



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 371 398**

② Número de solicitud: 201030863

⑤ Int. Cl.:
A61K 31/445 (2006.01)
C07D 211/46 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **04.06.2010**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **02.01.2012**

⑭ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
02.01.2012

⑰ Solicitante/s: **BIOGLANE, S.L.N.E.**
c/ Tavern, 17 - 3º 4ª
08006 Barcelona, ES

⑱ Inventor/es: **Pumarola Segura, Sergio y**
Torres Simón, Josep Lluis

⑳ Agente: **Zea Checa, Bernabé**

㉔ Título: **Uso de un iminoazúcar como inhibidor de la adherencia a células epiteliales.**

㉖ Resumen:

Uso de un iminoazúcar como inhibidor de la adherencia a células epiteliales.

La presente invención se refiere al uso humano o veterinario de un iminoazúcar en la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota. También se refiere al uso de una combinación del mismo con otros agentes bioactivos en las indicaciones anteriores, y a una composición farmacéutica que contiene dicha combinación.

DESCRIPCIÓN

Uso de un iminoazúcar como inhibidor de la adherencia a células epiteliales.

5 Estado de la técnica

Las superficies de las mucosas constituyen el primer sitio de penetración al organismo humano de la mayoría de los agentes patógenos. La gran mayoría de estos agentes infecciosos afectan al huésped por contacto inicial sobre las superficies de las mucosas. Las superficies de las mucosas del organismo incluyen, las mucosas de la cavidad oral, las vías respiratorias, el tracto gastrointestinal y el tracto genitourinario. Por tanto se puede decir, que la adherencia bacteriana a las superficies de las mucosas se considera un prerrequisito muy importante para la colonización y la infección de las bacterias. Para que el primer paso de la infección bacteriana ocurra, una variedad de estructuras moleculares y macromoleculares, conocidas como adhesinas, que son entidades de unión bacterianas reconocen e interactúan con receptores situados en la superficie de las células hospedadoras.

Se han descrito tres tipos principales de interacciones entre las bacterias y las células hospedadoras vía adhesina-receptor. El primer tipo de interacción es debida a la unión de las lectinas con estructuras de carbohidratos. El segundo tipo se define por el reconocimiento de una proteína de la bacteria con una proteína complementaria en la superficie de la mucosa. El tercer tipo comprende la interacción entre moléculas hidrofóbicas.

Son conocidos ejemplos de inhibición de este tipo de uniones, así Sharon *et al.* en el documento "Bacterial adherence to cell surface sugars", *Ciba Found Symp.* 1981, vol. 80, pp 119-41, describe cómo la unión de cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* a células epiteliales es inhibida por D-manosa. Sin embargo, la concentración de manosa necesaria para que la inhibición se produzca es alta, alrededor de 0.05 M.

En el documento de Svensson *et al.* titulado "Glycolipid depletion in antimicrobial therapy", *Molecular Microbiology* 2003, vol. 47(2), pag. 453-461, se describe la reducción de las células uroepiteliales humanas, y la reducción de los receptores de *Escherichia coli* en la mucosa urinaria de ratones, mediante la N-butildeoxinojirimicina, y la N-butildeoxigalactonojirimicina. Estas moléculas inhiben la biosíntesis de los receptores de *Escherichia coli*.

En el documento EP1528056 se describen derivados de la molécula de deoxinojirimicina, que presentan un radical hidrofóbico derivado de un alcohol policíclico capaces de insertarse en la bicapa lipídica. Estas moléculas pueden utilizarse en el tratamiento de infecciones microbacterianas.

La infección con *Escherichia coli* es una de las causas principales que provocan la diarrea. La *Escherichia coli* también puede colonizar el tracto urinario provocando la infección urinaria. La capacidad de unión de la *Escherichia coli* a las células epiteliales es el paso inicial de las infecciones.

La adhesión bacteriana es un paso fundamental no sólo cuando las bacterias causan enfermedades, sino en su presencia habitual no patológica en las mucosas, como el caso de las bacterias que componen la microbiota.

El equilibrio de la microbiota se define como el mantenimiento de la flora normal o nativa en un sujeto, incluyendo un humano, esto es, que se mantenga el conjunto de microorganismos que viven de forma habitual en el cuerpo humano. Diferentes situaciones pueden alterar dicha microbiota, por ejemplo un tratamiento con antibióticos. El equilibrio de la microbiota se mantiene favoreciendo la unión de bacterias no patógenas e inhibiendo la adhesión de bacterias patógenas.

Por todo lo anterior, se puede ver la necesidad del desarrollo de inhibidores de la adherencia bacteriana que no tengan los inconvenientes de los inhibidores conocidos.

Explicación de la invención

Los inventores han encontrado que el iminoazúcar miglitol, inhibe la adherencia de determinadas bacterias a las células epiteliales, lo cual hace que el miglitol sea un compuesto útil para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota y patologías asociadas, causados por bacterias entéricas.

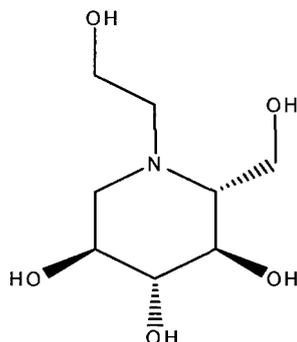
Una de las ventajas del miglitol es que concentraciones del orden de las ppm son suficientes para prevenir y/o tratar las infecciones. Otra ventaja es que no produce los efectos secundarios de otros inhibidores conocidos.

El miglitol es un fármaco para tratar la diabetes mellitus tipo 2 que previene la digestión de los carbohidratos polisacáridos en monosacáridos.

65

ES 2 371 398 A1

La fórmula de miglitol es la siguiente:



No hay nada descrito en el estado de la técnica que se refiera a la capacidad del miglitol para inhibir la adherencia a células epiteliales de bacterias entéricas, y su posible aplicación en la prevención y lo tratamiento coadyuvante de enfermedades donde la adherencia bacteriana sea un prerequisite para que la infección comience, o su uso para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de un desequilibrio de la flora microbiana o patologías asociadas.

La inhibición de la adherencia a las células epiteliales de bacterias patógenas se define como la reducción del contacto entre los receptores de la superficie de las células epiteliales y las entidades de unión originadas en las bacterias, las adhesinas, específicamente lectinas, de manera que se previenen la adhesión del agente infeccioso. Como se puede ver en los ejemplos de esta invención el miglitol inhibe la adherencia al mucus de la *Escherichia coli* y de la *Salmonella enterica*.

Ya que la adherencia mejora la supervivencia de la bacteria; la prevención de la adhesión, previene la infección. Existen evidencias que muestran que la adherencia de células epiteliales de las bacterias entéricas es requerida para la colonización y que la colonización es requerida para el subsiguiente desarrollo de los síntomas de la enfermedad, Ofek *et al.*, "Bacterial adhesion to animal cells and tissues", ASM Press 2003. capítulo 1.

Además, el miglitol es útil para mantener el equilibrio de la microbiota debido a que inhibe la unión de bacterias no beneficiosas, por ejemplo *Escherichia coli* y permite la unión de la beneficiosas. Por ello se puede decir que el miglitol inhibe la adherencia bacteriana a células epiteliales de una manera selectiva.

Por todo lo anterior, un aspecto de la presente invención se refiere al uso humano o veterinario del miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a los desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías son causados por una o más bacterias entéricas.

Este aspecto también puede ser formulado como miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a los desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías son causados por una o más bacterias entéricas.

La invención también se refiere a un método de prevención y/o tratamiento coadyuvante de un sujeto, incluyendo un humano, que sufre o es susceptible de sufrir una infección bacteriana, un desequilibrio de la microbiota o una patología asociada a los desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías son causados por una o más bacterias entéricas, donde dicho método comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva del miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. Dicho método de prevención y/o tratamiento coadyuvante tiene aplicación humana y veterinaria, en veterinaria preferiblemente en mamíferos y aves.

Ejemplos no excluyentes de sales de miglitol incluyen cloruros, sulfatos, acetatos, carbonatos y oxalatos.

Además, los compuestos de la invención pueden ser utilizados solos o en combinación con otros compuestos bioactivos. Así, otro aspecto de la invención se refiere al uso humano o veterinario de una combinación de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, mañosa, un agente antimicótico y un agente antibacteriano, para la preparación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a los desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías son causados por una o más bacterias entéricas.

Este aspecto también puede ser formulado como una combinación de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, mañosa, un agente

ES 2 371 398 A1

antimicótico y un agente antibacteriano, para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a los desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías son causados por una o más bacterias entéricas.

5 La invención también se refiere al método de prevención y/o tratamiento coadyuvante de un sujeto, incluyendo un humano, que sufre o es susceptible de sufrir una infección bacteriana, un desequilibrio de la microbiota o una patología asociadas a los desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías son causados por una o más bacterias entéricas, donde dicho método comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o
10 más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, mañosa, un agente antimicótico y un agente antibacteriano, junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. Dicho método de prevención y/o tratamiento coadyuvante tiene aplicación humana y veterinaria, en veterinaria preferiblemente en mamíferos y aves.

15 Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica para uso humano o veterinario para la administración secuencial, simultánea o separada, que comprende la combinación de miglitol o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, mañosa, un agente antimicótico y un agente antibacteriano, junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

20 El término “tratamiento coadyuvante” como se utiliza aquí se refiere a un tratamiento que contribuye, asiste o ayuda a curar o aliviar una enfermedad.

25 El término “una o más bacterias entéricas” como se utiliza aquí, se refiere a una o más bacterias iguales o diferentes que habitan, viven en, ocupan o pueblan en el tracto intestinal, tales como las bacterias de la familias *Enterococcaceae* y *Enterobacteriaceae*. La familia *Enterococcaceae* comprende, entre otras, las bacterias del género *Enterococcus*, tales como *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*. La familia *Enterobacteriaceae* comprende, entre otras, las bacterias de los géneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Shigella*. Algunos ejemplos de especies pertenecientes a la familia de las *Enterobacteriaceae* incluyen sin limitación *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella enterica* o *Shigella flexneri*.

30 El término “desequilibrios de la flora” como se utiliza aquí se refiere a una alteración del equilibrio del ecosistema de la microbiota.

35 El caso de desequilibrios en la flora gastrointestinal se conoce como disbiosis y tiene múltiples consecuencias negativas en animales incluyendo humanos, por ello es importante la conservación y el mantenimiento de la flora intestinal fisiológica, que tiene entre otras funciones conferir integridad a la mucosa intestinal, favorecer la resistencia a la colonización de gérmenes patógenos, permitir la producción de vitaminas B y K y promover el sistema inmunitario local. Patologías asociadas a los desequilibrios de flora intestinal o disbiosis son, déficit de vitamina B12, esteatorrea y síndrome de intestino irritable. Otras patologías relacionadas son la diarrea del viajero, la diarrea asociada a antibióticos y el estreñimiento.

40 El término “cantidad terapéuticamente efectiva” como se utiliza aquí, se refiere a una cantidad suficiente para prevenir el desarrollo, aliviar en alguna medida uno o más síntomas de la afección, enfermedad o síntoma a ser tratado, pero suficientemente pequeña como para evitar los efectos secundarios graves que puedan estar asociados. La dosis particular del compuesto administrado según la invención será determinada por las circunstancias concretas de cada caso, incluyendo el compuesto administrado, la ruta de administración, uso humano o veterinario, peso y edad del sujeto, gravedad de la enfermedad y el síntoma a ser tratado o consideraciones similares.

45 El término “farmacéuticamente aceptable” como se utiliza aquí se refiere a compuestos, materiales, composiciones, y/o dosis que, según criterio médico, pueden ser usadas en contacto con los tejidos de un sujeto, sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, que presente un ratio razonable beneficio/riesgo. Los portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables de la invención pueden encontrarse en los textos estándar farmacéuticos y pueden variar en función de si las composiciones farmacéuticas se aplican para uso humano o veterinario.

55 El término “células epiteliales” se refiere en este texto a cualquier célula epitelial que cubre la superficie externa del cuerpo así como las cavidades corporales.

60 El término “probiótico” se refiere en este texto a un microorganismo vivo que administrado en la cantidad adecuada proporciona beneficios saludables al hospedador. Los probióticos incluyen por ejemplo los microorganismos de la familia *Lactobacillaceae*, género *Lactobacillus*, y la familia *Bifidobacteriaceae*, género *Bifidobacterium*. Así, ejemplos de probióticos incluyen, sin limitación, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactococcus lactis*.

65 El término “agente antimicótico” se refiere en este texto a una sustancia que tiene la capacidad de evitar el crecimiento de algunas tipos de hongos o incluso de provocar su muerte. Algunos ejemplos no excluyentes de agentes antimicóticos incluyen polienos, como anfotericina B; alilaminas; imidazoles como clotrimazol y flutrimazol; tiocarbamatos y triazoles como fluconazol e itraconazol.

ES 2 371 398 A1

El término “agente antibacteriano” se refiere en este texto a una sustancia con carácter bactericida y/o bacterios-tático. Algunos ejemplos no excluyentes de agentes antibacterianos incluyen beta lactámicos, como derivados de la penicilina (ampicilina, amoxicilina), cefalosporina (cefazolin, cefuroxima), monobactámicos, carbapenemas, fluorqui-nolonas, aminoglicosídicos y cotrimoxazol.

5

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden, por ejemplo, tomar la forma de suspensiones, soluciones, y emulsiones del ingrediente activo en diluyentes acuosos o no acuosos, siropes, granulados, tabletas o polvos.

10 En una realización preferida, el miglitol o una de sus sales se utiliza para la prevención de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a los desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías asociadas son causados por una o más bacterias entéricas.

15 En otra realización preferida, la bacteria entérica es una bacteria de la familia *Enterobacteriaceae*. Más preferible-mente, la bacteria entérica pertenece a un género que se selecciona del grupo *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Shigella*. En una realización todavía más preferida, la bacteria entérica se selecciona del grupo que consiste en *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella enterica* y *Shigella flexneri*. En la realización más preferida, la bacteria entérica es *Salmonella enterica* o *Escherichia coli*.

20 En otra realización preferida, la infección bacteriana es una infección urinaria o una infección intestinal, más preferiblemente una infección intestinal. En una realización más preferida, el miglitol o una de sus sales se usa en la prevención de infecciones intestinales en humanos causadas por *Salmonella enterica*.

25 En otra realización preferida, el miglitol o una de sus sales se usa para la prevención y/o tratamiento coadyuvante patologías asociadas a los desequilibrios de la microbiota, donde la microbiota es flora intestinal. Más preferiblemente, el miglitol o una de sus sales se utiliza para la prevención de patologías asociadas a los desequilibrios de la flora intestinal.

30 En otra realización preferida, las patologías asociadas a los desequilibrios de la microbiota se seleccionan del grupo que consiste en: déficit de vitamina 12, esteatorrea y síndrome de intestino irritable.

35 En otra realización particular, el miglitol o una de sus sales se usa en una aplicación veterinaria en la prevención y/o tratamiento coadyuvante de una infección bacteriana causada por una bacteria entérica. En una realización más particular, dicha infección es la mastitis coliforme causada por *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, y *Klebsiella spp.* Estas especies se multiplican rápidamente en los cuartos de la ubre, pudiendo ocasionar mastitis gangrenosa y en algunos casos la muerte.

40 La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica para uso humano o veterinario que comprende miglitol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables junto con portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

45 Por último como ya se ha mencionado, el miglitol o una de sus sales se puede usar solo o en combinación con otros compuestos bioactivos tales como mañosa, un agente probiótico, un agente antimicótico o un agente antibacteriano. Particularmente, la presente invención se refiere a las combinaciones miglitol con un agente antibacteriano, miglitol con un probiótico, miglitol con un agente antimicótico, y miglitol con un probiótico y un agente antimicótico.

50 La combinación de miglitol con un probiótico se usa preferiblemente en aplicación intestinal, aunque también puede usarse en aplicación vaginal. En una realización más preferida, la invención se refiere a una combinación de miglitol con *Lactobacillus (rhamnosus, salivarius, plantarum, acidophilus o casei)*, con bifidobacterias (*bifidum, longum, infantis*) o con *Lactococcus lactis*.

55 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención. Además, la presente invención cubre todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas aquí indicadas.

60 Ejemplos

Ejemplo 1

Influencia del miglitol en la capacidad de adherencia a mucus por parte de las bacterias

65

Se investigó la influencia del miglitol en la capacidad de adherencia a mucus de *Escherichia coli* y de *Salmonella enterica*.

ES 2 371 398 A1

Protocolo de adhesión a Mucus

Día 1

5 En un tubo que contiene 3 ml de medio Luria se inocula una colonia de la cepa a ensayar con un hisopo estéril. Se incuba el tubo durante la noche (10^8 - 10^9 UFC (unidades formadoras de colonias)/ml).

Seguidamente se preparó la placa de mucus.

10 Se descongeló a temperatura ambiente un eppendorf que contiene 1 ml de mucus. Previamente se preparó PBS (tampón fosfato salino) (100 ml).

15 Cuando el mucus se descongeló, se centrifugó 10 minutos a 8000 rpm para que las impurezas se depositen en el fondo del eppendorf. El ml de mucus se transfirió a una alícuota con 99 ml de PBS estéril (1:100). Se depositó en cada pocillo 2,5 ml de la mezcla y se dejó la placa en la nevera (4°C) durante toda la noche.

Día 2

20 *Lavado de la placa de mucus*

Se sacó la placa de la nevera y se realizó el lavado: se extrajo 2 ml del líquido del pocillo con cuidado y sin tocar el fondo del pocillo con la punta. Se añadió 1 ml de PBS y con cuidado se subió y bajó un par de veces, y se eliminó el ml, quedando en el pocillo 0,5 ml.

25

Método de ensayo

30 Los tubos con crecimiento durante toda la noche se diluyeron. Primero se transfirió 2 ml del cultivo en un tubo con 2 ml de PBS (1:1) y de esta nueva dilución se transfirió 1 ml en un tubo con 9 ml de PBS (1:10). Este tubo contiene la concentración inicial (10^7 UFC/ml).

35 El volumen final de cada pocillo fue, 0,5 ml de PBS (protege el mucus), más 0,5 ml de suspensión bacteriana, más 0,5 ml de producto (o PBS en el caso de los controles).

La concentración del producto se calculó según el volumen final del pocillo.

40 Cuando la concentración deseada del producto era 14 ppm, la concentración a inocular en el pocillo fue 42 ppm. Cuando la concentración deseada del producto era 28 ppm, la concentración a inocular en el pocillo fue 84 ppm.

Se prepararon dos placas (cepas por duplicado), con las concentraciones a añadir a cada pocillo para el producto.

En el caso de mañosa se preparó para que en los pocillos fuera del orden 0.05M.

45 Se realizaron ensayos control con cada uno de los microorganismos sin adición alguna de productos.

El producto se añadió directamente después de la inoculación de la suspensión bacteriana, para evitar que los microorganismos se adherieran rápidamente al mucus.

50 Cuando todos los pocillos se inocularon, se colocó la placa en estufa de 37°C durante 90 minutos.

55 Transcurrido ese tiempo, para comprobar la agregación se depositó 10 μ l de cada sobrenadante en un portaobjetos y se cubrió con cubreobjetos de 22x22, para valorar bajo el microscopio óptico la aglutinación de las cepas. Se marcó eppendorfs estériles y se añadió en cada uno 1 ml de cada pocillo. Se mantuvo los eppendorfs en la nevera. Se realizaron 2 lavados con PBS (cada lavado con 1 ml). Se recogieron todos los lavados de los pocillos de una misma cepa en un mismo tubo/falcon y se dejó a 4°C.

60 Se volteó la placa para evitar posible falsos positivos. De cada uno de los tubos se tomó 100 μ l, y se hizo el banco de diluciones necesario, se sembraron las placas con el medio adecuado. A cada pocillo se añadió 1 ml de PBS estéril, rascando ligeramente con la punta al fondo de cada pocillo (se guardó en tubos estériles, el mismo en cada cepa).

De cada uno de los tubos se tomó 100 μ l, se hizo el banco de diluciones necesario, se sembraron las placas con el medio adecuado.

65

ES 2 371 398 A1

Día 3

Se realizó el recuento en cada placa.

5 **Resultados**

Se pudo observar la detección de la presencia de microorganismos en el sobrenadante y no en el mucus, y en mayor porcentaje en función de la mayor concentración adicionada del producto ensayado, por lo tanto se observa cómo el miglitol inhibe la adherencia al mucus de la *Escherichia coli* y de *Salmonella enterica*.

10

TABLA 1

15 *Resultados de los recuentos obtenidos a partir de los análisis del sobrenadante y del mucus. Expresión de los porcentajes de microorganismos que no se agregan al mucus, después de considerar los valores del control, al adicionar el producto a estudio*

20

| | Sobrenadante (UFC/ml) | Mucus UFC /ml | Sobrenadante/ mucus UFC /ml | Total UFC /ml | Bacterias en el sobrenadante (%) |
|------------------------------|--------------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|--|
| Miglitol 14ppm | | | | | |
| <u>Salmonella</u> 1 | $5,40 \cdot 10^8$ | $1,81 \cdot 10^8$ | 2,99 | $7,21 \cdot 10^8$ | 74,91 |
| <u>Escherichia coli</u> 1 | $4,50 \cdot 10^8$ | $1,50 \cdot 10^8$ | 3,00 | $6,00 \cdot 10^8$ | 75,00 |
| Miglitol 28ppm | | | | | |
| <u>Salmonella</u> 1 | $8,40 \cdot 10^8$ | $3,00 \cdot 10^7$ | $2,80 \cdot 10^1$ | $8,70 \cdot 10^8$ | 96,55 |
| <u>Escherichia coli</u> 1 | $7,50 \cdot 10^8$ | $3,90 \cdot 10^6$ | $1,92 \cdot 10^2$ | $7,54 \cdot 10^8$ | 99,48 |

30

35

40

TABLA 2

45 *Resultados de los recuentos obtenidos a partir de los análisis del sobrenadante y del mucus al adicionar la suspensión de mañosa al 0,05M. Expresión de los porcentajes de microorganismos que no se agregan al mucus*

50

55

| | Sobrenadante (UFC/ml) | Mucus UFC/ ml | Sobrenadante /mucus UFC/ml | Total UFC/ml | Bacterias en el sobrenadante (%) |
|---------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------------------|-------------------|--|
| Manosa 0.05M | | | | | |
| <u>Salmonella</u> 1 | $3,96 \cdot 10^8$ | $1,00 \cdot 10^6$ | $3,59 \cdot 10^2$ | $3,96 \cdot 10^8$ | 99,74 |
| <u>Escherichia coli</u> 1 | $2,97 \cdot 10^8$ | $2,50 \cdot 10^6$ | $1,19 \cdot 10^2$ | $3,01 \cdot 10^8$ | 99,16 |

60

65

ES 2 371 398 A1

TABLA 3

Resultados de los recuentos obtenidos a partir de los análisis del sobrenadante y del mucus al adicionar el medio de cultivo. Expresión de los porcentajes de microorganismos que no se agregan al mucus

| | Sobrenadante (UFC/ml) | Mucus UFC /ml | Sobrenadante /mucus UFC /ml | Total UFC /ml | Bacterias en el mucus (%) |
|---------------------------|--------------------------|---------------------|-----------------------------------|-------------------|------------------------------|
| Medio de cultivo | | | | | |
| <u>Salmonella</u> 1 | $1,25 \cdot 10^6$ | $3,94 \cdot 10^8$ | $3,17 \cdot 10^{-3}$ | $3,95 \cdot 10^8$ | 99,7 |
| <u>Escherichia coli</u> 1 | $1,50 \cdot 10^6$ | $3,90 \cdot 10^8$ | $3,85 \cdot 10^{-3}$ | $3,91 \cdot 10^8$ | 99,7 |

Se detectó la presencia de microorganismos en el sobrenadante y no en el mucus, en mayor porcentaje en función de la mayor concentración adicionada de producto ensayado.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso humano o veterinario del miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías asociadas son causados por una o más bacterias entéricas.
- 10 2. Uso según la reivindicación 1, donde el uso es en humanos.
3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, para la prevención de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota.
- 15 4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la bacteria entérica pertenece a un género que se selecciona del grupo *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Shigella*.
5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la bacteria entérica se selecciona del grupo que consiste en *Salmonella enterica* y *Escherichia coli*.
- 20 6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la infección bacteriana es una infección urinaria o una infección intestinal.
7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la microbiota es flora intestinal.
- 25 8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde las patologías asociadas a los desequilibrios de la microbiota se seleccionan del grupo consistente en déficit de vitamina B12, esteatorrea y síndrome de intestino irritable.
- 30 9. Uso humano o veterinario de una combinación de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable, con uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, mañosa, un agente antimicótico y un agente antibacteriano, para la preparación de un medicamento, para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías son causados por una o más bacterias entéricas.
- 35 10. Uso según la reivindicación 9, donde el uso es en humanos.
11. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 9-10, para la prevención de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota.
- 40 12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 9-11 de una combinación de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable con uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, un agente antimicótico y un agente antibacteriano.
- 45 13. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 9-12, donde el probiótico se selecciona del grupo que consiste en *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* y *Lactococcus lactis*.
- 50 14. Una composición farmacéutica para uso humano o veterinario para la administración secuencial, simultánea o separada, que comprende una combinación de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, mañosa, un agente antimicótico y un agente antibacteriano, junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201030863

②② Fecha de presentación de la solicitud: 04.06.2010

②③ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|---|----------------------------|
| A | SVENSSON, M., FRENDEUS, B., BUTTERS, T. et al. Glycolipid depletion in antimicrobial therapy. Molecular Microbiology. Enero de 2003. Vol 47, Nº 2. ISSN 0950-382X. Páginas 453-461. | 1-14 |
| A | WO 2010029313 A1 (SUMIT CORPORATION PLC, TINSLEY, J. y ROACH, A.G.) 18.03.2010, página 221; reivindicaciones. | 1-14 |
| A | EP 1528056 A1 (ACADEMISH ZIEKENHUIS BIJ DE UNIVERSITAT VAN AMSTERDAM) 04.05.2005, páginas 5,20; reivindicaciones. | 1-14 |
| A | WO 02055498 A1 (OXFORD GLYCOSCIENCES LTD AND THE CANCELLOR, MASTERS AND SCHOLARS OF THE UNIVERSITY OF OXFORD) 18.07.2002, ejemplos; reivindicaciones. | 1-14 |
| A | RADIN, N.S. Preventing the binding of pathogens to the host by controlling sphingolipid metabolism. Microbes and infection. 1 de Marzo de 2006. Vol 8, Nº 3, páginas 938-945. ISSN 1286-4579. | 1-14 |
| A | SHARON N, ESHDAT Y, SILVERBLATT FJ et al. Bacterial adherence to cell surface sugars. Ciba Found Symp. 1981. Vol 80, páginas 119-141. | 1-14 |
| A | PROBIOTICS. [En línea] 17 de Abril de 2010. Recuperado de internet URL: < http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Probiotic&oldid=356510082 > | 1-14 |

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

30.11.2011

Examinador

A. Barrios de la Fuente

Página

1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K31/445 (2006.01)

C07D211/46 (2006.01)

A61P31/00 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, C07D, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, TXT, MEDLINE, NPL, BIOSIS, EMBASE, XPESP

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 30.11.2011

Declaración

| | | |
|---|-----------------------|-----------|
| Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986) | Reivindicaciones 1-14 | SI |
| | Reivindicaciones | NO |
| Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986) | Reivindicaciones 1-14 | SI |
| | Reivindicaciones | NO |

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación | Fecha Publicación |
|-----------|---|-------------------|
| D01 | SVENSSON, M., FRENDEUS, B., BUTTERS, T. et al. Glycolipid depletion in antimicrobial therapy. <i>Molecular Microbiology</i> . Enero de 2003. Vol 47, Nº 2. ISSN 0950-382X. Páginas 453-461. | Enero-2003 |
| D02 | WO 2010029313 A1 (SUMIT CORPORATION PLC, TINSLEY, J. y ROACH, A.G.) 18 de Marzo de 2010. Página 221; reivindicaciones. | 18-Mar-2010 |
| D03 | EP 1528056 A1 (ACADEMISH ZIEKENHUIS BIJ DE UNIVERSITAT VAN AMSTERDAM) 4 de Mayo de 2005, páginas 5,20; reivindicaciones. | 4-Mayo-2005 |
| D04 | WO 02055498 A1 (OXFORD GLYCOSCIENCES LTD AND THE CANCELLOR, MASTERS AND SCHOLARS OF THE UNIVERSITY OF OXFORD) 18 de Julio de 2002, ejemplos; reivindicaciones. | 18-Jul-2002 |
| D05 | RADIN, N.S. Preventing the binding of pathogens to the host by controlling sphingolipid metabolism. <i>Microbes and infection</i> . 1 de Marzo de 2006. Vol 8, Nº 3, páginas 938-945. ISSN 1286-4579. | 1-Mar-2006 |
| D06 | SHARON N, ESHDAT Y, SILVERBLATT FJ et al. Bacterial adherence to cell surface sugars. <i>Ciba Found Symp</i> . 1981. Vol 80, páginas 119-141. | 1981 |
| D07 | PROBIOTICS. [En línea] 17 de Abril de 2010. Recuperado de internet URL: < http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Probiotic&oldid=356510082 > | 17-Abril-2010 |

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud tiene por objeto el uso de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías asociadas son causados por una o más bacterias entéricas (Reivindicación 1 -8).

Es también objeto de la presente solicitud el uso de una combinación de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable, con uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, manosa, un agente antimicótico y un agente antibacteriano, para la preparación de un medicamento, para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías son causados por una o más bacterias entéricas (Reivindicaciones 9-13).

Por último, es objeto también de la presente solicitud, la composición farmacéutica que comprende una combinación de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en un probiótico, manosa, un agente antimicótico y un agente antibacteriano, junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables (Reivindicación 14)

El documento D01 tiene por objeto un estudio en el que se analiza si las terapias farmacológicas que modifican la glicosilación de las células, pueden prevenir las infecciones de patógenos que dependen de interacciones lecitinas-carbohidratos. Se examina si algunos iminoazúcares, tales como N-butildeoxinojirimicina (NB-DNJ), N-butildeoxigalactonojirimicina (NB-DGJ) y deoxinojirimicina (DNJ), inhiben la glucosil ceramida sintasa y por tanto la síntesis de glicosfingolípidos, moléculas implicadas en la adhesión a las células de algunos patógenos. Se concluye que la NB-DNJ y NB-DGJ, producen una reducción de los receptores para *E.coli* en células uroepiteliales humanas y de la mucosa del tracto urinario de ratones, inhibiendo así la adhesión de las bacterias a las células.

El documento D02 divulga una serie de compuestos químicos, entre los que se encuentran distintos iminoazúcares, para su aplicación en el tratamiento de infecciones, entre las que se encuentran las infecciones bacterianas (ver página 221 y reivindicaciones).

El documento D03 divulga iminoazúcares derivados de la deoxinojirimicina como inhibidores de la glucosil ceramida sintasa, y sus posibles aplicaciones, ente las que se encuentra, su uso para el tratamiento de infecciones microbianas (ver páginas 5, 20 y reivindicaciones).

El documento D04 divulga iminoazúcares derivados de deoxinojirimicina para distintas aplicaciones, entre las que se encuentra el tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos infecciosos que utilizan los glicolípidos de las células como receptores (Ejemplos y reivindicaciones).

El documento D05 revisa diferentes estrategias de prevención de la unión de patógenos a las células. Uno de estos mecanismos consiste en la reducción en las células huésped de los glicoesfingolípidos, moléculas implicadas en la adhesión a la células de diferentes patógenos, entre los que se encuentran *Escherichia Coli* y *Salmonella enterica*. Se señala en este documento, que el iminoazúcar, ND-DNJ, inhibidor de la glucosil ceramida sintása, bloquea la unión de *Escherichia coli* a las células uroepiteliales humanas.

El documento D06 divulga un estudio sobre la adherencia bacteriana a azúcares de la superficie de las células. En este estudio se concluye que la manosa inhibe la adhesión de *E.coli* y *Salmonella spp.* sobre las células epiteliales.

El documento D07 contiene información relativa a los probióticos y sus posibles efectos beneficiosos sobre el organismo.

NOVEDAD y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 6.1 y 8.1, ley 11/86)

Reivindicaciones 1-8:

La reivindicación 1 tiene por objeto el uso de miglitol o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento coadyuvante de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota, donde dichas infecciones, desequilibrios o patologías asociadas son causados por una o más bacterias entéricas.

El documento D01 se considera el estado de la técnica más próximo al objeto de dicha reivindicación. En este documento se concluye que el iminoazúcar NB-DNJ, inhibe la adhesión de *E.coli* sobre células uroepiteliales. Sin embargo, aunque el miglitol al igual que la NB-DNJ, es un derivado de la deoxinojirimicina, las diferencias en su estructura química no hacen evidente que los resultados obtenidos tras el tratamiento con NB-DNJ sean directamente extrapolables al miglitol.

Ninguno de los documentos citados solos o en combinación evidencian el uso de miglitol para la preparación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de infecciones bacterianas, desequilibrios de la microbiota o patologías asociadas a desequilibrios de la microbiota, por lo que se considera que el objeto de las reivindicaciones 1-8 es nuevo e implicaría actividad inventiva para un experto en la materia.

Reivindicaciones 9-14:

Puesto que el objeto de las reivindicación 1-8 se considera que es nuevo e implicaría actividad inventiva, el uso combinado de miglitol con otros compuestos tal y como se reivindican en las reivindicaciones 9-13 y la composición farmacéutica que comprende el miglitol con otros compuestos tal y como se reivindica en la reivindicación 14, se consideran igualmente que presentan novedad y actividad inventiva.

En conclusión, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1-14 es nuevo e implicaría actividad inventiva para un experto en la materia en el sentido de los artículos 6.1 y 8.1 de la ley 11/86.