



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 315 479**

51 Int. Cl.:

A61K 9/12 (2006.01)

A61K 31/726 (2006.01)

A61K 31/727 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61K 9/72 (2006.01)

A61K 31/728 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03704789 .1**

96 Fecha de presentación : **14.02.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1511466**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.03.2005**

54

Título: **Empleo de glicosaminoglicanos tales como p.ej. heparina para el tratamiento de trastornos respiratorios tales como COPD.**

30

Prioridad: **18.02.2002 GB 0203830**
18.02.2002 GB 0203773
17.05.2002 GB 0211414
18.10.2002 GB 0224330

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2009

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2009

73

Titular/es: **Ockham Biotech Limited**
Manor Farm, Swanwick Lane
Swanwick, Hampshire SO31 7HA, GB

72

Inventor/es: **Shute, Janis Kay;**
Carroll, Mary Patricia;
Conway, Joy H. y
Hockey, Peter Morey

74

Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 315 479 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

Empleo de glicosaminoglicanos tales como p.ej. heparina para el tratamiento de trastornos respiratorios tales como COPD.

Campo del invento

El presente invento se refiere a la fabricación de medicamentos para tratar la limitación crónica del flujo aéreo del pulmón.

Antecedentes del invento

La limitación crónica del flujo aéreo (CAL; del inglés, *chronic airflow limitation*) es una enfermedad mundial común. La mayoría de los individuos con CAL son fumadores o han sido fumadores, y se piensa que esto es una de las causas primarias del estado. Sin embargo, no todos los que padecen CAL son fumadores, y también se cree que la exposición a contaminantes y/o a ciertos productos químicos inhalados puede ser un factor que contribuya al desarrollo de la CAL.

En la actualidad, la CAL sólo se trata en sus fases más avanzadas usando una diversidad de broncodilatadores tales como agonistas β_2 y agentes anticolinérgicos. Una proporción de quienes padecen CAL responde a esteroides tales como glucocorticosteroides. Los tratamientos existentes para la CAL son generalmente considerados sólo parcialmente eficaces, y no se cree que detengan la progresiva decadencia de la función pulmonar. Un factor desafortunado es que la CAL sólo se diagnostica en sus fases últimas, momento en que la decadencia de la función pulmonar está ya bien avanzada.

La única intervención reconocida para la CAL que en la actualidad ha demostrado modificar la enfermedad es la cesación de la acción de fumar. Dejar de fumar sólo puede enlentecer la progresiva decadencia de la función pulmonar hallada en la CAL. Se cree que puede continuar la inflamación incluso después de haber dejado de fumar y que la inflamación existente, y en particular las células inflamatorias presentes en el pulmón, pueden causar la liberación de mediadores inflamatorios que prolonguen o incluso amplifiquen la inflamación existente. Además, el dejar de fumar es a menudo difícil para quienes padecen CAL, algunos de los cuales no dejan de fumar en absoluto o vuelven a fumar más tarde. Por término medio, menos de la tercera parte de los pacientes es capaz de abandonar los cigarrillos incluso con ayuda.

El Documento US 6.077.683 trata de un método para la síntesis de heparina desulfatada y al uso de la misma para la inhibición de elastasa y catepsina.

Rao *et al.* (1990), *American Review of Respiratory Disease* 142 (2): 407-412, se refieren a polisacáridos sulfatados que evitan el enfisema y el daño pulmonar agudo inducidos por elastasa de leucocitos humanos en hámsteres.

Frommherz *et al.* (1991), *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 161-165, Springer Press, se refieren al efecto de glicosaminoglicanos sulfatados sobre la inhibición de la elastasa de neutrófilos por el inhibidor de alfa-1-proteinasa.

El Documento WO 99/06025 se refiere a métodos y composiciones para tratar enfermedades inflamatorias y reacciones alérgicas de fase tardía.

Sumario del invento

En consecuencia, el presente invento proporciona el uso de un glicosaminoglicano o una sal fisiológicamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para facilitar el aclaramiento de moco de las vías aéreas centrales y periféricas de un sujeto humano con limitación crónica del flujo aéreo (CAL) que presenta hipersecreción de moco, en que el citado glicosaminoglicano o su sal tienen un peso molecular medio de 12 a 18 kilodáltones. Se prefiere especialmente el uso de heparina. También se prefiere particularmente el uso de la administración por inhalación y/o intranasalmente.

Breve descripción de las figuras

Figura 1

Efecto de agentes mucolíticos sobre el esputo de CAL (n = 3)

Como se describe en el Ejemplo 1, se homogeneizó esputo de CAL y se añadió un mucolítico en una cantidad de 10% en volumen/peso. Se llevó a cabo un mezclamiento usando una aguja de calibre 19. Se añadieron glóbulos fluorescentes modificados con carboxilato a la muestra de esputo en una relación 1:1 (volumen/peso). Tras revolvimiento con formación de remolinos, se añadieron 20 μ l de muestra a cada pocillo superior de una microcámara de Boyden. Los pocillos superiores e inferiores de la cámara estaban separados por un filtro de policarbonato de 8 μ m, y los pocillos inferiores contenían 25 μ l de disolución salina tamponada con fosfato (PBS; del inglés, *phosphate buffered saline*). Se

centrifugó la cámara durante 5 minutos a 1000 rpm para eliminar las burbujas de aire antes de una incubación a 37°C, 900 rpm, durante 4 horas en la oscuridad. Después de la incubación, se desmontó la cámara y se midió la fluorescencia de la disolución de los pocillos inferiores. En el gráfico superior se muestran los resultados para PBS, heparina, DNasa y sulfato de dextrano (un testigo no glicosaminoglicano). En el gráfico inferior se muestran los resultados para una mezcla de los sulfatos de condroitina A y C.

Figura 2

Formación de imágenes de DNA por microscopía de fuerzas atómicas (AFM; del inglés, atomic force microscopy)

Como se describe en el Ejemplo 2, se trató DNA de timo de ternera (0,1 mg/ml) con heparina (0,1 mg/ml) y se llevó a cabo una AFM al aire bajo condiciones ambientales usando un microscopio de sonda de barrido TopoMetrrix TMX2000 (ThermoMicroscopes, Bicester, Reino Unido). La Imagen A muestra DNA no tratado y la Imagen B muestra DNA tratado con heparina.

Figura 3

Formación de imágenes de DNA por microscopía de fuerzas atómicas (AFM)

Más micrografías de fuerzas atómicas de DNA (100 µg/ml) tratado con heparina en concentraciones menores. La Imagen A muestra los resultados para DNA no tratado; la Imagen B para DNA tratado con 0,1 µg/ml de heparina; la Imagen C para DNA tratado con 1 µg/ml de heparina; y la Imagen D para DNA tratado con 10 µg/ml de heparina.

Descripción detallada del invento

El trastorno de la limitación crónica del flujo aéreo (CAL) es un estado progresivamente incapacitante que a menudo es fatal. Es una de las causas más frecuentes de mortalidad en adultos. El presente invento proporciona diversos medicamentos para el tratamiento de quienes padecen CAL. Estos medicamentos comprenden un glicosaminoglicano o una sal del mismo. El glicosaminoglicano o su sal tendrán un peso molecular medio de 12 a 18 kilodáltones.

Sujetos tratados

Los medicamentos del presente invento van a ser usados para tratar a sujetos que padecen CAL o presentan riesgo de desarrollar CAL. Típicamente, el sujeto será un ser humano pero, como se discute más adelante, puede ser un animal vertebrado. La CAL es un estado morboso caracterizado por una limitación del flujo aéreo que no es totalmente reversible. Normalmente, la limitación del flujo aéreo es tanto progresiva como asociada con una respuesta inflamatoria anormal de los pulmones a partículas o gases nocivos. En particular, aunque no exclusivamente, la CAL está asociada con la acción de fumar.

Para los fines del presente invento, la CAL puede ser definida como un estado en el que hay una decadencia progresiva de la función pulmonar, teniendo el sujeto afectado un FEV₁ inferior al 80% del previsto para un individuo de esa edad/raza y/o altura, y/o que presenta una relación FEV₁/FVC inferior a 70%. En una realización especialmente preferida, el sujeto que se va a tratar tendrá un FEV₁ inferior al 75% del previsto.

Típicamente, la reducción del FEV₁ sólo es parcialmente reversible. En particular, la reducción del FEV₁ sólo es parcialmente reversible mediante el tratamiento con broncodilatadores tales como, por ejemplo, agonistas adrenérgicos β₂ y, en particular, salbutamol.

El FEV₁ se define como el volumen forzado máximo que puede ser espirado en un segundo a partir de la inspiración máxima (European Resp. Journal, 1993, 6: Suppl. 16; y Coates, "Lung Function: Assessment and Applications in Medicine", 4ª edición, Oxford, Blackwell, 1969). Puede ser medido mediante técnicas estándares bien conocidas en este campo; es decir, por espirometría. El FEV₁ de un individuo puede ser del 10 al 80% del previsto. Típicamente, el FEV₁ del sujeto será del 10 al 75% del valor previsto. Preferiblemente, el sujeto puede tener un FEV₁ del 60 al 75% del valor previsto, más preferiblemente del 40 al 60% del previsto, y aún más preferiblemente un valor inferior al 40% del previsto. El sujeto puede tener un FEV₁ inferior al 70%, preferiblemente inferior al 60%, más preferiblemente inferior al 50%, y aún más preferiblemente inferior al 40%, del previsto. Como se discute más adelante, el sujeto tendrá típicamente una historia de exposición a contaminantes o productos químicos y, en muchos casos, será o habrá sido un fumador de tabaco.

El valor de FEV₁ del sujeto se medirá normalmente frente a valores previstos y se ajustará en cuanto a la edad/sexo/raza y/o altura. Los valores previstos pueden ser los tomados de Coates (*supra*). El valor esperado, con el que se puede comparar el valor obtenido para el sujeto, puede ser el valor esperado medio para fumadores o no fumadores, o para ambos grupos combinados; preferiblemente, el valor esperado será el de no fumadores que no padecen CAL (Coates, *supra*).

La reducción del FEV₁ del sujeto sólo será parcialmente reversible y, en particular, sólo será parcialmente reversible tras la administración de un broncodilatador. De este modo, por ejemplo, con respecto al valor de la línea de base del sujeto (es decir, aquél antes de la administración del broncodilatador), un aumento de FEV₁ superior al 15%,

ES 2 315 479 T3

preferiblemente superior al 20% y aún más preferiblemente superior al 25% será considerado como reversibilidad. El aumento puede comenzar de 5 a 30, preferiblemente de 10 a 25, más preferiblemente tras un periodo de 15 a 20 minutos, después de la administración del broncodilatador. Preferiblemente, los aumentos comenzarán 15 minutos después de la administración del broncodilatador. Los aumentos persisten típicamente durante 3 a 6 horas, preferiblemente durante 4 a 5 horas, y más preferiblemente durante 4 horas. Típicamente, el broncodilatador utilizado para evaluar la reversibilidad será un agonista adrenérgico β_2 tal como salbutamol, o ipratropio. En una realización del invento, la reducción del FEV₁ puede ser total o casi totalmente refractaria al tratamiento con broncodilatadores.

El sujeto puede también mostrar aumentos mínimos similares del FEV₁ con fármacos esteroides tales como Becotide™ o Prednisolona™, aunque, típicamente, la respuesta a dichos agentes no será utilizada para definir la reversibilidad. Los aumentos también tendrán lugar durante un periodo de tiempo más prolongado, tal como después de 2 a 3 días, y, si los fármacos esteroides se administran continuamente, persisten. Si se detiene la administración de esteroides, la mejora puede persistir durante 12 a 48 horas, o durante días, semanas o incluso meses, tal como de seis horas a seis semanas, preferiblemente de 1 día a 3 semanas.

Los ensayos para evaluar la reversibilidad de la reducción del FEV₁ se llevarán típicamente a cabo cuando el sujeto esté clínicamente estable y exento de infección. El sujeto no debe haber tomado, ni haber recibido la administración de, broncodilatadores inhalados de corta duración en las seis horas previas, agonistas β de larga duración en las 12 horas previas ni teofilinas de liberación continua en las 24 horas precedentes.

Los valores espirométricos deberían ser típicamente medidos antes y después de que se administrara una dosis adecuada de broncodilatador inhalado al sujeto. La dosis debería ser preferiblemente seleccionada para que estuviera en la parte alta de la curva de dosis/respuesta, y se administrará normalmente mediante un nebulizador para tener la certeza de que ha sido inhalada. Se puede administrar una dosis similar con inhalaciones múltiples mediante un inhalador de dosis calibrada y un espaciador de volumen grande, pero esto es menos preferido. Un protocolo de dosificación/mediciones típico para un sujeto humano sería:

- antes y 15 minutos después de 2,5 a 5 mg de salbutamol nebulizado o de 5 a 10 mg de terbutalina;
- antes y 30 minutos después de 500 μ g de bromuro de ipratropio nebulizado; o
- antes y 30 minutos después de una combinación de ambos.

Para sujetos no humanos, se pueden utilizar protocolos equivalentes.

En el diagnóstico de la CAL también se puede medir la FVC del sujeto. En el diagnóstico de la CAL se puede utilizar la relación de FEV₁ a FVC. Los sujetos que se van a tratar tendrán típicamente un valor de FEV₁/FVC inferior a 70%. La relación de FEV₁/FVC puede ser inferior a 65%, preferiblemente inferior a 60%, más preferiblemente inferior a 55% y aún más preferiblemente inferior a 55%. En una realización especialmente preferida, el sujeto tendrá un FEV₁/FVC inferior a 70% y también tendrá un valor de FEV₁ del 80% o menos del previsto.

La capacidad vital forzada (FVC; del inglés, *forced vital capacity*) corresponde al volumen máximo de aire forzadamente exhalado desde el punto de inhalación máxima y puede ser medida utilizando una espirometría estándar. En particular, los valores anteriormente especificados para FEV₁/FVC serán aquellos tras la administración de un broncodilatador, como se esbozó anteriormente. La reducción de FEV₁/FVC mostrará típicamente la misma falta de reversibilidad que el FEV₁.

La evaluación espirométrica es el método más preferido para diagnosticar la CAL y, por consiguiente, el método para la identificación de los sujetos que se pueden tratar. En consecuencia, en una realización especialmente preferida del invento, se usará la evaluación espirométrica en el diagnóstico de un sujeto que presenta CAL y, por lo tanto, es tratable utilizando el invento. Además, los síntomas presentados por el sujeto pueden ser también evaluados para ayudar a confirmar un diagnóstico de CAL. El diagnóstico implicará típicamente una evaluación espirométrica en combinación con una evaluación de los síntomas del sujeto, así como la elucidación de si el sujeto presenta una historia de exposición a factores de riesgo. Puede que la evaluación espirométrica no sea posible en ciertas situaciones, particularmente en aquellas situaciones en que los recursos están limitados, con lo que la CAL será diagnosticada por medios alternativos tales como la búsqueda de los síntomas de CAL aquí numerados y una historia de exposición a factores de riesgos para la CAL. Aunque las radiografías de pecho no son típicamente indicativas de si un sujeto tiene CAL o no, pueden ser utilizadas para diagnosticar otros trastornos respiratorios, tal como la tuberculosis, y descartar por ello la CAL.

El sujeto mostrará, o habrá mostrado previamente, un índice acelerado de decadencia de la función pulmonar en comparación con el valor esperado medio para un individuo equivalente que no padece CAL y, en particular, para un individuo equivalente que no fuma. El sujeto puede presentar falta de aliento y, en particular, le puede ocurrir esto tras un esfuerzo físico, tal como tras realizar un ejercicio. Típicamente, esto no será provocado por exposición a un alérgeno. El sujeto también puede presentar una incidencia aumentada de infección bacteriana o vírica, y esto puede exacerbar el estado.

ES 2 315 479 T3

El individuo puede mostrar un índice de disminución de FEV₁ una, dos, tres, cuatro o más veces mayor que el valor anual medio esperado para un individuo equivalente que no padece CAL. Por ejemplo, un sujeto de más de treinta años puede mostrar una reducción anual de 50 a 100, preferiblemente de 50 a 80 y más preferiblemente de 60 a 70 ml de FEV₁/año, en comparación con una reducción de 10 a 40 y típicamente de 20 a 40 ml de FEV₁/año en el no fumador equivalente. Estos valores se pueden aplicar también a pacientes de CAL no fumadores, tal como cuando el trastorno es causado por contaminantes.

Los sujetos con CAL pueden presentar uno o más de los rasgos siguientes: tos, producción aumentada de esputos, disnea y/o una historia de exposición a factores de riesgo para la enfermedad, y a veces todos ellos. En el caso de tos, producción aumentada de esputos y disnea, estos pueden haber estado presentes durante periodos prolongados de tiempo, tal como durante al menos un mes, preferiblemente seis meses, más preferiblemente al menos un año y aún más preferiblemente al menos dos años. La producción de esputos y la tos crónicas preceden a menudo al desarrollo de la CAL y pueden ser indicativas de individuos en los que se puede utilizar profilácticamente el invento para evitar el desarrollo de la CAL.

El sujeto puede tener una historia de exposición a contaminantes y/o productos químicos y, en particular, a aquellos en una forma que puede ser inhalada. En particular, el sujeto puede ser un fumador de tabaco o un antiguo fumador de tabaco. Típicamente, el sujeto puede ser o haber sido un gran fumador que fuma de 10 a 100, preferiblemente de 20 a 60, más preferiblemente de 25 a 50 y aún más preferiblemente de 30 a 40 cigarrillos al día. El sujeto puede haber hecho esto durante varios años, tal como de 5 a 50, preferiblemente de 10 a 40, más preferiblemente de 15 a 30 y aún más preferiblemente de 20 a 25 años. El sujeto puede tener típicamente una historia de fumador de 1 a 20, preferiblemente de 21 a 40, más preferiblemente de 41 a 60 paquetes-año. Puede tener una historia de fumador de, por ejemplo, 1 a 50, preferiblemente de 10 a 40, más preferiblemente de 20 a 30 paquetes-año.

El individuo puede ser o haber sido un fumador de pipas o puros. El individuo puede haber mascado tabaco o productos que contienen tabaco. En algunos casos, el individuo puede haber estado pasivamente expuesto al humo de tabaco en lugar de fumar. De este modo, por ejemplo, el sujeto puede haber estado acumulada y pasivamente expuesto al humo de tabaco durante periodos prolongados a causa de los ambientes de su trabajo, su tiempo libre y/o su hogar. El sujeto puede usar drogas inhaladas tales como, por ejemplo, cannabis u otras drogas comúnmente mezcladas con el tabaco antes de fumar.

El sujeto será típicamente un adulto maduro. Por ejemplo, el sujeto puede tener de 21 a 85, preferiblemente de 25 a 70, más preferiblemente de 30 a 60 y aún más preferiblemente de 40 a 50 años de edad. El inicio de cualquiera de los síntomas aquí mencionados, o de un síntoma concreto, habrá tenido típicamente lugar en la adultez. Por ejemplo, el sujeto puede haber pasado al menos 20, más preferiblemente al menos 25, aún más preferiblemente al menos 30 e incluso más preferiblemente al menos 35 años antes de haber experimentado un síntoma concreto. En particular, los síntomas asociados con las fases más avanzadas de la CAL, tales como cualesquiera de los aquí mencionados, pueden haber tenido su inicio en dichas fases tardías de la vida. Los sujetos con una predisposición genética a desarrollar CAL tales como aquellos con deficiencia de α_1 -antitripsina, pueden desarrollar CAL más pronto. Por ejemplo, pueden presentar uno o más síntomas, o un síntoma concreto, a la edad de 10 a 21, preferiblemente de 12 a 18 o más preferiblemente de 14 a 16 años. Alternativamente, pueden mostrar el síntoma por vez primera en cualquiera de los intervalos de edad aquí mencionados. El sujeto puede haber sido diagnosticado en cualquiera de las edades aquí especificadas, o dentro de cualquiera de los intervalos de edad aquí especificados.

El sujeto puede haber estado adicional o alternativamente expuesto a otros contaminantes químicos o ambientales. El sujeto pueda haber estado expuesto a polvos y productos químicos profesionales (vapores, productos irritantes y humos) y/o a la contaminación del aire interno o externo. El sujeto puede tener una historia de exposición a materia corpuscular, productos irritantes, polvos orgánicos y agentes sensibilizadores. El sujeto puede trabajar o haber trabajado en un ambiente que le expone a productos químicos y/o contaminantes. De este modo, por ejemplo, el sujeto puede ser un trabajador de una fábrica o un minero, tal como un minero del carbón. El sujeto puede cocinar en cocinas con hornillos mal ventilados, tal como en presencia de cocinas de queroseno. En particular, este puede ser el caso en países en desarrollo, tal como en África. El sujeto puede trabajar en la industria de la construcción. El sujeto puede haber estado expuesto a altos niveles de contaminación, tales como las emisiones de escape de vehículos u otros motores. El sujeto puede haber estado expuesto a niebla tóxica o a emisiones que contienen dióxido de azufre. El individuo puede vivir en el centro de la ciudad. El individuo puede vivir muy próximo a una industria pesada.

El sujeto puede tener una predisposición genética a desarrollar CAL y puede presentar una historia familiar del estado. Por ejemplo, el sujeto puede tener un déficit de α_1 -antitripsina y estar por ello predispuesto a desarrollar CAL. Los sujetos con riesgo de desarrollar CAL pueden haber tenido bajos pesos en el nacimiento y/o una historia de exposición a contaminantes en el útero o en la infancia. La madre del sujeto puede ser una fumadora o puede haber continuado fumando durante el embarazo. El sujeto puede haber tenido una historia de infección respiratoria grave en la niñez. Una reducida función pulmonar alcanzada máxima, según se mide mediante espirometría, puede permitir la identificación de individuos que presentan un riesgo aumentado de desarrollar CAL.

El sujeto puede tener una fase temprana de CAL en que los síntomas son generalmente moderados y puede tener periodos de normalidad o con síntomas al menos reducidos. Alternativamente, el sujeto puede tener una fase más avanzada de CAL en que los síntomas, y en particular la reducción del FEV₁, son más acusados. Preferiblemente, los

ES 2 315 479 T3

medicamentos del invento se usan o administran en una fase temprana de la CAL para que puedan detener, lentificar o hacer retroceder el índice aumentado de decaimiento del FEV₁ en una fase lo más temprano posible.

La CAL es típicamente un trastorno progresivo, aumentando con el tiempo la gravedad de la CAL y el grado en que ejerce un impacto sobre el paciente. De este modo, puede haber una manifestación progresiva de los síntomas del trastorno. La tos crónica es normalmente el primer síntoma que se desarrolla. Inicialmente puede ser intermitente, pero más adelante puede estar presente todos los días. La tos estará típicamente presente durante todo el día en vez de sólo por la noche y la mañana. En algunos casos, se puede desarrollar una limitación significativa del flujo aéreo sin la presencia de tos. Después de los ataques de tos, se generan comúnmente pequeñas cantidades de esputos tenaces.

Conforme progresa la enfermedad, el sujeto puede experimentar disnea. El inicio de la disnea será a menudo una de las razones por las que un sujeto humano consultará por vez primera a un médico ya que puede resultar incapacitante y provocar además ansiedad. Conforme se deteriora más la función pulmonar del sujeto, la falta de aliento se vuelve más molesta. El sujeto puede presentar respiración jadeante y rigidez torácica. La disnea puede empeorar durante el ejercicio o después de él. Las infecciones respiratorias pueden también exacerbar el estado y causar una disnea aumentada. Los sujetos humanos pueden señalar que la disnea deteriora progresivamente su capacidad para llevar a cabo un trabajo físico y realizar esfuerzos.

Los pacientes de CAL son a veces repartidos en categorías que reflejan la fase y la gravedad de la enfermedad. Esto puede ayudar a definir las necesidades de un sujeto concreto y qué programa de tratamiento se debe administrar. En una clasificación (Sumario Ejecutivo GOLD, *supra*), los sujetos son repartidos en las categorías siguientes:

Categoría 0 - Con riesgo

La función pulmonar, según se mide mediante espirometría, es normal.

Síntomas crónicos (tos, producción de esputos).

Típicamente, los sujetos humanos ignorarán la función pulmonar anormal.

Categoría I - CAL benigna

Limitación benigna del flujo aéreo.

FEV₁/FVC < 70%.

FEV₁ superior o igual al 80% del previsto.

Con o sin síntomas crónicos (tos, producción de esputos).

Los sujetos humanos pueden ignorar que su función pulmonar es anormal.

Categoría II - CAL moderada

Empeoramiento de la limitación del flujo aéreo.

FEV₁/FVC < 70%.

FEV₁ del 30 al 80% del previsto (la categoría puede ser subdividida en IIA: FEV₁ del 50 al 80% del previsto; y IIB: FEV₁ del 30 al 50% del previsto).

Con o sin síntomas crónicos (tos, producción de esputos, disnea). Típicamente, los síntomas se pueden hacer más acusados tras un esfuerzo. Es probable que los sujetos humanos sean conscientes de su estado y consulten al médico a corto plazo.

Categoría III - CAL grave

Limitación grave del flujo aéreo.

FEV₁/FVC < 70%.

FEV₁ inferior al 30% del previsto o, alternativamente, un FEV₁ inferior al 50% del previsto junto con insuficiencia respiratoria o síntomas clínicos de insuficiencia cardíaca derecha [insuficiencia respiratoria: presión parcial arterial de oxígeno (PaO₂) inferior a 8,0 kPa (60 mm de Hg) con o sin presión parcial arterial de CO₂ (PaCO₂) superior a 6,7 kPa (50 mm de Hg) mientras se respira aire al nivel del mar].

ES 2 315 479 T3

El sujeto que va a ser tratado utilizando el invento puede caer dentro de cualquiera de las categorías anteriores. En particular, el sujeto puede estar en las categorías I a III, preferiblemente en las categorías II a III, y aún más preferiblemente en la categoría III. El invento también abarca el tratamiento de individuos con riesgo de CAL (categoría 0) y en una fase temprana del trastorno (categoría I).

La CAL se caracteriza típicamente por una inflamación crónica por todas las vías aéreas, el parénquima y la vasculatura pulmonar. En diversas partes del pulmón pueden estar presentes macrófagos, linfocitos T (predominantemente CD8⁺) y neutrófilos en niveles aumentados. Típicamente, el estado se caracterizará por la presencia de grandes cantidades de neutrófilos infiltrantes en vez de eosinófilos. Las células inflamatorias activadas liberan una diversidad de mediadores, incluyendo leucotrieno B4 (LTB4), interleucina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral (TNF; del inglés, tumor necrosis factor) y otros, y cualquiera de estos puede estar presente con niveles elevados en el sujeto en comparación con los individuos sanos que no tienen CAL. En particular, los mediadores capaces de causar daño a la estructura del pulmón y/o mantener la inflamación neutrófila estarán presentes con niveles elevados. El sujeto puede presentar además un desequilibrio de proteinasas y anti-proteinasas en el pulmón y también un estrés oxidativo elevado.

El sujeto también puede presentar una inflamación aumentada. Puede haber niveles elevados de mediadores inflamatorios presentes en las vías aéreas del sujeto. Estos pueden incluir proteasas tales como metaloproteasas de matriz (MMPs; del inglés, matrix metalloproteases), catepsinas y elastasa. También pueden incluir mieloperoxidasa, complemento activado, MCP-1, interferones (tal como, en particular, IFN- γ) e interleucinas, tal como, en particular, IL-12. Típicamente, estará presente IL-8 y, en particular, IL-8 en niveles elevados.

Los pulmones del sujeto, o regiones de ellos, pueden tener cantidades aumentadas de células inflamatorias en comparación con los de un individuo equivalente sin CAL. En particular, puede haber una afluencia de neutrófilos y/o células T CD8⁺ a las vías aéreas y el pulmón. También puede haber cambios en la vasculatura bronquial y pulmonar, tal como una suprarregulación de moléculas de adhesión implicadas en la extravasación de leucocitos o una expresión aumentada de citocinas inflamatorias que pueden reclutar células inflamatorias tales como neutrófilos, monocitos y células T.

Los neutrófilos pueden estar estimulados o en un estado activado. Por ejemplo, pueden mostrar un aumento de la expresión de diversos receptores y moléculas de adhesión. También puede haber un nivel elevado de desgranulación de neutrófilos y, por lo tanto, de proteínas de neutrófilo en los pulmones. Éstas pueden incluir proteínas tales como proteasas (incluyendo catepsinas y elastasa de neutrófilo), otras enzimas hidrolíticas y diversas proteínas antibacterianas. También puede haber una elevación del nivel de especies oxigenadas reactivas, liberadas por los neutrófilos. Estos cambios pueden ser detectables en el sujeto al examinar muestras tales como esputos o lavados del sujeto. También puede haber niveles elevados de otros granulocitos presentes en las vías aéreas y el pulmón inflamados, tales como basófilos y/o eosinófilos, pero estos no serán típicamente las especies predominantes de granulocitos.

En algunos de los sujetos, habrá una dilatación destructiva permanente de los espacios aéreos distales con respecto a los bronquiolos terminales, sin fibrosis evidente. Puede haber una hipersecreción crónica de moco. Así, la secreción de moco puede resultar aumentada, por ejemplo, una, dos, tres o cuatro veces. La viscosidad del moco también puede resultar aumentada, y esto se puede deber, al menos parcialmente, a la presencia de polímeros tales como DNA y actina. En algunos casos, las secreciones bronquiales crónicas pueden ser tales que haya bastantes para causar la expectoración, lo que ocurre la mayoría de los días durante un mínimo de tres meses del año durante dos años consecutivos.

En algunos casos, puede haber DNA extracelular y, en particular, DNA extracelular endógeno, presente en los pulmones del sujeto, incluso en las vías aéreas de los pulmones. El DNA puede ser DNA extracelular que tenga su origen en las células del organismo del sujeto. Típicamente, este DNA tendrá su origen en el núcleo y, por consiguiente, será DNA genómico. El DNA puede tener su origen en células inflamatorias infiltrantes.

En los casos en que el DNA extracelular es responsable de, o contribuye a, un aumento de la viscosidad del moco en el sujeto, tendrá típicamente un peso molecular elevado. De este modo, puede ser que, por ejemplo, tenga un tamaño medio de fragmento, un intervalo de tamaños de fragmentos o un tamaño predominante de fragmento en el intervalo de 100 bases a 1 megabase, preferiblemente de 1 kb a 500 kb, más preferiblemente de 5 kb a 250 kb, aún más preferiblemente de 25 kb a 100 kb y aún más preferiblemente de 25 kb a 50 kb de longitud. Típicamente, el DNA estará total o parcialmente exento de histonas o comprenderá regiones que carecen de histonas. Puede estar unido por factores catiónicos o factores con grupos catiónicos tales como mediadores inflamatorios y/o proteasas. De este modo, por ejemplo, puede estar complejado o asociado con elastasa, catepsinas y/o IL-8. La presencia del DNA aumentará típicamente la viscosidad del moco, o de otra secreción, en que está presente.

Típicamente, la presencia de DNA puede aumentar la viscosidad del moco de 10 a 5000%, preferiblemente de 50 a 2500%, más preferiblemente de 100 a 1000%, aún más preferiblemente de 200 a 800% y aún más preferiblemente de 400 a 600%. La viscosidad de la disolución puede resultar típicamente duplicada, triplicada, cuadruplicada o aumentada por un factor de cinco o más en comparación con la viscosidad de la disolución en ausencia del DNA. La viscosidad del DNA puede ser tal que puede comprometer una función del sujeto, tal como, por ejemplo, la función pulmonar. Puede contribuir a la limitación del flujo aéreo. Puede promover la aparición de infecciones.

Los cambios patológicos característicos de la CAL se pueden hallar típicamente en las vías aéreas centrales, las vías aéreas periféricas, el parénquima pulmonar y/o la vasculatura pulmonar del sujeto. En las vías aéreas centrales (la tráquea, los bronquios y los bronquiolos con diámetro interno superior a de 2 a 4 mm), pueden estar presentes células inflamatorias infiltrantes en el epitelio superficial. También se pueden ver glándulas que secretan moco agrandadas y un aumento del número de células caliciformes, lo que se asocia típicamente con una hipersecreción de moco. En las vías aéreas periféricas (bronquios pequeños y bronquiolos que tienen un diámetro interno inferior a 2 mm), la inflamación crónica puede conducir a ciclos repetidos de daño y reparación de la pared de la vía aérea. El proceso de reparación da típicamente lugar a un remodelado de la pared de la vía aérea, con un contenido de colágeno y una formación de tejido cicatrizado crecientes, lo que reduce la luz y produce una obstrucción permanente de las vías aéreas.

La destrucción del parénquima pulmonar en los sujetos con CAL se produce típicamente como un enfisema centrolobulillar. Esto acarrea la dilatación y destrucción de los bronquiolos respiratorios. En casos más benignos, estas lesiones se producen más frecuentemente en las regiones pulmonares superiores pero, en la enfermedad avanzada, pueden aparecer difusamente por el pulmón entero y acarrear también la destrucción del lecho capilar pulmonar. Un desequilibrio de proteinasas y antiproteinazas endógenas en el pulmón, que puede ser debido a factores genéticos o a la acción de células y mediadores inflamatorios, puede ser un mecanismo fundamental en la destrucción enfisematosa del pulmón. El estrés oxidativo, otra consecuencia de la inflamación, puede también desempeñar un papel en la destrucción.

El sujeto puede presentar cambios vasculares pulmonares, con un engrosamiento de la pared vascular que comienza al principio del desarrollo de la enfermedad. El engrosamiento de la íntima es el primer cambio estructural, lo que va seguido de un aumento de músculo liso y de la infiltración de células inflamatorias en la pared vascular. Conforme aumenta la gravedad de la enfermedad, cantidades mayores de músculo liso, colágenos y proteoglicanos pueden aumentar más el grosor de la pared vascular.

Los pulmones del sujeto pueden presentar diversos cambios fisiológicos característicos de la CAL, incluyendo hipersecreción de moco, disfunción ciliar, limitación del flujo aéreo, hiperinflación pulmonar, anormalidades en el intercambio de gases, hipertensión pulmonar y cor pulmonale. Dichas anormalidades se manifiestan a menudo en ese orden, aunque puede que no ocurra necesariamente esto. La hipersecreción de moco y la disfunción ciliar pueden contribuir a la tos y la producción de esputo crónicas. Estos síntomas pueden estar presentes durante muchos años antes de que se desarrollen otros síntomas o anormalidades fisiológicas, y se pueden utilizar para detectar los individuos que están en una fase muy temprana de la CAL o que presentan riesgo del trastorno.

En fases más avanzadas de la CAL, la obstrucción de las vías aéreas periféricas, la destrucción parenquimática y las anormalidades vasculares pulmonares reducen la capacidad del pulmón en cuanto al intercambio de gases, lo que produce hipoxemia y finalmente hipercapnia. La hipertensión pulmonar, que se desarrolla tardíamente en el curso de la CAL cuando el trastorno ha alcanzado su fase grave, es la principal complicación cardiovascular de la CAL y se puede asociar con el desarrollo de cor pulmonale y con un mal pronóstico.

El sujeto será un animal vertebrado y será preferiblemente un mamífero. Típicamente, el sujeto será un ser humano. Sin embargo, el invento también abarca la fabricación de medicamentos para el tratamiento de animales con estados que son iguales o equivalentes a la CAL. De este modo, el animal puede tener una patología subyacente similar o igual a la de la CAL en seres humanos. El animal puede tener uno o más síntomas o características similares a los de la CAL humana y, en particular, uno o más de los anteriormente enumerados. Preferiblemente, el animal padecerá un estado que cae dentro de la anteriormente dada definición de CAL.

En los casos en que el sujeto no es un ser humano, puede ser un animal doméstico o un animal agrícola importante. Por ejemplo, el animal puede ser una oveja, un cerdo, una vaca, un toro, un ave de corral u otro animal comercialmente criado. En particular, el animal puede ser una vaca o un toro y es preferiblemente una vaca lechera. El animal puede ser un animal doméstico de compañía, tal como un perro, un gato, un pájaro o un roedor. En una realización preferida el animal puede ser un gato u otro animal felino. El animal puede ser un mono, tal como un primate no humano. Para ejemplo, el primate puede ser un chimpancé, un gorila o un orangután. En una realización preferida del invento, el animal puede ser un caballo y, por ejemplo, puede ser un caballo de carreras. El animal puede ser un animal deportivo.

Algunos de los síntomas de la CAL los presentan pacientes aquejados de otras enfermedades. Por ejemplo, diversos trastornos respiratorios distintos de la CAL comprometen la función pulmonar. Sin embargo, estas enfermedades pueden ser distinguidas de la CAL mediante una evaluación completa del sujeto y, preferiblemente, aplicando las pertinentes directrices asequibles para el diagnóstico de la CAL. La British Thoracic Society ha publicado un conjunto de directrices (Thorax 1997, 52 (Supl. 5): S1-28) y, en una realización especialmente preferida, el estado del sujeto que se va a tratar caerá dentro de la definición del trastorno proporcionada por estas directrices. Además, la Iniciativa Global para la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (GOLD; del inglés, Global initiative for Chronic O obstructive Lung Disease) ha publicado un Sumario Ejecutivo (2001) que esboza una estrategia para el diagnóstico, el tratamiento y la prevención del trastorno. En una realización preferida, el estado de los sujetos que se van a tratar caerá dentro de la definición del trastorno proporcionada por el Sumario Ejecutivo.

La CAL no incluye la fibrosis quística (CF; del inglés, cystic fibrosis). De este modo, un sujeto que puede ser tratado utilizando el invento tendrá típicamente al menos una copia funcional del gen CFTR (a menos que haya sido

lo bastante desafortunado para desarrollar tanto CF como CAL). La CAL tiene típicamente un inicio más tardío que la fibrosis quística, en la que el paciente nace con el defecto. En la CAL, el decaimiento de la función pulmonar y el inicio de los síntomas tendrán lugar progresivamente a lo largo del tiempo. En la CF, el decaimiento de la función pulmonar tendrá un inicio más inmediato, al principio de la vida. Un sujeto que tenga CAL alcanzará a menudo los treinta, cuarenta o incluso cincuenta años antes de ser consciente de que padece el trastorno. La principal excepción al inicio tardío de la CAL es la de aquellos pacientes que tienen déficit de α_1 -antitripsina. Dichos sujetos presentarán un inicio más temprano de la CAL, tal como en la época de la adolescencia o la juventud, cuando se diagnostica la CAL, ya que han nacido con un estado genético que les predispone a padecer CAL. Los sujetos que tienen déficit de α_1 -antitripsina pueden ser distinguidos de los que tienen CF mediante ensayos bioquímicos y genéticos para identificar la naturaleza del trastorno.

Glicosaminoglicanos

En los medicamentos del invento se emplean glicosaminoglicanos. Los glicosaminoglicanos son heteropolisacáridos lineales que poseen secuencias repetitivas de disacáridos características que son típicamente restos de D-glucosamina, galactosamina y ácido urónico muy N- y O-sulfatados. Estos grupos sulfato introducen un grado elevado de carga negativa a lo largo de la cadena polimérica del glicosaminoglicano y contribuyen a la heterogeneidad de estas macromoléculas.

En el invento se puede emplear cualquier glicosaminoglicano adecuado. Los glicosaminoglicanos y las sales de glicosaminoglicano adecuados para uso en el presente invento tendrán un peso molecular medio de 12 a 18 kDa. En particular, el glicosaminoglicano o la sal pueden tener un peso molecular medio de 12 a 18 kDa. En algunas realizaciones, todas las moléculas de glicosaminoglicano o las moléculas de sal de glicosaminoglicano, o sustancialmente todas, tendrán un peso molecular que cae dentro de los intervalos anteriormente especificados. De este modo, del 50 al 100%, preferiblemente del 75 al 100%, más preferiblemente del 90 al 100% y aún más preferiblemente del 95 al 100% de las moléculas pueden tener dicho peso molecular. En algunos casos, al menos el 95%, preferiblemente el 97,5%, más preferiblemente el 99%, aún más preferiblemente el 99,5% y aún más preferiblemente el 99,9% puede tener un peso molecular que caiga dentro del intervalo. El glicosaminoglicano o la sal puede estar presente en un intervalo de pesos moleculares y, típicamente el peso molecular que aparece más habitualmente caerá dentro de uno de los intervalos de peso molecular anteriormente especificados.

Preferiblemente, el glicosaminoglicano empleado en el invento será cualquiera de: los sulfatos de condroitina A a E, heparina, sulfato de heparina, heparano, sulfato de heparano, ácido hialurónico, sulfato de queratano, un derivado de cualquiera de los mismos y una mezcla de dos cualesquiera de los mismos. Al sulfato de condroitina B se hace a veces referencia como sulfato de dermatano. En una realización más preferida del invento, el glicosaminoglicano será cualquiera de los sulfatos de condroitina A, C, D y E, heparina, sulfato de heparina, heparano, sulfato de heparano, ácido hialurónico, sulfato de queratano, un derivado de cualquiera de los mismos y una mezcla de dos cualesquiera de los mismos. En una realización particularmente preferida, el glicosaminoglicano será sulfato de condroitina A, sulfato de condroitina C, heparina, sulfato de heparina, heparano, sulfato de heparano, un derivado de cualquiera de los mismos o una mezcla de dos cualesquiera de los mismos. Más preferiblemente, el glicosaminoglicano será sulfato de condroitina A, sulfato de condroitina C, heparina, un derivado de cualquiera de los mismos o una mezcla de dos cualesquiera de los mismos. En una realización aún más preferida del invento, el glicosaminoglicano será heparina o un derivado de la misma. En ciertas realizaciones del invento, el glicosaminoglicano empleado será una mezcla de más de dos glicosaminoglicanos de uno de los grupos anteriormente mencionados, tal como una mezcla de tres, cuatro o cinco de los glicosaminoglicanos.

En las realizaciones del invento en que se emplea una mezcla de dos glicosaminoglicanos, los dos pueden estar presentes, por ejemplo, en una relación 1:1, 1:2, 1:4, 1:10 ó 1:100. La relación puede ser 90:10, 80:20, 70:30 ó 60:40. Se puede emplear cualquier relación adecuada, y cualquiera de los dos glicosaminoglicanos puede estar en la concentración mayor. La relación puede ser igual que la relación en que se aíslan los dos cuando se recuperan de un tejido común usando técnicas estándares. En una realización preferida del invento, se empleará una mezcla de las condroitinas A y C y, en particular, en una relación de 80:20, preferiblemente de 75:25 y aún más preferiblemente de 70:30, estando presente el sulfato de condroitina A en el nivel mayor.

Típicamente, el glicosaminoglicano no habrá sido sometido a fragmentación para reducir su peso molecular. Normalmente, el glicosaminoglicano no habrá sido sometido a despolimerización, tal como por medios químicos o enzimáticos, para reducir su peso molecular. El número medio de unidades de sacárido en las cadenas de polisacárido del glicosaminoglicano puede ser típicamente de 18 a 100, preferiblemente de 30 a 80, más preferiblemente de 40 a 60 y aún más preferiblemente de 5 a 60 unidades.

El glicosaminoglicano puede ser cualquier glicosaminoglicano adecuado comercialmente asequible y puede ser, por ejemplo, un glicosaminoglicano no fraccionado. El glicosaminoglicano habrá sido típicamente aislado de una fuente natural, tal como de un animal. En ciertos casos, el glicosaminoglicano puede haber sido sintetizado en lugar de ser una molécula presente en la naturaleza.

En algunos casos, el glicosaminoglicano puede haber sido aislado de un animal y, en particular, de tejidos animales tales como los de cerdo o ganado vacuno. El glicosaminoglicano puede haber sido obtenido de tejidos tales como el

ES 2 315 479 T3

pulmón, el hígado y el intestino de un animal y, en particular, de pulmón de vaca o mucosa intestinal de cerdo. El glicosaminoglicano puede haber sido obtenido de la piel de dicho organismo.

En algunas realizaciones, el glicosaminoglicano puede haber sido aislado de un pez cartilaginoso o de otro organismo marino o de agua dulce. En algunos casos, el glicosaminoglicano puede haber sido aislado de un tiburón o un calamar y, en particular, del cartílago de dicho organismo. El glicosaminoglicano puede haber sido aislado de un esturión y, en particular, de la notocorda de un esturión.

Uno de los glicosaminoglicanos específicos anteriormente mencionados puede haber sido modificado para generar un derivado de los glicosaminoglicanos. De este modo, dichos derivados pueden ser utilizados en el invento con tal de que conserven la actividad terapéutica para tratar la CAL y, en particular, sean capaces de eliminar, reducir, mejorar o tratar uno o más de los síntomas y manifestaciones de la CAL aquí discutidos. Por lo tanto, en el caso de la heparina, ésta puede haber sido sometida a O-desulfatación, tal como al menos en las posiciones 2-O y 3-O. Se pueden realizar modificaciones iguales o equivalentes en otros glicosaminoglicanos para generar derivados para uso en el presente invento.

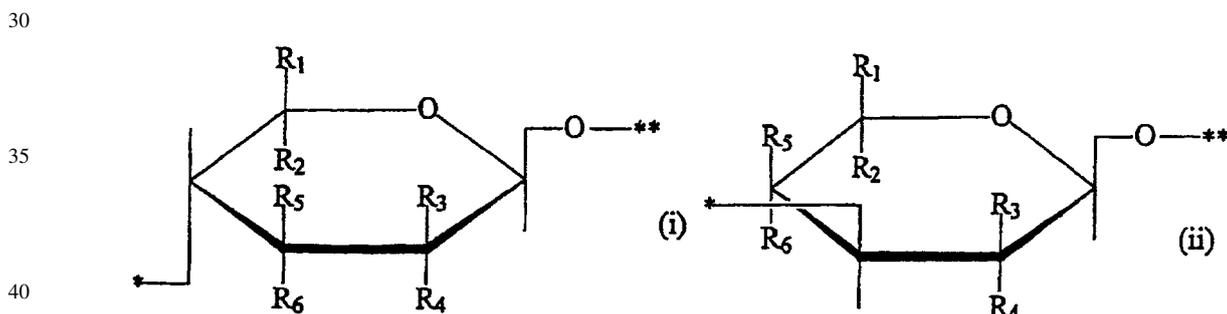
El glicosaminoglicano puede haber sido sometido a acetilación, desacetilación, oxidación y/o descarboxilación, tal como, por ejemplo, a una oxidación con peryodato, para generar un derivado. Se pueden utilizar heparinoides en el invento.

Típicamente, el compuesto activo utilizado en el presente invento comprende un glicosaminoglicano o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, que comprende unidades repetitivas de disacárido de fórmula general (1)



en la que:

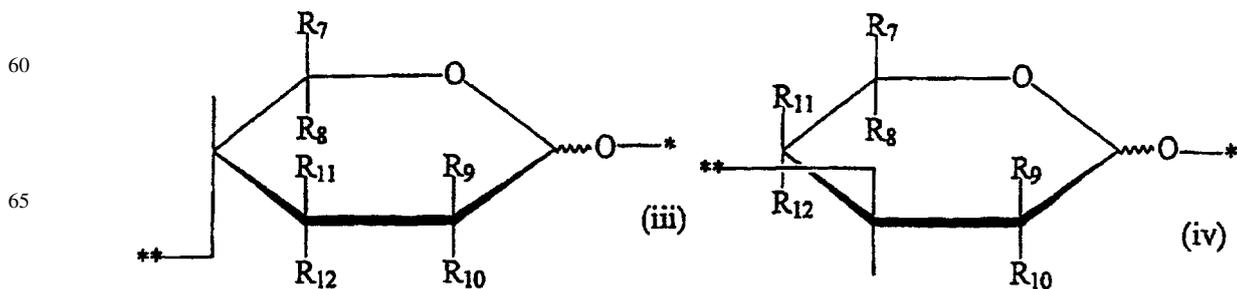
cada A es igual o diferente y representa un grupo de fórmula (i) o (ii)



en las que:

- uno de R_1 y R_2 es hidrógeno y el otro es $-CO_2H$, $-SO_3H$ o $-CH_2OR$ en que R es hidrógeno o $-SO_3H$;
- uno de R_3 y R_4 es hidrógeno y el otro es $-OR$ en que R es hidrógeno o $-SO_3H$;
- uno de R_5 y R_6 es hidrógeno y el otro es $-OH$;
- * representa un enlace directo a un átomo de hidrógeno o un grupo B adyacente; y
- ** representa un enlace directo a un grupo B adyacente;

cada B es igual o diferente y representa un grupo de fórmula (iii) o (iv):



ES 2 315 479 T3

en las que:

- uno de R_7 y R_8 es hidrógeno y el otro es $-\text{CH}_2\text{OH}$ o $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$;
- uno de R_9 y R_{10} es hidrógeno y el otro es $-\text{NHAc}$, $-\text{NH}_2$ o $-\text{NHSO}_3\text{H}$;
- uno de R_{11} y R_{12} es hidrógeno y el otro es $-\text{OH}$ o $-\text{OSO}_3\text{H}$;
- * representa un enlace directo a un átomo de hidrógeno o un grupo A adyacente;
- ** representa un enlace directo a un grupo A adyacente; y
- \sim indica un enlace con cualquier orientación estereoquímica;

o una sal fisiológicamente aceptable del mismo.

Las fórmulas presentes adoptan la práctica estándar para representar azúcares. De acuerdo con esta práctica, las fórmulas incluyen líneas verticales a través de cada uno de los átomos de carbono cíclicos. Por supuesto, esto no significa que estén unidos grupos metilo en cada posición ni que estén presentes grupos metileno como parte del enlace entre grupos cíclicos adyacentes.

Preferiblemente, cada grupo A del glicosaminoglicano de fórmula general (1) es el mismo. Preferiblemente, cada grupo B del glicosaminoglicano de fórmula general (1) es el mismo.

Preferiblemente, cada grupo A del glicosaminoglicano de fórmula general (1) es un grupo de fórmula general (i).

Típicamente, uno de R_1 y R_2 es hidrógeno y el otro representa $-\text{CO}_2\text{H}$ o $-\text{CH}_2\text{OR}$ en que R es hidrógeno o $-\text{SO}_3\text{H}$. Preferiblemente, uno de R_1 y R_2 es hidrógeno y el otro representa $-\text{CO}_2\text{H}$.

Típicamente, R_3 es hidrógeno y R_4 es $-\text{OR}$ en que R representa hidrógeno o $-\text{SO}_3\text{H}$.

Típicamente, R_5 es $-\text{OH}$ y R_6 es hidrógeno.

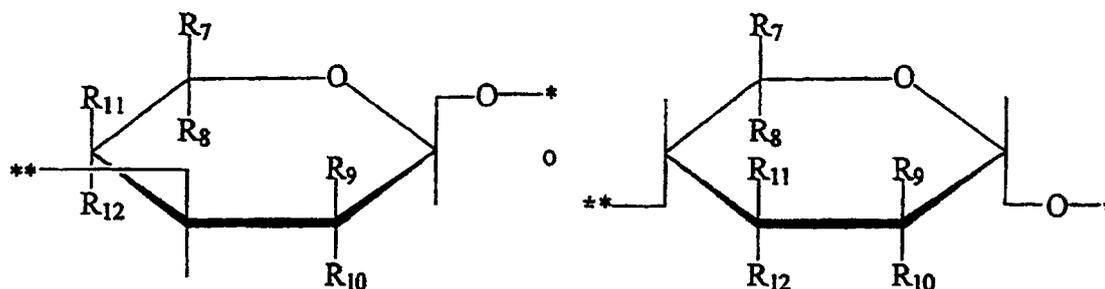
Típicamente, cada A es igual o diferente y representa un grupo de fórmula (i).

Típicamente, R_7 es $-\text{CH}_2\text{OH}$ o $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$ y R_8 es hidrógeno.

Típicamente, R_9 es hidrógeno y R_{10} es $-\text{NHAc}$, $-\text{NH}_2$ o $-\text{NHSO}_3\text{H}$.

Típicamente, R_{11} es $-\text{OSO}_3\text{H}$ o $-\text{OH}$ y R_{12} es hidrógeno.

Típicamente, cada B es igual o diferente y representa:

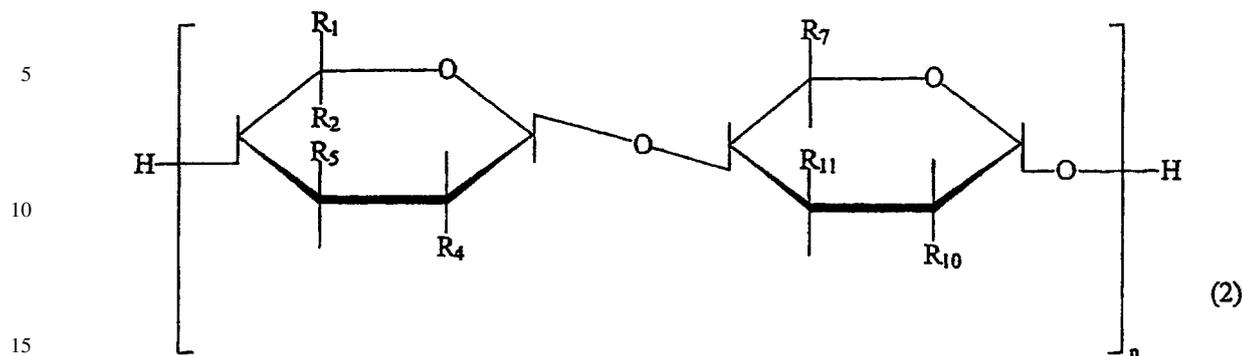


en que R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} , * y ** son como se describieron anteriormente.

Preferiblemente, R_1 no es hidrógeno en un grupo A que está adyacente a un grupo (iv) en que R_{12} es hidrógeno.

ES 2 315 479 T3

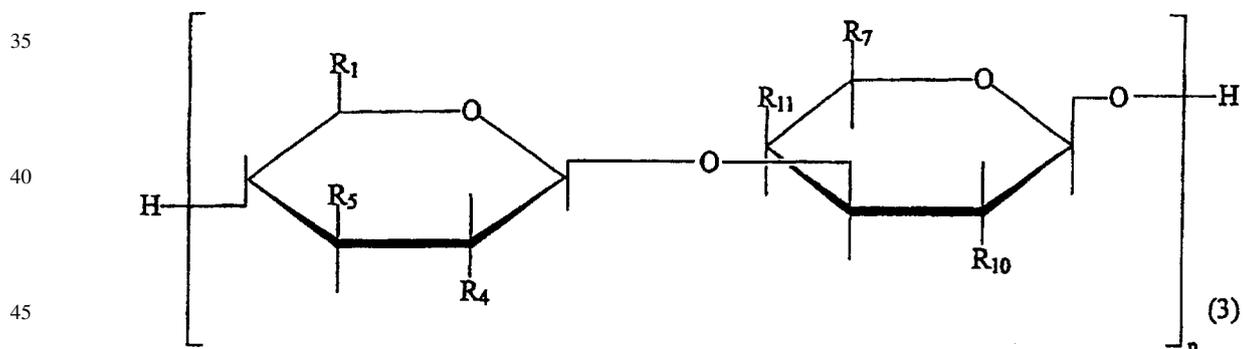
Típicamente, el glicosaminoglicano de fórmula general (1) es un glicosaminoglicano de fórmula general (2):



en la que:

- 20
25
30
- uno de R_1 y R_2 es hidrógeno y el otro es $-CO_2H$;
 - R_4 es $-OH$ o $-OSO_3H$;
 - R_5 es $-OH$;
 - R_7 es $-CH_2OH$ o $-CH_2OSO_3H$;
 - R_{10} es $-NH_2$, $-NHSO_3H$ o $-NHAc$; y
 - R_{11} es $-OSO_3H$ o $-OH$.

Típicamente, el glicosaminoglicano de fórmula general (1) es un glicosaminoglicano de fórmula general (3):



en la que:

- 50
55
60
- R_1 es $-CO_2H$;
 - R_4 es $-OH$;
 - R_5 es $-OH$;
 - R_7 es $-CH_2OH$ o $-CH_2OSO_3H$;
 - R_{10} es $-NHAc$; y
 - R_{11} es $-OH$ o $-OSO_3H$.

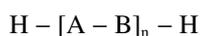
65 En el invento se puede emplear cualquier sal de glicosaminoglicano fisiológicamente aceptable adecuada y, en particular, una sal metálica tal como, por ejemplo, una sal de sodio, una sal de metal alcalino o una sal de metal alcalinotérreo. Otras sales incluyen sales de calcio, litio y zinc. También se pueden utilizar sales de amonio. La sal puede ser un glicosaminoglicanato sódico o un sulfato de glicosaminoglicano. En el invento también se pueden utilizar sales de derivados de los glicosaminoglicanos específicos aquí mencionados. En la presente solicitud, cuando se hace mención de un glicosaminoglicano, dicha mención también incluye sales fisiológicamente aceptables del mismo.

ES 2 315 479 T3

Típicamente, una sal fisiológicamente aceptable es una sal con un ácido o una base fisiológicamente aceptables. Las sales preferidas son las sales con bases fisiológicamente aceptables. Típicamente, dichas sales son compuestos en que el átomo de hidrógeno ácido de un grupo $-\text{CO}_2\text{H}$ y/o $-\text{OSO}_3\text{H}$ está sustituido por un catión, tal como, por ejemplo, un catión de metal alcalino (por ejemplo, sodio o potasio) o de metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio o magnesio).
5 Dichas sales pueden ser preparadas, por ejemplo, por reacción con un hidróxido apropiado.

El número de unidades de disacárido presentes en el glicosaminoglicano o su sal empleados en el invento será tal que el peso molecular del glicosaminoglicano o la sal será de 12 a 18 kDa. En particular, puede ser tal que el glicosaminoglicano tenga un peso molecular de 14 a 18 kDa, preferiblemente de 15 a 17 kDa y más preferiblemente
10 de 16 a 17 kDa. El número de unidades de disacárido presentes en el glicosaminoglicano se puede representar por el número n , siendo n cualquier número entero que haga que el glicosaminoglicano tenga un peso molecular que caiga dentro de cualquiera de los intervalos de peso molecular anteriormente mencionados.

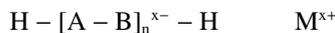
Por lo tanto, el glicosaminoglicano o la sal empleados se puede representar mediante la fórmula general:



en la que A-B es cualquiera de las unidades de disacárido anteriormente mencionadas, y n es un número entero que hace que el glicosaminoglicano o la sal del mismo tengan un peso molecular que caiga dentro de los intervalos de peso molecular anteriormente especificados. El valor de n puede ser, por ejemplo, de 30 a 55 y, más preferiblemente, de 35 a 50.

El glicosaminoglicano empleado en el invento comprenderá típicamente más de una longitud de cadena. Por consiguiente, para algunas de las cadenas de glicosaminoglicano presentes, n puede ser un número entero inferior o superior al número entero que daría lugar por sí mismo a una cadena con un peso molecular que cayera dentro de uno de los intervalos anteriormente especificados. De esta manera, el valor medio de n de los glicosaminoglicanos presentes en los medicamentos del invento puede ser cualquiera de los valores aquí especificados para n y, en particular, un valor
30 de n que dé lugar a un glicosaminoglicano o una sal con un peso molecular que caiga dentro de uno de los intervalos de peso molecular aquí especificados.

Las sales particularmente preferidas para uso en el invento son sales de fórmula:



en la que $x \leq 4n$ y M representa un catión fisiológicamente aceptable, o una mezcla de las mismas. Muy preferiblemente, $x \leq 2n$.

En una realización particularmente preferida del invento, el glicosaminoglicano empleado será una heparina, un derivado de la misma o una sal fisiológicamente aceptable de la misma. La heparina es un mucopolisacárido de origen natural, presente en una diversidad de órganos y tejidos, particularmente el hígado, el pulmón y las arterias grandes.
45 La heparina es un polímero de restos alternantes de α -D-glucosamina y hexuronato unidos por enlaces glicosídicos (1,4). Cuando se sintetizan glicosaminoglicanos en la naturaleza, están típicamente conjugados con un núcleo proteico central. Sin embargo, los glicosaminoglicanos empleados en el invento carecerán preferiblemente de dicho núcleo central. Típicamente, las preparaciones de glicosaminoglicanos carecerán de un núcleo y podrán ser empleadas, o, si el núcleo está presente, podrá ser eliminado. Las preparaciones comercialmente asequibles de glicosaminoglicanos carecerán normalmente del núcleo y podrán ser empleadas.
50

La heparina se utiliza clínicamente como un anticoagulante, y se piensa que en este caso ejerce sus efectos a través de la interacción con anti-trombina III (AT-III) y el cofactor II de heparina y otros factores de coagulación. Típicamente, la heparina conservará cierta actividad anticoagulante, es decir, podrá aumentar el tiempo de coagulación en un individuo. De esta manera, preferiblemente, la heparina será capaz de unirse a anti-trombina III (AT-III) y/o al cofactor II de heparina (HCII) e inhibir por ello la coagulación. Preferiblemente, será capaz de formar un complejo con AT-III, trombina y un factor de coagulación. Sin embargo, en ciertas realizaciones, también se puede emplear una heparina que carezca de actividad anticoagulante o que tenga una actividad anticoagulante reducida. Por lo tanto, la heparina puede haber sido modificada para que tenga del 0 al 80%, preferiblemente del 5 al 60%, más preferiblemente
60 del 10 al 40% y aún más preferiblemente del 10 al 30% de la actividad de la forma no modificada o en comparación con la heparina no modificada. Otros glicosaminoglicanos, en particular el sulfato de dermatano, también poseen actividad anticoagulante. Por consiguiente, los glicosaminoglicanos y sus derivados empleados conservarán preferiblemente cierta actividad anticoagulante, como se discutió anteriormente para la heparina y sus derivados.

Cuando el glicosaminoglicano sea típicamente administrado a través de inhalación, intranasalmente o a través de instilación, estará preferiblemente en una forma adecuada para la administración a través de dicha vía. En particular, el glicosaminoglicano puede estar en una forma adecuada para inhalación y/o instilación.

ES 2 315 479 T3

Evaluación del sujeto

5 El presente invento proporciona el uso de un glicosaminoglicano o de una sal fisiológicamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para facilitar el aclaramiento de moco de las vías aéreas centrales y periféricas de un sujeto humano con limitación crónica del flujo aéreo (CAL) que presenta hipersecreción de moco, en que el citado glicosaminoglicano o su sal tienen un peso molecular medio de 12 a 18 kilodáltones. El glicosaminoglicano o la sal usados, la vía de distribución y cualquiera de los otros parámetros del medicamento y del sujeto que se trata pueden ser iguales a los aquí descritos para cualquiera de las demás realizaciones del invento.

10 Los medicamentos del invento provocan preferiblemente una mejora del estado del sujeto. Por lo tanto, los medicamentos pueden ser utilizados para tratar a un paciente que padece CAL o es propenso a ella. Pueden evitar, mejorar o curar el estado. Pueden lentificar o detener el progresivo deterioro característico de la CAL o, en algunos casos, incluso causar cierta inversión del deterioro. Pueden evitar, reducir o invertir uno o más de los síntomas y manifestaciones asociados con la CAL. También aumentarán preferiblemente la sensación de bienestar del sujeto y su calidad de vida.

Preferiblemente, un medicamento del invento reduce, elimina o al menos previene un aumento ulterior de uno o más de los factores siguientes:

- 20 - el decaimiento elevado del volumen espiratorio forzado (FEV₁; del inglés, forced expiratory volume);
- hipersecreción de moco;
- 25 - inflamación; y/o
- daño en la estructura del pulmón.

El tratamiento con los medicamentos del invento también puede significar que la relación de FEV₁/FVC no decaiga más o resulte mejorada. Por ejemplo, la relación puede resultar más próxima a la esperada en un sujeto sano.

30 Los medicamentos pueden reducir el taponamiento por moco. Pueden ejercer actividad mucolítica y/o reducir la secreción de moco y aumentar su expectoración. Los medicamentos del invento facilitan el aclaramiento del moco y, a causa de su actividad mucolítica, previenen o mejoran los efectos perjudiciales asociados con los niveles de moco elevados y la viscosidad aumentada de la CAL. Los medicamentos del invento pueden dar lugar a una reducción de la viscosidad del moco de, por ejemplo, al menos una vez, preferiblemente dos veces y más preferiblemente cinco veces. En algunos casos, la disminución de la viscosidad puede ser del 10 al 80%, preferiblemente del 20 al 60% y aún más preferiblemente del 30 al 40%.

40 La actividad mucolítica se refiere a la reducción de la viscoelasticidad (viscosidad) del moco. La actividad mucolítica puede ser determinada mediante cualquiera de los diversos métodos diferentes conocidos en la técnica, incluyendo el ensayo de compactación de esputos (véase, por ejemplo, el Documento WO 94/10567), los ensayos en que se utiliza un péndulo de torsión (Janmey, J. Biochem. Biophys. Methods 22: 41-53, 1991) u otras metodologías reológicas adecuadas. A la disminución de la viscosidad del moco ocasionada por los medicamentos y métodos del invento se puede hacer referencia como mucocinesis.

45 Los medicamentos del invento pueden reducir la descomposición de la estructura del pulmón, tal como la degradación de elastina en las vías aéreas y en el alveolo, y, por lo tanto, la pérdida de elasticidad del pulmón. Pueden reducir o evitar el colapso de porciones del pulmón y/o el desarrollo de espacios aéreos agrandados en los que puede llegar a quedar atrapado aire. Los medicamentos pueden evitar o reducir cualquiera de los cambios patológicos asociados con la CAL aquí esbozados. En particular, pueden evitar el progreso de un cambio patológico. También pueden evitar o retrasar el inicio de un cambio patológico concreto.

50 Los medicamentos del invento pueden reducir típicamente el decaimiento del FEV₁ en del 10 al 100%, preferiblemente del 20 al 80%, más preferiblemente del 30 al 60% y aún más preferiblemente del 40 al 50%. Pueden reducir la decadencia anual del FEV₁ en de 10 a 100 ml, preferiblemente de 20 a 60 ml y aún más preferiblemente de 30 a 40 ml al año. En algunos casos, tras el tratamiento, el sujeto presentará una mejora del FEV₁ de modo que el FEV₁ resulte del 25 al 100%, preferiblemente del 40 al 100%, más preferiblemente del 60 al 100% y aún más preferiblemente del 80 al 100% del valor previsto.

60 Los medicamentos del invento pueden reducir la inflamación y la afluencia de células inflamatorias a las vías aéreas y los pulmones. También pueden mejorar los efectos de las células inflamatorias presentes en el pulmón. De esta manera, las cuentas celulares diferenciales en los esputos y/o lavados del sujeto pueden presentar niveles normales, o niveles menos elevados, de células inflamatorias tales como linfocitos, macrófagos y/o neutrófilos y, en particular, de neutrófilos.

65 Pueden reducir la migración de células inflamatorias tales como neutrófilos a las vías aéreas y el pulmón. También pueden reducir una o más funciones/características de los neutrófilos, tales como estimulación, activación, quimiotaxis, extravasación, desgranulación, estallido respiratorio, fagocitosis, apoptosis y/o necrosis. Esto puede significar

también que hay una cantidad reducida de proteínas de neutrófilo en el pulmón y de especies oxigenadas reactivas. También puede haber niveles reducidos de mediadores inflamatorios en los sujetos después del tratamiento, y, en particular, de niveles de IL-8. Pueden también causar cambios en el pulmón, tal como la infrarregulación de moléculas de adhesión de modo que no puedan entrar células inflamatorias y, en particular, neutrófilos en el pulmón, entren menos rápidamente o entren en números reducidos.

Los medicamentos del invento pueden eliminar, retrasar el inicio, o reducir la gravedad de cualquiera de los síntomas y rasgos de la CAL aquí mencionados.

10 *Administración y formulación*

Los medicamentos del presente invento pueden ser preparados formulando el glicosaminoglicano o la sal con un vehículo y/o un excipiente estándares fisiológicamente aceptables y, en particular, farmacéuticamente aceptables, como es rutinario en la técnica farmacéutica. La naturaleza exacta de la formulación dependerá de diversos factores, incluyendo el particular glicosaminoglicano empleado y la deseada vía de administración. En Remington's Pharmaceutical Sciences, 19ª edición, Mack Publishing Company, Eastern Pennsylvania, EE.UU., se describen completamente tipos adecuados de formulación, la descripción de los cuales se incluye aquí en su totalidad a modo de referencia.

La dosis necesaria que se va a administrar será normalmente determinada por un médico, pero dependerá de diversos factores tales como la naturaleza del estado que se va a tratar y el estado del paciente. La dosis de glicosaminoglicano administrada puede ser, por ejemplo, de 0,01 mg a 5 g, preferiblemente de 0,1 mg a 2,5 g, más preferiblemente de 1 mg a 1 g, aún más preferiblemente de 10 mg a 500 mg, aún más preferiblemente de 50 mg a 250 mg y aún más preferiblemente de 100 mg a 200 mg. Estas dosis se administrarán típicamente una, dos o tres veces al día, se administrarán preferiblemente una o dos veces al día, y se administrarán más preferiblemente dos veces al día.

Para heparina, derivados de la misma y sales de cualquiera de los dos, la dosis estará típicamente en el intervalo de 10 a 10.000 unidades por kg de peso corporal, preferiblemente de 100 a 10.000 unidades por kg de peso corporal, más preferiblemente de 200 a 5000 unidades/kg de peso corporal, aún más preferiblemente de 500 a 2000 unidades por kg, y aún más preferiblemente de 1000 a 1500 unidades por kg. Una unidad de actividad de heparina (Farmacopea de EE.UU.) se define como la cantidad de heparina que evita que coagule 1 ml de plasma citratado de oveja durante una hora después de la adición de 0,2 ml de CaCl_2 al 1%. Estas dosis se administrarán típicamente una, dos o tres veces al día y se administrarán preferiblemente dos veces al día.

La duración del tratamiento puede ser típicamente dos semanas, un mes, seis meses, un año o más. En muchos casos, el sujeto seguirá con los medicamentos del invento permanentemente o durante periodos prolongados. En particular, este puede ser el caso cuando el sujeto no deja de fumar o continúa estando expuesto a la contaminación química de la que se cree que es el agente causativo. Este puede ser también el caso cuando el sujeto tiene una predisposición genética a desarrollar CAL y es muy probable que necesite la medicación indefinidamente. El programa de tratamiento puede ser además coordinado para que en los momentos en que aumenta la gravedad de la CAL, tales como los momentos o periodos de inflamación y/o falta de aliento aumentadas, la dosis de glicosaminoglicano administrada sea elevada o puedan ser estos los momentos principales en que se administre el glicosaminoglicano. El medicamento puede ser administrado antes de un ejercicio o un esfuerzo físico y puede ser típicamente administrado como una ayuda para la fisioterapia. Puede ser administrado durante infecciones o cuando se sospecha una infección.

Preferiblemente, los medicamentos del invento son administrados intranasalmente y/o por medio de inhalación. De esta manera, la administración puede ser típicamente a través de la boca o la nariz. En una realización especialmente preferida, los medicamentos del invento son adecuados para administración por inhalación y son administrados a través de esa vía. Los medicamentos pueden ser también o alternativamente adecuados para administración por medio de instilación. Los métodos adecuados para formular y preparar medicamentos que se van administrar por medio de inhalación, instilación y vía nasal son bien conocidos en la técnica y pueden ser empleados en el presente invento.

Para terapia por inhalación, el medicamento puede estar en una disolución útil para administración mediante inhaladores de aerosoles líquidos y dosis calibrada, o en una forma adecuada para un inhalador de polvos secos. El medicamento puede estar presente en un envase blíster o en una cápsula rompible.

En algunas realizaciones preferidas, los medicamentos del presente invento pueden ser formulados como aerosoles. La formulación de aerosoles farmacéuticos resulta rutinaria a los expertos en la técnica; véase, por ejemplo, J. Sciarra en Remington (*supra*). Los agentes pueden ser formulados como aerosoles en disolución, aerosoles de polvos secos en dispersión o suspensión, emulsiones o preparaciones semisólidas. El aerosol puede ser distribuido utilizando cualquier sistema propulsor conocido por los expertos en la técnica. Los aerosoles pueden ser aplicados al tracto respiratorio superior mediante, por ejemplo, inhalación nasal, o al tracto respiratorio inferior o a ambos. El glicosaminoglicano puede ser distribuido utilizando liposomas y métodos para distribución de nanopartículas. En las formulaciones vehiculares se pueden usar liposomas, particularmente liposomas catiónicos.

Los medicamentos para uso de acuerdo con el presente invento pueden incluir, además del ingrediente activo, un excipiente, un vehículo, un tampón, un agente estabilizador u otros materiales farmacéuticamente aceptables, bien conocidos por los expertos en la técnica. En particular, pueden incluir un excipiente farmacéuticamente aceptable. Dichos materiales deberían ser atóxicos y no deberían interferir en la eficacia del ingrediente activo. La naturaleza

exacta del vehículo o de otro material dependerá de la vía de administración. En Remington (*supra*) se describen vehículos farmacéuticos adecuados.

Los medicamentos del presente invento pueden ser distribuidos mediante cualquier dispositivo adaptado para introducir una o más composiciones terapéuticas en el tracto respiratorio superior y/o inferior. En algunas realizaciones preferidas, los dispositivos del presente invento pueden ser inhaladores de dosis calibrada. Los dispositivos pueden ser adaptados para que distribuyan las composiciones terapéuticas del invento en forma de una niebla de líquido, espuma o polvo finamente disperso. El dispositivo puede utilizar un efecto piezoeléctrico o una vibración ultrasónica para desalojar un polvo fijado a una superficie, tal como una cinta, con objeto de generar una niebla adecuada para inhalación. En los dispositivos se puede utilizar cualquier sistema propulsor conocido por los expertos en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, bombas, gas licuado, gas comprimido y similares.

En los casos en que el glicosaminoglicano se administra en forma de partículas o gotitas, se pueden escoger el tamaño de la partícula/gotita y/o otras propiedades de la partícula/gotita para asegurar que las partículas se distribuyan en una región concreta del tracto respiratorio. Por ejemplo, se pueden diseñar para que solamente alcancen las partes superiores o inferiores del tracto respiratorio. En los casos en que el glicosaminoglicano, la sal o al agente terapéutico se distribuyen en una forma acuosa, la disolución será preferiblemente isotónica para ayudar a asegurar una distribución eficaz al sujeto. En particular, se cree que las partículas con un diámetro de 10 μm son eficaces a la hora de alcanzar las partes inferiores del tracto respiratorio y, por lo tanto, pueden ser empleadas cuando dicho sitio es el objetivo deseado para los medicamentos. En realizaciones en que se desea distribuir el medicamento por las partes inferiores del tracto respiratorio, tales como, por ejemplo, los alveolos, el diámetro de las partículas administradas puede ser inferior a 10 μm , preferiblemente inferior a 8 μm , más preferiblemente inferior a 6 μm y aún más preferiblemente inferior a 4 μm . En una realización preferida, las partículas pueden tener un diámetro de 3 μm o menos y, más preferiblemente, pueden tener un diámetro de 2 μm o menos. En una realización especialmente preferida, las partículas tendrán un diámetro de 3 a 5 μm . En algunos casos, el diámetro de las partículas administradas puede ser inferior a 1000 nm, preferiblemente inferior a 500 nm, más preferiblemente inferior a 250 nm y aún más preferiblemente inferior a 100 nm. Los tamaños pueden referirse a partículas de materia sólida o a gotitas de disoluciones y suspensiones.

El tamaño de partícula necesario para que las partículas penetren en una parte específica del tracto respiratorio será conocido en la técnica, y, por lo tanto, el tamaño de partícula puede ser escogido para que se ajuste al tamaño del objetivo. Se pueden utilizar técnicas tales como la molienda para producir las pequeñísimas partículas necesarias. En algunos casos, la parte deseada del tracto respiratorio puede ser el tracto respiratorio superior y, por lo tanto, se pueden emplear tamaños de partícula más grandes. También se pueden escoger la densidad de las partículas y su forma para facilitar su distribución en el sitio deseado.

Los medicamentos del invento pueden tomar una diversidad de formas. Pueden estar en forma de polvos, microesferas de polvo, disoluciones, suspensiones, geles, suspensiones de nanopartículas, liposomas, emulsiones o microemulsiones. Los líquidos presentes pueden ser agua u otros disolventes adecuados tales como CFC y HFA. En el caso de disoluciones y suspensiones, éstas pueden ser acuosas o implicar disoluciones no acuosas.

Los dispositivos del presente invento comprenden típicamente un recipiente con una o más válvulas a través de las cuales circula el flujo de la composición terapéutica, y un mecanismo de accionamiento para controlar el flujo. Los dispositivos adecuados para uso en el presente invento se pueden ver en, por ejemplo, Remington (*supra*). Los dispositivos adecuados para administrar los medicamentos del invento incluyen inhaladores y nebulizadores tales como los típicamente utilizados para distribuir esteroides a personas asmáticas. En ciertos casos, por ejemplo cuando el sujeto es un niño, se puede utilizar un espaciador junto con el inhalador para ayudar a asegurar una distribución eficaz.

Los medicamentos del presente invento pueden ser distribuidos mediante cualquier dispositivo adaptado para introducir una o más composiciones terapéuticas en el tracto respiratorio superior y/o inferior. En algunas realizaciones preferidas, los dispositivos del presente invento pueden ser inhaladores de dosis calibrada. Los dispositivos pueden ser adaptados para que distribuyan las composiciones terapéuticas del invento en forma de una niebla de líquido, espuma o polvo finamente disperso. El dispositivo puede utilizar un efecto piezoeléctrico o una vibración ultrasónica para desalojar un polvo fijado a una superficie, tal como una cinta, con objeto de generar una niebla adecuada para inhalación. En los dispositivos se puede utilizar cualquier sistema propulsor conocido por los expertos en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, bombas, gas licuado, gas comprimido y similares.

Los dispositivos del presente invento comprenden típicamente un recipiente con una o más válvulas a través de las cuales circula el flujo de la composición terapéutica, y un mecanismo de accionamiento para controlar el flujo. Los dispositivos adecuados para uso en el presente invento se pueden ver en, por ejemplo, Remington (*supra*). Los dispositivos adecuados para administrar los medicamentos del invento incluyen inhaladores y nebulizadores tales como los típicamente utilizados para distribuir esteroides a personas asmáticas. En ciertos casos, por ejemplo cuando el sujeto es un niño, se puede utilizar un espaciador junto con el inhalador para ayudar a asegurar una distribución eficaz.

Diversos diseños de inhaladores son comercialmente asequibles y pueden ser empleados para distribuir los medicamentos del invento. Aquellos incluyen Accuhaler, Aerohaler, Aerolizer, Airmax, Autohaler, Clickhaler, Diskhaler, inhalador Easi-Breathe, Fisonair, Integra, inhalador Jet, Miat-Haler, inhalador Novolizer, inhalador Pulvinal, Rota-

ES 2 315 479 T3

haler, Spacehaler, Spinhaler, inhalador Sincroner y dispositivos Turbohaler. Diversas técnicas de formulación que producen partículas particularmente deseables son conocidas en este campo y pueden ser empleadas. Por ejemplo, se pueden emplear las tecnologías de Nanocrystal, Pulmosol y PulmoSphere.

5 En algunos casos, los medicamentos pueden ser administrados por medio de instilación. En dichos casos, el medicamento estará típicamente en forma líquida y se administrará a través de una vía aérea artificial tal como, por ejemplo, un tubo endotraqueal. Se aspirará típicamente el líquido con una jeringa y luego se expulsará en el tracto respiratorio del sujeto a través de la vía aérea artificial. La instilación se utiliza a menudo en un contexto de emergencia. En muchos casos, se puede utilizar cuando el sujeto presenta una forma relativamente avanzada de CAL y ha ingresado en
10 un hospital.

Los medicamentos del invento también se pueden administrar a través de la nariz. De nuevo, se conocen en la técnica, y se pueden emplear, métodos, formulaciones y dispositivos adecuados para administración intranasal. En los casos en que el medicamento se administra a través de la nariz, el sitio diana concreto puede ser las membranas de la
15 mucosa nasal o, alternativamente, alguna otra parte del tracto respiratorio. El medicamento será típicamente formulado y administrado en consecuencia. En los casos en que el medicamento va a ser administrado a través de la nariz, puede estar, por ejemplo, en forma de composición nasal pulverizable. La composición pulverizable puede ser administrada, por ejemplo, usando un atomizador o un nebulizador. En algunos casos, el medicamento puede estar en forma de gotas nasales. Éstas pueden ser administradas usando un cuentagotas medicinal. Para una ulterior discusión sobre
20 las formas de dosificación nasales, véase Remington's Pharmaceutical Sciences (*supra*). Los medicamentos administrados a través de la nariz pueden incluir agentes ajustadores del pH, agentes emulsivos o dispersivos, conservantes, agentes tensioactivos, agentes gelificantes o agentes tampón. Muy preferiblemente, la forma de dosificación nasal será isotónica con respecto a las secreciones nasales.

25 Los medicamentos pueden incluir diversos componentes para optimizar su idoneidad para la vía de distribución concreta elegida. La viscosidad de los medicamentos puede ser mantenida en un nivel deseado utilizando un agente espesativo farmacéuticamente aceptable. Los agentes espesativos que pueden ser utilizados incluyen metilcelulosa, goma xantana, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carbómero, poli(alcohol vinílico), alginatos, goma arábiga, quitosanos y combinaciones de los mismos. La concentración del agente espesativo dependerá del agente seleccionado
30 y de la viscosidad deseada.

En algunas realizaciones, y en particular cuando se va a utilizar la distribución intranasal, los medicamentos pueden comprender un agente humectante. Éste puede ayudar a reducir o evitar el secado de la membrana mucosa y a evitar la irritación de las membranas. Los agentes humectantes adecuados incluyen sorbitol, aceite mineral, aceite vegetal y
35 glicerol; agentes calmantes; agentes acondicionadores de membranas; edulcorantes; y combinaciones de los mismos.

Los medicamentos pueden comprender un agente tensioactivo. Los agentes tensioactivos adecuados incluyen agentes tensioactivos no iónicos, aniónicos y catiónicos. Los ejemplos de agentes tensioactivos que pueden ser utilizados incluyen, por ejemplo, derivados polioxietilénicos de ésteres parciales de ácidos grasos y anhídridos de sorbitol, tales como, por ejemplo, Tween 80, estearato de polioxilo 40, estearato de polioxietileno 50, "fusieates", sales biliares y
40 Octoxynol.

Los ejemplos siguientes ilustran el invento.

45 Ejemplo 1

Ensayo de barrera en un fluorómetro Victor

50 Se descongelaron muestras de esputo a temperatura ambiental y se homogeneizaron utilizando una jeringa (sin aguja). Se dividieron las muestras y se pesaron porciones (0,12-0,20 g) en pequeños tubos de fondo redondo. Se centrifugaron los tubos en una microcentrífuga para que sedimentara el esputo. Se añadió un mucolítico al esputo en una cantidad de 10% en volumen/peso (por ejemplo, 13 μ l/0,13 g de esputo). Por lo tanto, el mucolítico resultó diluido por un factor de 10 tras su adición al esputo. Los mucolíticos evaluados fueron DNasa (en una concentración de 2,9 μ g/ml, procedente de una reserva con una actividad de 2500 unidades Kunitz por mg) y heparina no fraccionada (en una
55 concentración de 10 mg/ml, procedente de una reserva de 160 USP/mg; se empleó una sal sódica de heparina aislada de mucosa intestinal porcina, procedente de Calbiochem, número 375095 del catálogo). Una porción testigo de esputo fue tratada con PBS en una cantidad de 10% en volumen/peso. Otro testigo se trató con sulfato de dextrano, que no es un glicosaminoglicano, en una concentración de 10 mg/ml (se empleó una sal sódica de sulfato de dextrano obtenida de Sigma, número D7037 del catálogo). El mucolítico fue mezclado a fondo con el esputo mediante revolvimiento
60 con formación de remolinos y haciendo pasar la mezcla arriba y abajo por una aguja de calibre 19.

Los pocillos inferiores de una cámara Transwell contenían 25 μ l de disolución salina tamponada con fosfato (PBS), y ésta estaba separada de los pocillos superiores por un filtro de policarbonato con un tamaño de poro de 8 μ m (colocado con la cara brillante hacia abajo). La sección superior de la cámara fue colocada sobre la parte superior
65 del filtro y fue herméticamente atornillada. Se sonicaron glóbulos fluorescentes modificados con carboxilato (F-8811, Molecular Probes) durante 5 minutos para dispersarlos y se añadieron los glóbulos a las muestras de esputo en una relación 1:1, tal como, por ejemplo, 150 μ l de glóbulos añadidos a 0,15 g de muestra de esputo. Se revolvió la mezcla

ES 2 315 479 T3

con formación de remolinos y se añadieron 20 μl de cada muestra a los pocillos superiores de la cámara. Cada muestra se añadió a la cámara por cuadruplicado. La cámara fue centrifugada durante 5 minutos a 1000 rpm para eliminar las burbujas de aire y luego fue colocada dentro de una bolsa de plástico negro y fue incubada en una cámara húmeda a 37°C, 900 rpm, durante 4 horas.

Después de la incubación, se centrifugó la cámara durante 5 minutos a 1000 rpm para impeler los glóbulos migrados al fondo de los pocillos inferiores. Se separaron conjuntamente la cámara superior y la junta para minimizar las pérdidas. Se transfirió el contenido de los pocillos inferiores (25 μl) a una placa Fluoro-NUNC y se añadieron 175 μl de PBS por pocillo. Se leyó la placa usando un fluorómetro Victor con el protocolo "Fluospheres" (excitación a 485 nm, emisión a 535 nm).

Los resultados obtenidos se muestran en el gráfico superior de la Figura 1. Los efectos mucolíticos de la heparina resultaron mayores y menos variables que los de la DNasa. Un ensayo de comparaciones múltiples de Bonferroni mostró que el efecto de 10 mg/ml de heparina era significativamente mayor que el del testigo de PBS ($P < 0,01$). Sin embargo, los efectos de la DNasa y de 10 mg/ml de sulfato de dextrano (testigo negativo) no eran significativamente diferentes cuando se compararon con los del testigo de PBS ($P > 0,05$).

También se evaluó el efecto del sulfato de condroitina sobre el transporte de microesferas utilizando las mismas condiciones que las anteriormente descritas. Se examinó una mezcla 70:30 de condroitinas A y C (se empleó una sal sódica de las condroitinas procedentes de tráquea bovina, obtenida de Sigma, número C-8529 del catálogo). Se procesó de nuevo un testigo que contenía esputo tratado con PBS solo. Los resultados obtenidos se muestran en el gráfico inferior de la Figura 1. Se halló que el sulfato de condroitina aumenta significativamente el transporte de las microesferas.

Ejemplo 2

Formación de imágenes de DNA por microscopía de fuerzas atómicas (AFM)

Se trató DNA de timo de ternera (0,1 mg/ml) con heparina en diferentes concentraciones (0,1, 1, 10 y 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Las disoluciones se prepararon en agua exenta de DNasa y RNasa y filtrada a través de poros de 0,2 μm . Se añadieron 10 μl de muestra a mica moscovita de color de rubí recién partida y se realizó un secado antes de la formación de imágenes por AFM. La AFM fue llevada a cabo al aire bajo condiciones ambientales utilizando un microscopio de sonda de barrido TopoMetrix TMX2000 (ThermoMicroscopes, Bicester, Reino Unido) con un escáner piezoeléctrico de trípode de 70x70x12 mm. Las mediciones topográficas, en modo de contacto, se realizaron usando un voladizo de nitruro de silicio con forma de "V" [200 nm de longitud, constante elástica nominal (K) de 0,21 Nm^{-1} ; Pieza nº 1530-00, ThermoMicroscopes, Santa Clara, California, EE.UU.] que llevaba una punta integrada de perfil estándar.

Los resultados se muestran en la Figura 2 y la Figura 3. En la Figura 2: Imagen A = 0,1 mg/ml de DNA e Imagen B = 0,1 mg/ml de DNA + 0,1 mg/ml de heparina. Se mostró que la adición de heparina al DNA altera la estructura de la red de DNA, aumentando el tamaño medio de poro de 180 μm (desviación estándar de 30) a 780 μm (desviación estándar de 150).

La Figura 3 muestra los resultados con concentraciones menores de heparina. La Imagen A muestra los resultados para DNA no tratado; la Imagen B para DNA tratado con 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de heparina; la Imagen C para DNA tratado con 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de heparina; y la Imagen D para DNA tratado con 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de heparina.

Ejemplo 3

Evaluación de pacientes

Una paciente de 81 años de edad con ALD (una ex fumadora que había dejado de fumar hacía 6 años) inhaló heparina no fraccionada en una dosis de 50.000 unidades dos veces al día durante 14 días. Aunque no hubo cambio en la espirometría a lo largo de este corto período, hubo una acusada mejoría en cuanto a los síntomas de tos y un aclaramiento mejorado de esputos.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un glicosaminoglicano o de una sal fisiológicamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para facilitar el aclaramiento de moco de las vías aéreas centrales y periféricas de un sujeto humano con limitación crónica del flujo aéreo (CAL) que presenta hipersecreción de moco, en el que el citado glicosaminoglicano o la sal tienen un peso molecular medio de 12 a 18 kilodáltones.

2. Un uso de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el sujeto humano tiene un FEV₁ del 10 al 75% del valor previsto.

3. Un uso de acuerdo con la Reivindicación 1 ó 2, en el que el sujeto padece una infección bacteriana o vírica.

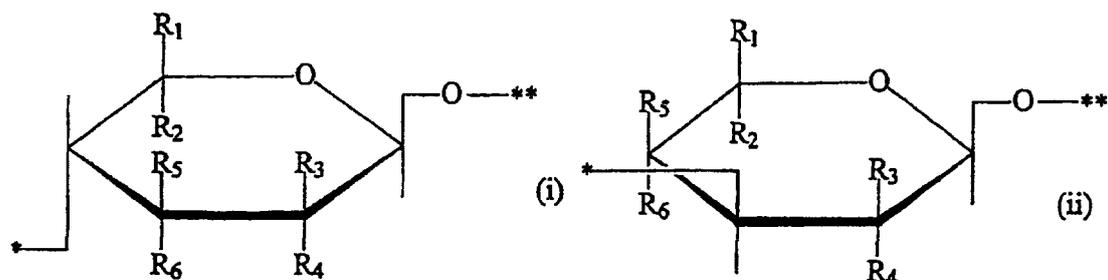
4. Un uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el moco contiene DNA genómico extracelular.

5. Un uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el glicosaminoglicano o la sal fisiológicamente aceptable comprende unidades repetitivas de disacárido de fórmula general (1)



en la que:

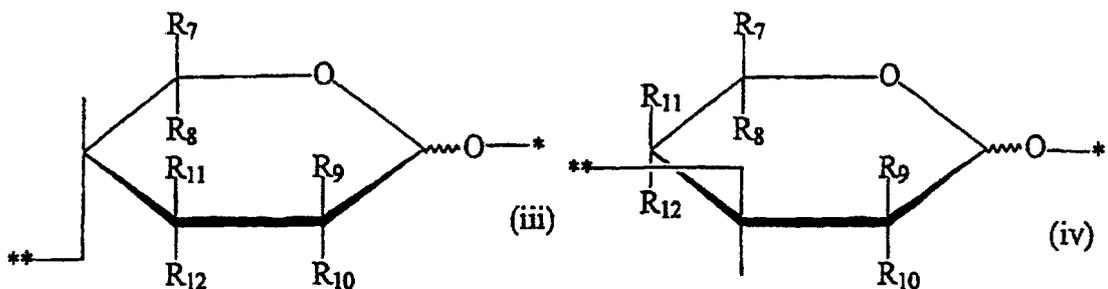
cada A es igual o diferente y representa un grupo de fórmula (i) o (ii)



en las que:

- uno de R₁ y R₂ es hidrógeno y el otro es -CO₂H, -SO₃H o -CH₂OR en que R es hidrógeno o -SO₃H;
- uno de R₃ y R₄ es hidrógeno y el otro es -OR en que R es hidrógeno o -SO₃H;
- uno de R₅ y R₆ es hidrógeno y el otro es -OH;
- * representa un enlace directo a un átomo de hidrógeno o un grupo B adyacente; y
- ** representa un enlace directo a un grupo B adyacente;

cada B es igual o diferente y representa un grupo de fórmula (iii) o (iv):



en las que:

- uno de R₇ y R₈ es hidrógeno y el otro es -CH₂OH o -CH₂OSO₃H;
- uno de R₉ y R₁₀ es hidrógeno y el otro es -NHAc, -NH₂ o -NHSO₃H;

ES 2 315 479 T3

- uno de R_{11} y R_{12} es hidrógeno y el otro es -OH o -OSO₃H;

- ~ indica un enlace con cualquier orientación estereoquímica;

5 - * representa un enlace directo a un átomo de hidrógeno o un grupo A adyacente; y

- ** representa un enlace directo a un grupo A adyacente;

o una sal fisiológicamente aceptable del mismo.

10

6. Un uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el glicosaminoglicano es sulfato de condroitina A, sulfato de condroitina C, heparina, sulfato de heparina, heparano, sulfato de heparano, un derivado de cualquiera de los mismos o una mezcla de dos cualesquiera de los mismos.

15

7. Un uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que se usa la sal sódica de heparina o sulfato de heparina.

8. Un uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el glicosaminoglicano o la sal:

20

(a) tiene un peso molecular medio de 14 a 18 kDa;

(b) tiene actividad anticoagulante; y/o

(c) no ha sido sometido a fragmentación ni/o despolimerización.

25

9. Un uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el medicamento es:

(a) administrado por medio de inhalación, intranasalmente y/o por medio de instilación;

30

(b) un polvo seco;

(c) para tratar a un sujeto que tiene un FEV₁ que es del 20 al 50% del valor previsto para un sujeto equivalente que no padece CAL; y/o

35

(d) para uso en la reducción del taponamiento por moco.

10. Un uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el sujeto es o ha sido un fumador.

40

11. Un glicosaminoglicano o una sal fisiológicamente aceptable del mismo para uso en la facilitación del aclaramiento de moco de las vías aéreas centrales y periféricas de un sujeto humano con limitación crónica del flujo aéreo (CAL) que presenta hipersecreción de moco, en que el citado glicosaminoglicano o la sal tienen un peso molecular medio de 12 a 18 kilodáltones.

45

50

55

60

65

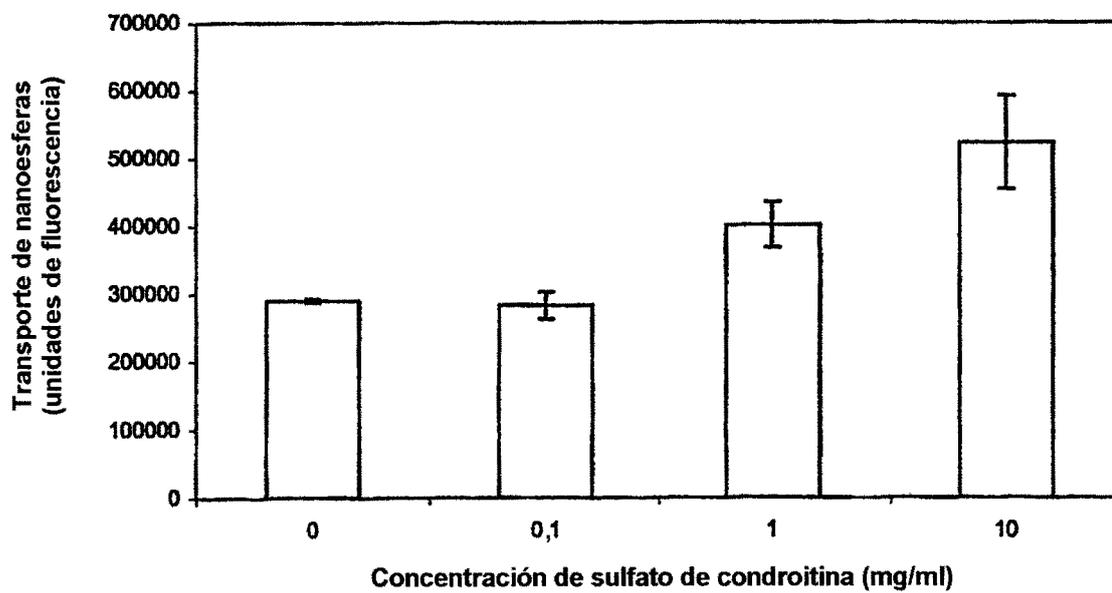
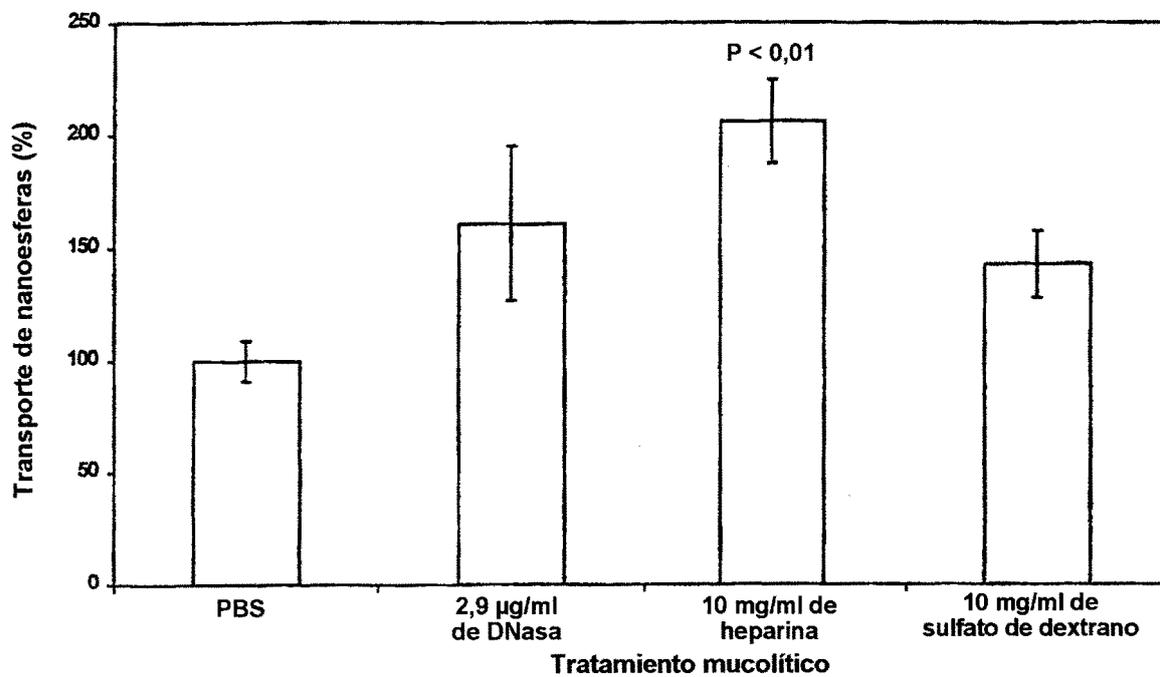
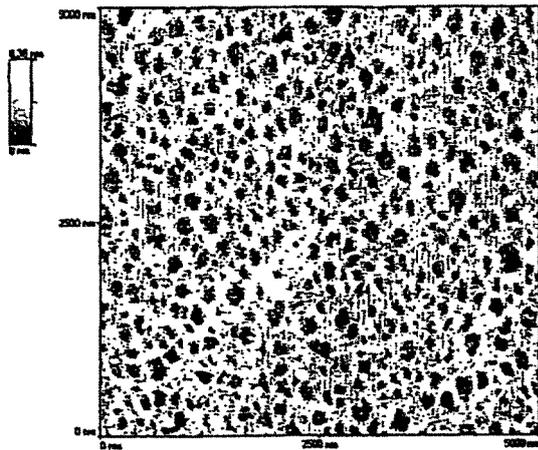


FIGURA 1

A.



B.

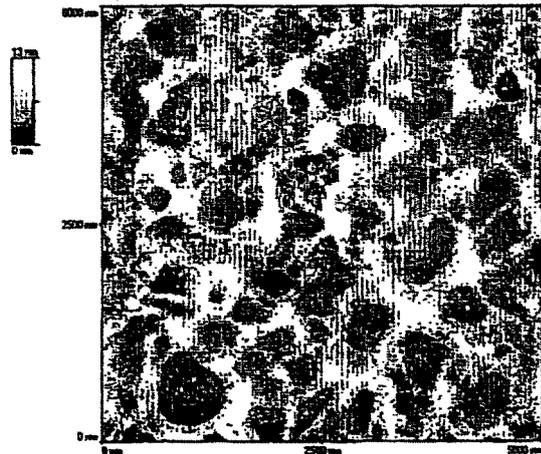
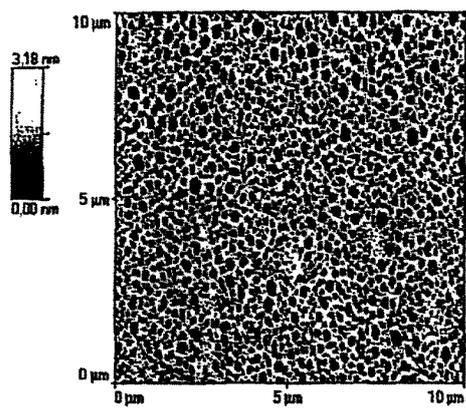
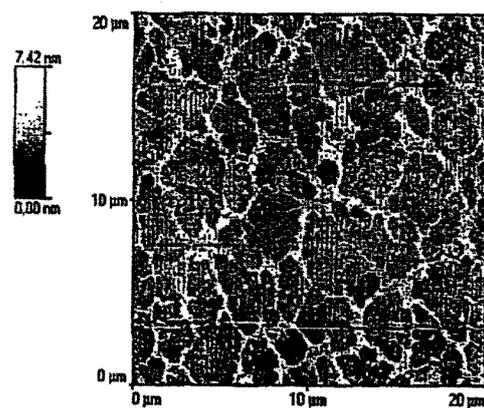


FIGURA 2

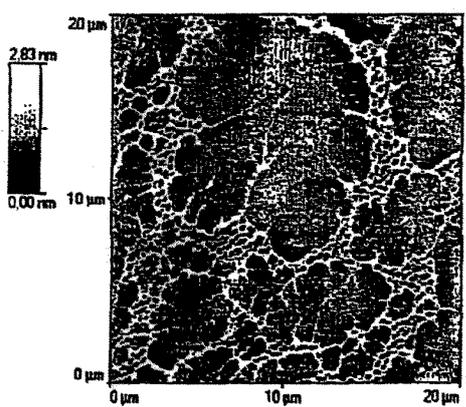
A.



B.



C.



D.

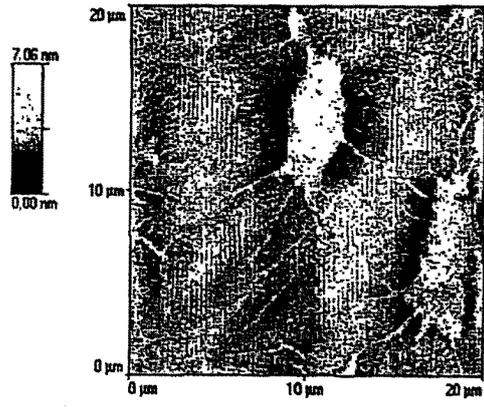


FIGURA 3