



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 327 480**

② Número de solicitud: 200701656

⑤ Int. Cl.:

**A61K 31/7016** (2006.01) **A61K 31/7008** (2006.01)

**A61K 31/7012** (2006.01) **A61P 19/00** (2006.01)

**C07H 5/06** (2006.01) **C07H 7/033** (2006.01)

**C07H 11/00** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

② Fecha de presentación: **15.06.2007**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **29.10.2009**

Fecha de la concesión: **28.07.2010**

④ Fecha de anuncio de la concesión: **10.08.2010**

④ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**10.08.2010**

⑦ Titular/es: **BIOIBÉRICA, S.A.**  
**Pl. Francesc Macià, 7**  
**08029 Barcelona, ES**

⑧ Inventor/es: **Escaich Ferrer, Josep;**  
**Torrent Gibert, Ana María;**  
**Ruhí Roura, Ramón y**  
**Aléiz Versón, Carlos Raúl**

⑨ Agente: **Sugrañes Moliné, Pedro**

⑤ Título: **Disacáridos para el tratamiento de tendones, ligamentos y huesos.**

⑥ Resumen:

Disacáridos para el tratamiento de tendones, ligamentos y huesos.

La presente invención se refiere al uso de una serie de disacáridos, así como de composiciones que los contienen, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de tendón, ligamento o hueso. La presente invención también se refiere a las nuevas composiciones que comprenden un disacárido en combinación con polisulfato de inulina, un glicosaminoglicano, un factor de crecimiento o células. Preferentemente el glicosaminoglicano es sulfato de condroitina o ácido hialurónico y el factor de crecimiento es IGF-1.

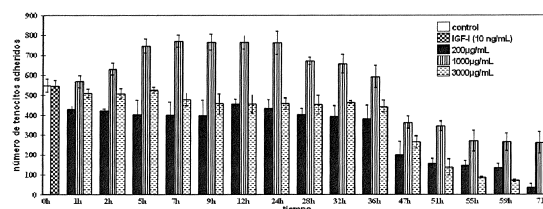


FIGURA 1

ES 2 327 480 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Disacáridos para el tratamiento de tendones, ligamentos y huesos.

5 **Sector técnico de la invención**

La presente invención se refiere al uso de una serie de disacáridos para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de tendón, ligamento o hueso. De igual modo, la presente invención se refiere a nuevas composiciones que comprenden los disacáridos.

10 **Antecedentes de la invención**

Numerosos estudios han confirmado que los huesos y las partes blandas tales como ligamentos y tendones, especialmente en personas adultas, presentan una capacidad limitada de auto-reparación.

15 Las propiedades funcionales y estructurales de los tendones y de los ligamentos son muy similares. Los tendones son estructuras anatómicas que unen músculos a huesos y los ligamentos son estructuras similares que unen huesos a otros huesos. Ambas son estructuras cilíndricas, elongadas, formadas de tejido conjuntivo denso y adaptadas a la tensión en una dirección, con fibras de colágeno paralelas (principalmente colágeno tipo I). La reducida vascularización de dichos tejidos es una de las causas de la lenta curación de tendones y ligamentos.

20 Las células predominantes en los tendones se llaman tenocitos. Los tenocitos tienen la función de mantener la estructura de la matriz a través de procesos de degradación y síntesis. Sin embargo, el tendón tiene una densidad relativamente baja de células y con poca actividad mitótica, lo cual explica la reducida tasa de recambio de este tejido y cuestiona el grado en que estas células pueden promover la curación intrínseca.

25 Las lesiones de tendón son las lesiones ortopédicas más comunes. Por ejemplo, al menos 100.000 lesiones de Tendón de Aquiles son diagnosticadas y tratadas anualmente en USA (A. Praemer *et al.*, "Musculoskeletal condition in the United States", 1st ed. American Academy of Orthopaedic Surgeons, Park Ridge, IL, 1992). Se estimó también que había de 150.000 a 200.000 lesiones de Ligamento Anterior Cruzado (ACL) cada año en USA (S.L. Woo *et al.*, "Contribution of biomechanics, orthopaedics and rehabilitation: the past present and future", *Surgeon* 2(3), 125-136 (2004)).

30 Los daños en tendones y ligamentos son causados por diversos factores, entre los que se incluyen lesiones por la práctica de deportes o accidentes, distensiones, posturas incorrectas, infecciones bacterianas, reacciones medicamentosas, artritis en una articulación, y como consecuencia de diversas enfermedades.

35 La curación por debajo del nivel óptimo, el largo período de rehabilitación y una elevada incidencia de recaída hacen que las lesiones de tendones y ligamentos sean difíciles de tratar adecuadamente.

40 Entre los tratamientos farmacológicos más frecuentes de las tendinopatías (enfermedades de los tendones) y desmopatías (enfermedades de los ligamentos) se encuentran los siguientes: descanso, terapia física (ejercicios, masajes, ultrasonidos, láser, hidroterapia, calor y frío), suplementos nutricionales, cirugía y medicamentos, entre los que se encuentran los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), los glucocorticoides y los antibióticos, estos últimos en el caso de que la enfermedad haya sido causada por una infección. Es conocido que tanto los AINEs como los glucocorticoides presentan efectos secundarios. Los efectos secundarios de los AINEs incluyen acidez estomacal, náuseas, diarrea, mareos y en algunos casos, úlceras gástricas e inflamación del hígado. Los efectos secundarios de los glucocorticoides pueden ser sangrado, infección y ruptura del tendón, e incluso pueden relantizar la síntesis de colágeno. Además, publicaciones recientes ponen en duda la eficacia de los AINEs en la regeneración de tendones (D. Marsolais *et al.*, "Nonsteroidal anti-inflammatory drug reduces neutrophil and macrophage accumulation but does not improve tendon regeneration", *Lab. Invest.* 83(7), 991-999 (2003)).

45 En los últimos años se están llevando a cabo investigaciones acerca del tratamiento de tendinopatías y desmopatías con células madre (R. G. Young *et al.*, "Use of mesenchymal stem cells in a collagen matrix for Achilles tendon repair", *J. Orthop. Res.* 16(4), 406-413 (1998)), tenocitos (US 2005060033), células de ligamento (J. A. Cooper, Jr., "Evaluation of the anterior cruciate ligament, medial collateral ligament, Achilles tendon and patellar tendon as cell sources for tissue-engineered ligament", *Biomaterials* 27, 2747-2754 (2006)), factores de crecimiento (WO 01/82951; L.A. Dahlgren *et al.*, "Insulin-like growth factor-I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagenase-induced model of flexor tendonitis", *J. Orthop. Res.* 20, 910-919 (2002)) o con genes (R. S. Goomer *et al.*, "Nonviral *in vivo* gene therapy for tissue engineering of articular cartilage and tendon repair", *Clin. Orthop. Oct* (379 Suppl), S189-200 (2000)).

50 El tejido óseo es un tejido conjuntivo especializado que, como los restantes tejidos conjuntivos, está formado por células, fibras y sustancia fundamental, pero, a diferencia de los otros, sus componentes extracelulares están calcificados y le convierten en un material duro, firme y adecuado para su función de soporte y protección. Proporciona apoyo interno al cuerpo y ofrece lugares de inserción a los músculos, tendones y ligamentos que son esenciales para el movimiento.

## ES 2 327 480 B1

Los defectos óseos representan un gran reto médico y socio-económico. Por ejemplo, entre las investigaciones más recientes se encuentra la aplicación de diferentes tipos de biomateriales para la reconstrucción de tejidos óseos dañados (U. Kneser, *et al.*, Tissue engineering of bone: the reconstructive surgeon's point of view, *J. Cell. Mol. Med.* 10 (1), 7-19 (2006)), así como la utilización de factores de crecimiento (WO 2006/044334) y de células madre (US 6,863,900).

Los huesos, tendones y ligamentos, citados anteriormente, son componentes del sistema músculo-esquelético, y todos ellos derivados a nivel embrionario del mesodermo.

Los compuestos de la presente invención son disacáridos descritos por primera vez en la patente EP 1300411 (US 6,680,304), con utilidad en el tratamiento de la artrosis. En dicho documento de patente también se menciona su utilidad en el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como artritis inflamatoria, artritis reumatoide, artritis psoriásica, fiebre reumática, reumatismo palindrómico, síndrome de Reiter, lupus eriomatosus y espondilitis anquilosante, así como en el control de la coagulación sanguínea. La estructura básica de estos compuestos contiene los monosacáridos ácido glucurónico y glucosamina, enlazados mediante uniones  $\beta$ -(1->3), y con un grupo sulfato en el C-4 y/o en el C-6 del monosacárido glucosamina.

Los glicosaminoglicanos (GAG) que forman parte de algunas composiciones de la presente invención, son biomoléculas poliméricas de elevado peso molecular que se encuentran fundamentalmente en los organismos vivos, donde desarrollan diferentes funciones fisiológicas.

El sulfato de condroitina es un glicosaminoglicano sulfatado de origen natural, con una estructura polimérica caracterizada por un disacárido que se repite, constituido por *N*-acetil-D-galactosamina y ácido D-glucurónico. La mayoría de los residuos de *N*-acetil-D-galactosamina están sulfatados. El sulfato de condroitina es un componente fundamental del agregado que se encuentra en el cartílago articular.

Se ha descrito el uso del sulfato de condroitina para tratar diversas enfermedades, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (US 3,895,106) o en el tratamiento de la psoriasis (WO2005/014012), sin embargo, su uso más extendido es en el tratamiento de la artrosis (osteoartritis), la cual se caracteriza por la degeneración del cartílago hialino articular (M.G. Lequesne, *Rev. Rhum. Eng. Ed.*, 61, 69-73 (1994); G. Verbruggen *et al.*, *Osteoarthritis Cart.*, 6 (Supplement A), 37-38 (1998)).

El ácido hialurónico es un glicosaminoglicano no sulfatado, con una estructura polimérica caracterizada por un disacárido que se repite, constituido por los monosacáridos *N*-acetil-D-glucosamina y ácido D-glucurónico. Es uno de los principales componentes del cartílago, de la membrana sinovial y del líquido sinovial. Particularmente importante es su uso en el tratamiento de la artrosis, generalmente por vía intraarticular. También se ha descrito su uso en oftalmología, para acelerar la cicatrización de las heridas, así como en cosmética.

Se han publicado resultados contradictorios sobre la utilidad del sulfato de condroitina, del polisulfato de condroitina y del ácido hialurónico en el tratamiento de tendinopatías. Si bien algunos autores describen el efecto beneficioso de dichos compuestos (E.M. Gaughan *et al.*, "Effects of sodium hyaluronate on tendon healing and adhesion formation in horses", *Am. J. Vet. Res.* 52(5), 764-773 (1991); H. Sundqvist *et al.*, "A promising novel therapy for Achilles peritendinitis", *Int. J. Sports Med.* 8, 298-303 (1987)), otros sin embargo no encuentran diferencias significativas entre los tendones tratados y el grupo control (S.J. Dyson, "Medical management of superficial digital flexor tendonitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000)", *Equine Vet. J.* 36(5), 415-419 (2004); J.W. Foland *et al.*, "Effect of sodium hyaluronate in collagenase-induced superficial digital flexor tendinitis in horses", *Am. J. Vet. Res.* 53(12), 2371-2376 (1992)).

El polisulfato de inulina que forma parte de las composiciones de la invención se obtiene a partir del polisacárido inulina de origen natural. Las sales alcalinas de sulfato de inulina con diversos grados de sulfatación se han aplicado en la industria química como espesantes, adhesivos y como aditivos para fangos utilizados en la perforación de pozos petrolíferos. Se ha descrito que el sulfato de inulina presenta una actividad anticoagulante (*Arkiv for kemi, mineralogi o. geologi.*, Bd 24B (5), 1-4 (1946)) y antilipémica (*Arch. Int. Pharmacodyn.*, XCIX, 334 (1954)).

Se ha descrito que el polisulfato de inulina (US 4,021,545) tiene una actividad inhibidora del complemento, por lo que podría utilizarse en el tratamiento de enfermedades como la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y ciertos tipos de vasculitis. También se ha descrito su uso en el tratamiento de la artrosis (WO 2005/084610).

De acuerdo con todo lo anterior, existía una necesidad de proporcionar un fármaco alternativo útil en el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de tendón, ligamento o hueso.

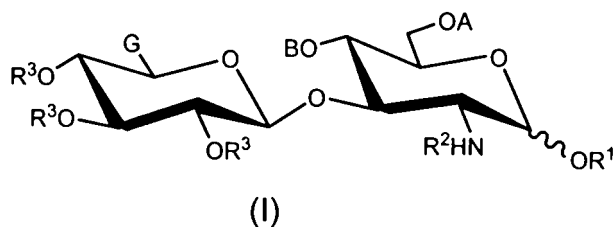
Hasta el momento no se ha encontrado descrito el uso de los disacáridos de la presente invención en el tratamiento de tendones, ligamentos o huesos.

Tampoco se han encontrado descritas las composiciones de la presente invención que comprenden los disacáridos.

**Explicación de la invención**

Inesperadamente, ahora se ha observado que los compuestos descritos en la patente EP 1300411 son útiles en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o lesión de tendón, ligamento o hueso.

Así pues la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I):



en la que:

R<sup>1</sup> es hidrógeno, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo lineal o ramificado, fenilalquilo de menos de diez átomos de carbono o -COCH<sub>3</sub>;

R<sup>2</sup> es hidrógeno, -COCH<sub>3</sub> o -SO<sub>3</sub>Y;

R<sup>3</sup> es hidrógeno, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo lineal o ramificado, fenilalquilo de menos de diez átomos de carbono, -COCH<sub>3</sub> o -COPh, donde Ph es fenilo;

G es -COOR<sup>4</sup> o -COOY, donde R<sup>4</sup> es hidrógeno, C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> alquilo o arilalquilo de menos de dieciséis átomos de carbono;

A es hidrógeno, -SO<sub>3</sub>H, -SO<sub>3</sub>Y o -COCH<sub>3</sub>; y

B es hidrógeno, -SO<sub>3</sub>H, -SO<sub>3</sub>Y, o -COCH<sub>3</sub>,

en donde necesariamente o A o B es o bien -SO<sub>3</sub>H, o bien -SO<sub>3</sub>Y, donde Y es un catión orgánico o inorgánico; así como sus solvatos y sus sales farmacéuticas aceptables, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de tendón, ligamento o hueso en un mamífero.

En la presente invención el término "tratamiento" incluye la reparación o regeneración de tendones, ligamentos o huesos.

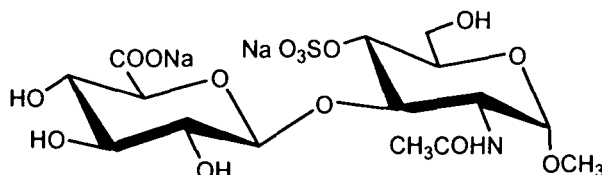
Los compuestos de fórmula (I) contienen un carbono anomérico en su estructura. La invención incluye tanto las mezclas como las formas anoméricas  $\alpha$  y  $\beta$  separadas.

En una realización preferida, los compuestos de fórmula (I) son aquellos donde: R<sup>1</sup> es hidrógeno o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo lineal y G es -COOR<sup>4</sup> o -COOY, donde R<sup>4</sup> es hidrógeno o C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> alquilo e Y es un catión inorgánico.

En una realización más preferida, los compuestos de fórmula (I) son aquellos donde: R<sup>1</sup> es hidrógeno, R<sup>2</sup> es -COCH<sub>3</sub> y R<sup>3</sup> es hidrógeno. Igualmente preferidos son los compuestos de fórmula (I) donde R<sup>1</sup> es metilo, R<sup>2</sup> es -COCH<sub>3</sub> y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

En una realización particularmente preferida, los compuestos de fórmula (I) son aquellos donde: A es hidrógeno, B es -SO<sub>3</sub>Y y G es -COOY, donde Y es un catión inorgánico. Son también particularmente preferidos los compuestos de fórmula (I) donde: A es -SO<sub>3</sub>Y, B es hidrógeno y G es -COOY, donde Y es un catión inorgánico. Igualmente, son particularmente preferidos los compuestos de fórmula (I) donde: A y B son -SO<sub>3</sub>Y y G es -COOY, donde Y es un catión inorgánico.

Un compuesto individual especialmente preferido de la invención es: metil 2-acetamido-2-desoxi-3-O-(ácido  $\beta$ -D-glucopiranosil urónico)-4-O-sulfo- $\alpha$ -D-glucopiranosido, sal disódica, de fórmula:

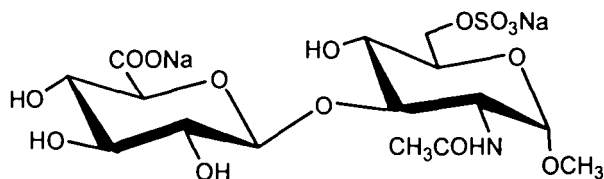


## ES 2 327 480 B1

Otro compuesto individual especialmente preferido de la invención es: metil 2-acetamido-2-desoxi-3-*O*-(ácido  $\beta$ -D-glucopiranosil urónico)-6-*O*-sulfo- $\alpha$ -D-glucopiranosido, sal disódica, de fórmula:

5

10

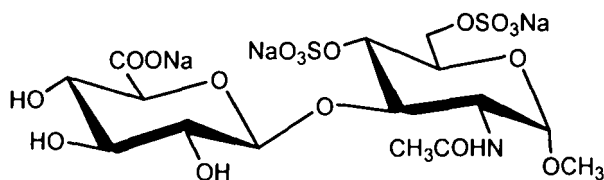


15

Otro compuesto individual especialmente preferido de la invención es: metil 2-acetamido-2-desoxi-3-*O*-(ácido  $\beta$ -D-glucopiranosil urónico)-4,6-di-*O*-sulfo- $\alpha$ -D-glucopiranosido, sal trisódica, de fórmula:

20

25



30

Preferentemente, el ligamento es un ligamento articular o periodontal y el hueso es un hueso periodontal.

35

En otra realización preferida el medicamento además contiene un glicosaminoglicano, preferentemente sulfato de condroitina, ácido hialurónico o sulfato de dermatano.

En otra realización igualmente preferida el medicamento además contiene polisulfato de inulina.

40

En otra realización igualmente preferida el medicamento además contiene un factor de crecimiento, preferentemente IGF-1.

En otra realización igualmente preferida el medicamento además contiene células seleccionadas de entre el grupo que consiste en tenocitos, células de epitenón, células de ligamento, fibroblastos de ligamento periodontal, cementoblastos, osteoblastos, osteocitos y células madre.

45

Preferentemente la enfermedad, trastorno o lesión se selecciona de entre el grupo que consiste en tendinosis, tendinitis (tendonitis), tendinitis reumatoide, peritendinitis, tenosinovitis, paratenonitis, pérdida de hueso, periodontitis, gingivitis asociada a la periodontitis y cualquier desmopatía. Igualmente, la enfermedad, trastorno o lesión es el resultado de un traumatismo, un sobreuso o un estado patológico, por ejemplo una enfermedad infecciosa, metabólica o endocrina.

50

Preferentemente el medicamento se adapta para administración oral, intralesional, perilesional, intraarticular, para administración en un implante o para administración tópica a un tendón, ligamento o hueso expuesto.

55

La presente invención también describe composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto representado por la fórmula (I) y un glicosaminoglicano. Preferentemente el glicosaminoglicano es sulfato de condroitina o ácido hialurónico.

60

Igualmente preferidas son las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto representado por la fórmula (I) y polisulfato de inulina.

Igualmente preferidas son las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto representado por la fórmula (I) y un factor de crecimiento. Preferentemente el factor de crecimiento es IGF-1.

65

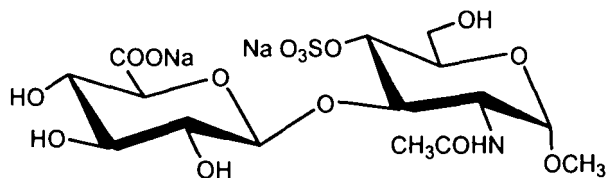
Igualmente preferidas son las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto representado por la fórmula (I) y células seleccionadas de entre el grupo que consiste en tenocitos, células de epitenón, células de ligamento, fibroblastos de ligamento periodontal, cementoblastos, osteoblastos, osteocitos y células madre.

## ES 2 327 480 B1

Especialmente preferida es la composición farmacéutica en la que el compuesto de fórmula (I) es: metil 2-acetamido-2-desoxi-3-*O*-(ácido  $\beta$ -D-glucopiranosil urónico)-4-*O*-sulfo- $\alpha$ -D-glucopiranosido, sal disódica, de fórmula:

5

10



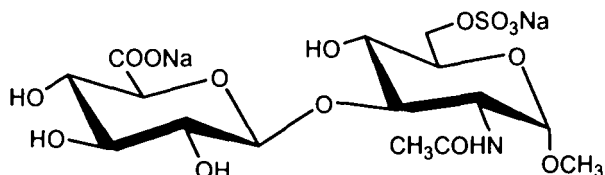
15

Igualmente, especialmente preferida es la composición farmacéutica en la que el compuesto de fórmula (I) es: metil 2-acetamido-2-desoxi-3-*O*-(ácido  $\beta$ -D-glucopiranosil urónico)-6-*O*-sulfo- $\alpha$ -D-glucopiranosido, sal disódica, de fórmula:

20

25

30

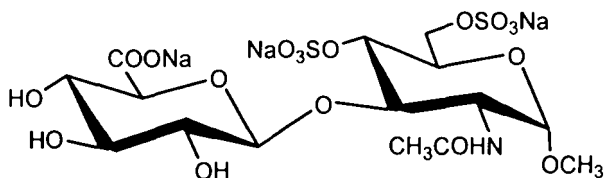


35

Igualmente, especialmente preferida es la composición farmacéutica en la que el compuesto de fórmula (I) es: metil 2-acetamido-2-desoxi-3-*O*-(ácido  $\beta$ -D-glucopiranosil urónico)-4,6-di-*O*-sulfo- $\alpha$ -D-glucopiranosido, sal trisódica, de fórmula:

40

45



50

La preparación de los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con la presente invención puede llevarse a cabo siguiendo las rutas sintéticas descritas en la patente EP 1300411.

55

Dependiendo de la naturaleza del catión Y (orgánico o inorgánico, y entre estos últimos preferentemente los cationes metálicos), obtendremos sales orgánicas o inorgánicas. Ejemplos de sales inorgánicas incluyen, por ejemplo, las sales de sodio, potasio, calcio, magnesio, aluminio, amonio y litio. Ejemplos de sales orgánicas incluyen, por ejemplo, las sales de etanolamina, trietanolamina y aminoácidos básicos.

60

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención pueden contener los compuestos de fórmula (I) y un glicosaminoglicano, tal como el sulfato de condroitina, ácido hialurónico o sulfato de dermatano.

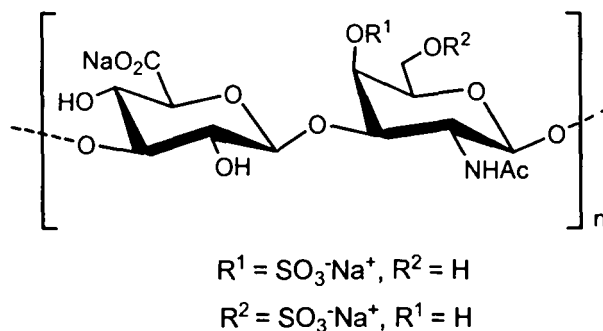
65

El sulfato de condroitina, componente de algunas composiciones de la presente invención, es un glicosaminoglicano sulfatado de peso molecular comprendido entre 10.000 daltons y 60.000 daltons, dependiendo de la procedencia y procedimiento de obtención. Se puede obtener a partir de tejidos cartilagosos de animales, tales como tráqueas de ganado bovino o porcino y esqueleto cartilaginoso de tiburón, siguiendo procedimientos descritos en la literatura (ES 547769).

## ES 2 327 480 B1

Su estructura polimérica se caracteriza por un disacárido que se repite, constituido por *N*-acetilgalactosamina y ácido D-glucurónico. La mayoría de los residuos de *N*-acetilgalactosamina están sulfatados.

El sulfato de condroitina que procede del tejido cartilaginoso se encuentra principalmente en dos formas isoméricas, que difieren en la posición del grupo sulfato presente en el residuo de *N*-acetilgalactosamina, el 4-sulfato de condroitina (sulfato de condroitina A) y el 6-sulfato de condroitina (sulfato de condroitina C), los cuales se representan por la siguiente estructura:



Además del 4-sulfato de condroitina y del 6-sulfato de condroitina, el término sulfato de condroitina también incluye los siguientes compuestos:

sulfato de condroitina B, también conocido como sulfato de dermatano;

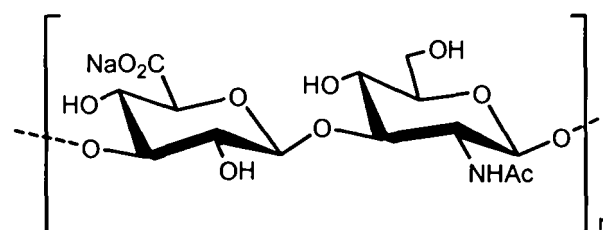
sulfato de condroitina D, conocido como 2,6-disulfato de condroitina;

sulfato de condroitina E, conocido como 4,6-disulfato de condroitina.

En la presente invención el término “sulfato de condroitina” abarca todos estos compuestos, así como sus mezclas.

El ácido hialurónico utilizado en las composiciones de la presente invención es un glicosaminoglicano no sulfatado, de peso molecular comprendido entre 100.000 daltons y 3.000.000 daltons. Se puede obtener, mediante extracción, a partir de tejidos de aves o de mamíferos, por ejemplo a partir de humor vítreo, piel de mamífero, cordón umbilical, crestas de aves y por fermentación de microorganismos, por ejemplo *Streptococcus*, siguiendo procedimientos descritos en la literatura (D.A. Swann, *Biochim. Biophys. Acta* 156, 17-30 (1968); US 4,780,414).

Su estructura polimérica se caracteriza por un disacárido que se repite, constituido por *N*-acetil-D-glucosamina y ácido D-glucurónico:



El polisulfato de inulina, que es un componente de algunas composiciones utilizadas en la presente invención, se puede obtener mediante sulfonación de los grupos hidroxilos libres presentes en la estructura del polisacárido de

origen natural inulina, siguiendo procedimientos descritos en la literatura (WO 2005/084610). Se representa mediante la siguiente estructura:

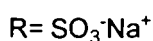
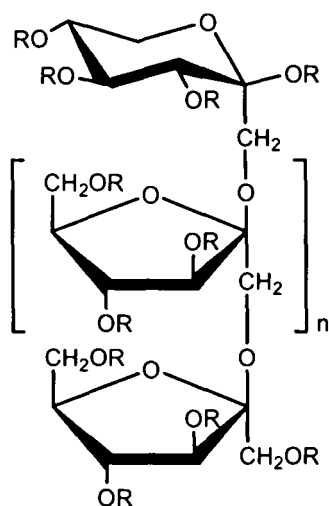
5

10

15

20

25



30

El sulfato de dermatano, también denominado sulfato de condroitina B, se puede obtener a partir de tejidos de aves o de mamíferos, por ejemplo a partir de mucosa porcina o bovina y crestas de aves, siguiendo procedimientos descritos en la literatura (N. Volpi, *Anal. Biochem.* 218, 382-391 (1994); US 5,116,963).

35

Cuando en la presente invención se habla de factores de crecimiento se hace referencia a factores de crecimiento que juegan un papel importante en el crecimiento de huesos, tendones o ligamentos. En particular estos factores de crecimiento incluyen, entre otros, IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1) y BMP-2 (Bone Morphogenetic Protein 2).

40

Cuando en la presente invención se habla de células madre, se hace referencia tanto a las células madre embrionarias como a las células madre adultas. Estas últimas incluyen a las células mesenquimales.

45

Cuando en la presente invención se habla de administración intralesional, se hace referencia a la administración directa a la propia lesión.

50

Cuando en la presente invención se habla de administración perilesional, se hace referencia a la administración alrededor de la lesión.

Para utilizar en el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de tendón, ligamento o hueso, los compuestos de la invención se formulan en composiciones farmacéuticas adecuadas, recurriendo a técnicas y excipientes o vehículos convencionales, como los descritos en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy 2000*, edited by Lippincott Williams and Wilkins, 20th edition, Philadelphia.

55

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse al paciente en dosis requeridas. La administración de las composiciones puede efectuarse por diferentes vías, por ejemplo, oral, intravenosa, intraperitoneal, intraarticular, intralesional, perilesional, intratendinosa, peritendinosa, intratecal, subcutánea, intramuscular, tópica, sublingual, intradérmica o intranasal. Las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto activo, dependiendo dicha cantidad de muchos factores, como por ejemplo, el estado físico del paciente, edad, sexo, compuesto particular, vía de administración, gravedad de los síntomas y de otros factores bien conocidos en la técnica. Además, se entenderá que dicha dosificación de compuesto activo puede administrarse en unidades de dosis única o múltiple para proporcionar los efectos terapéuticos deseados.

60

65

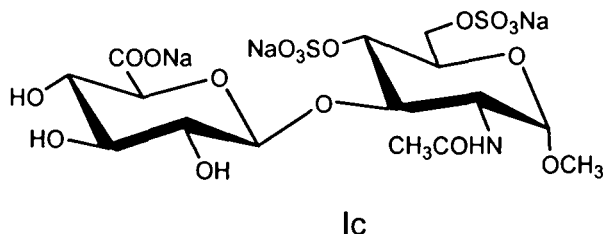
Las preparaciones farmacéuticas de la invención generalmente estarán en forma sólida, líquida o como gel. Entre las preparaciones farmacéuticas en forma sólida que pueden prepararse de acuerdo con la presente invención se incluyen polvos, minigránulos (pellets), microesferas, nanopartículas, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, sellos y supositorios. Entre las preparaciones en forma líquida se incluyen soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes y elixires. Se contemplan también las preparaciones de formas sólidas que se desean convertir, inmediatamente antes de ser utilizadas, en preparaciones en forma líquida. Dichas formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones.



## ES 2 327 480 B1

De acuerdo con la presente invención se ha encontrado que el uso de los compuestos de la invención presenta ventajas, tales como: (i) en un ensayo *in vitro* para medir la estimulación de la proliferación y adhesión de tenocitos humanos, su acción es más rápida que la del factor de crecimiento IGF-1; (ii) ausencia de efectos tóxicos sobre los tenocitos, ya que los tenocitos presentan gran cantidad de retículo endoplasmático y matriz extracelular y (iii) no se altera la expresión de colágeno tipo I y de la molécula de adhesión  $\beta 1$ -integrina.

En las figuras y ejemplos descritos a continuación, Ic es un compuesto de fórmula:



### Breve descripción de las figuras

En la Figura 1 se representa a tres concentraciones (200, 1.000 y 3.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) el efecto del compuesto Ic sobre el número de tenocitos humanos adheridos a lo largo de 71 horas. También se incluyen el control y el IGF-1 a tiempo cero.

En la Figura 2 se representa el efecto del factor de crecimiento IGF-1 y del control (cultivo en ausencia de compuesto) sobre el número de tenocitos humanos adheridos a lo largo de 71 horas.

En la Figura 3 se visualizan los tenocitos humanos por microscopía electrónica de transmisión, después de su cultivo durante 1 hora en ausencia de compuesto (control).

En la Figura 4 se visualizan los tenocitos humanos por microscopía electrónica de transmisión, después de su incubación durante 1 hora con el compuesto Ic.

En la Figura 5 se visualiza por inmunofluorescencia roja la expresión de colágeno tipo I por los tenocitos humanos cultivados en ausencia de compuesto (control).

En la Figura 6 se visualiza por inmunofluorescencia roja la expresión de colágeno tipo I por los tenocitos humanos, después de su incubación durante 1 hora con el compuesto Ic.

En la Figura 7 se visualiza por inmunofluorescencia roja la expresión de la molécula de adhesión  $\beta 1$ -integrina por los tenocitos humanos cultivados en ausencia de compuesto (control).

En la Figura 8 se visualiza por inmunofluorescencia roja la expresión de la molécula de adhesión  $\beta 1$ -integrina por los tenocitos humanos, después de su incubación durante 1 hora con el compuesto Ic.

### Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Los siguientes ejemplos son meramente ilustrativos y no representan una limitación del alcance de la presente invención.

#### Ejemplo 1

##### *Adhesión y proliferación de tenocitos humanos*

El objetivo era determinar el efecto del compuesto Ic sobre la proliferación y adhesión de tenocitos humanos en un modelo de cultivo *in vitro*, ya que un fármaco que estimule la proliferación y adhesión de tenocitos podría ser de especial utilidad en el tratamiento o reparación de tendones.

A efectos comparativos también se determinó el efecto del factor de crecimiento IGF-1 sobre la proliferación y adhesión de tenocitos humanos en el mismo tipo de modelo de cultivo *in vitro*.

Se cuantificó el incremento de tenocitos adheridos mediante conteo manual en diez campos microscópicos.

## ES 2 327 480 B1

### *Materiales y métodos*

Se cultivaron explantes de tendón humano (aproximadamente de 3-5 mm) en un frasco de cultivo con medio de cultivo constituido por 10% FCS, DMEM/Ham-12 (50/50) (Dulbecco's Modified Eagle's Medium con Ham-12), 50 IU/mL de penicilina/estreptomicina, 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ácido ascórbico, 2,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de anfotericina B, 1% de glutamina y 1% de aminoácidos esenciales. Después de 1-2 semanas los tenocitos empezaron a migrar desde el tejido de tendón, adheriéndose al frasco de cultivo y formando una monocapa. Se hicieron varios pases hasta ganar suficiente cantidad de tenocitos.

Se prepararon placas de 12 pocillos con 15.000 tenocitos/pocillo y se procedió a su incubación con 10% FCS (suero bovino fetal). Al día siguiente, las células se lavaron tres veces con medio de cultivo exento de suero (0,5% FCS) y se incubaron durante 30 minutos con medio de cultivo exento de suero, después de lo cual se procedió al conteo de los cultivos control (tiempo "0 horas"). Se añadió el compuesto Ic a ensayar (se ensayó a tres concentraciones: 200, 1.000 y 3.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y se procedió a la incubación de las células utilizando un medio de cultivo exento de suero (sólo 0,5% FCS). El cultivo control y el cultivo del factor de crecimiento IGF-1 (10 ng/mL) también se incubaron en medio de cultivo exento de suero.

En todos los ensayos las células se incubaron a lo largo de 71 horas y se evaluó cada pocillo en cada intervalo de tiempo mediante un conteo manual en 10 campos microscópicos.

### *Resultados*

De las tres concentraciones ensayadas del compuesto Ic de la invención, la concentración óptima es la de 1.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Figura 1). A esa concentración y a las 5 horas, el compuesto Ic causa un incremento del orden del 45% en el número de tenocitos adheridos respecto al control (sin compuesto), nivel que se mantiene hasta las 24 horas, mientras que ese mismo incremento se alcanza en el caso del IGF-1 a las 9 horas (Figura 2).

Podemos concluir que el compuesto Ic de la invención estimula la proliferación y adhesión de tenocitos humanos, siendo su acción más rápida que la del IGF-1.

### *Ejemplo 2*

#### *Evaluación de los tenocitos por microscopía electrónica de transmisión*

El objetivo era observar la vitalidad y los signos de apoptosis de las células después de una hora de incubación sin compuesto (control) o con el compuesto Ic de la invención, para poder determinar la toxicidad del compuesto de la invención.

### *Materiales y métodos*

Se preparó suficiente cantidad de tenocitos en monocapa según la metodología descrita en el Ejemplo 1. A continuación se sembraron 100.000 tenocitos por placa de Petri de 35 mm con 4 mL de medio de cultivo constituido por 10% FCS, DMEM/Ham-12 (50/50) (Dulbecco's Modified Eagle's Medium con Ham-12), 50 IU/mL de penicilina/estreptomicina, 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ácido ascórbico, 2,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de anfotericina B, 1% de glutamina y 1% de aminoácidos esenciales, y se incubaron hasta conseguir confluencia. Se lavaron las células tres veces con medio exento de suero (0,5% FCS) y se incubaron 30 minutos con este mismo medio. Antes de añadir el compuesto a ensayar, se preparó un control a 0 horas mediante solución fijadora de Karnovsky. A continuación se añadió el compuesto Ic a ensayar (se ensayó a tres concentraciones: 200, 1.000 y 3.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y se procedió a la incubación de las células con medio de cultivo exento de suero durante 1 hora. El cultivo control y el cultivo IGF-1 (10 ng/mL) también se incubaron con medio de cultivo exento de suero. Las células se lavaron tres veces con PBS y se trataron con solución fijadora de Karnovsky. A continuación, las células se extrajeron de la cápsula de Petri con un rascador de células (cell-scraper<sup>®</sup>), se introdujeron en un tubo eppendorf y se centrifugaron durante 5 minutos a 400 g. A continuación el pellet de células se deshidrató con alcohol y posteriormente se fijó durante 1 hora con 2% OsO<sub>4</sub>. Después de una deshidratación adicional con alcohol, el pellet de células fue embebido en Epon. Se realizaron cortes ultrafinos y se contrastaron con acetato de uranilo. Los cortes se examinaron en un microscopio electrónico de transmisión (Zeiss).

### *Resultados*

Como se puede observar comparando las Figuras 3 (control, sin compuesto) y 4 (con compuesto), no se observa ningún efecto tóxico sobre los tenocitos después de una hora de cultivo en presencia del compuesto Ic, el cual no ejerce ningún efecto catabólico sobre los tenocitos, ya que presentan gran cantidad de retículo endoplasmático y matriz extracelular.

## ES 2 327 480 B1

### Ejemplo 3

#### *Determinación de colágeno tipo I y de $\beta$ 1-integrinas por inmunofluorescencia*

5 El objetivo era determinar la expresión de colágeno tipo I y de la molécula de adhesión  $\beta$ 1-integrina por los tenocitos humanos, después de su incubación durante 1 hora con el compuesto Ic de la invención y en ausencia de compuesto (control).

10 El colágeno tipo I se encuentra tanto en los tendones como en los ligamentos, y es el responsable de su resistencia a la tensión. Los tendones sanos tienen mayoritariamente colágeno tipo I, con pequeñas cantidades de colágeno tipo III. No obstante, ante un problema de, por ejemplo, tendinosis parte del colágeno se pierde y se repara la estructura sintetizando colágeno tipo III (arquitectura del tendón no íntegra). Por tanto, es deseable que en el proceso de regeneración el colágeno tipo III vaya siendo substituido por colágeno tipo I.

15 Las  $\beta$ 1-integrinas son receptores de membrana que permiten a las células unirse y responder a la matriz extracelular (adhesión). Por tanto, son necesarias para mantener las propiedades de proliferación, diferenciación y supervivencia de los tenocitos.

#### 20 *Materiales y métodos*

Se preparó suficiente cantidad de tenocitos en monocapa según la metodología descrita en el Ejemplo 1. A continuación se sembraron aproximadamente 5.000 tenocitos por pocillo en placas de cultivo Nunc de 8 pocillos. Se incubaron toda la noche con medio de cultivo constituido por 10% FCS, DMEM/Ham-12 (50/50) (Dulbecco's Modified Eagle's Medium con Ham-12), 50 IU/mL de penicilina/estreptomicina, 25  $\mu$ g/mL de ácido ascórbico, 2,5  $\mu$ g/mL de anfotericina B, 1% de glutamina y 1% de aminoácidos esenciales. Al día siguiente, se lavaron las células tres veces con medio exento de suero (0,5% FCS) y se incubaron 30 minutos con este mismo medio. Se añadió el compuesto Ic a ensayar y se procedió a la incubación de las células utilizando medio de cultivo exento de suero (sólo 0,5% FCS). Los cultivos control e IGF-1 (10 ng/mL) también se realizaron con medio de cultivo exento de suero. Después de 1 hora de incubación, se lavaron las células tres veces con PBS y se fijaron con metanol durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Se aplicó la siguiente metodología para el marcaje por inmunofluorescencia: se incubaron las células durante 30 minutos con PBS (tampón fosfato salino) + 1% BSA (albúmina sérica bovina), se diluyó el anticuerpo primario 1:50 en PBS + 1% BSA (colágeno tipo I, Chemicon, PAB;  $\beta$ 1-integrina, Sigma, MAB) y se incubaron las células con dicho anticuerpo en una cámara húmeda a 37°C (2 horas MAB, 1 hora PAB). Posteriormente se lavaron las células con PBS bajo agitación y se procedió a diluir el anticuerpo secundario 1:50 en PBS + 1% BSA (FITC-GAM o FITC-GAR, Dianova). Se incubaron las células con el anticuerpo secundario durante 2 horas en una cámara húmeda. Al cabo de ese tiempo se lavaron las células con PBS bajo agitación (en ausencia de luz) y se trataron con el medio de montaje Mowiol (Fluka). Posteriormente se examinaron en un microscopio de fluorescencia.

#### *Resultados*

45 Como se puede observar en la Figura 6, los tenocitos continúan expresando colágeno tipo I después de una hora de cultivo en presencia del compuesto Ic. No se aprecian diferencias respecto al control (Figura 5).

En la Figura 8 se puede observar la expresión de la molécula de adhesión  $\beta$ 1-integrina después de una hora de cultivo en presencia del compuesto Ic. No se aprecian diferencias respecto al control (Figura 7).

50 En todas las determinaciones se observó que las células mantenían la morfología alargada típica de los tenocitos sanos.

### 55 Ejemplo 4

#### *Comprimidos de sulfato de condroitina y compuesto Ic*

Los comprimidos se prepararon siguiendo procedimientos convencionales.

#### **Contenido de principios activos por comprimido:**

**Sulfato de condroitina, sal sódica** 400,0 mg

**Compuesto Ic** 400,0 mg

## ES 2 327 480 B1

### Ejemplo 5

#### *Inyectable de sulfato de condroitina y compuesto Ic*

5 Se prepararon 2 mL de formulación inyectable siguiendo procedimientos convencionales.

#### **Contenido de principios activos por mL:**

10	<b>Sulfato de condroitina, sal sódica</b>	<b>75 mg/mL</b>
	<b>Compuesto Ic</b>	<b>75 mg/mL</b>

15

### Ejemplo 6

#### *Inyectable de ácido hialurónico y compuesto Ic*

20 Se prepararon 2 mL de formulación inyectable siguiendo procedimientos convencionales.

#### **Contenido de principios activos por mL:**

25	<b>Hialuronato de sodio</b>	<b>5 mg/mL</b>
	<b>Compuesto Ic</b>	<b>100 mg/mL</b>

30

35

40

45

50

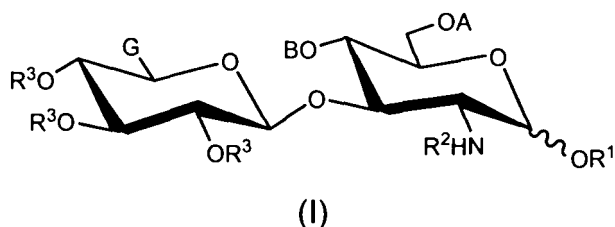
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de fórmula (I),



en la que:

R<sup>1</sup> es hidrógeno, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo lineal o ramificado, fenilalquilo de menos de diez átomos de carbono o -COCH<sub>3</sub>;

R<sup>2</sup> es hidrógeno, -COCH<sub>3</sub> o -SO<sub>3</sub>Y;

R<sup>3</sup> es hidrógeno, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo lineal o ramificado, fenilalquilo de menos de diez átomos de carbono, -COCH<sub>3</sub> o -COPh, donde Ph es fenilo;

G es -COOR<sup>4</sup> o -COOY, donde R<sup>4</sup> es hidrógeno, C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> alquilo o arilalquilo de menos de dieciséis átomos de carbono;

A es hidrógeno, -SO<sub>3</sub>H, -SO<sub>3</sub>Y o -COCH<sub>3</sub>; y

B es hidrógeno, -SO<sub>3</sub>H, -SO<sub>3</sub>Y, o -COCH<sub>3</sub>,

en donde necesariamente o A o B es o bien -SO<sub>3</sub>H, o bien -SO<sub>3</sub>Y, donde Y es un catión orgánico o inorgánico; así como sus solvatos y sus sales farmacéuticas aceptables, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de tendón, ligamento o hueso en un mamífero.

2. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de tendón.

3. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de ligamento.

4. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión de hueso.

5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R<sup>1</sup> es hidrógeno o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo lineal y G es -COOR<sup>4</sup> o -COOY, donde R<sup>4</sup> es hidrógeno o C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> alquilo e Y es un catión inorgánico.

6. Uso según la reivindicación 5, en el que R<sup>1</sup> es hidrógeno, R<sup>2</sup> es -COCH<sub>3</sub> y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

7. Uso según la reivindicación 5, en el que R<sup>1</sup> es metilo, R<sup>2</sup> es -COCH<sub>3</sub> y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

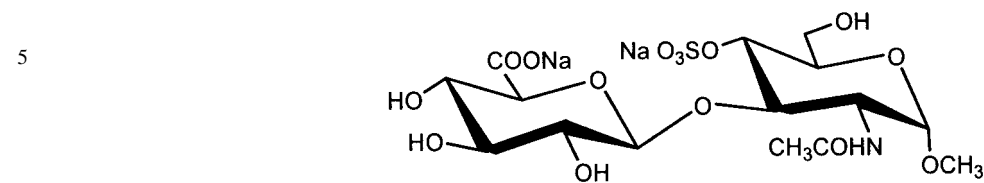
8. Uso según la reivindicación 6 ó la reivindicación 7, en el que A es hidrógeno, B es -SO<sub>3</sub>Y y G es -COOY, donde Y es un catión inorgánico.

9. Uso según la reivindicación 6 ó la reivindicación 7, en el que A es -SO<sub>3</sub>Y, B es hidrógeno y G es -COOY, donde Y es un catión inorgánico.

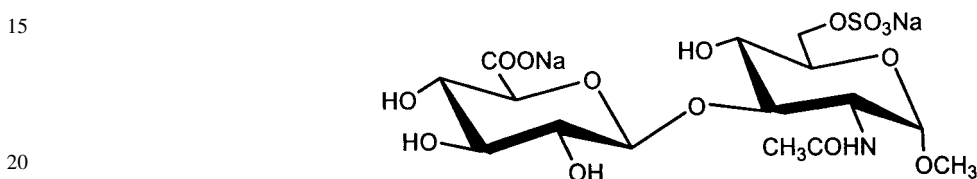
10. Uso según la reivindicación 6 ó la reivindicación 7, en el que A y B son -SO<sub>3</sub>Y y G es -COOY, donde Y es un catión inorgánico.

## ES 2 327 480 B1

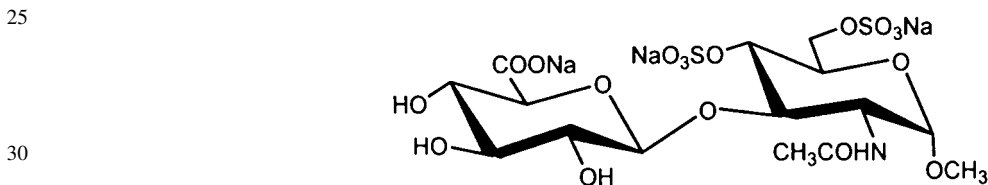
11. Uso según la reivindicación 8, en el que el compuesto de fórmula (I) es:



12. Uso según la reivindicación 9, en el que el compuesto de fórmula (I) es:



13. Uso según la reivindicación 10, en el que el compuesto de fórmula (I) es:



14. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el ligamento es un ligamento articular.

15. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el ligamento es un ligamento periodontal.

16. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el hueso es un hueso periodontal.

17. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que el medicamento además contiene un glicosaminoglicano.

18. Uso según la reivindicación 17, en el que el glicosaminoglicano es sulfato de condroitina.

19. Uso según la reivindicación 17, en el que el glicosaminoglicano es ácido hialurónico.

20. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que el medicamento además contiene polisulfato de inulina.

21. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que el medicamento además contiene un factor de crecimiento.

22. Uso según la reivindicación 21, en el que el factor de crecimiento es IGF-1.

23. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que el medicamento además contiene células seleccionadas de entre el grupo que consiste en tenocitos, células de epitenón, células de ligamento, fibroblastos de ligamento periodontal, cementoblastos, osteoblastos, osteocitos y células madre.

24. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, en el que la enfermedad, trastorno o lesión se selecciona de entre el grupo que consiste en tendinosis, tendinitis, tendinitis reumatoide, peritendinitis, tenosinovitis, paratenonitis, pérdida de hueso, periodontitis, gingivitis asociada a la periodontitis y cualquier desmopatia.

25. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 ó la reivindicación 24, en el que el medicamento se adapta para administración oral.

26. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en el que el medicamento se adapta para administración intralesional.

## ES 2 327 480 B1

27. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en el que el medicamento se adapta para administración perilesional.

28. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en el que el medicamento se adapta para administración en un implante.

29. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en el que el medicamento se adapta para administración tópica a un tendón, ligamento o hueso expuesto.

30. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto representado por la fórmula (I) de la reivindicación 1 y un glicosaminoglicano.

31. La composición farmacéutica según la reivindicación 30, en la que el glicosaminoglicano es sulfato de condroitina.

32. La composición farmacéutica según la reivindicación 30, en la que el glicosaminoglicano es ácido hialurónico.

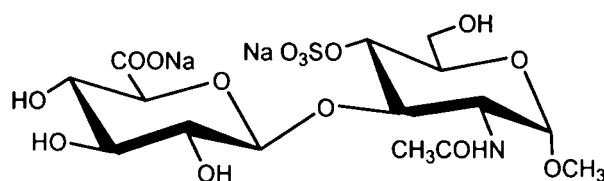
33. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto representado por la fórmula (I) de la reivindicación 1 y polisulfato de inulina.

34. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto representado por la fórmula (I) de la reivindicación 1 y un factor de crecimiento.

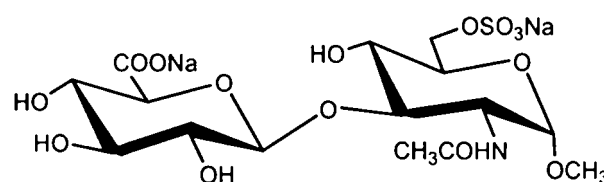
35. La composición farmacéutica según la reivindicación 34, en la que el factor de crecimiento es IGF-1.

36. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto representado por la fórmula (I) de la reivindicación 1 y células seleccionadas de entre el grupo que consiste en tenocitos, células de epitenón, células de ligamento, fibroblastos de ligamento periodontal, cementoblastos, osteoblastos, osteocitos y células madre.

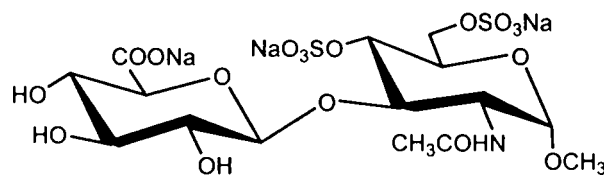
37. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 30 a 36, en la que el compuesto de fórmula (I) es:



38. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 30 a 36, en la que el compuesto de fórmula (I) es:



39. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 30 a 36, en la que el compuesto de fórmula (I) es:



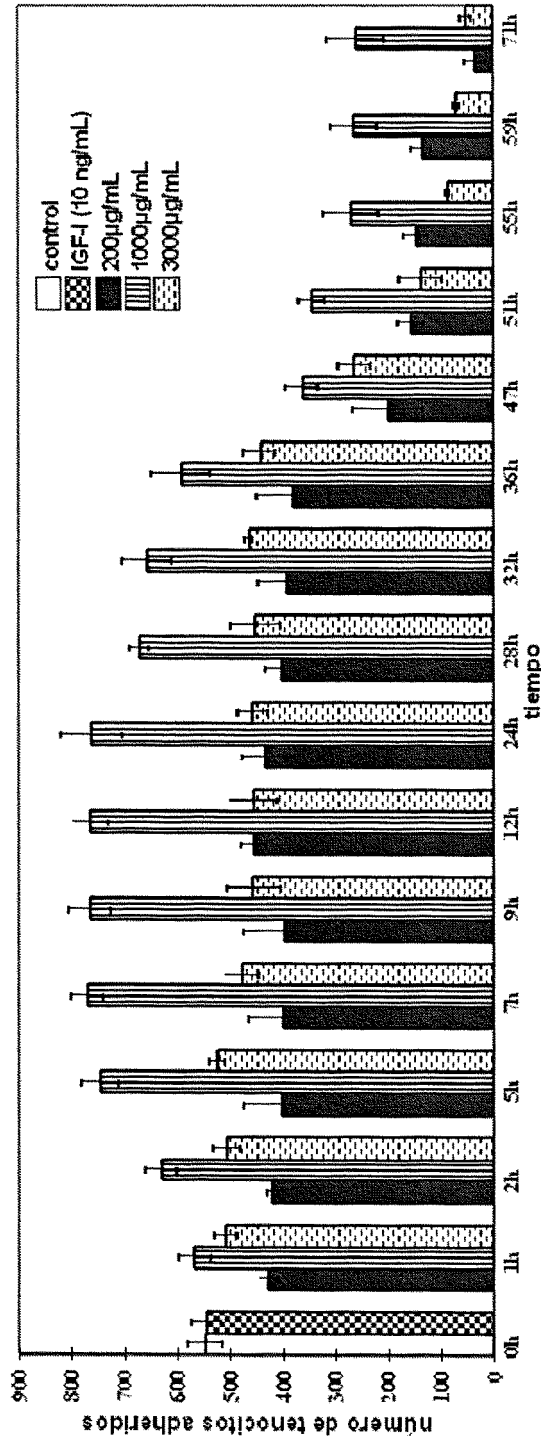


FIGURA 1



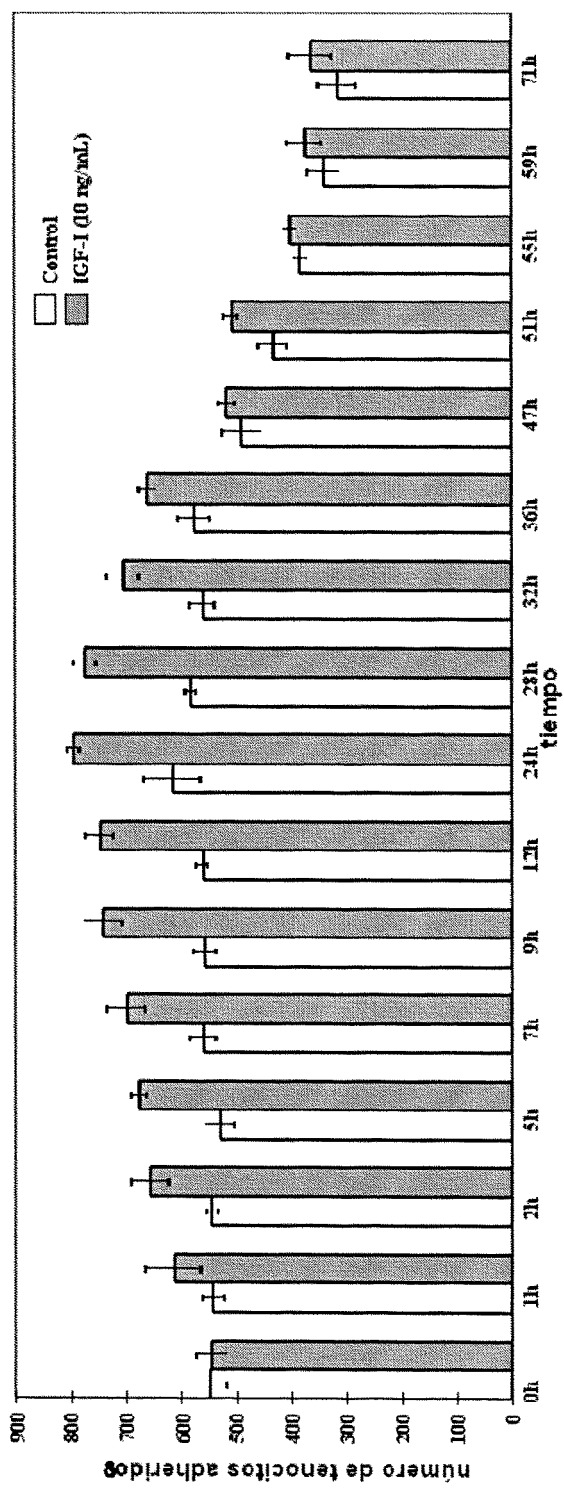
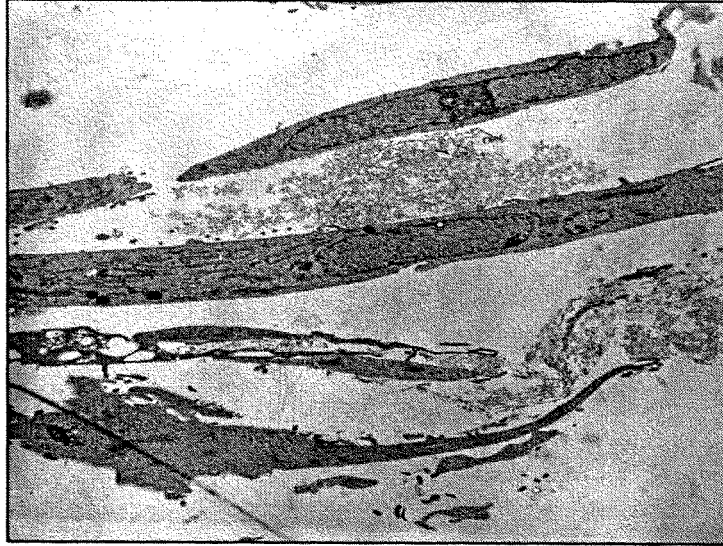


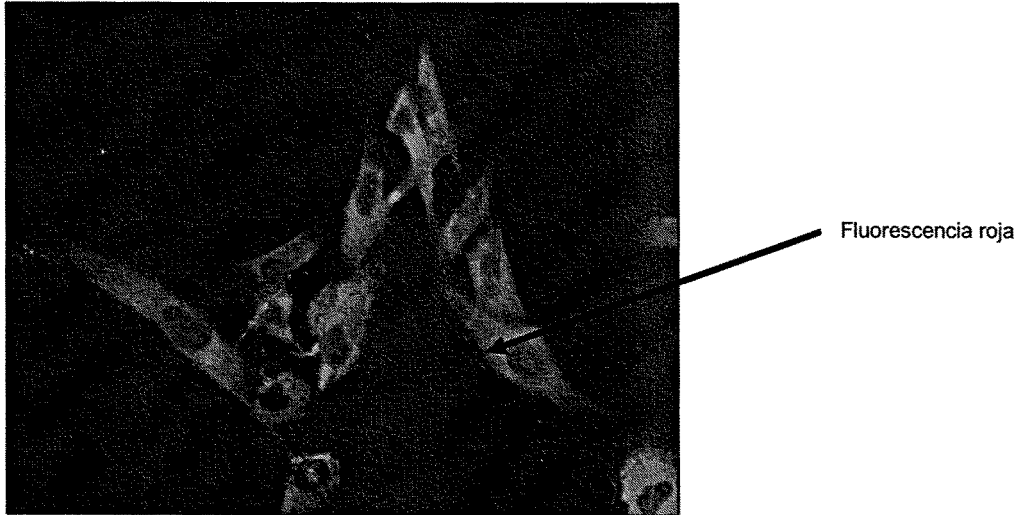
FIGURA 2



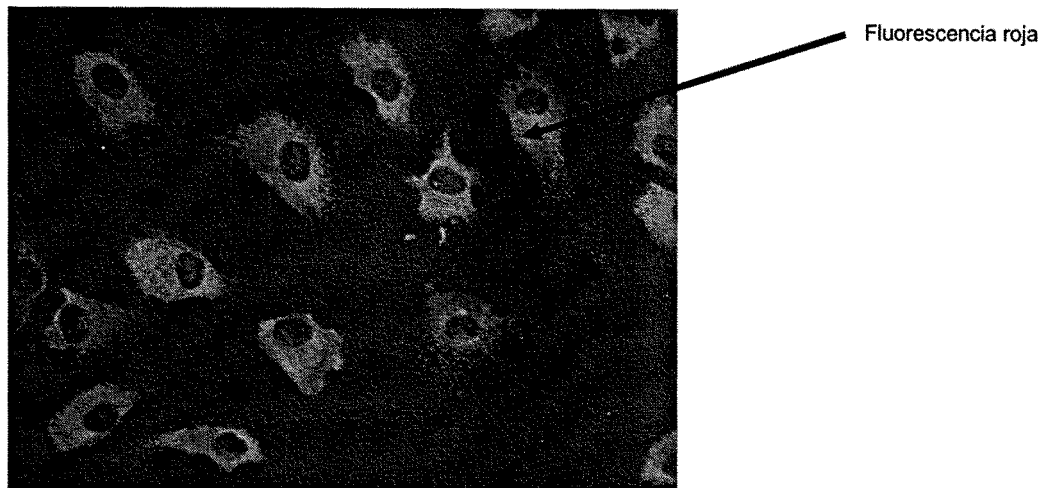
**FIGURA 3**



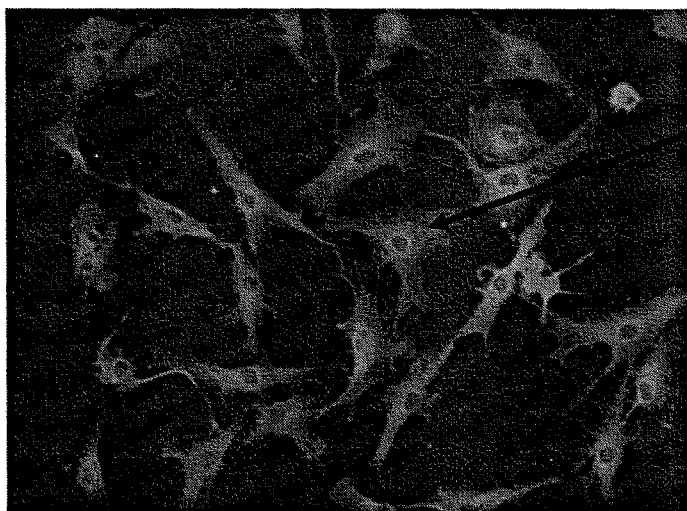
**FIGURA 4**



**FIGURA 5**

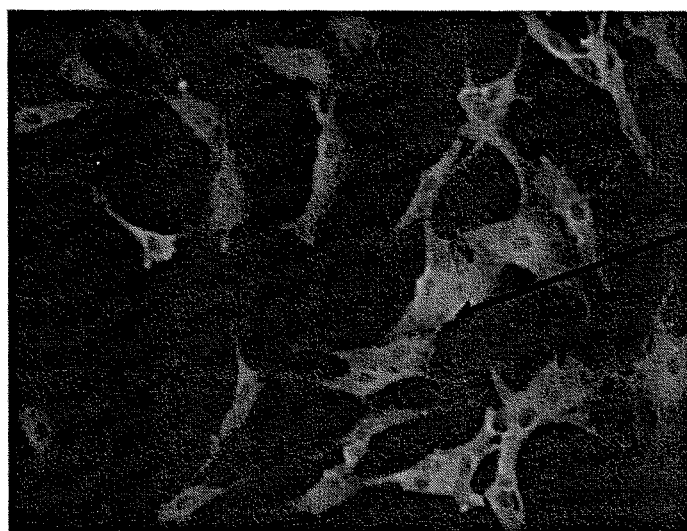


**FIGURA 6**



Fluorescencia roja

**FIGURA 7**



Fluorescencia roja

**FIGURA 8**



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 327 480

② Nº de solicitud: 200701656

③ Fecha de presentación de la solicitud: 15.06.2007

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: Ver hoja adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	EP 1300411 A1 (BIOIBÉRICA, S.A.) 31.01.2002, página 3, compuesto I; párrafos [0002]-[0009],[0014]-[0021],[0045]-[0050].	30-32, 37-39
A	WO 1998022114 A1 (DUMEX-ALPHARMA) 28.05.1998, página 1, líneas 2-6; página 10, líneas 13-18; página 13, líneas 1-4; página 19, líneas 22-28; reivindicaciones 26-37.	1-39
A	WO 2000061592 A1 (PIERRE FABRE MEDICAMENT) 19.10.2000, página 1, línea 7 - página 2, línea 17; página 3, línea 6 - página 4, línea 9; página 6, compuestos I y II; reivindicaciones.	1-39
A	EP 1859803 A1 (SEIKAGAKU CORPORATION) 21.09.2006, párrafos [0009]-[0010],[0054]; reivindicaciones.	1-39
A	EP 1731131 A1 (KRINGLE PHARMA INC.) 06.10.2005, página 24, tabla 2; párrafo [0065]; reivindicaciones 1-4.	1-39

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

09.10.2009

Examinador

G. Esteban García

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**A61K 31/7016** (2006.01)

**A61K 31/7008** (2006.01)

**A61K 31/7012** (2006.01)

**A61P 19/00** (2006.01)

*C07H 5/06* (2006.01)

*C07H 7/033* (2006.01)

*C07H 11/00* (2006.01)