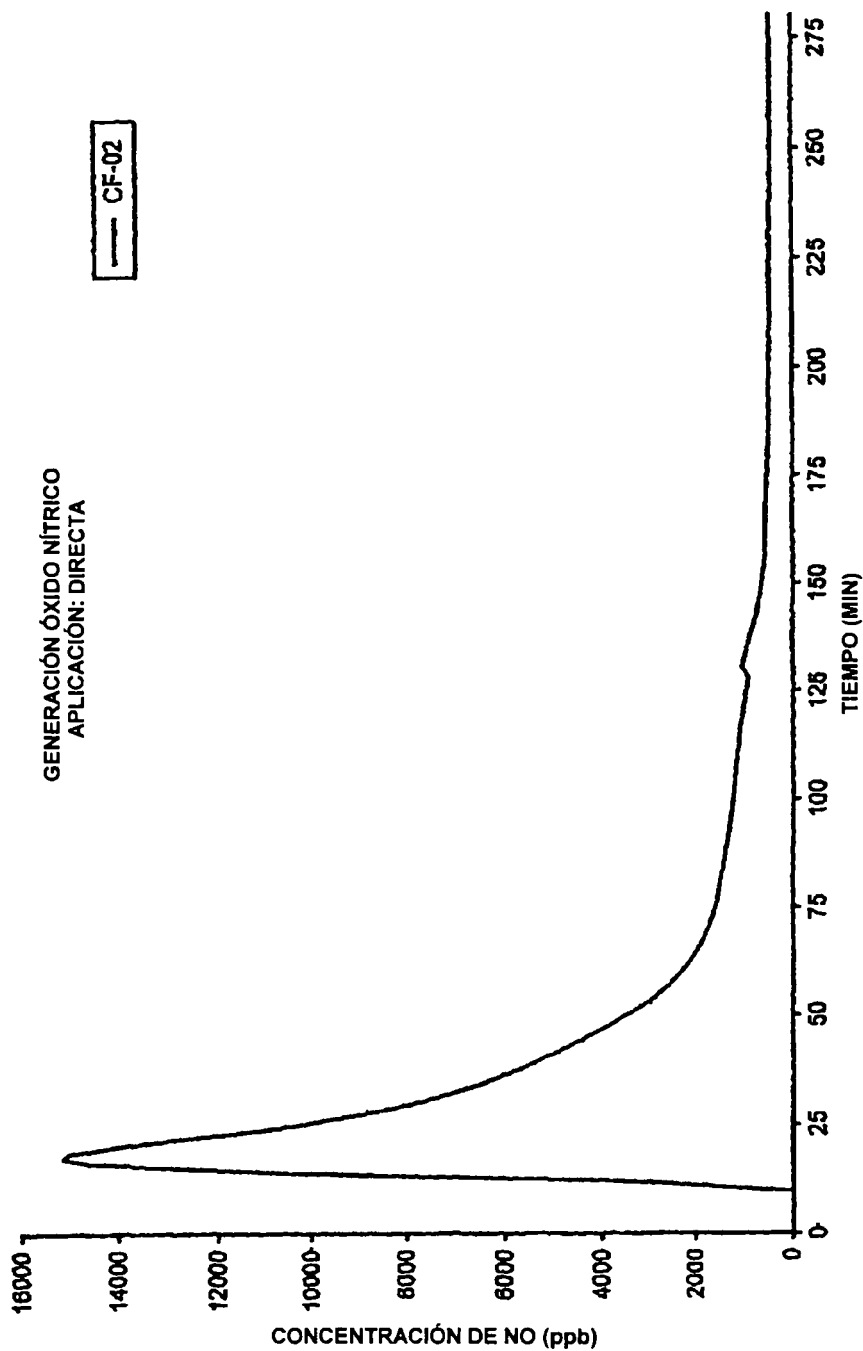


FIG. 3b

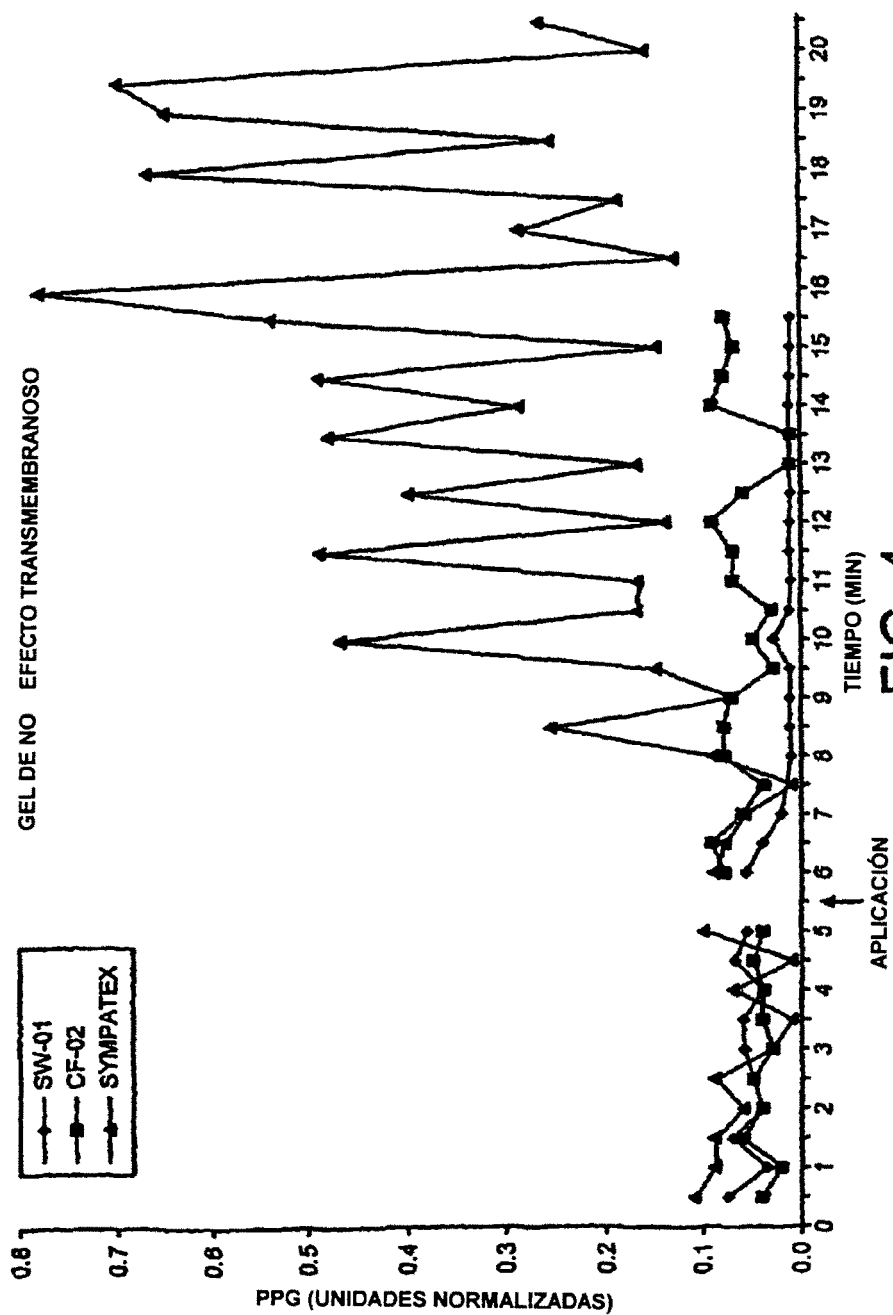


FIG. 4

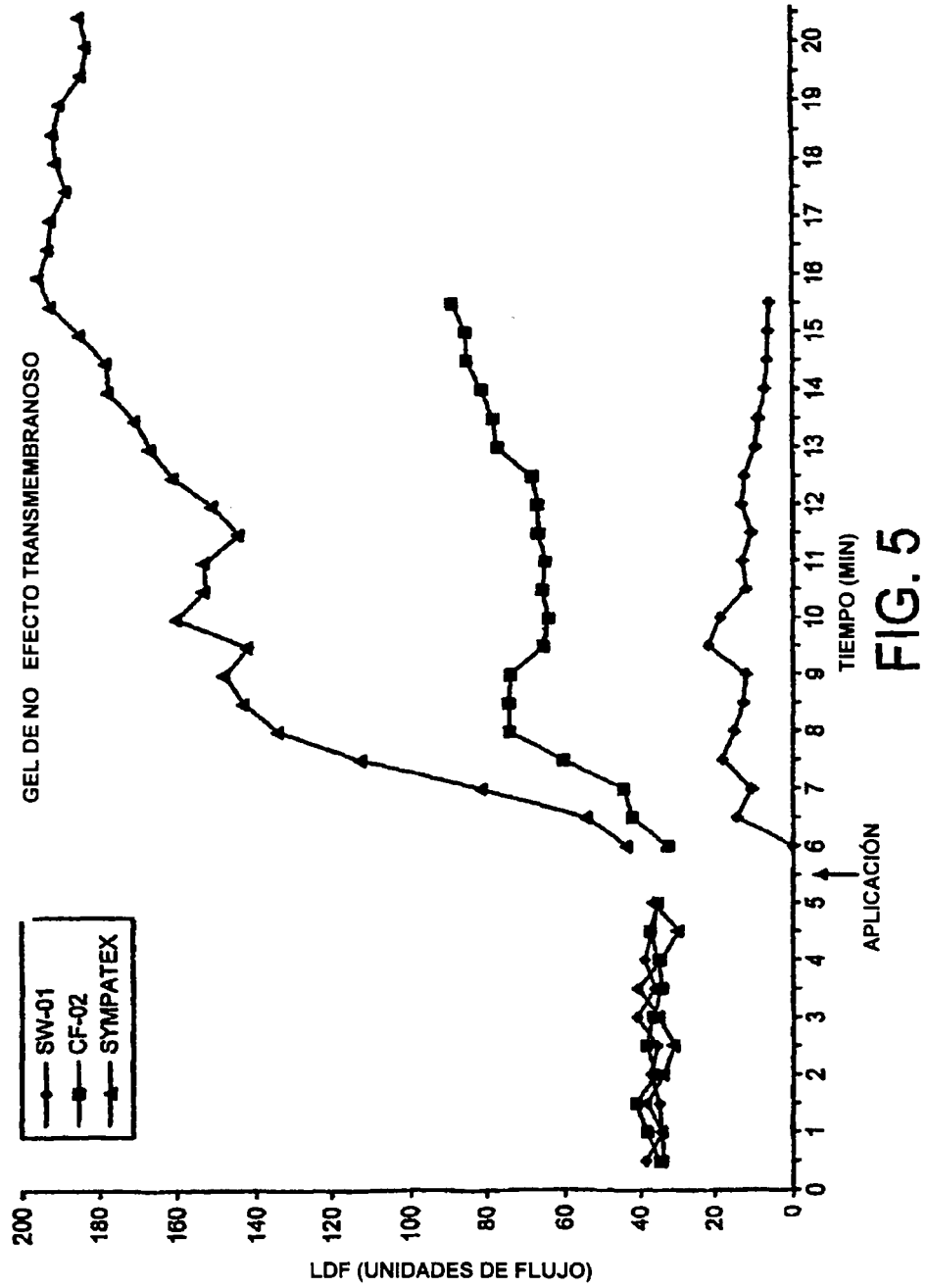


FIG. 5

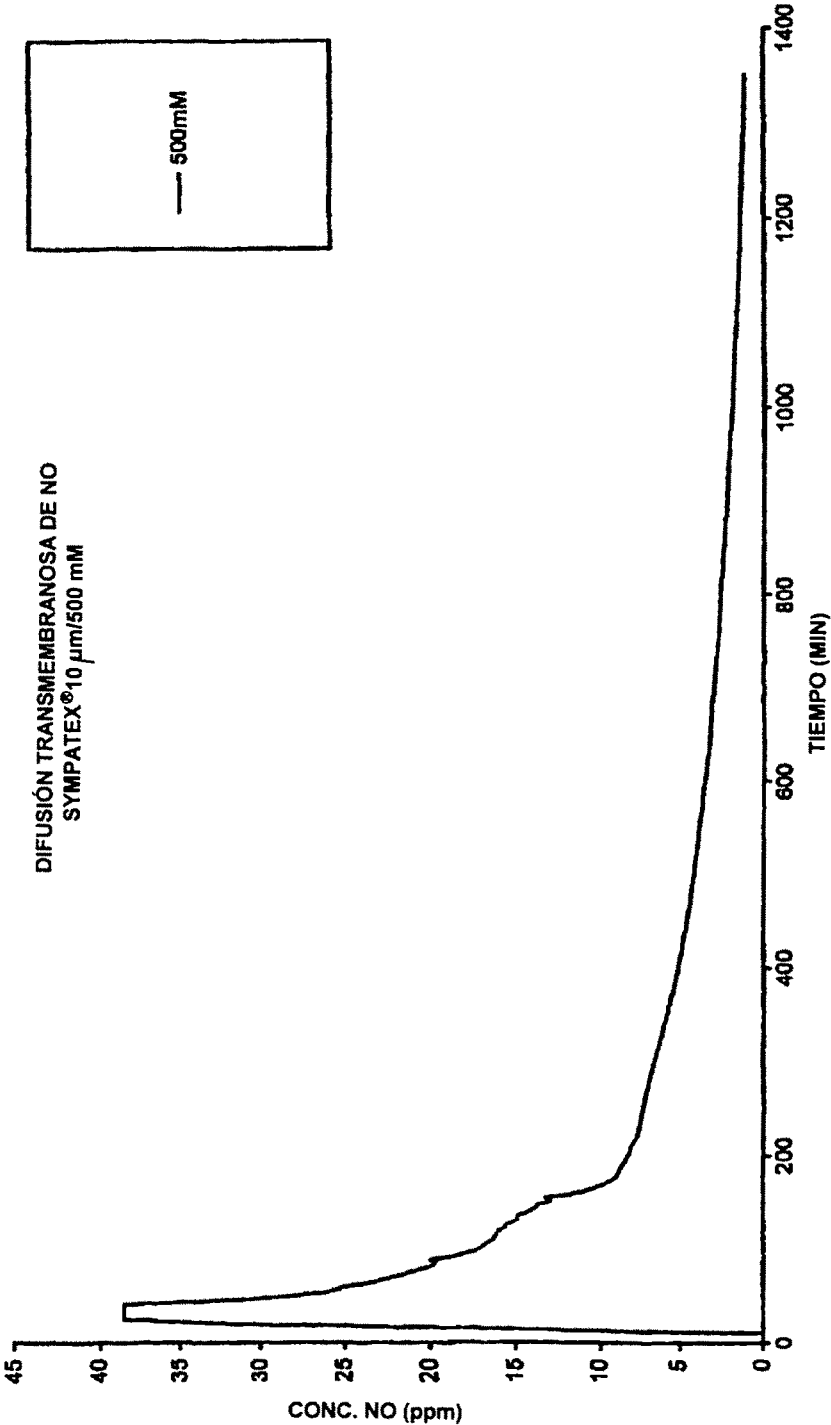


FIG. 6a

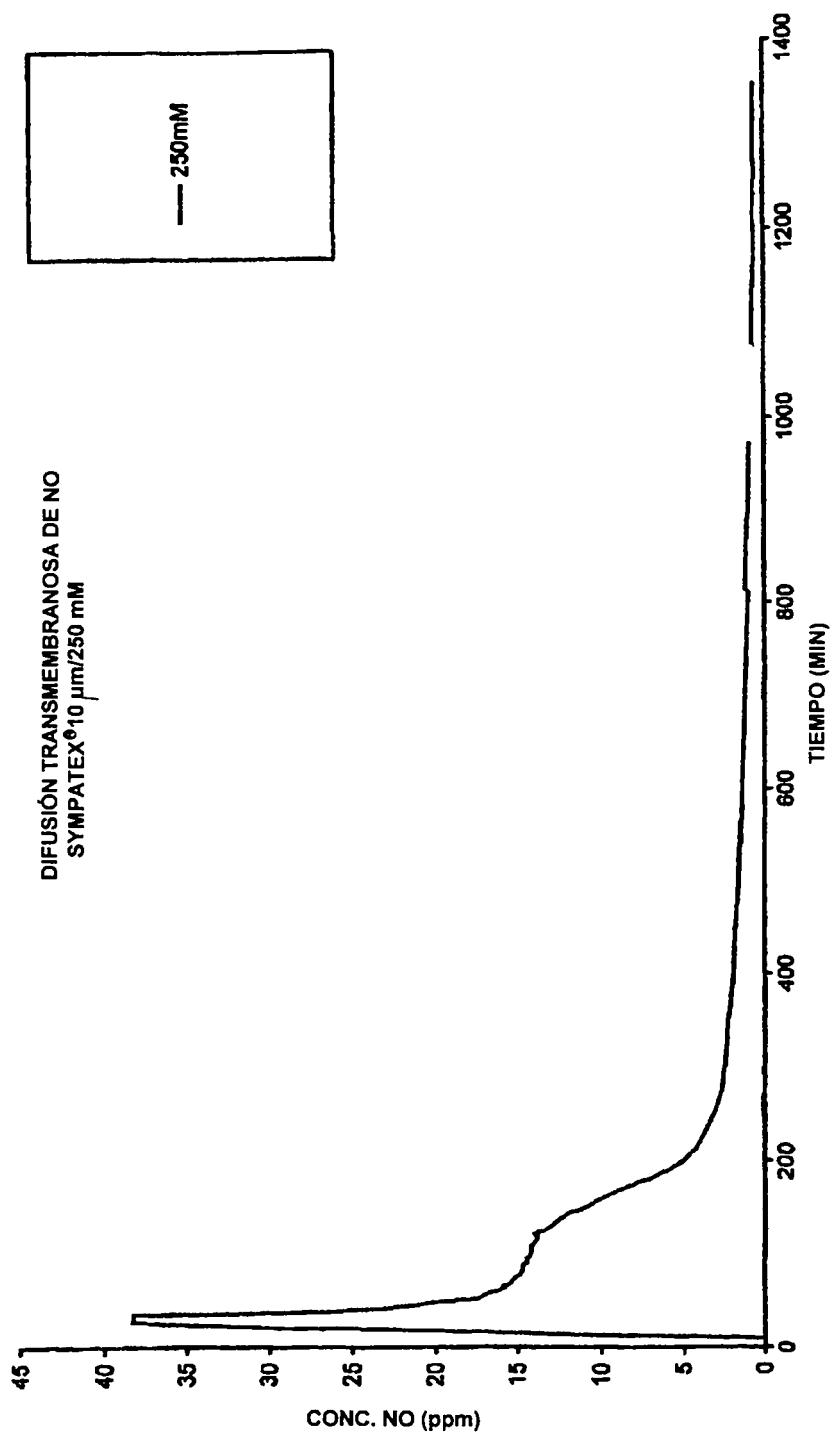


FIG. 6b

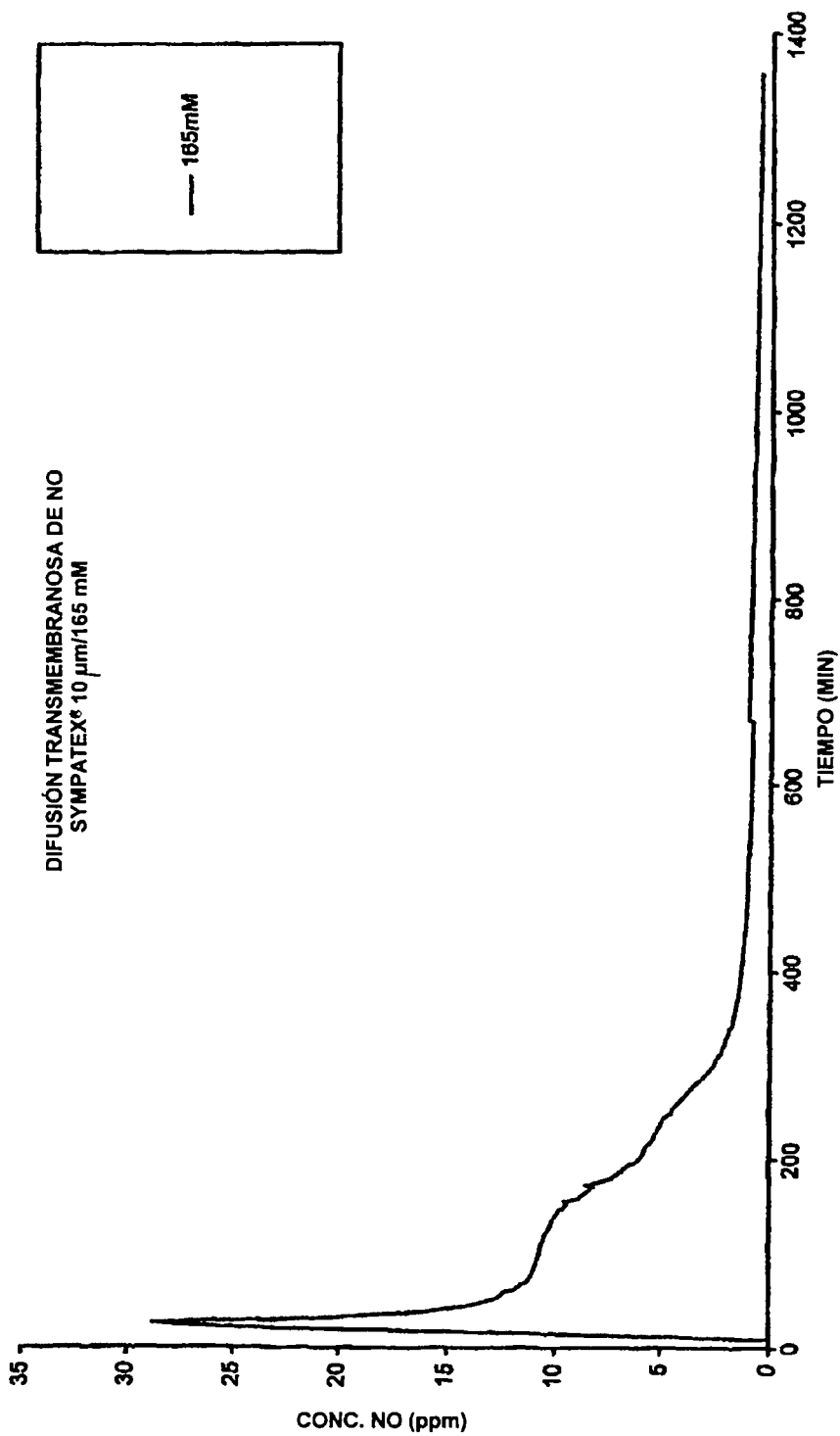


FIG. 6C

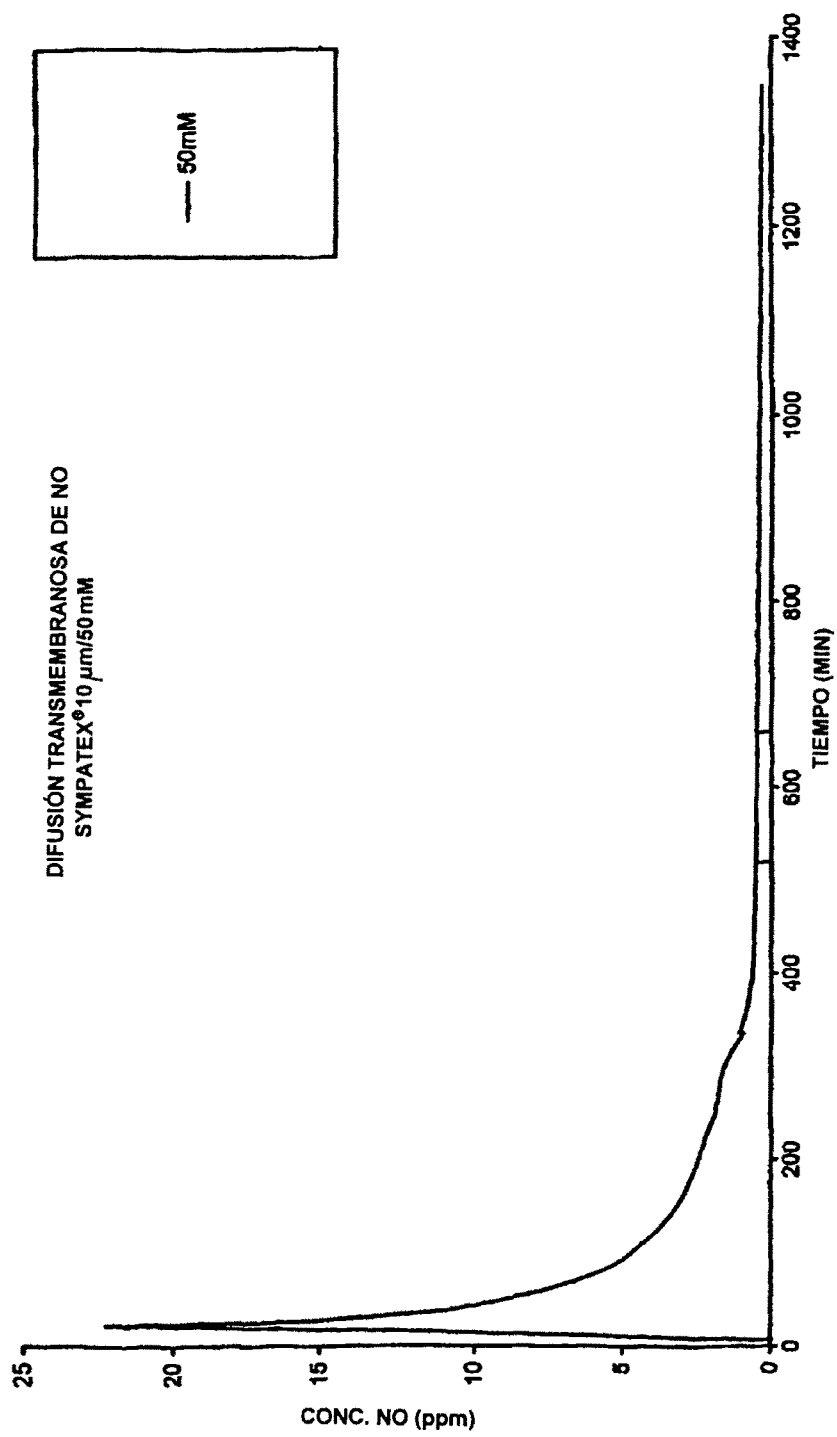


FIG. 6d

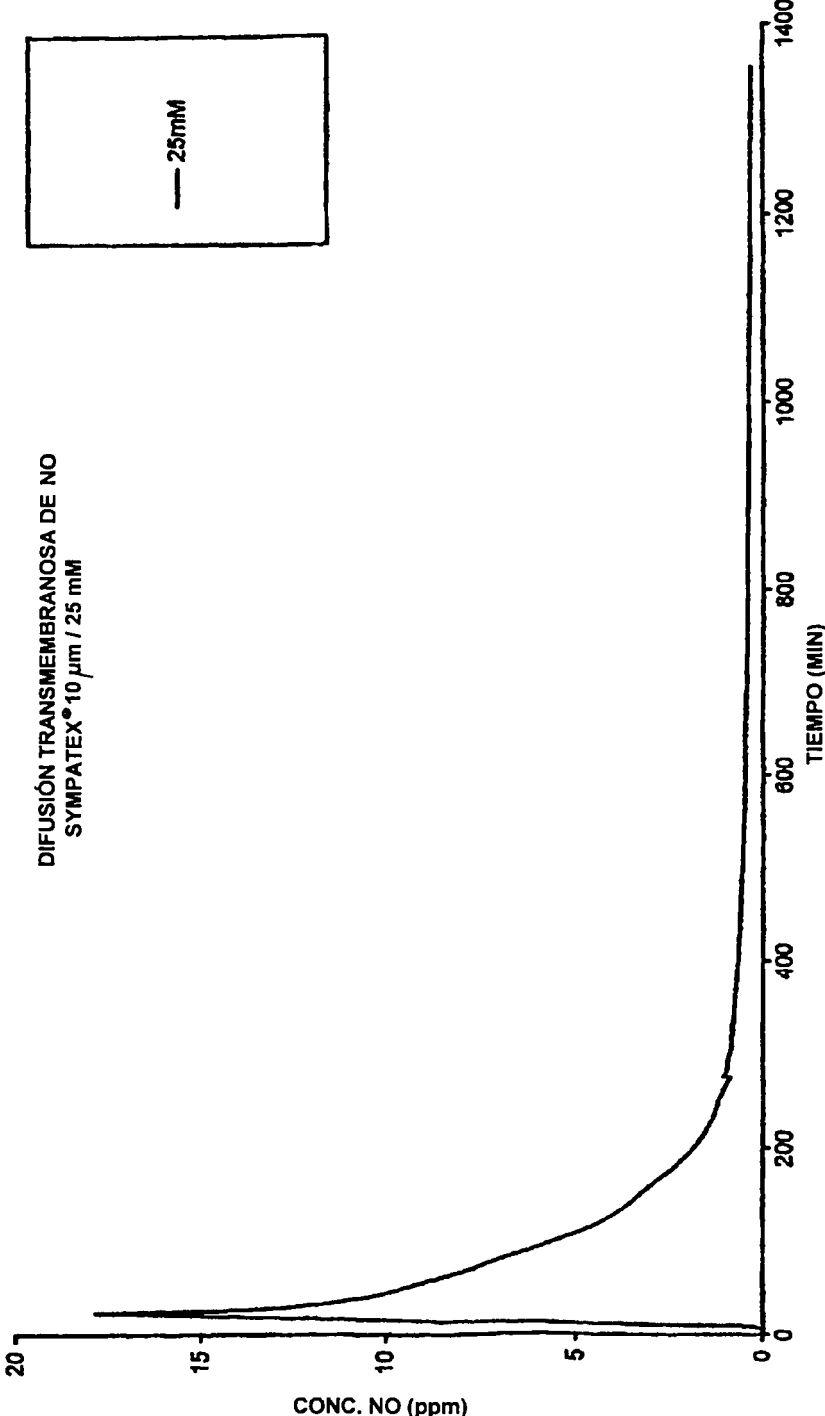


FIG. 6e

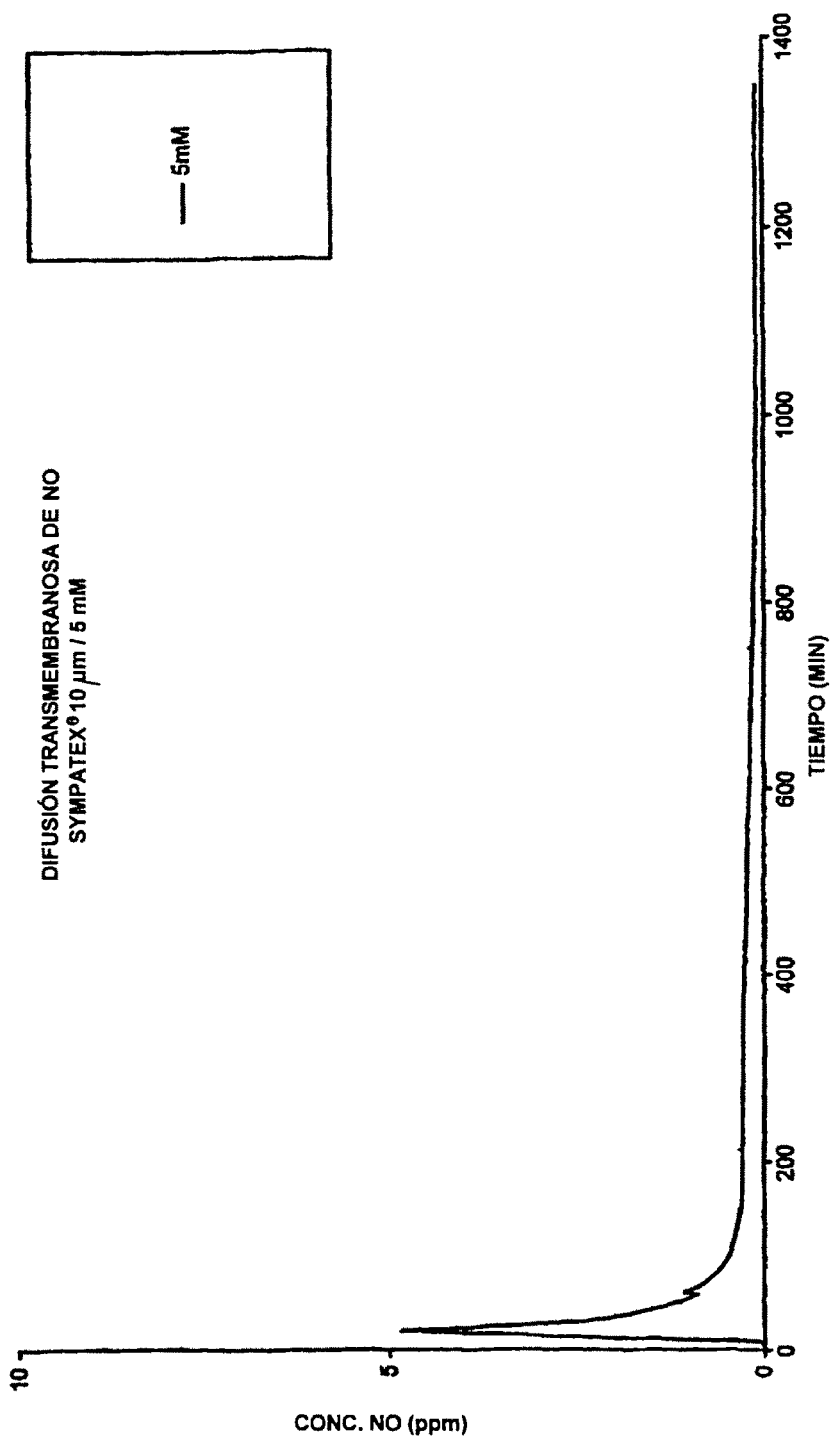


FIG. 6f

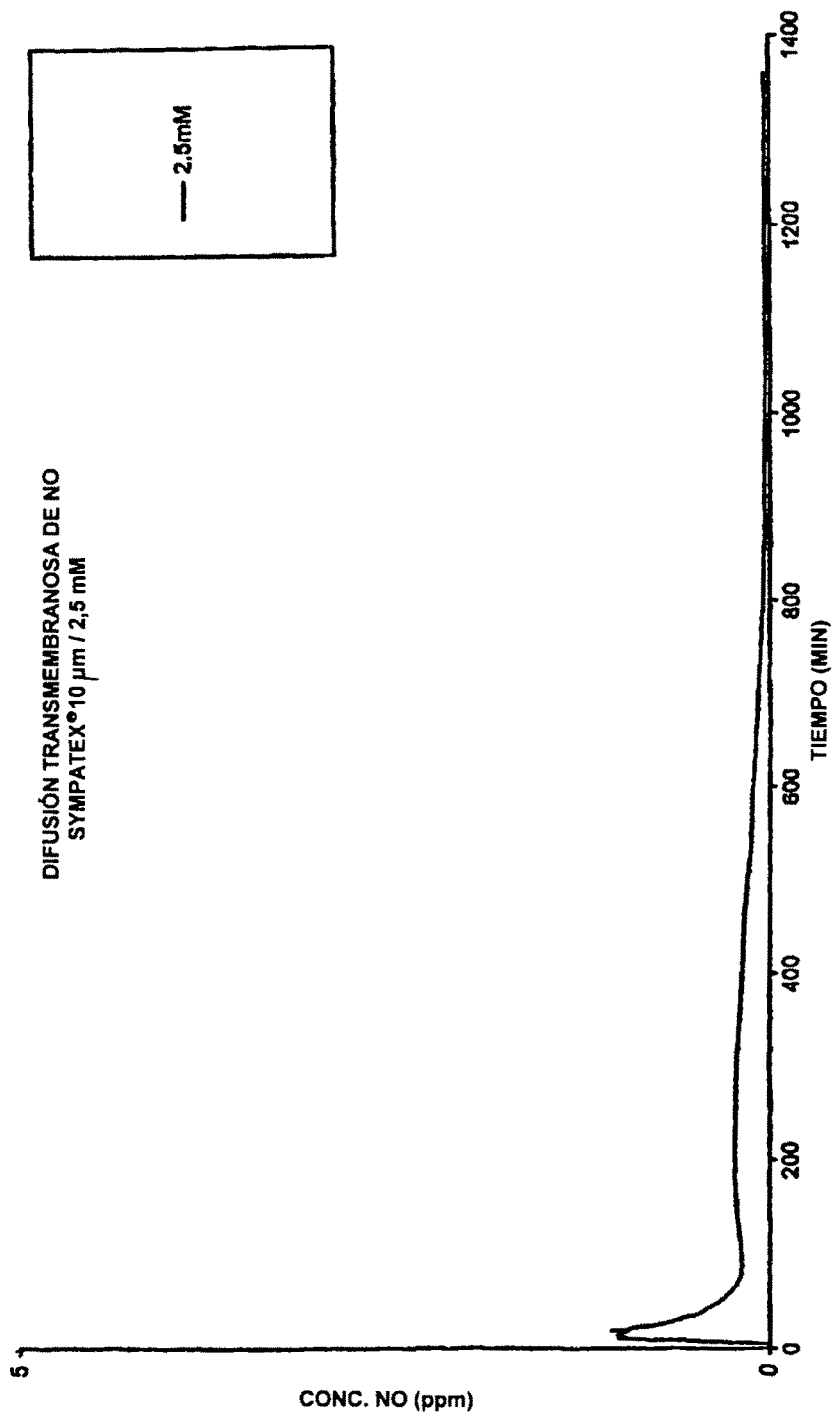


FIG. 6g

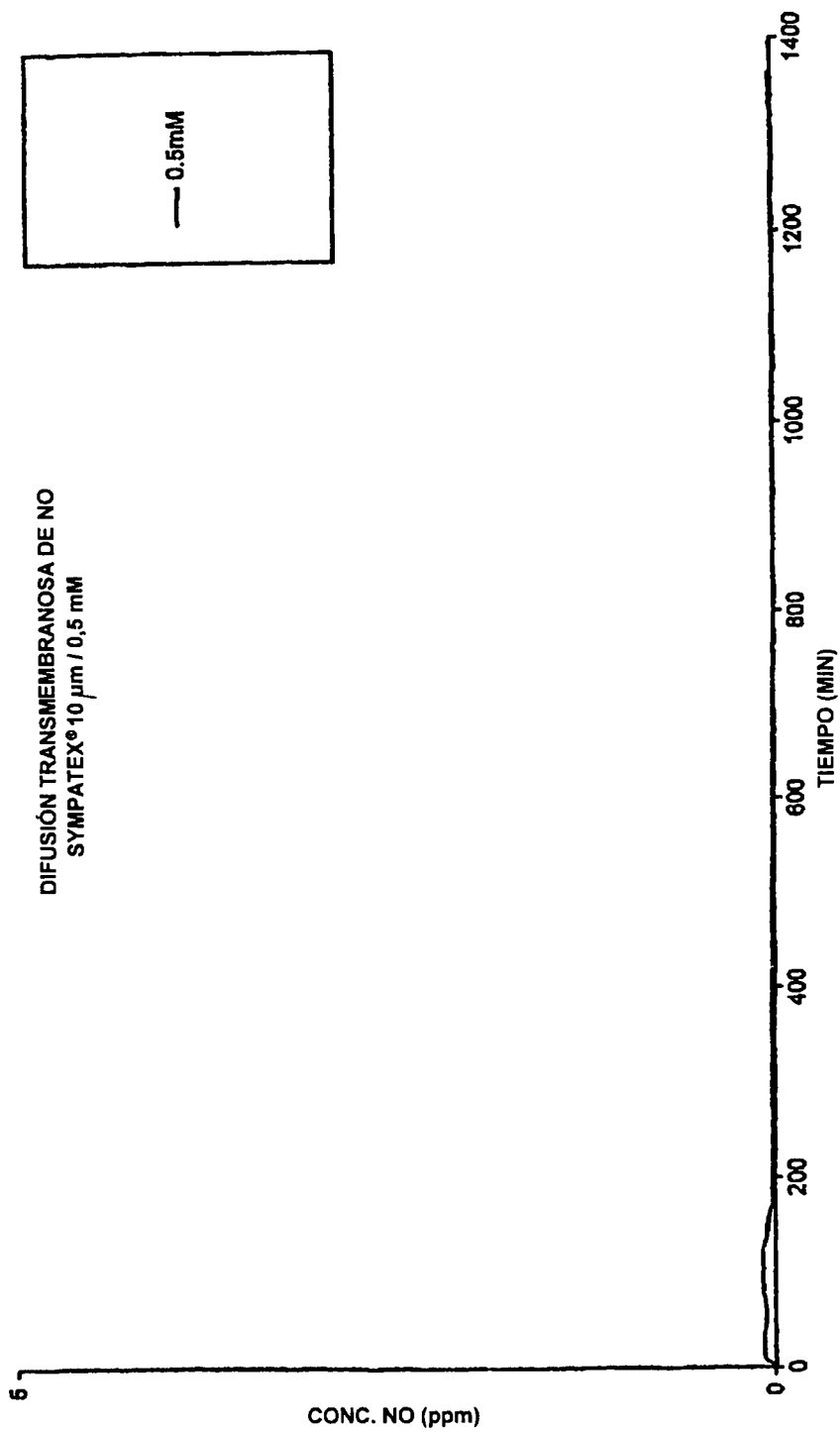


FIG. 6h

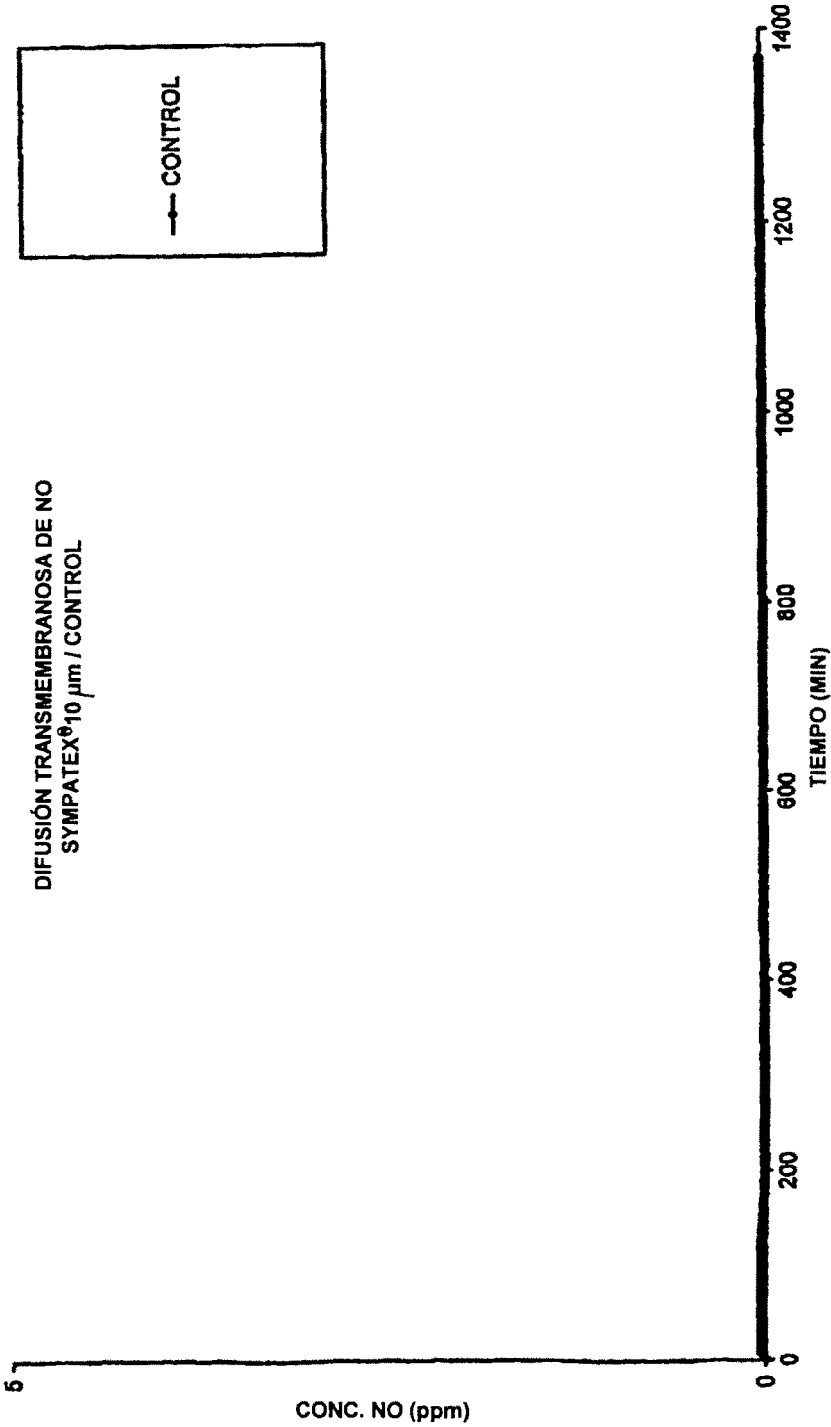


FIG. 6j

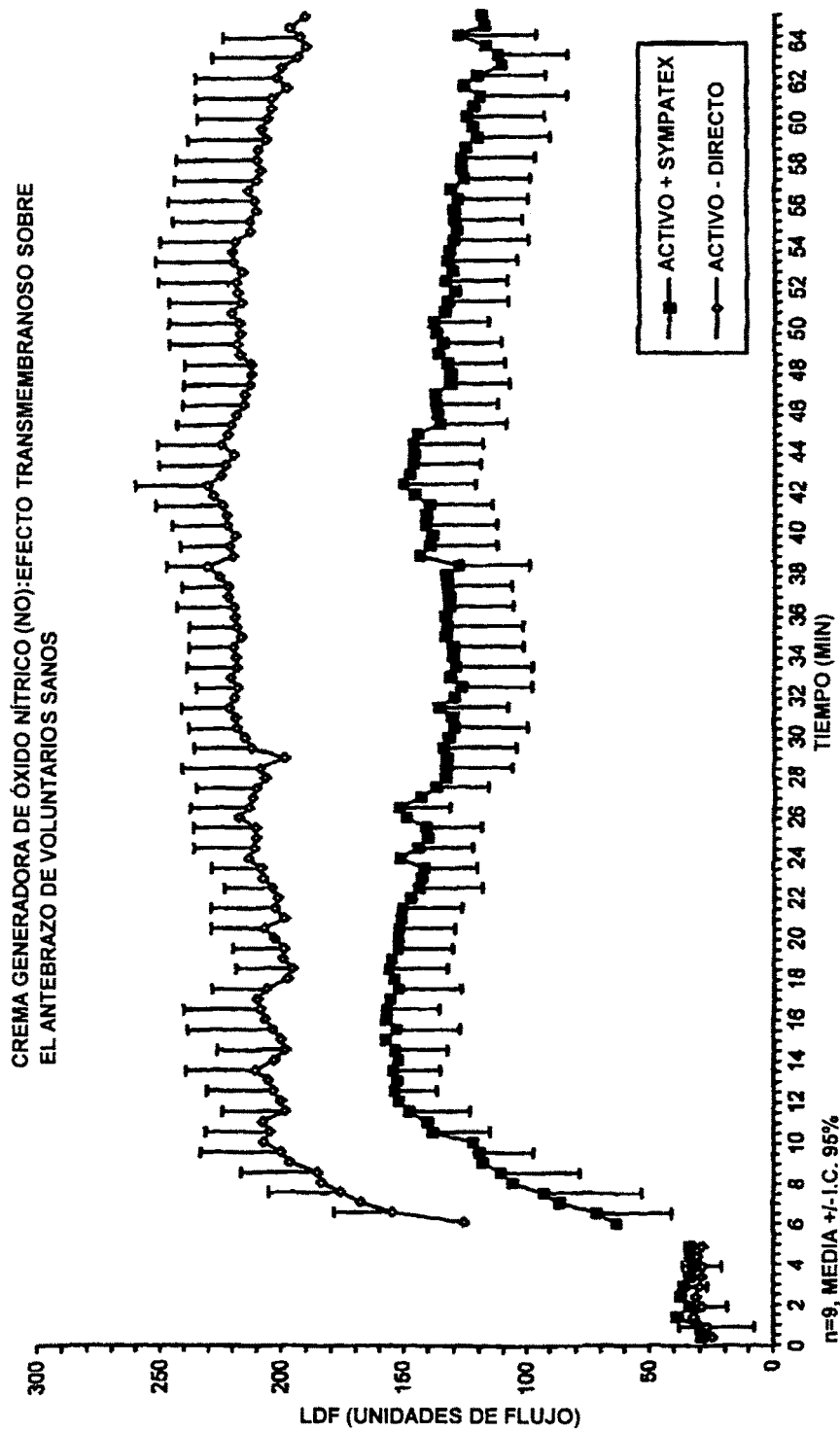
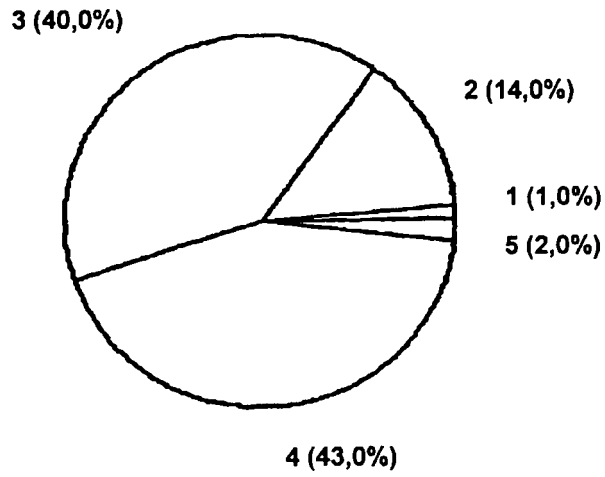


FIG. 7

Tratamiento Placebo



Tratamiento Activo

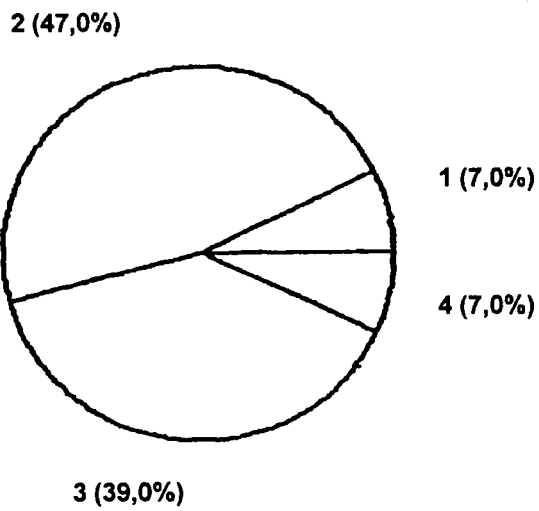


FIG. 8

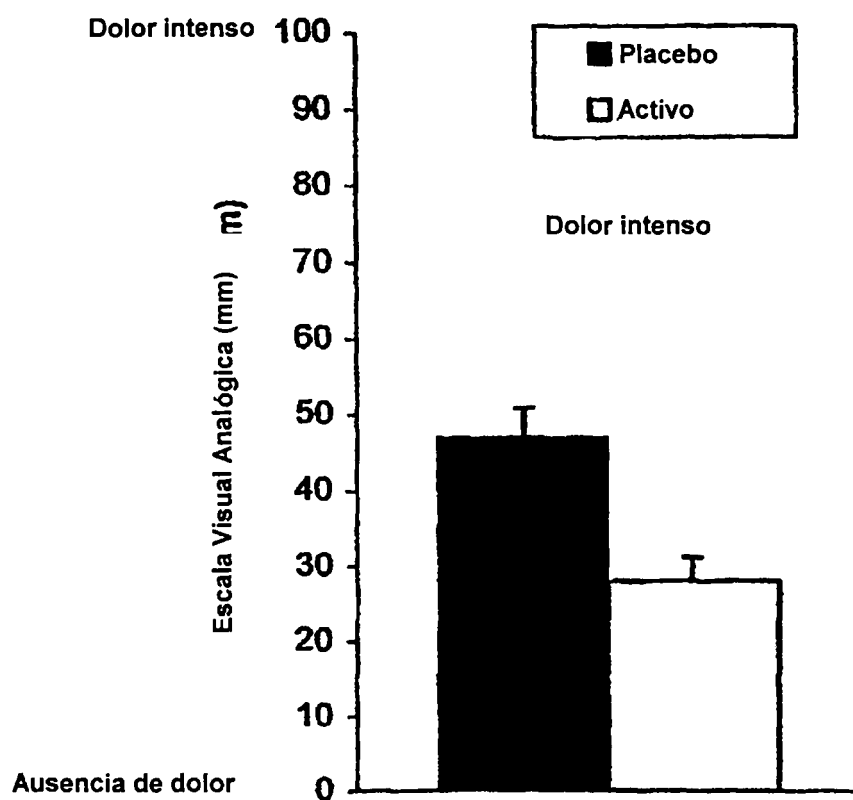


FIG. 9