



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 326 729**

(51) Int. Cl.:
A61K 33/00 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **00907851 .0**
(96) Fecha de presentación : **09.03.2000**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1161248**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **12.12.2001**

(54) Título: **Composición farmacéutica que contiene una fuente de nitrato y un agente acidificante para tratar heridas abiertas y quemaduras.**

(30) Prioridad: **09.03.1999 GB 9905425**

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

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.10.2009

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

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.10.2009

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

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 que contiene una fuente de nitrato y un agente acidificante para tratar heridas abiertas y quemaduras.

La presente invención se refiere a un uso farmacéutico nuevo de nitrito acidificado contenido dentro de un sistema de administración que permite el paso de óxido nítrico a la piel como tratamiento de aberturas, heridas y quemaduras.

El óxido nítrico [NO] es un potente vasodilatador sintetizado y liberado por las células endoteliales vasculares y cumple un papel importante en la regulación de la resistencia vascular local y el flujo sanguíneo. En las células de mamíferos, el NO se produce principalmente junto con la L-citrulina mediante la oxidación enzimática de la L-arginina. El óxido nítrico está también implicado en la inhibición de la agregación y adhesión tanto de plaquetas como de leucocitos, la inhibición de la proliferación celular, la depuración de radicales superóxido y la modulación de la permeabilidad de la capa endotelial. También se ha demostrado que el óxido nítrico posee propiedades antimicrobianas, revisadas por F. C. Fang (1997) (J. Clin. Invest. 99 (12) 2818-2825 (1997)).

En el documento WO 95/22335 se describe una utilidad terapéutica potencial de las propiedades antimicrobianas del NO. Una composición farmacéutica que comprendía nitrito en una crema o pomada vehículo inerte y ácido salicílico se usó para demostrar la destrucción de cultivos que contenían *E. coli* y *C. albicans*. Esta actividad se probó además frente a pacientes con infección fúngica en los pies ("pie de atleta" o tinea pedis) y se demostró 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.

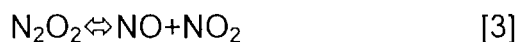
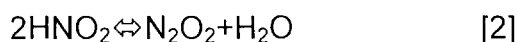
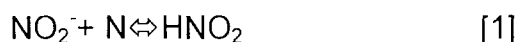
En el documento US5648101, por ejemplo, se describe un parche transdérmico para la administración tópica de NO.

El NO formado *in situ* es útil en gastroenterología/endoscopia, hipertensión pulmonar, como nitrovasodilatador, y en impotencia masculina.

El tratamiento local de lesiones superficiales de piel y mucosa en seres humanos con una composición que comprende ácido nítrico o equivalente, ácido nitroso y ácido carboxílico orgánico se discute en el documento US459591. Se usan para la aplicación, entre otras cosas, barras finas de plástico poroso.

Además de la producción interna mediada por células, el NO se libera también externamente de forma continua desde la superficie de la piel mediante un mecanismo que parece ser independiente de la enzima NO sintasa. El nitrato segregado en el sudor se reduce a nitrito mediante un mecanismo desconocido que puede implicar enzimas nitrito reductasa que se expresan por bacterias comensales de la piel. Alternativamente, las enzimas nitrito reductasa de mamíferos pueden estar presentes en la piel y pueden reducir el nitrato a NO rápidamente sobre la superficie de la piel.

Se cree que la producción de NO a partir de nitrito sigue el mecanismo siguiente:



Aunque la cantidad de NO generada mediante este mecanismo fisiológico no es suficiente para afectar al flujo sanguíneo de la piel, está claro que pueden generarse muy grandes cantidades de NO mediante la aplicación tópica de nitrito y ácido.

Se ha encontrado ahora sorprendentemente que la aplicación tópica en la piel de nitrito en concentraciones de hasta el 4% en una crema o pomada vehículo inerte reacciona para producir óxidos de nitrógeno cuando se mezcla con un ácido orgánico, tal como ácido ascórbico (vitamina C), provocando la liberación de óxidos nítricos que conducen a una vasodilatación sostenida de los vasos sanguíneos microcirculatorios, sin inflamación significativa. Este uso nuevo de composiciones acidificadas que contienen nitrito es un punto de partida a partir de usos conocidos previamente de la composición como agente antimicrobiano. Se han tenido en cuenta los efectos secundarios de eritema e irritación de la piel causados por el ácido de la composición asociados con el tratamiento de infecciones fúngicas del pie para sugerir que la composición no debe usarse sobre piel quebrada o fuera de sitios de infección que necesitan tratamiento terapéutico a corto plazo, inmediato. Adicionalmente, la piel del pie es significativamente más gruesa y dura que la de otras partes del cuerpo de los mamíferos y, por lo tanto, puede resistir un eritema más prolongado que otras zonas de piel más fina en otras partes. Además, existe un prejuicio médico extendido y generalmente aceptado contra la

ES 2 326 729 T3

aplicación de pomadas o geles en heridas abiertas o sobre piel quebrada. Se aconseja contra tal práctica debido al riesgo real de provocar una infección o septicemia (intoxicación de la sangre).

- La capacidad de la composición para provocar vasodilatación es también sorprendente, debido a que normalmente no se esperaría que la molécula de NO cruce las capas externas de la piel penetrando en la capas interiores de la epidermis para actuar sobre los vasos sanguíneos y microcapilares.

- El agente acidificante farmacológicamente aceptable está adaptado para reducir el pH en el sitio de aplicación y puede incluir cualquier ácido orgánico adecuado, tal como ácido ascórbico (vitamina C), ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, ácido acético o una sal o un derivado de los mismos en una concentración de hasta 20% p/p, de modo adecuado de entre 0,25 y 10% p/p, preferentemente de entre 4 y 6% p/p. Una concentración particularmente preferente es de 4% o 5% p/p. El pH preferente varía entre pH 2 y pH 7, siendo preferentemente de pH 4. Otros agentes acidificantes incluyen, pero sin limitarse a, sales de amonio o aluminio, fenol, ácido benzoico. Pueden usarse ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico si se diluyen lo suficiente y/o se tamponan apropiadamente. El agente acidificante puede estar presente como una sal disuelta o en forma líquida. La fuente farmacológicamente aceptable de iones nitrito puede ser un nitrito de metal alcalino o un nitrito de metal alcalinotérreo. Por ejemplo, LiNO_2 , NaNO_2 , KNO_2 , RbNO_2 , CsNO_2 , FrNO_2 , $\text{Be}(\text{NO}_2)_2$, $\text{Mg}(\text{NO}_2)_2$, $\text{Ca}(\text{NO}_2)_2$, $\text{Sr}(\text{NO}_2)_2$, $\text{Ba}(\text{NO}_2)_2$ o $\text{Ra}(\text{NO}_2)_2$. Alternativamente, puede usarse un precursor de nitrito como la fuente de los iones nitrito en la composición, tal como por ejemplo una solución diluida de ácido nitroso. Otras fuentes de iones nitrito son iones nitrato derivados de sales de metal alcalino o alcalinotérreo aptos para la conversión enzimática a nitrito. 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 concentración de la fuente de ion nitrato puede ser de hasta 20% p/p, de modo adecuado de entre 0,25 y 10%, preferentemente de entre 4 y 6%. Una concentración particularmente preferente es de 4% o 5% p/p.

- De modo adecuado, la concentración final de ion nitrito presente en la composición es de hasta 20% p/p, generalmente está en el intervalo de entre 0,25% y 15% p/p, de modo adecuado de entre 2% y 10% p/p, preferentemente de entre 4 y 6% p/p. Una concentración de ion nitrito particularmente preferente es de 4% o 5% p/p.

- Las afecciones isquémicas de la piel que pueden beneficiarse del uso terapéutico de una composición como se define de acuerdo con este aspecto de la invención, incluyen, pero no se limitan a, heridas, incluidas úlceras de la piel y traumatismo postoperatorio, quemaduras. Este aspecto de la invención se extiende además a la inhibición de la agregación y adhesión de plaquetas y/o leucocitos, la proliferación celular, la depuración de radicales superóxido y la permeabilidad de la capa endotelial.

- La composición farmacéutica puede adaptarse para la administración por cualquier vía tópica apropiada, es decir, transdérmica. Tales composiciones pueden prepararse mediante procedimientos conocidos en la técnica de farmacia, por ejemplo mediante la mezcla del ingrediente activo con el(los) vehículo(s) o excipiente(s) en condiciones estériles.

- Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica pueden presentarse como parches discretos, que se pretende que permanezcan en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, el ingrediente activo puede administrarse a partir de un parche mediante iontoforesis, como se describe en general en la publicación *Pharmaceutical Research*, 3(6):318 (1986).

- Las composiciones farmacéuticas pueden contener agentes conservantes, agentes solubilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, odorantes, sales (las sustancias de la presente invención pueden proporcionarse por sí mismas en forma de una sal farmacéuticamente aceptable), tampones, agentes de recubrimiento o antioxidantes. Pueden también contener agentes terapéuticamente activos además de la sustancia de la presente invención.

- Las dosis de la sustancia de la presente invención pueden variar entre límites amplios, dependiendo de la enfermedad o trastorno que se trata, la gravedad de la afección y la edad y salud del individuo que se trata, etc., y un médico determinará en última instancia las dosis a usar apropiadas.

- Esta dosis puede repetirse tan a menudo como sea apropiado. Si se desarrollan efectos secundarios, puede reducirse la cantidad o la frecuencia de la dosis o, de lo contrario, alterarse o modificarse, de acuerdo con la práctica clínica normal.

- Tales composiciones pueden formularse para medicina humana o veterinaria. La presente solicitud debe interpretarse como de aplicación igualmente a seres humanos como a animales, a no ser que el contexto de a entender lo contrario de forma clara.

- La presente invención proporciona una membrana que comprende un agente acidificante aceptable y una fuente de iones nitrito farmacológicamente aceptable o, por lo tanto, un precursor de nitrito. La membrana puede ser total o parcialmente permeable, lo que incluye semipermeable o permeable de modo selectivo, al paso del óxido nítrico. Tales membranas pueden evitar el contacto directo de la composición con la piel, pero pueden permitir la difusión de óxidos nítricos al interior de la piel.

Esto es particularmente ventajoso en el tratamiento de zonas de piel quebrada, heridas abiertas o quemaduras graves. De este modo se preserva la integridad de la zona de la herida. Membranas adecuadas incluyen, pero sin limitarse a, materiales poliméricos tales como nitrocelulosa, celulosa, agarosa, geles de alginato, polietileno, poliéster (por ejemplo, un copolímero de bloque de poliéster hidrófilo) etc. Una membrana adecuada que puede usarse en la práctica es Sympatex™, la cual está compuesta por fibras de copolímero de bloque de poliéster hidrófilo.

La invención se describirá ahora, a modo de ilustración solamente, con referencia a los ejemplos y figuras siguientes, que se proporcionan con fines de ilustración y no deben interpretarse como limitantes de la invención.

La Figura 1 muestra la difusión de óxido nítrico a través de una selección de membranas, donde el eje vertical muestra la concentración de óxido nítrico y el eje horizontal el tiempo en minutos. La Figura 1a muestra los resultados usando Saranwrap™ (SW-01) y la Figura 1b muestra los resultados usando una película transparente para envolver alimentos (CF-02).

La Figura 2 muestra el efecto de difusión del tratamiento a través de una membrana sobre el flujo sanguíneo microcirculatorio de la piel del antebrazo en un sujeto sano. El eje vertical es el flujo sanguíneo, fotopletismografía (FPG) relativa al volumen microcirculatorio, y el eje horizontal es el tiempo en minutos.

La Figura 3 muestra el efecto de difusión del tratamiento a través de una membrana sobre el flujo sanguíneo microcirculatorio de la piel del antebrazo en un sujeto sano. El eje vertical es el flujo sanguíneo, flujometría por láser Doppler (FLD) relativa al flujo microcirculatorio, y el eje horizontal es el tiempo en minutos.

Las Figuras 4(a)-(i) muestran la difusión transmembrana para nitrito de sodio y ácido ascórbico en gel de agar al 0,8%, usando cloruro de sodio al 1% como intermedio en concentraciones finales de 500 mM, 250 mM, 165 mM, 50 mM, 25 mM, 5 mM, 2,5 mM y 0,5 mM. Se usó también un control de nitrito y gel de agar al 0,8% usando cloruro de sodio como intermedio. La figura ilustra la difusión de óxido nítrico a través de una membrana de Sympatex™ de 10 μm (Akzo Nobel), donde el eje vertical muestra la concentración del óxido nítrico en partes por millón (ppm) y el eje horizontal muestra el tiempo en minutos. En las Figuras 4(a) y 4(b) los picos iniciales están achatados debido a la deflexión de escala completa del dispositivo de detección.

La Figura 5 muestra los resultados de la aplicación de gel generador de óxido nítrico constituido por 330 mM de nitrito de sodio y ácido ascórbico en KY jelly™ a la piel del antebrazo y simultáneamente a la membrana de Sympatex™ de 10 μm (Akzo Nobel), la cual se aplicó después a la piel del antebrazo del miembro contralateral de nueve sujetos sanos. Las condiciones y procedimientos experimentales fueron iguales a las usadas para la aplicación del gel generador de NO sobre sujetos sanos en las Figuras 2 y 3. El eje vertical muestra las unidades de flujometría por láser Doppler y el eje horizontal muestra el tiempo en minutos.

Ejemplo 1

40 Generación de óxido nítrico obtenido a través de una membrana

La Figura 1 muestra la generación de óxido nítrico obtenido en la reacción detallada anteriormente a través de una membrana. Las concentraciones de óxido nítrico se midieron con un medidor sensible al óxido nítrico: Analizador de NO-NO₂-NO_x por quimioluminiscencia. Modelo 42C (Thermo Environmental Instruments Inc., MA, EEUU) conectado a un sistema de recogida de datos y un ordenador IBM. Las medidas se realizaron de modo continuo y se tomaron lecturas cada 10 segundos durante 275 minutos. El Material 1 fue una película transparente para envolver alimentos doméstica, el Material 2 fue Saranwrap™ (Sigma) y el Material 3 fue Sympatex™, (Akzo Nobel).

Ejemplo 2

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

La Figura 2 muestra la respuesta microcirculatoria a la aplicación de gel generador de NO a tres membranas diferentes que se aplicaron después a la piel del antebrazo de un sujeto sano. El volumen microcirculatorio de la piel se midió mediante fotopletismografía [FPG] infrarroja. El Material 1 fue una película transparente para envolver alimentos doméstica, el Material 2 fue Saranwrap™ (Sigma) y el Material 3 fue (Sympatex™, Akzo Nobel).

El aumento del volumen sanguíneo 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 muy variable. El Material número 3 (Sympatex™, Akzo Nobel) tiene un perfil de difusión superior.

Ejemplo 3

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

La Figura 3 muestra la respuesta microcirculatoria a la aplicación de gel generador de NO a tres membranas diferentes que se aplicaron después a la piel del antebrazo de un sujeto sano. Las condiciones fueron iguales a las

usadas para la aplicación del tratamiento en sujetos sanos en la Figura 1. La velocidad microcirculatoria de la piel se midió mediante flujometría de láser Doppler [FLD].

El aumento de la velocidad microcirculatoria 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 muy variable. El Material número 3 (SympatexTM, Akzo Nobel) tiene un perfil de difusión superior.

Ejemplo 4

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

La Figura 4 muestra la generación de óxido nítrico obtenido en la reacción descrita anteriormente a través de una membrana SympatexTM de 10 μm . Las concentraciones de óxido nítrico se midieron con un medidor sensible al óxido nítrico: Analizador de NO-NO₂-NO_x por quimioluminiscencia. Modelo 42C (Thermo Environmental Instruments Inc., MA, EEUU) conectado a un sistema de recogida de datos y un ordenador IBM. Las medidas se realizaron de modo continuo y se tomaron lecturas cada 10 segundos durante 1350 minutos.

Los resultados que se muestran en la Figura ilustran que el coeficiente de difusión transmembrana está estrechamente relacionado con la producción de óxido nítrico, que es un producto directo de la concentración tanto de la fuente de iones nitrito como del agente acidificante. Además, los resultados demuestran que se mantiene una producción basal de óxido nítrico durante un periodo de tiempo significativo después de mezclar los reactivos.

Ejemplo 5

Respuesta microcirculatoria a la aplicación de gel generador de NO

El gel generador de óxido nítrico constituido por 330 mM de tanto nitrito de sodio como ácido ascórbico en KY jellyTM se aplicó directamente a la piel del antebrazo y simultáneamente a la membrana de SympatexTM de 10 μm (Akzo Nobel), la cual se aplicó a la piel del antebrazo del miembro contralateral de nueve sujetos sanos. Las condiciones y procedimientos experimentales fueron iguales a las usadas para la aplicación de gel generador de NO en sujetos sanos en las Figuras 1, 2, 4 y 5. Los resultados se muestran en la Figura 7. Debe observarse que en la Figura 7 las concentraciones de la mezcla están en una forma de unidad diferente (es decir, mM en vez de % p/p). La flujometría por láser Doppler (FLD) midió el flujo microcirculatorio de la piel.

El aumento estadísticamente significativo en el flujo microcirculatorio de la línea base fue un reflejo de la difusión de óxido nítrico a través de la membrana hacia la piel. Esta vasodilatación, indicada por la FLD a través de la membrana osciló entre 60 y 75% (64% de media) de la observada cuando se aplicó el gel generador de NO directamente en la piel del antebrazo. Los resultados mostrados en la Figura 5 apoyan las observaciones de que la respuesta vasodilatadora al tratamiento directo alcanzó una fase de meseta en todos los pacientes a los 10 minutos de la aplicación del gel. La fase de meseta, aunque reducida en amplitud, se alcanzó a los 16 minutos cuando se aplicó el gel generador de NO a la membrana y refleja una fase de latencia que se relaciona con las características de difusión de membrana.

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de una composición que comprende un agente acidificante y un nitrito de metal alcalino o un nitrito de metal alcalinotérreo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de heridas abiertas y quemaduras, en el que el agente acidificante es un ácido orgánico o una sal o un derivado del mismo y está adaptado para reducir el pH en el sitio de aplicación a entre pH 2 y pH 7, y en el que el medicamento comprende además una membrana, en el que dicha membrana es total o parcialmente permeable al paso de óxido nítrico y evita el contacto directo de la composición con la piel.
- 10 2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el ácido se selecciona de entre ácido ascórbico, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico y ácido acético.
3. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que la herida abierta es una úlcera de piel.
- 15 4. El uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el ácido está presente en una concentración de hasta 20% p/p.
- 20 5. El uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el ácido está presente en una concentración de entre 0,25% p/p y 10% p/p.
6. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el ácido está presente en una concentración de entre 4% p/p y 6% p/p.
- 25 7. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el ácido está adaptado para reducir el pH en el sitio de aplicación a entre pH 2 y pH 4.
8. El uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el ácido está adaptado para reducir el pH en el sitio de aplicación a pH 4.
- 30 9. El uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el nitrito es nitrito de sodio.
10. El uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el nitrito está presente en una concentración de hasta 20% p/p.
- 35 11. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el ácido está presente en una concentración de entre 0,25% p/p y 15% p/p.
- 40 12. El uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el ácido está presente en una concentración de entre 2% p/p y 10% p/p.
13. El uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el ácido está presente en una concentración de entre 4% p/p y 6% p/p.
- 45 14. El uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que la membrana es un material polimérico.
15. El uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que la membrana se selecciona de entre nitrocelulosa, celulosa, agarosa, geles de alginato, polietileno y poliéster.
- 50
- 55
- 60
- 65

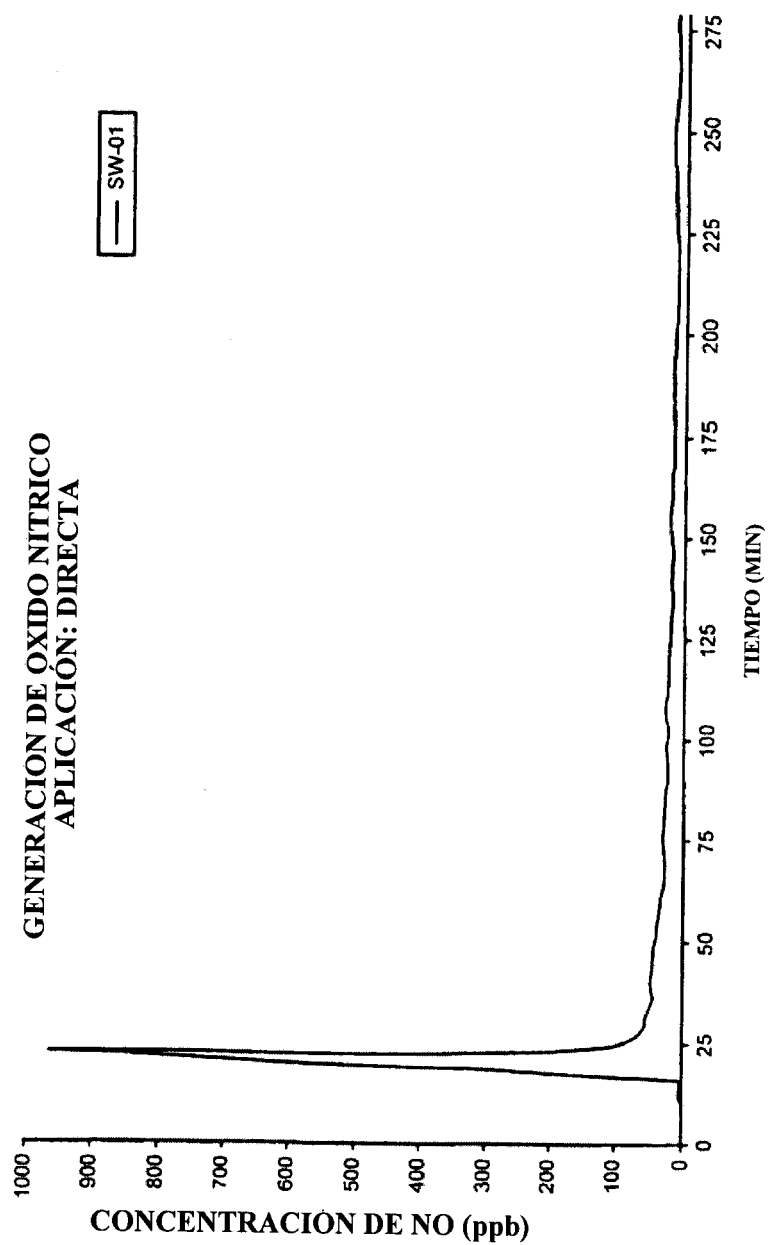


FIG. 1a

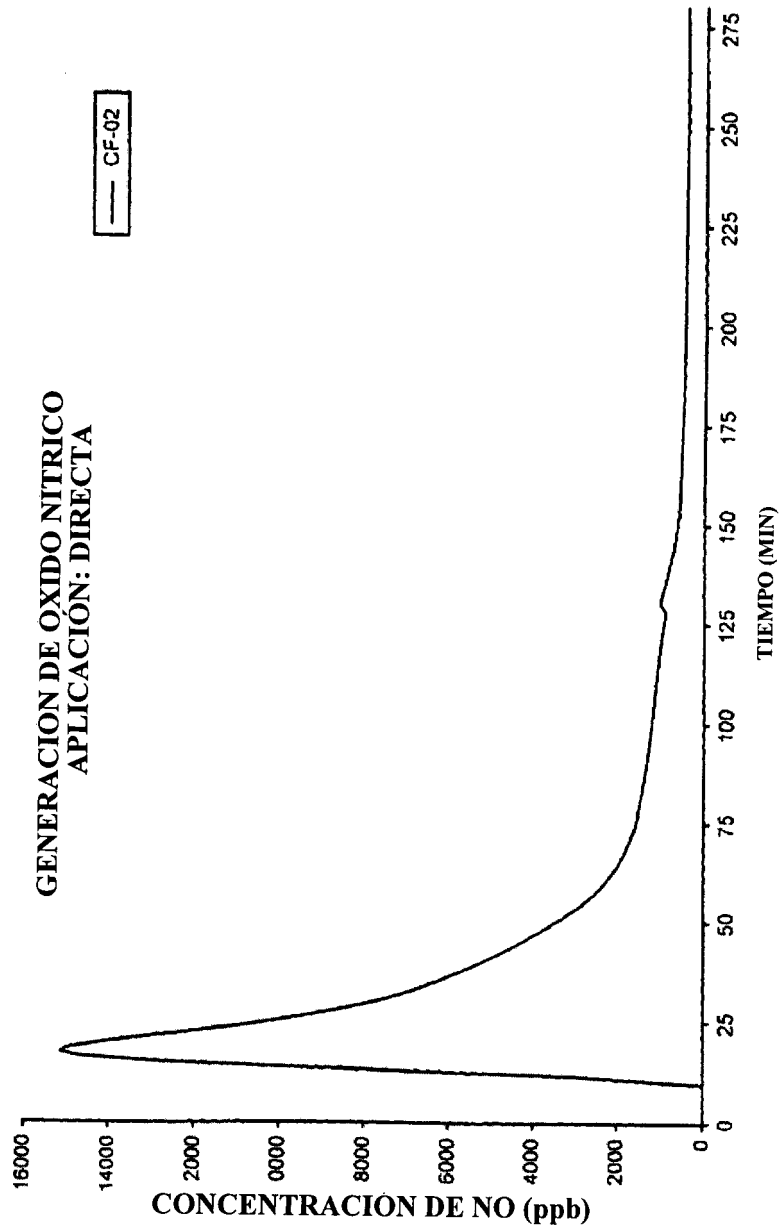
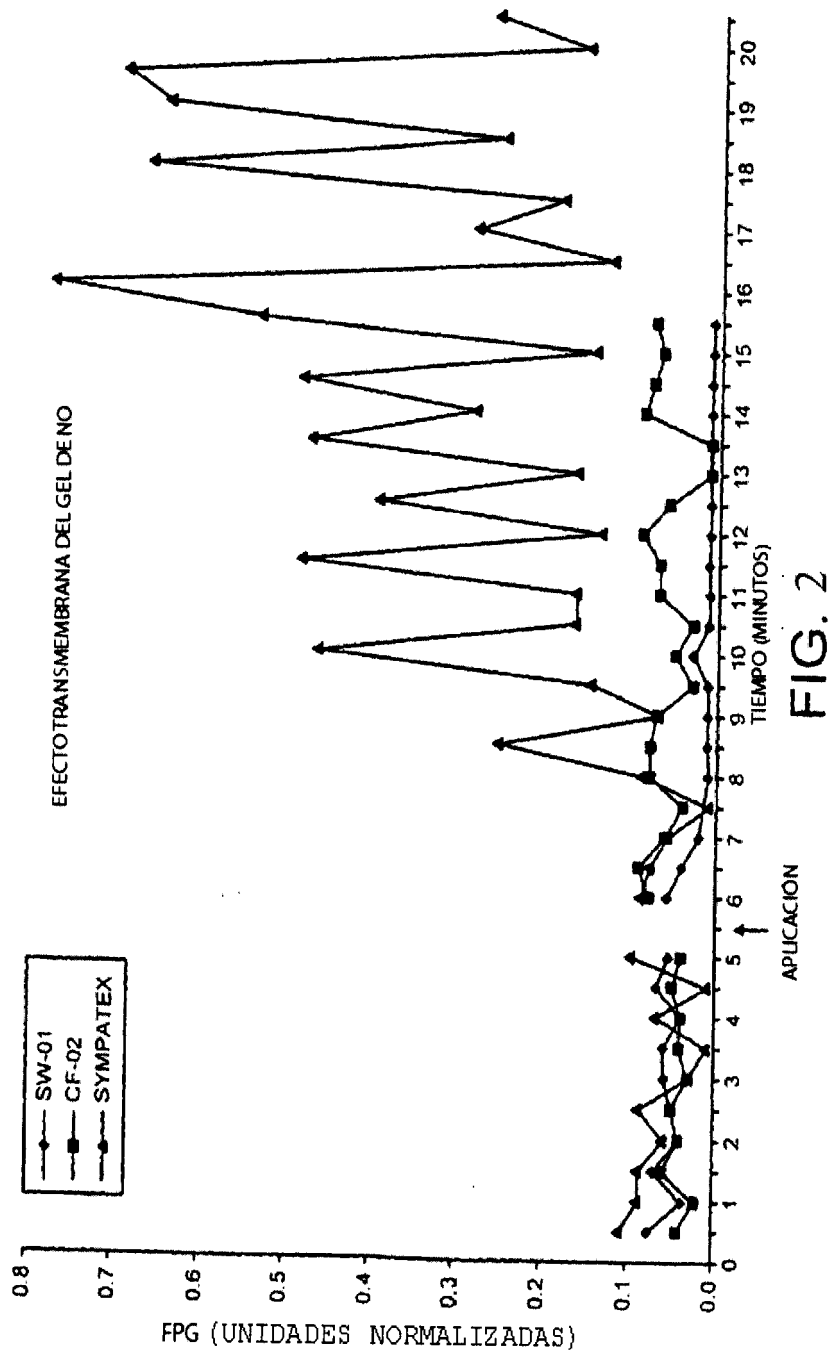


FIG. 1b



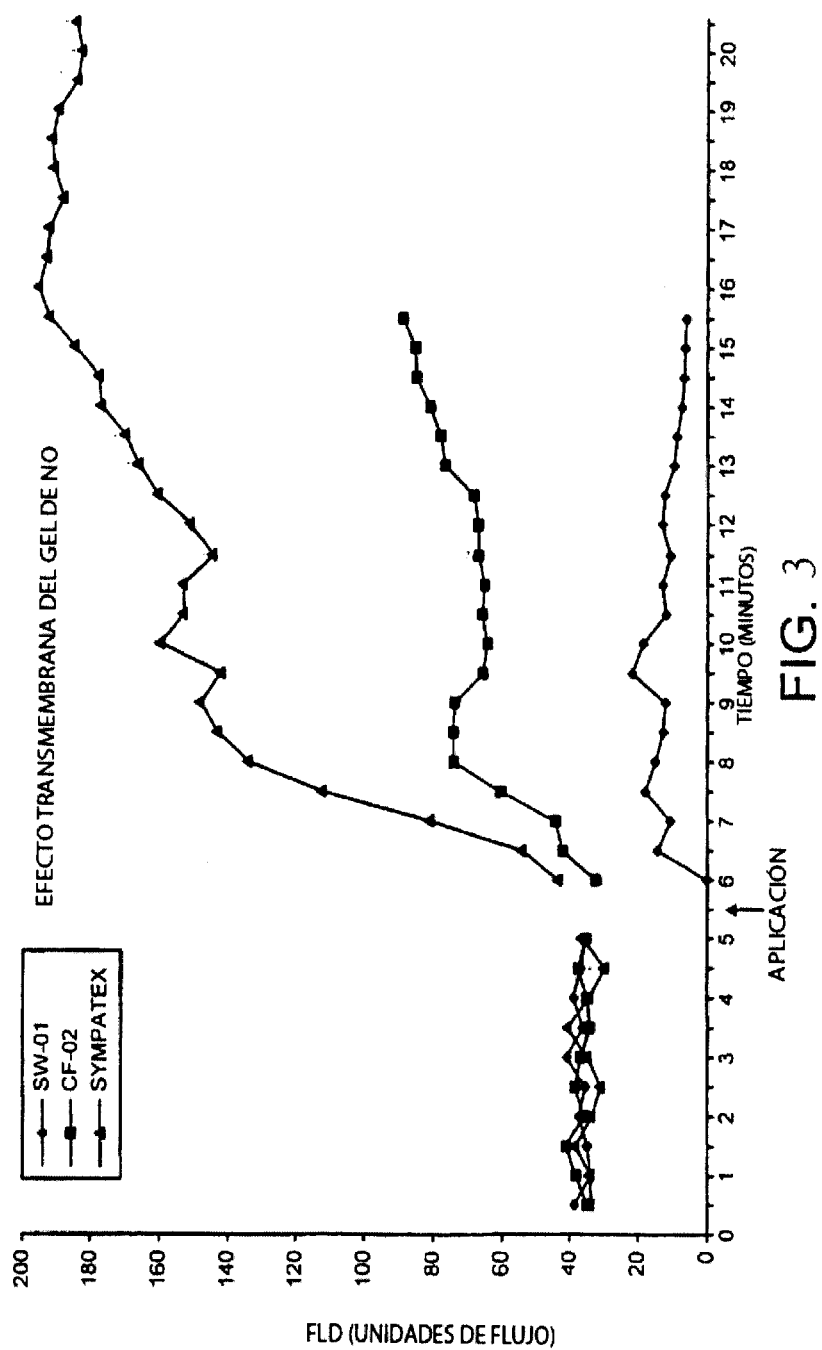


FIG. 3

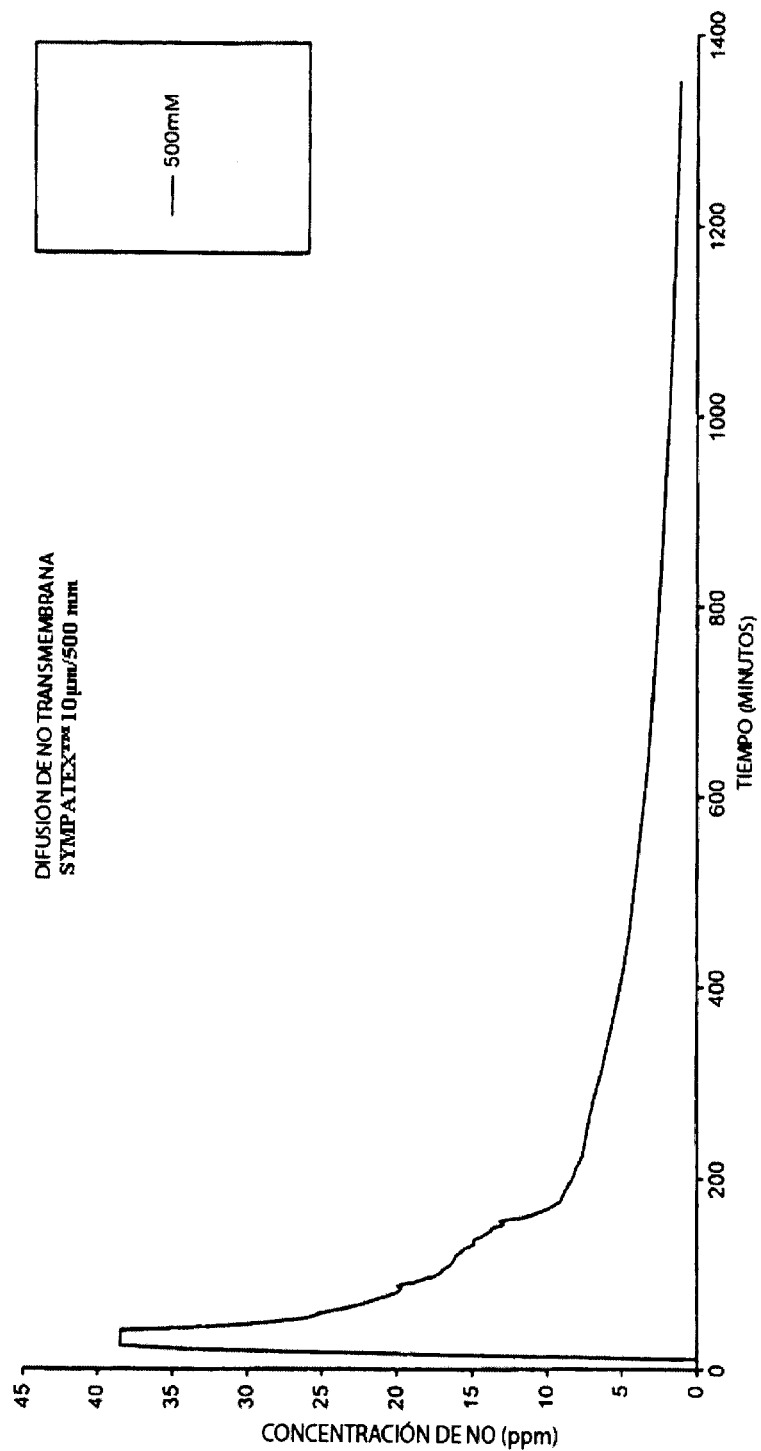
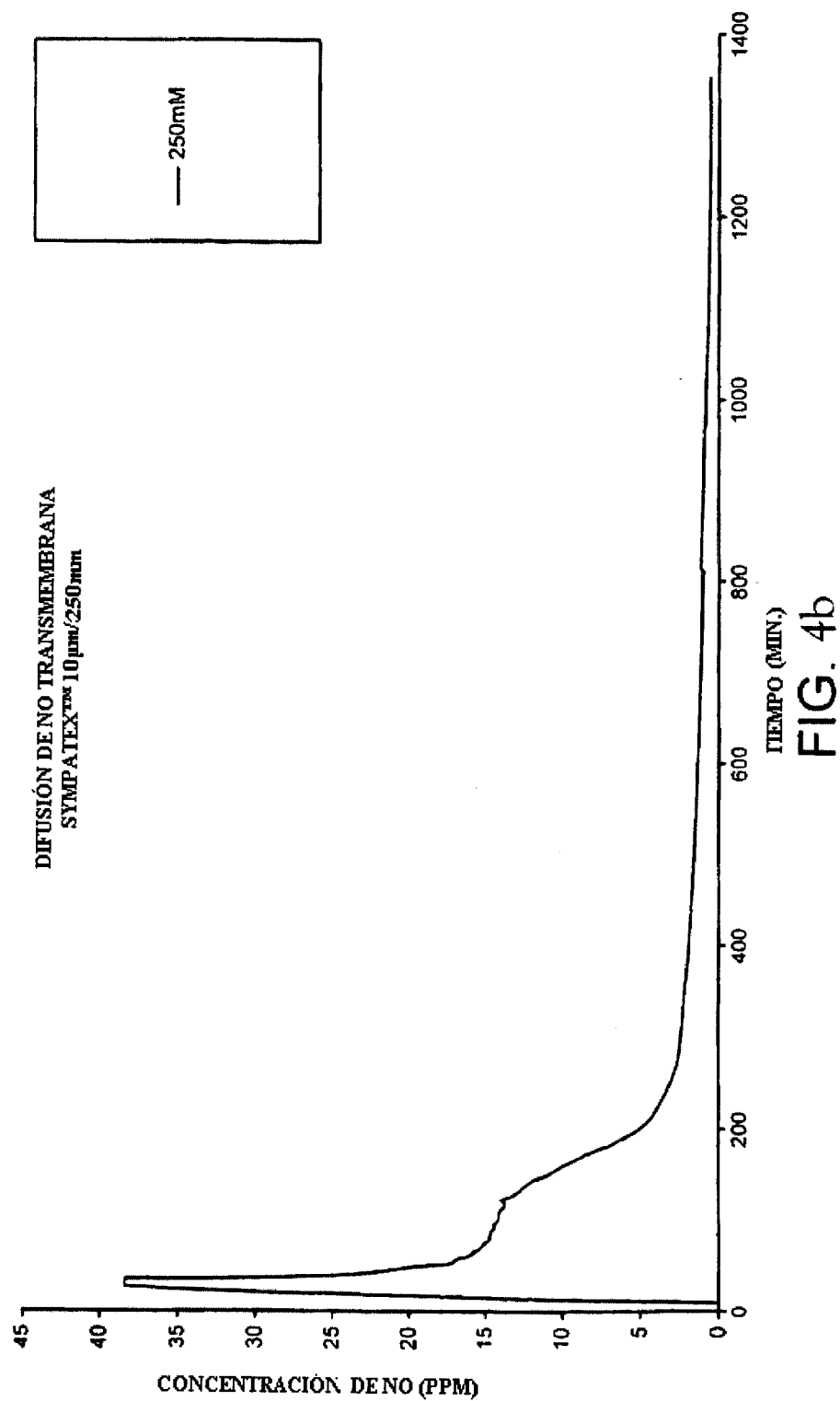


FIG. 4a



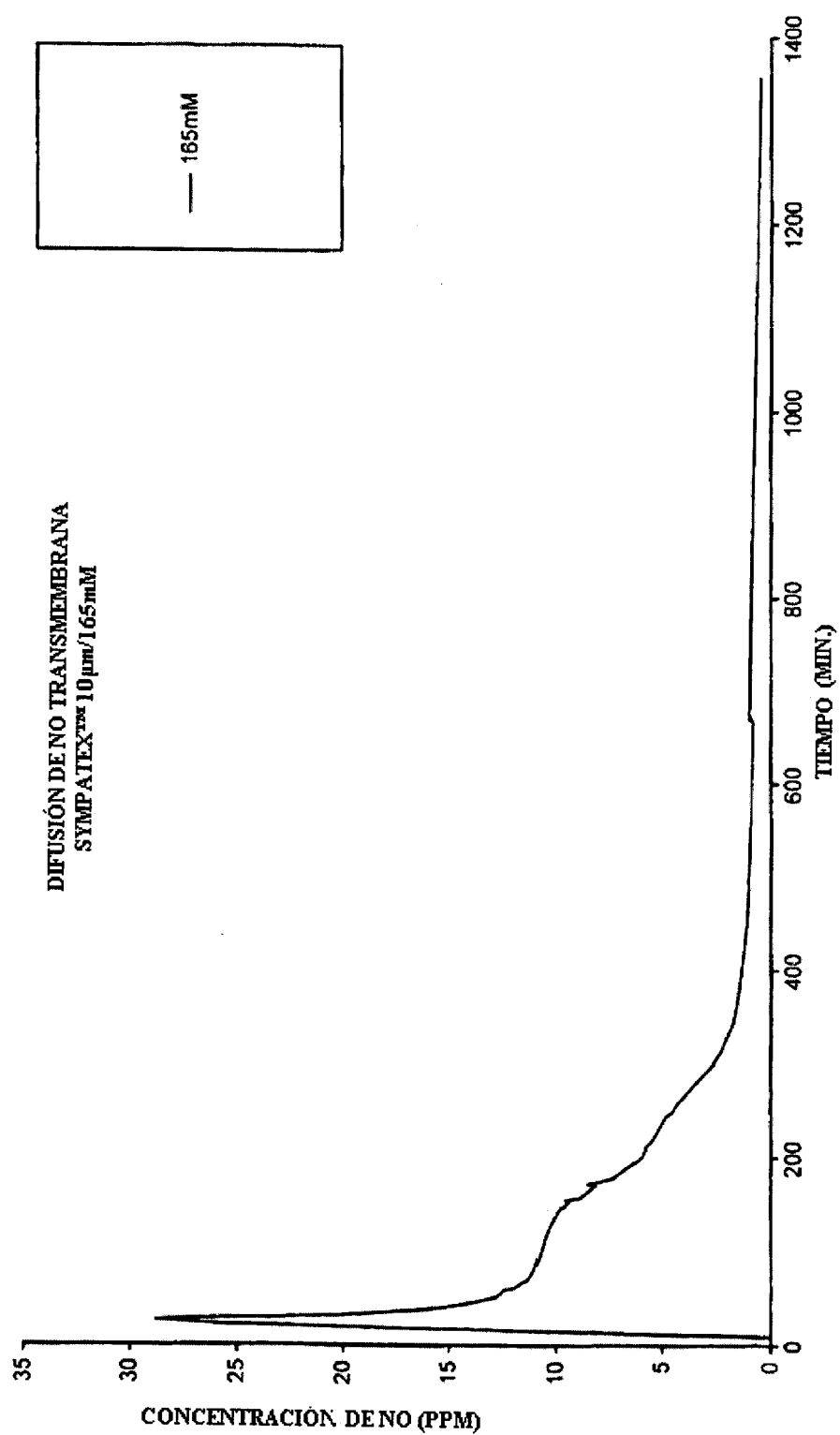
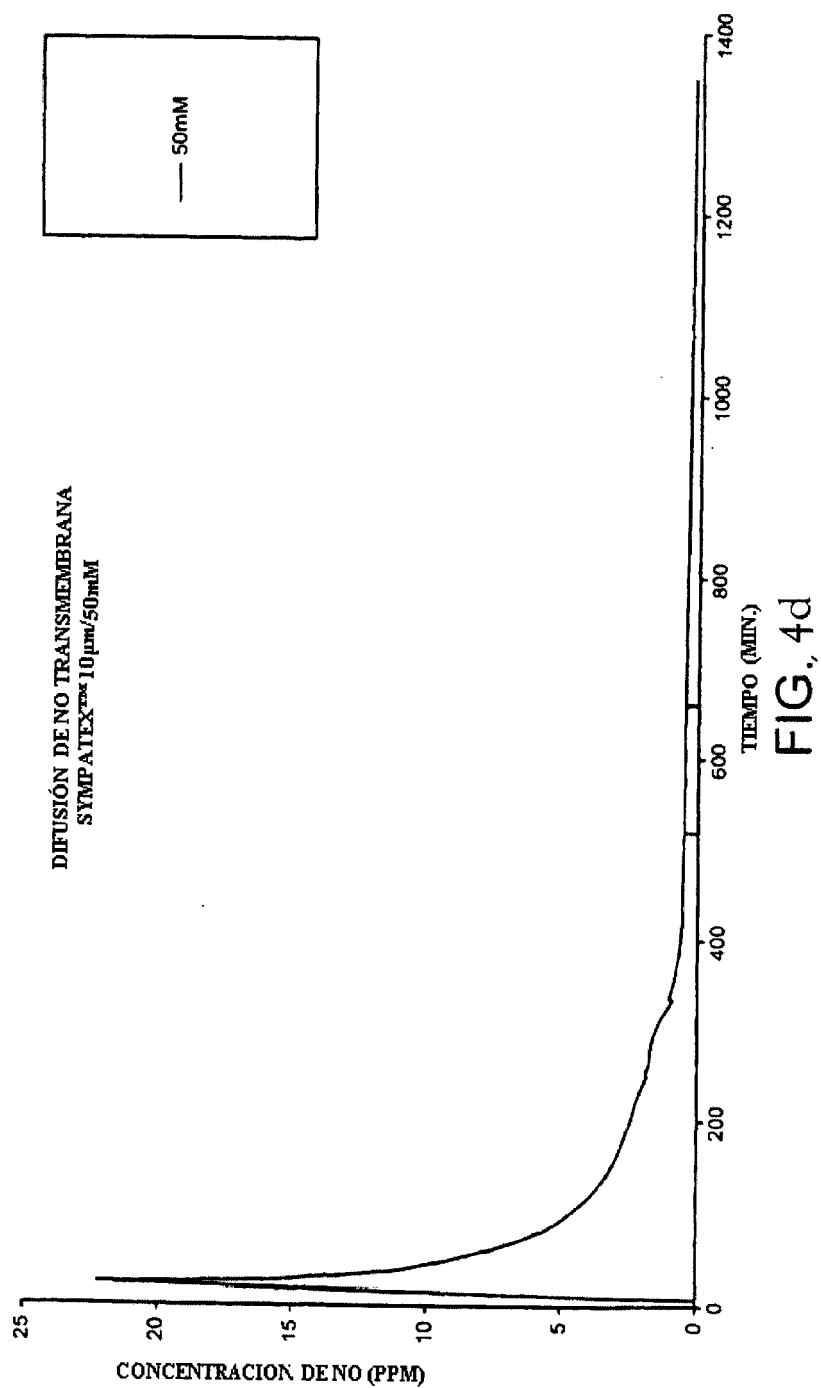
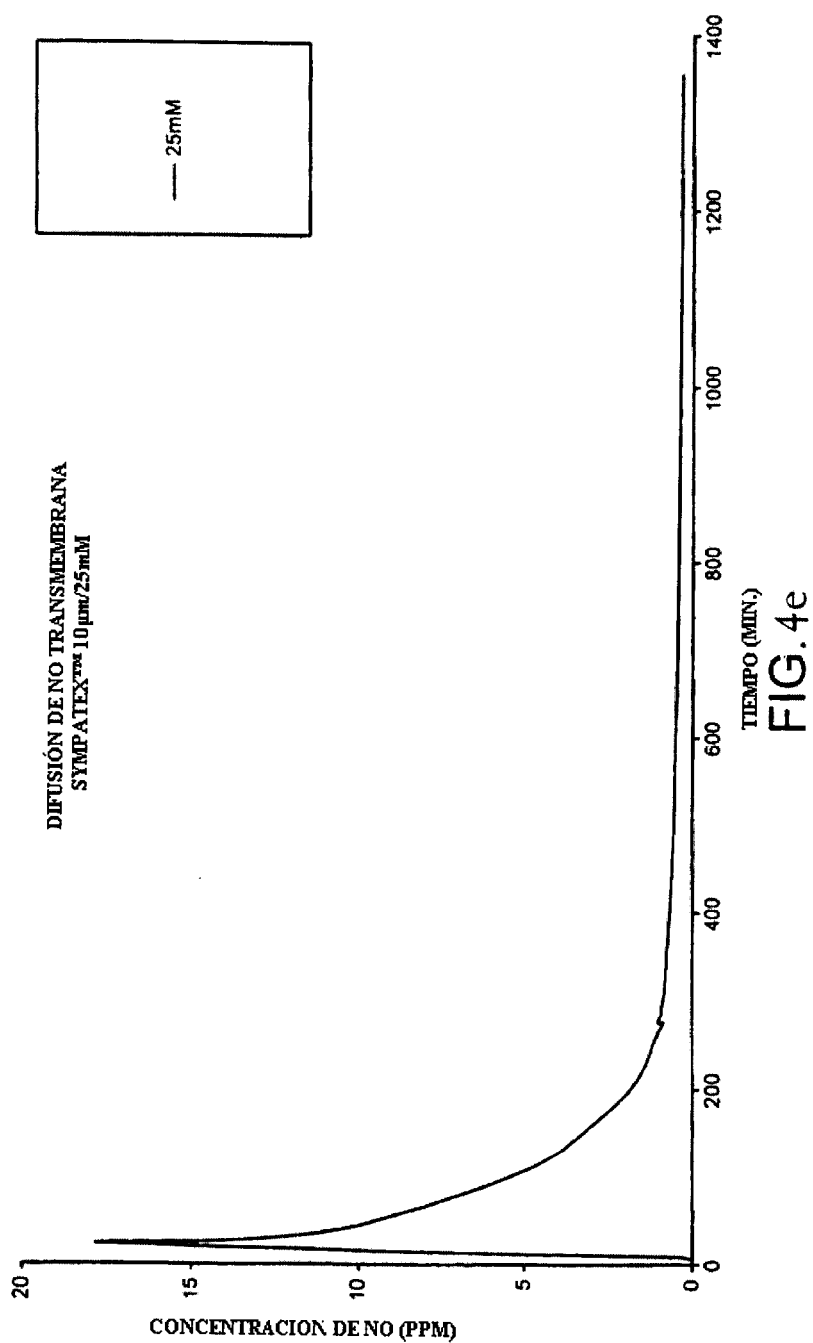


FIG. 4c





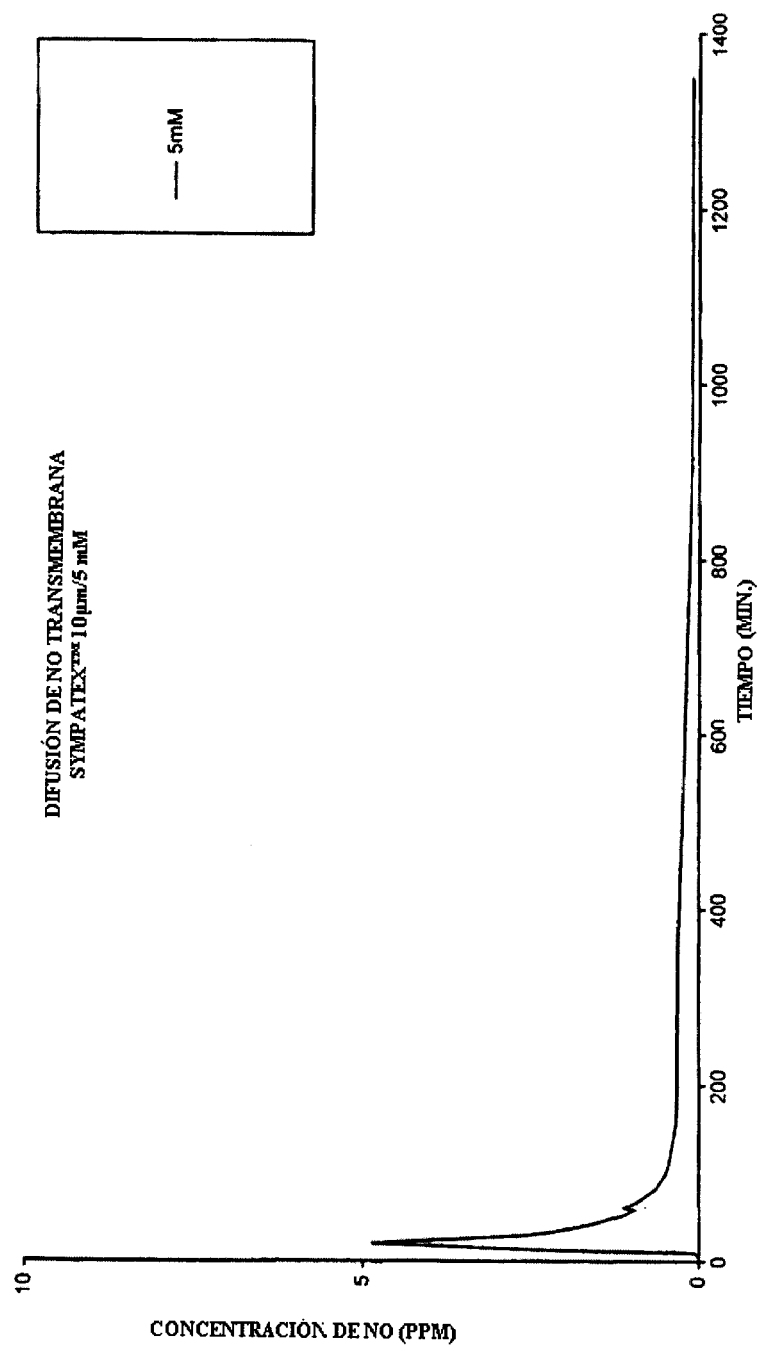
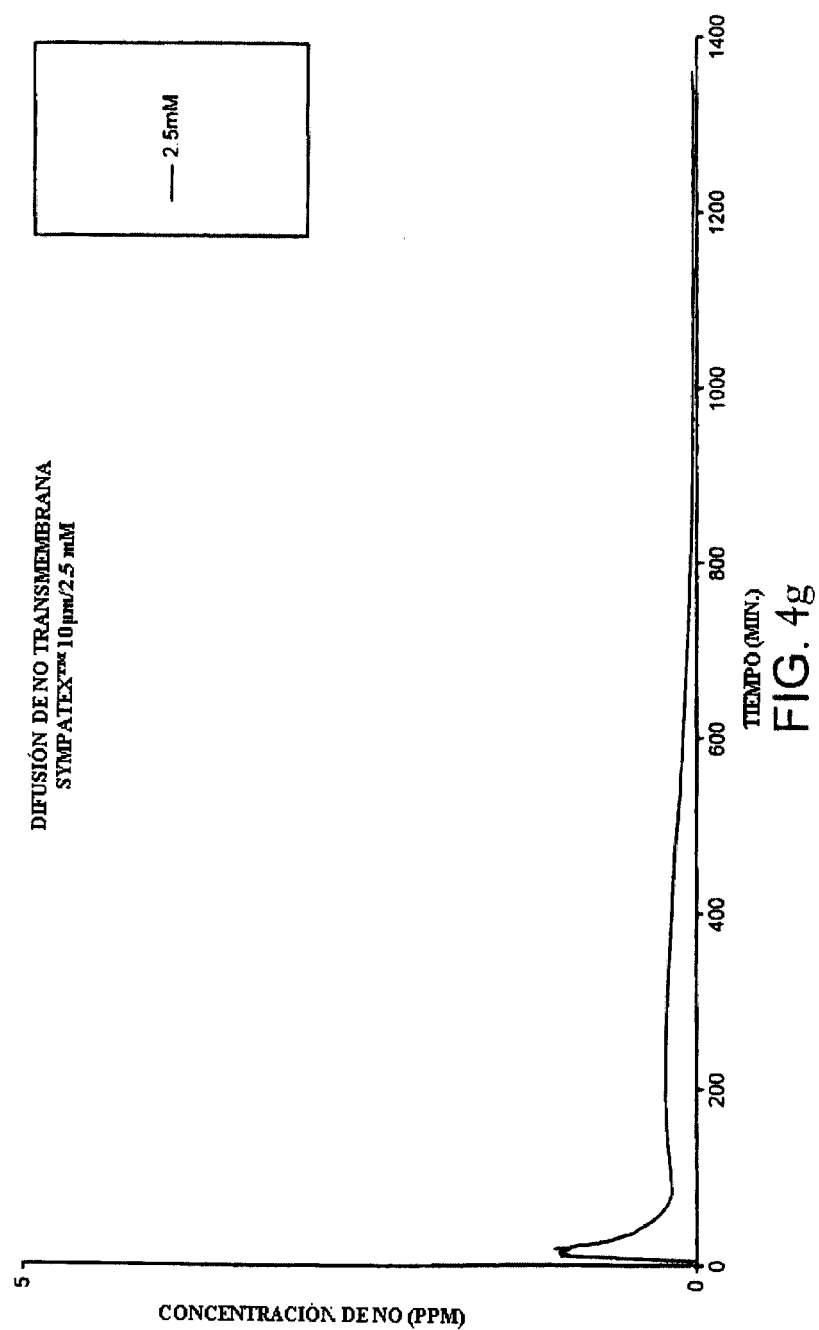


FIG. 4f



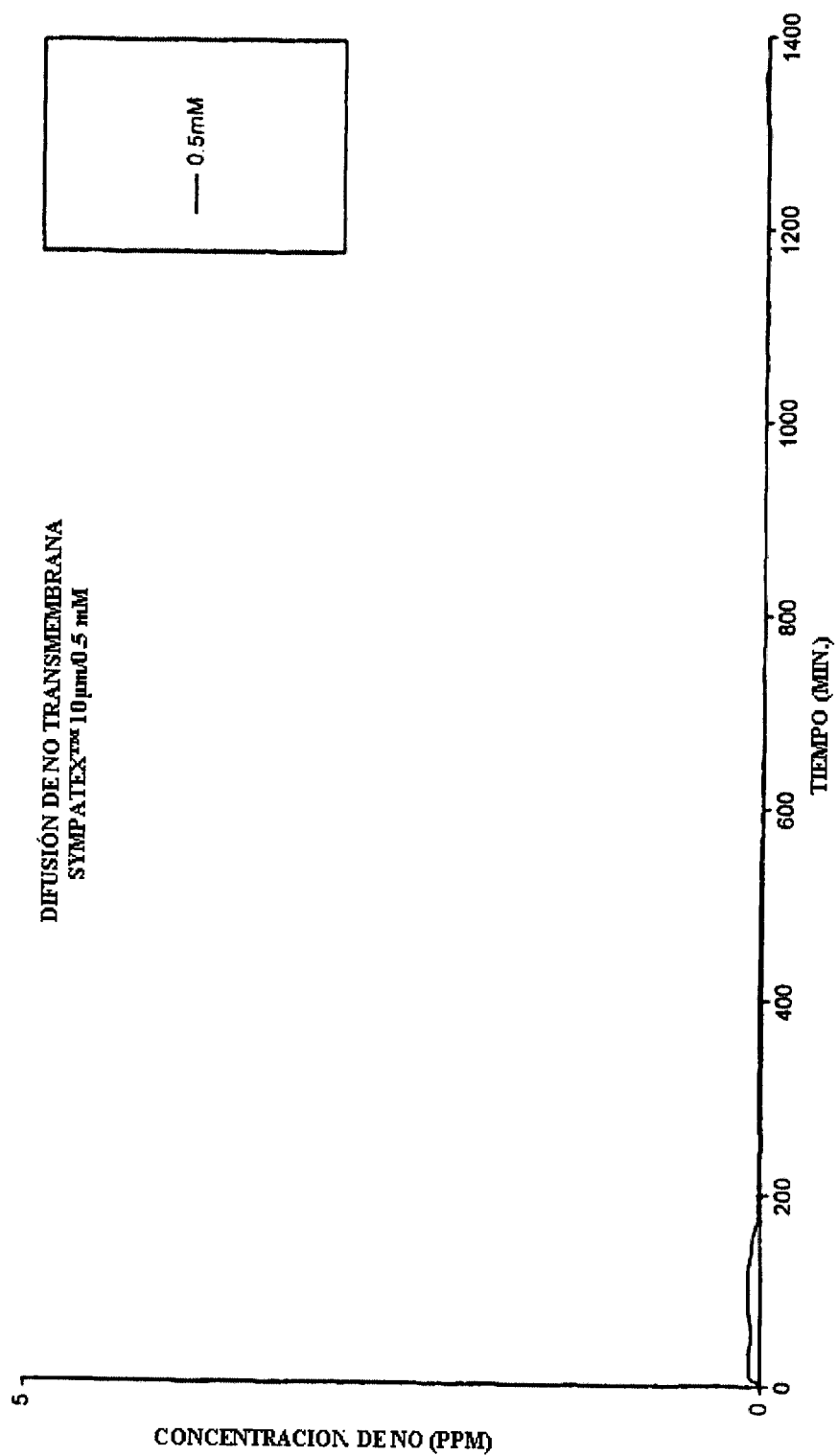


FIG. 4h

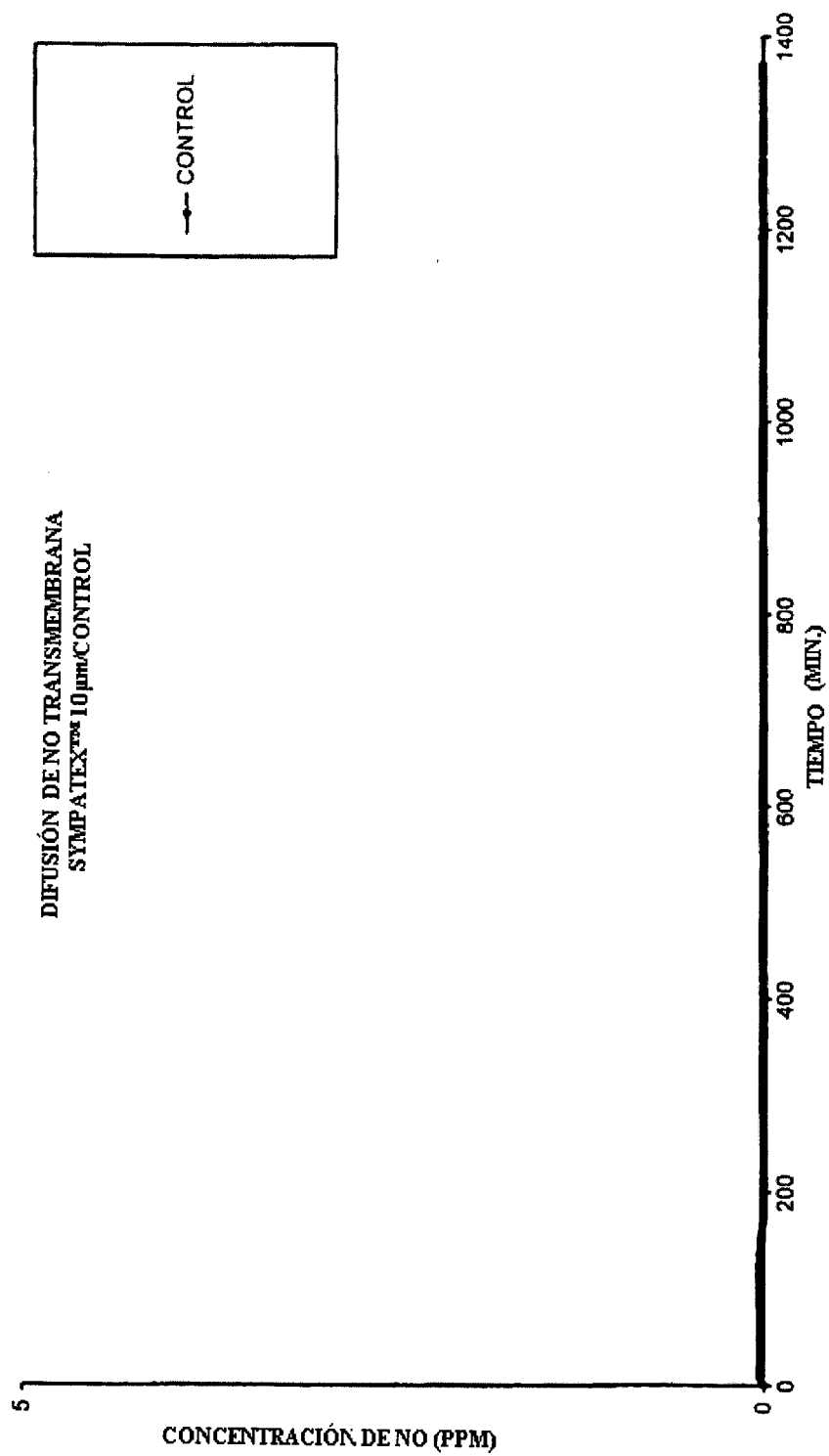


FIG. 4i