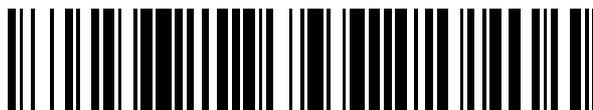


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 955**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/185** (2006.01)  
**A61K 31/205** (2006.01)  
**A61K 31/505** (2006.01)  
**A61K 31/66** (2006.01)  
**A61P 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08801690 .2**  
96 Fecha de presentación: **25.08.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2200603**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.06.2010**

54 Título: **OSMOLITOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DE LAS VÍAS RESPIRATORIAS  
CONDICIONADAS DE MANERA ALÉRGICA.**

30 Prioridad:  
**27.08.2007 DE 102007040615**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**26.12.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**26.12.2011**

73 Titular/es:  
**BITOP AG  
STOCKUMER STRASSE 28  
58453 WITTEN, DE**

72 Inventor/es:  
**KRUTMANN, Jean;  
LENTZEN, Georg y  
SCHWARZ, Thomas**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 370 955 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

Osmolitos para el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias condicionadas de manera alérgica

Los osmolitos de microorganismos extremófilos forman un grupo conocido de sustancias protectoras de bajo peso molecular. Los extremófilos son microorganismos muy extraordinarios, dado que crecen de manera óptima. por ejemplo. a concentraciones de sal elevadas (hasta 200 g de NaCl/l) y temperaturas elevadas (60-110°C), que en el caso de los organismos mesófilos ("normales") conducirían a daños masivos de las estructuras celulares. En los últimos años se ha dedicado por tanto un gran esfuerzo de investigación para identificar los componentes bioquímicos que conducen a la notable estabilización térmica, química y física de las estructuras celulares. Aunque muchas enzimas de microorganismos hipertermófilos también son estables a temperaturas elevadas, esto no es aplicable en general para las estructuras celulares de organismos termófilos e hipertermófilos. A la elevada estabilidad frente a la temperatura de las estructuras celulares contribuyen en una medida considerable sustancias orgánicas de bajo peso molecular (solutos compatibles, osmolitos) en el medio intracelular. Diversos osmolitos novedosos pudieron identificarse por primera vez en los últimos años en microorganismos extremófilos. En algunos casos ya pudo mostrarse el aporte de estos compuestos a la protección de estructuras celulares frente al calor y la sequedad (Lippert, K., Galinski, E.A. (1994), Appl. Microbiol. Biotech. 37, 61-65; Louis, P., Trüper, H.G., Galinski, E.A. (1994), Appl. Microbiol. Biotech. 41, 684-688; Ramos, Raven, Sharp, Bartolucci, Rossi, Cannio, Lebbink, v. d. Oost, de Vos, Santos (1997), Appl. Environm. Microbiol. 63, 4020-4025; Da Costa, Santos, Galinski (1998), Adv. In Biochemical Engineering Biotechnology, 61, 117-153).

Las células humanas o animales no forman los osmolitos encontrados en los microorganismos extremófilos (solutos compatibles).

### Enfermedades alérgicas de las vías respiratorias

A nivel mundial, el número de enfermedades alérgicas está aumentando enormemente. Estudios han dado como resultado que a nivel mundial en promedio el 7,5% de todos los niños y adolescentes padecen rinoconjuntivitis (fiebre del heno de naturaleza alérgica, combinada con síntomas en los ojos) (Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema: ISAAC, Lancet, 351, 1225-1332, 1998). A pesar de actividades de investigación intensas, aún no se ha aclarado completamente la patogénesis de la rinoconjuntivitis. Aún cuando en los últimos años se han conseguido avances claros en el tratamiento con medicamentos de esta enfermedad, la terapia aún no es satisfactoria. Los síntomas agudos (picor, irritación, hinchazón, goteo nasal o lagrimeo) de la rinoconjuntivitis pueden combatirse bien entre otros con ayuda de antihistamínicos. Sin embargo apenas tienen una influencia terapéuticamente relevante sobre la inflamación que siempre va a más y en la que se basa la enfermedad. Esta inflamación es una reacción de defensa del organismo y sus tejidos frente a estímulos dañinos con el objetivo de subsanar el daño o al menos limitarlo localmente así como eliminar el origen del daño (por ejemplo. los cuerpos extraños o bacterias que han entrado). Los desencadenantes de esta inflamación pueden ser microorganismos (bacterias, virus, hongos o parásitos), cuerpos extraños (polen, cristales de silicato o asbesto), destrucción del tejido por daño mecánico, sustancias químicas nocivas e influencias físicas así como desencadenantes propios del cuerpo (células tumorales en división, sangre extravasada, reacciones autoinmunitarias) o cristales de sustancias precipitadas en el cuerpo (ácido úrico, fosfato y oxalato de calcio, colesterol). Mediante la acción de las sustancias nocivas se producen en el cuerpo, con la ayuda de las células T cooperadoras, la liberación de mediadores de inflamación, en particular histamina junto con interleucina-8, leucotrienos y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) con lo que se activa en el cuerpo la cascada posterior para combatir la inflamación. En el transcurso del perjuicio por las sustancias nocivas mencionadas anteriormente se genera también una influencia sobre las moléculas de adhesión de los epitelios afectados por la influencia externa, éstas se producen con mayor o menor intensidad condicionado directamente por la sustancia nociva o por la reacción propia del cuerpo. Por ejemplo. por el perjuicio se expresa la molécula ICAM-1 con mayor intensidad en las células afectadas.

### Rinitis alérgica y asma

Los alérgenos en el aire respirado desencadenan reacciones en el tracto respiratorio, normalmente con edema de la mucosa e hipersecreción (rinitis alérgica, fiebre del heno) así como broncoespasmos (asma). Por el contrario, los alérgenos alimenticios en primera línea síntomas gastrointestinales tales como malestar, vómitos y diarrea. La piel reacciona a los alérgenos con picor, hinchazón y urticaria así como dermatitis atópica (neurodermitis). Por el contrario si el alérgeno llega directamente al torrente sanguíneo (por ejemplo. infusión de productos sanguíneos, medicamentos) o si la exposición a los alérgenos es especialmente intensa, resulta una reacción sistémica inmediata que eventualmente provoca una disminución de la tensión arterial potencialmente mortal (choque anafiláctico). La acción de los osmolitos (en particular de la ectoína) para su aplicación en el caso de dermatitis atópica y en el caso de inflamaciones del tracto gastrointestinal se describe en la solicitud de patente alemana DE 103 30 243.3 (Osmolitos para el tratamiento de la neurodermitis) y la solicitud de patente alemana DE 102005011 442.3 (Medios que contienen solutos compatibles para uso oral) y forman parte del estado de la técnica.

El tratamiento de inflamaciones agudas y/o crónicas de la fosa nasal principal y/o de las fosas nasales secundarias se realiza principalmente con pulverizaciones nasales antiinflamatorias, pulverizaciones nasales que contienen cortisona, sustancias expectorantes o antibióticos. Todas las sustancias mencionadas van acompañadas de efectos secundarios. Las pulverizaciones nasales que contienen cortisona desencadenan a menudo por sí mismas reacciones alérgicas.

A menudo se considera la rinitis alérgica (rinoconjuntivitis) tanto por los pacientes como por el médico como una enfermedad sin importancia y se trata por consiguiente sólo de manera insuficiente. Sin embargo, como consecuencia puede producirse un denominado cambio de estadio, es decir, a partir de la rinitis relativamente inofensiva se desarrolla el asma bronquial que ha de tomarse muy en serio. Por este motivo es imprescindible tratar ya la rinoconjuntivitis alérgica de manera suficiente e intensa o prevenirla. Sólo entonces los pacientes pueden vivir sin molestias y sólo entonces puede impedirse un cambio de estadio potencialmente mortal de manera eventual.

En el momento actual, los corticosteroides pueden combatir la inflamación en la que se basa la rinoconjuntivitis de la manera más eficaz. Muchos pacientes, pero también médicos, no utilizan sin embargo estos medicamentos debido a sus posibles efectos secundarios sistémicos (por ejemplo, ralentización del crecimiento, osteoporosis) en absoluto o sólo con reticencia, en la mayoría de los casos no hasta una fase tardía de la enfermedad.

Los antihistamínicos se utilizan en la fase aguda de la rinoconjuntivitis alérgica para aliviar los síntomas a menudo muy molestos. Sin embargo la administración sistémica de antihistamínicos, a pesar del desarrollo de nuevos antihistamínicos, tienen en función del usuario efectos secundarios sedantes (incapacidad para conducir, somnolencia), que limitan considerablemente su utilización. Si bien las preparaciones de nueva generación tienen considerablemente menos efectos secundarios, sin embargo también tienen en muchos casos una eficacia considerablemente peor.

Sorprendentemente se encontró ahora que la aplicación de osmolitos, tal como, por ejemplo, ectoína, en una forma que debe aplicarse, por ejemplo, por vía nasal para la profilaxis y el tratamiento de la "rinitis alérgica (fiebre del heno)", es ventajosa. El fundamento se basa en la observación de que en las células epiteliales de la nariz, en el marco de la reacción inflamatoria que es típica para la rinitis alérgica (fiebre del heno), mediante la interacción de las células epiteliales con el alérgeno relevante (por ejemplo, polen) se produce en estas células una regulación por incremento de moléculas de adhesión, tal como, por ejemplo, ICAM-1, que es la condición previa para la formación de los síntomas clínicos de catarro. Los inventores observaron que la regulación por incremento de la ICAM-1 puede inhibirse mediante estímulos proinflamatorios mediante ectoína. Por tanto puede utilizarse una forma de aplicación nasal que contiene osmolitos para el tratamiento y la profilaxis de la fiebre del heno. Debido a la acción física de los osmolitos, que exclusivamente modifica la estructura del agua, prácticamente pueden descartarse los efectos secundarios típicos específicos de los esteroides.

Sorprendentemente se encontró además que la administración tópica con ayuda de una pulverización nasal sobre los epitelios nasales es ventajosa por diferentes motivos. La administración puede tener lugar a este respecto de manera simultánea, secuencial o por separado. La administración tópica de la pulverización nasal que contiene osmolitos es responsable de la eliminación rápida de los síntomas agudos (por ejemplo, irritación, picor, hinchazón), sin que aparezcan efectos secundarios. Con el osmolito contenido en la preparación puede combatirse satisfactoriamente la inflamación en la que se basa el cuadro clínico. A menudo en casos límite el médico tratante no puede establecer con total seguridad, si se trata todavía "sólo" de una rinoconjuntivitis o si ya se trata de una enfermedad de las vías respiratorias, tal como asma bronquial. Es ventajoso que la combinación según la invención también puede utilizarse para el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias superiores e inferiores.

Sorprendentemente se encontró adicionalmente que los efectos secundarios de pulverizaciones nasales que contienen principio activo (por ejemplo, pero no exclusivamente, glucocorticoides, antihistamínicos) mediante la adición de osmolitos pueden reducirse considerablemente. En este sentido podría usarse los osmolitos en combinación con otros principios activos y reducir así la concentración de utilización necesaria de la otra sustancia. Otra posibilidad sería la administración preventiva de osmolitos, que debilitan directamente el perfil de efectos secundarios de las sustancias que deban administrarse posteriormente. Esto hace interesante la combinación general de extremolitos con esteroides. Por tanto también tiene sentido una terapia de combinación de osmolitos (en particular ectoína e hidroxiectoína) con otros principios activos administrados por vía intranasal o por vía intraocular, que provocan los efectos secundarios no deseados. En este sentido también es concebible añadir a los osmolitos formulaciones de principios activos, que se administran por vía nasal o por vía ocular para el tratamiento de una enfermedad de un órgano (por ejemplo, cáncer), pero que desarrollan un efecto secundario inflamatorio sobre el epitelio nasal. La administración conjunta de osmolitos con, por ejemplo, glucocorticoides o antihistamínicos, o la administración preventiva de osmolitos antes de un tratamiento con estas sustancias podría ser como principio general también una posibilidad eficaz en otras formas de aplicación (por vía tópica, por vía dérmica, por vía intraperitoneal, por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía oral) para reducir los efectos secundarios de las sustancias o mediante la combinación de los principios activos de osmolitos con los de los principios activos aplicados simultánea o posteriormente para reducir la concentración de utilización de los principios activos, con lo

que se produce un perjuicio reducido del paciente tratado.

5 En el caso de los solutos compatibles (osmolitos) se trata preferiblemente de ectoína, ácido 4,5,6,7-tetrahidro-2-metil-1H-[1,3]-diazepin-4-S-carboxílico (homoectoína), hidroxiectoína, fosfato de di-mio-inositol (DIP), 2,3-difosfoglicerato cíclico (DPGc), fosfato de 1,1-di-glicerina (DGP), glicerato de β-manosilo (firoína), β-manosilgliceramida (firoína-A), fosfato de di-manosil-di-inositol (DMIP), glucosilglicerina, taurina, betaína, citrulina y/o un derivado de estos compuestos tales como sales, ésteres o ácidos. La concentración de los solutos compatibles se encuentra normalmente entre el 0,01 y el 20% en peso, preferiblemente entre el 0,1 y el 10% en peso, de manera especialmente preferible entre el 0,1 y el 5% en peso, con respecto al peso total.

10 Mediante una administración adaptada al respectivo tratamiento, aplicación e indicación de los osmolitos pueden conseguirse las concentraciones eficaces ya con dosificaciones reducidas. La administración del osmolito permite combatir las reacciones molestas tales como picor, flujo nasal e impide la progresión de la inflamación. Por tanto cabe esperar una mayor conformidad de los pacientes.

15 En particular en el caso de la administración intranasal o intraocular no se produce una acción rápida, sino también una eficacia terapéutica elevada, que va acompañada de una acción antiinflamatoria intensa. La presente invención se basa por tanto en el objetivo de poner a disposición agentes para la prevención o el tratamiento de reacciones de hipersensibilidad inmunológica, en particular de rinitis alérgica, que representen un enfoque más amplio (de manera intencionada no mono-específico), con pocos efectos secundarios y con ello más eficaz. Un aspecto de la presente invención consiste en el uso de osmolitos para la preparación de un fármaco o una especialidad farmacéutica, por ejemplo, en forma de una pulverización nasal o en forma de colirio para la prevención o el tratamiento de la rinitis alérgica al debilitar, mediante la protección mediada por osmolitos de las células epiteliales de la nariz, la expresión de productos génicos proinflamatorios (por ejemplo, ICAM1) en el marco de reacciones inflamatorias.

20 La dosificación puede tener lugar varias veces al día, dependiendo la dosis individual del osmolito usado y en particular del estado general del paciente (edad, peso, etc.) y del grado de gravedad de la enfermedad.

25 Para la aplicación tópica pueden tenerse en cuenta diferentes formulaciones farmacéuticas, por ejemplo, pulverizaciones nasales, gotas nasales y colirio. Debido a la solubilidad en agua del principio activo osmolito (preferiblemente ectoína), las formulaciones con estos principios activos pueden formularse preferiblemente como disoluciones acuosas.

30 Además de los osmolitos eficaces, las preparaciones farmacéuticas según la invención pueden contener componentes adicionales tales como conservantes, estabilizadores, agentes isotónicos, espesantes, estabilizadores de suspensión, sustancias auxiliares para el ajuste del pH, sistemas tampón y agentes humectantes. Las preparaciones farmacéuticas según la invención pueden contener además componentes eficaces adicionales tales como antihistamínicos o principios activos esteroideos (por ejemplo, loteprednol etabonato).

35 Como conservantes se tienen en cuenta: cloruro de benzalconio, clorobutanol, tiomersal, metilparabeno, propilparabeno, ácido sórbico y sus sales, edetato de sodio, alcohol feniletílico, digluconato de clorhidrato de clorhexidina, acetato de clorhidrato de clorhexidina, bromuro de cetilpiridinio, cloruro de cetilpiridinio, clorocresol, acetato de fenilmercurio, nitrato de fenilmercurio, borato de fenilmercurio, fenoxietanol.

Sustancias auxiliares adecuadas para el ajuste de la isotonía de las formulaciones son, por ejemplo: cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol, glucosa, sorbitol, glicerol, propilenglicol. En general estas sustancias auxiliares se utilizan en concentraciones de desde el 0,1 hasta el 10%.

40 Las formulaciones de la invención puede contener igualmente sistemas tampón adecuados u otras sustancias auxiliares para el ajuste del pH, para ajustar y mantener un valor de pH en el orden de magnitud de 4-8, preferiblemente de desde 5 hasta 7,5. Sistemas tampón adecuados son citrato, fosfato, trometamol, glicina, borato, acetato. Estos sistemas tampón pueden prepararse a partir de sustancias tales como ácido cítrico, fosfato de monosodio, fosfato de disodio, glicina, ácido bórico, tetraborato de sodio, ácido acético o acetato de sodio.

45 Pueden usarse igualmente sustancias auxiliares para el ajuste del pH tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Como agentes humectantes para las formulaciones se tienen en cuenta: cloruro de benzalconio, cloruro de cetilpiridinio, Tyloxapol, diferentes polisorbatos [Tween<sup>TM</sup>] así como poloxámeros y sustancias polioxetiladas adicionales.

El siguiente ejemplo de una pulverización nasal ilustra la invención.

Pulverización nasal con ectoína (0,1%)

- Colocar previamente en un recipiente con mecanismo de agitación adecuado aproximadamente 45 kg de agua purificada. Añadir a esto sucesivamente el principio activo ectoína, hidroxipropilmetilcelulosa, acetato de sodio, cloruro de benzalconio y disolución de sorbitol y disolver con agitación. Enrasar la disolución generada con agua purificada hasta un volumen de 49,5 litros. Ajustar el valor de pH de la disolución con solución cáustica 1 N a pH 6,0.
- 5 Enrasar con agua purificada hasta el volumen final de 50,0 litros y agitar. Filtrar la disolución mediante un filtro adecuado y verter en frascos, que a continuación se equipan con una bomba de pulverización nasal adecuada.

**Estudios de eficacia****Ejemplo 1**Tratamiento de la sensibilización e inducción de reacciones alérgicas en ratones con ovoalbúmina (OVA)

- 10 La sensibilización de ratones de siete semanas de edad de la estirpe endogámica Balb/c tuvo lugar mediante la inyección intraperitoneal de una mezcla de ovoalbúmina e hidróxido de aluminio en un volumen total de 200 µl de tampón (PBS). En total la inyección tuvo lugar dos veces, el día 0 y el día 14. El tamaño de grupo por grupo estudiado ascendió a n=8.
- 15 Para provocar a continuación una reacción alérgica en el pulmón de los ratones, es decir, desencadenar el asma alérgica aguda, se trataron por inhalación los ratones el día 28 y el día 38 en cada caso durante 30 minutos con aerosol de ovoalbúmina. Para esto se colocaron los ratones en una cámara de plexiglás. En ésta se introdujo en forma nebulizada a través de un inhalador una disolución de OVA al 1%.

Tratamiento de los animales con disolución de ectoína o solución salina al 0,9%

- 20 Para el tratamiento de los animales con ectoína se anestesiaron los animales por medio de una mezcla de ketamina y Rompun. Entonces se aplicaron por medio de capilares de vidrio delante del orificio nasal 50 µl de una disolución estéril de ectoína o solución salina al 0,9%, hasta que ésta se inhaló completamente. Los 14 tratamientos en total comenzaron el día 0. El último tratamiento tuvo lugar el día 32.

Resultado

- 25 Como criterios de valoración del estudio se determinaron la hiperreactividad bronquial por medio de pletismógrafos, la composición celular del lavado broncoalveolar (BAL) y la liberación de anticuerpos anti-IgE e IgG1 específicos de OVA.
- Pudo establecerse claramente una influencia positiva del tratamiento con disolución de ectoína en comparación con el tratamiento con solución salina al 0,9% con respecto a estos criterios de valoración.

**Ejemplo 2****30 Sensibilización e inducción de asma alérgica en ratas con ovoalbúmina (OVA)**

- En el ensayo se utilizaron 4 grupos de tratamiento, un grupo de referencia, un grupo control negativo aparentemente sensibilizado y tratado con vehículo y un grupo control positivo tratado con vehículo. El tamaño de grupo ascendió a n=16.
- 35 En la primera etapa del ensayo se sensibilizaron sistémicamente todos los animales de los grupos, excepto el grupo aparentemente sensibilizado, frente a la ovoalbúmina (Ova) más adyuvantes, el control negativo recibió NaCl. Los días 7 y 14 se les administró a los animales una dosis de refuerzo de Ova por vía intratraqueal (refuerzo de la sensibilización). 48 h, 24 h y 2 h antes de la exposición inhalatoria final al alérgeno tuvo lugar un pretratamiento intratraqueal con la sustancia de prueba, ectoína, en tres grados de dosificación en tres grupos así como con el control positivo. Los dos grupos de control obtuvieron a este respecto sólo NaCl. Tras la finalización de la fase de
- 40 espera se anestesiaron entonces los animales, se les intubó por vía orotraqueal con cuidado y tras colocar un catéter esofágico y alcanzar un estado estacionario se midió mediante pletismografía corporal en primer lugar la función pulmonar antes de la provocación (inclusive parámetros tales como volumen de ventilación pulmonar, frecuencia respiratoria, conformidad dinámica y resistencia pulmonar). El almacenamiento y la evaluación de los datos tuvieron lugar con un programa informático desarrollado especialmente para estas pruebas de función
- 45 pulmonar (HEM, Notocord/Francia). Entonces tuvo lugar una exposición inhalatoria definida de los animales de ensayo frente al alérgeno, ovoalbúmina (exposición a ovoalbúmina, modelo de una reacción asmática inducida alérgicamente).

Influencia de la disolución de ectoína sobre la reacción alérgica prematura

Durante y tras la exposición se continuó con el registro de los parámetros de la función pulmonar para detectar el broncoespasmo.

5 Pudo establecerse una influencia positiva clara de la disolución de ectoína sobre los parámetros de la función pulmonar en comparación con el control negativo.

Influencia de la disolución de ectoína sobre la reacción alérgica tardía

10 Se estudió la fase alérgica tardía 24 h tras la exposición a ovoalbúmina. En primer lugar se estudiaron los animales para determinar su hiperreactividad de las vías respiratorias frente a estímulos no específicos. Para ello se realizó una prueba de hiperreactividad en forma de una provocación con acetilcolina inhalatoria creciente gradualmente. Después se sacrificaron sin dolor los animales y se lavaron los pulmones (BAL). A partir del líquido de lavado se determinó el número de células total y recuento celular diferencial inclusive el número de eosinófilos en el BAL.

Pudo establecerse claramente una influencia positiva del tratamiento con disolución de ectoína en comparación con el tratamiento con el control negativo sobre la reacción alérgica tardía.

**Ejemplo 3**

15 Influencia de la pulverización nasal de ectoína sobre la reacción alérgica en el ser humano

En un estudio cruzado, doble ciego, aleatorizado, con 20 pacientes, que padecen rinitis alérgica, se estudió el efecto de una pulverización nasal de ectoína sobre la reacción tras una “exposición al alérgeno”.

20 Se estimularon los pacientes por vía nasal al principio del estudio con un alérgeno definido y se midió la reacción alérgica mediante diferentes parámetros. Después de esto se realizó un tratamiento de 2 semanas con pulverización nasal de ectoína o pulverización nasal placebo (NaCl al 0,9%) y se realizó una nueva estimulación con el alérgeno definido junto con medición de la reacción alérgica.

Tras una fase de lavado suficiente se trataron los pacientes de manera cruzada análogamente con la pulverización nasal de ectoína o la pulverización nasal placebo.

25 Por consiguiente pudo compararse la acción de la pulverización nasal de ectoína de manera intraindividual e interindividual con la disolución placebo. Pudo mostrarse que la pulverización nasal de ectoína mejoraba considerablemente los síntomas de la rinitis alérgica en este estudio en comparación con la pulverización nasal placebo.

**Ejemplo 4**

Reducción de la expresión de ICAM-1 mediante DGP

30 Se trataron previamente queratinocitos humanos durante 24 h con DGP. Tras la irradiación con radiación UVA (sustancia nociva ambiental) se midió la cantidad de ICAM-1. El DGP inhibió la expresión en un 49%.

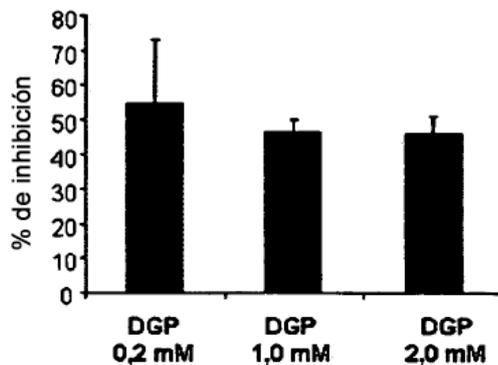


Figura: Inhibición de la expresión de ICAM-1 mediante DGP a diferentes concentraciones de utilización

**Ejemplo 5**

Inhibición de la expresión de ICAM-1 mediante ectoína

5 Se midió la expresión de ICAM-1 con PCR con transcriptasa inversa diferencial (RT-PCR) y el kit de Applied Biosystem. Para tener en cuenta las fluctuaciones normales en la expresión génica de las células epiteliales se relativizó la expresión de ICAM-1 con respecto al gen de  $\beta$ -actina doméstico (*house-keeping*) formado de manera constitutiva. Se realizó el análisis semicuantitativo de la RT-PCR con una cromatografía de intercambio iónico con un espectrofotómetro UV (A260). (A) Control irradiado, no tratado previamente, (B) incubado previamente con RonaCareTMEctoin 1 mM durante 24 h e irradiado con una dosis individual de  $30 \text{ J/cm}^2$  o (C) incubado previamente con ectoína 1 mM durante 24 h, sin irradiación, con el medio celular incubado previamente durante 24 h. La radiación UVA indujo una regulación por incremento de la expresión de ICAM-1. El pretratamiento de queratinocitos con ectoína 1 mM puede subsanar casi completamente la inducción de ICAM-1 inducida mediante radiación UVA en todo momento.

10

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Medicamento que contiene como principio activo al menos un soluto compatible, seleccionado del grupo que consiste en ectoína, ácido 4,5,6,7-tetrahidro-2-metil-1H-[1,3]-diazepin-4-S-carboxílico (homoectoína), hidroxiectoína, fosfato de di-mio-inositol (DIP), 2,3-difosfoglicerato cíclico (DPGc), fosfato de 1,1-di-glicerina (DGP), glicerato de  $\beta$ -manosilo (firoína),  $\beta$ -manosilgliceramida (firoína-A), fosfato de di-manosil-di-inositol (DMIP), glucosilglicerina, betaína y/o derivados de este compuesto seleccionado de sales, ésteres o ácidos, para su aplicación en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias condicionadas de manera alérgica.
2. Medicamento para su aplicación según la reivindicación 1, caracterizado porque la enfermedad de las vías respiratorias es rinitis alérgica o asma.
- 10 3. Medicamento para su aplicación según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque el soluto compatible se encuentra en una concentración de desde el 0,01 hasta el 20% en peso, preferiblemente del 0,1 al 10% en peso, de manera especialmente preferible del 0,1 al 5% en peso con respecto al peso total.
4. Medicamento para su aplicación según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el medicamento se encuentra en una forma de aplicación líquida o semilíquida.
- 15 5. Medicamento para su aplicación según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el medicamento se encuentra en forma de una pulverización, en forma de colirio o gotas nasales o como preparación sólida o líquida inhalable.
6. Medicamento para su aplicación según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque el medicamento contiene al menos un antihistamínico o un esteroide, en particular un glucocorticoide.
- 20 7. Medicamento para su aplicación según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el medicamento contiene al menos un estabilizador de mastocitos, un modificador de receptor de leucotrienos y/o un simpaticomimético  $\beta$ 2.