

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 739**

51 Int. Cl.:
A61K 31/715 (2006.01)
C07H 1/08 (2006.01)
C07H 13/00 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02731178 .6**
96 Fecha de presentación: **27.03.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1383516**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.01.2004**

54 Título: **Administración conjunta de un polisacárido con un agente quimioterapéutico para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:
27.03.2001 US 818596
04.09.2001 US 317092 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2012

73 Titular/es:
Galectin Therapeutics Inc.
7 Wells Avenue
Newton, MA 02459, US

72 Inventor/es:
KLYOSOV, Anatole y
PLATT, David

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 376 739 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

Administración conjunta de un polisacárido con un agente quimioterapéutico para el tratamiento del cáncer

Campo técnico y técnica anterior

- 5 La presente invención se refiere a la administración de un agente tóxico a un paciente con cáncer, en una formulación en la que la toxicidad se ha reducido sustancialmente y/o mejorado la eficacia terapéutica. Los procedimientos más ampliamente utilizados para tratar el cáncer son la cirugía, la radiación y la quimioterapia. Los pacientes con cáncer con frecuencia reciben una combinación de estos tratamientos y aproximadamente la mitad de todos los pacientes reciben quimioterapia. Desgraciadamente, los agentes quimioterapéuticos presentan limitaciones significativas con relación a su efecto tóxico sobre el paciente y la eficacia de una dosis específica para dirigirse a las células tumorales y destruirlas.
- 10 La mayoría de los agentes quimioterapéuticos destruyen las células cancerosas alterando el proceso de la división celular. Las células se destruyen una vez que comienzan a experimentar la división y multiplicación. Aunque estos agentes son eficaces para el tratamiento de las células cancerosas que generalmente crecen rápidamente por división celular no regulada, también destruyen células no cancerosas sanas ya que experimentan división celular ordinaria. Este efecto tóxico es particularmente evidente en las células normales de crecimiento rápido, tales como las células de médula ósea, las que están en el aparato digestivo, los folículos pilosos y las células reproductoras. Debido a que la quimioterapia perjudica al tejido sano, la eficacia del fármaco está limitada por los niveles de la dosis y la frecuencia del tratamiento que no debería exceder los niveles de tolerancia para las células no cancerosas. Por otra parte, el régimen quimioterapéutico con frecuencia disminuye drásticamente la calidad de la vida del paciente por sus efectos secundarios físicos y emocionales. Sin la capacidad para dirigir el fármaco exclusivamente al tejido canceroso, las dosis quimioterapéuticas deben mantenerse dentro de un intervalo que el tejido sano pueda tolerar, reduciendo en este caso la eficacia óptima de la quimioterapia sobre el tejido enfermo. Si la toxicidad de los agentes quimioterapéuticos pudiera reducirse, el médico podría aumentar la dosis de fármaco sin originar efectos secundarios inaceptables. El aumento de la eficacia de un fármaco puede traducirse en la disminución de la dosis de fármaco, que de nuevo minimiza los efectos perjudiciales en el paciente a la vez que ofrece máximo beneficio. La disminución de la dosis al aumentar la eficacia de un fármaco quimioterapéutico junto con una reducción de los efectos tóxicos conduciría a la mejora de la calidad de vida del paciente al controlar el tumor y los efectos secundarios perjudiciales. El documento WO 98/50018 da a conocer una composición de administración de fármaco que comprende microesferas biodegradables de galactomanano para la administración de agentes quimioterapéuticos. El documento EP 0974344 da a conocer formulaciones orales que comprenden una mezcla de galactomanano y pectina para la administración de fármacos. Ouchi *et al.*; *Journal of Macromolecular Science A. Pure and Applied Chemistry*, Vol. A34, nº 6, 1997, págs. 975-989 da a conocer un conjugado de dicarboxi-galactomanano-adriamicina.
- 20
- 25
- 30

Compendio

- 35 Las realizaciones de la invención se dan a conocer en las reivindicaciones 1 a 28 más adelante. Los inventores dan a conocer una mezcla de polisacárido galactomanano y una dosis eficaz de un agente quimioterapéutico en una formulación farmacéuticamente aceptable: en la que dicha formulación puede administrarse a un paciente a fin de tratar el cáncer.

- 40 En realizaciones adicionales, la mezcla contiene una cantidad de galactomanano y el agente terapéutico en una proporción adecuada para reducir el efecto tóxico en el paciente, resultando el efecto tóxico de la administración de una cantidad del agente quimioterapéutico sin galactomanano para reducir el cáncer, mejorando opcionalmente la mezcla la eficacia del efecto quimioterapéutico para tratar el cáncer.

- 45 En formas de realización adicionales, el peso molecular del galactomanano está comprendido en el intervalo de 20.000 a 600.000 D, por ejemplo, el galactomanano tiene un peso molecular comprendido en el intervalo de 90.000 a 415.000 D o 40.000 a 200.000 D, por ejemplo, el galactomanano tiene un peso molecular medio de 48.000 D, 83.000 D o 215.000 D. El galactomanano puede ser un derivado de una cepa de *Gleditsia triacanthitas* o de *Medicago falcate* o de *Cyantopsis tetragonoloba*.

- En realizaciones adicionales, el galactomanano puede ser β -1 \rightarrow 4-D-galactomanano e incluyen una relación de galactosa a manosa en la que la manosa está comprendida en el intervalo de 1,0 a 3,0 y galactosa está comprendida en el intervalo de 0,5 a 1,5. Alternativamente, el galactomanano incluye una relación de 2,6 de manosa a 1,5 de galactosa.

- 50 En realizaciones adicionales, el galactomanano incluye una relación de 2,2 de manosa a 0,9 de galactosa. Alternativamente, el galactomanano puede incluir una relación de 1,13 de manosa a 1 de galactosa. Alternativamente, el galactomanano incluye una relación de 2,2 de manosa a 1 de galactosa.

En realizaciones adicionales; el galactomanano y el agente quimioterapéutico están presentes en la mezcla en una relación de 0,1 p/p a 10:1 p/p.

En realizaciones adicionales, la mezcla presenta una toxicidad reducida superior al 50% en comparación con la misma dosis del agente ausente de galactomanano. Por ejemplo, la mezcla presenta una toxicidad reducida superior al 80% en comparación con la misma dosis del agente ausente de galactomanano.

5 En realizaciones de la invención, el agente quimioterapéutico es 5-FU. El cáncer puede ser cualquiera de entre la leucemia crónica, cáncer de mama, sarcoma, carcinoma de ovario, cáncer rectal, cáncer de garganta, melanoma, cáncer de colon, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón, adenocarcinoma de mama, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer de próstata, cáncer pancreático o sarcoma de Kaposi. Por ejemplo, el cáncer puede ser cualquiera de entre cáncer de mama, cáncer de colon o cáncer pancreático. Cualquiera de los anteriores es aplicable a un paciente humano.

10 En una realización de la invención, se suministra una formulación farmacéutica que incluye una mezcla de polisacárido galactomanano y una dosis eficaz para el tratamiento del cáncer de un agente quimioterapéutico en una formulación farmacéuticamente aceptable. La mezcla en la formulación puede contener una cantidad de galactomanano y del agente quimioterapéutico en una relación adecuada para reducir un efecto tóxico en el paciente, resultando el efecto tóxico de la administración de una cantidad para el tratamiento del cáncer de agente quimioterapéutico ausente de galactomanano. Además, la mezcla puede contener una cantidad de galactomanano y del agente quimioterapéutico en una relación adecuada para aumentar la eficacia del efecto terapéutico para el tratamiento del cáncer.

En una realización de la invención, la mezcla contiene una cantidad de galactomanano y de agente terapéutico en una relación adecuada para aumentar la eficacia del efecto terapéutico para el tratamiento del cáncer. Para cualquiera de las anteriores, la formulación puede estar en forma de polvo o en forma líquida.

20 En una realización de la invención, la mezcla de polisacárido galactomanano y una dosis eficaz de un agente quimioterapéutico formulado de modo que el agente quimioterapéutico tiene toxicidad reducida en presencia de galactomanano, siendo la formulación adecuada para administración parenteral al paciente; y administrando la formulación a un sujeto a fin de tratar el cáncer.

25 En una realización de la invención, para el tratamiento del cáncer se formulan una dosis eficaz de una mezcla de polisacárido galactomanano y una dosis eficaz de un agente quimioterapéutico; de modo que el agente quimioterapéutico presenta un aumento de eficacia terapéutica en presencia del galactomanano, siendo la formulación adecuada para administración parenteral al paciente; y administrándose la formulación al paciente para tratar el cáncer. Una formulación según las reivindicaciones anteriores en la que el agente quimioterapéutico es adriamicina o 5-fluorouracilo. Una formulación según cualquiera de las formas de realización anteriores en la que el aumento de efecto terapéutico es un efecto sinérgico.

Descripción detallada de las realizaciones

Como se utiliza en esta descripción y en las reivindicaciones adjuntas, los términos siguientes tienen los significados indicados, a menos que el contexto lo requiera de otra manera.

35 “Sujeto” se refiere a un mamífero incluyendo un ser humano que necesita la terapia para una afección, o es sensible a la misma, o a sus secuelas. El sujeto puede incluir, perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, cabras, caballos, ratas, ratones y seres humanos. El término “sujeto” no excluye un individuo que es normal en todos los sentidos.

“Paciente” se refiere a un sujeto humano que se ha presentado en una instalación clínica con un síntoma o síntomas específicos que sugieren la necesidad de tratamiento.

40 “Polisacárido” se refiere a polímeros compuestos principalmente de monómeros de uno o más azúcares y azúcares sustituidos. Cuando se aíslan de la naturaleza, las preparaciones de polisacáridos comprenden moléculas que son normalmente heterogéneas en el peso molecular.

45 “Eficacia” para un agente terapéutico tóxico se refiere a la relación entre una dosis eficaz mínima y una medida de los efectos tóxicos. La eficacia de un agente aumenta si un punto final terapéutico puede conseguirse por administración de una dosis menor o de un régimen de dosis más breve. Si la toxicidad puede disminuirse, puede administrarse un agente terapéutico en un régimen de dosificación más prolongado o incluso crónicamente con mayor observancia por el paciente y mejor calidad de vida. Además, la menor toxicidad de una gente permite al médico aumentar la dosis para conseguir antes el punto final terapéutico, o para conseguir un punto final terapéutico mayor. “Eficacia de un agente terapéutico inocuo” se refiere al efecto terapéutico mejorado para tratar una afección.

50 “Vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a alguno y a todos los disolventes, medios de dispersión, p. ej., albúmina humana o polipéptidos de gelatina reticulados, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, isotónicos, p. ej., cloruro sódico o glutamato sódico, y agentes retardadores de la absorción, y similares que son fisiológicamente compatibles. La utilización de dichos medios y agentes para las sustancias farmacéuticamente activas es bien conocida en la técnica. Preferentemente, el vehículo es adecuado para administración oral, intravenosa,

intramuscular, subcutánea, parenteral, raquídea o epidural, (p. ej., por inyección o infusión). Dependiendo de la vía de administración, el compuesto activo puede recubrirse en un material para proteger el compuesto de la acción de ácidos y de otras afecciones naturales que pueden inactivar el compuesto.

5 “Administración parenteral” incluye la administración por inyección rápida a emboladas o infusión, así como la administración por vía intravenosa, intramuscular, intraarterial, intradecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intrarraquídea, epidural, inyección e infusión intraesternal.

“Tóxico” se refiere a cualquier efecto desfavorable originado por un agente cuando se administra a un sujeto.

10 “Remisión tumoral” se anotó (excluyendo las muertes inespecíficas) como “parcial” (inferior al cincuenta por ciento de su tamaño al comienzo del tratamiento) o “completa” (el tumor se vuelve impalpable).

“Duración de la remisión” se refiere al intervalo durante el cual un tumor clasificado como una remisión parcial o completa continúa hasta ser inferior al 50 por ciento de su tamaño en el primer tratamiento.

“Tamaño de evaluación” se refiere a la masa de tumor seleccionada en una o dos duplicaciones de la masa comenzando con el tamaño inicial del tumor al comienzo del tratamiento.

15 “Tiempo requerido para duplicar la masa tumoral” es el tiempo para alcanzar el tamaño de evaluación; se utiliza en los cálculos del retraso total en el crecimiento del tumor medio $[(T-C)/Cx100\%]$, en la que T-C (días) es la diferencia en la media de los tiempos después del implantes para que los tumores de los grupos tratados (T) alcancen un tamaño de evaluación comparado con la media del grupo de referencia (C). El valor T-C se mide excluyendo las muertes inespecíficas, y cualquier otro animal que muere cuyo tumor no puede alcanzar el tamaño de evaluación.

20 Aunque los ejemplos suministrados en la presente memoria describen los efectos beneficiosos de los galactomananos, los inventores no excluyen la posibilidad de que otros polisacáridos puedan tener un efecto similar. La reducción observada en la toxicidad de un agente terapéutico tóxico permite administrar una dosis mayor sin un aumento en los efectos secundarios desfavorables asociados al tratamiento. La administración de dosis aumentadas de un agente terapéutico tóxico puede ser beneficiosa para el tratamiento de numerosas enfermedades incluyendo el cáncer, en las
25 que los efectos secundarios tóxicos de los agentes citotóxicos convencionales tienen limitada su utilización. Además de la reducción de toxicidad, la eficacia del efecto terapéutico puede aumentarse administrando una agente terapéutico con un galactomanano. El aumento de eficacia puede ser causado por un efecto sinérgico entre el galactomanano y la mezcla de agente terapéutico.

30 Tanto el polisacárido como el agente pueden formularse por separado, en forma anhidra por ejemplo en forma de polvo o en forma líquida. En una realización preferida el polisacárido y el agente terapéutico se mezclan antes de la administración. La mezcla puede estar en forma de líquido, de polvo o en aerosol.

35 La posología para agentes quimioterapéuticos probados con efectos secundarios tóxicos conocidos se ha demostrado y se describe en la Physician's Desk Reference. Por ejemplo, una descripción de adriamicina puede encontrarse en la Physician's Desk Reference 48ª Edición (1994) págs. 459-461 y para 5-fluoracilo 5-FU en las páginas 1924-1925. La administración conjunta de un polisacárido con un agente terapéutico puede utilizarse pero no se limita a la posología ni a la vía de administración ya probada y aprobada para el agente terapéutico, siendo la diferencia la inclusión del polisacárido. Por ejemplo, puede administrarse una sola inyección a emboladas, pueden administrarse varias dosis divididas durante un periodo, o puede reducirse una dosis proporcionalmente y administrarse durante un periodo por infusión, o puede aumentarse, como se indica por las exigencias de la situación terapéutica. La dosis unitaria será una
40 mezcla de polisacáridos con agente terapéutico. Sin embargo, los inventores no excluyen la posibilidad de que el polisacárido y el agente terapéutico pueda administrarse sucesivamente en distintas formulaciones.

45 La formulación de la mezcla puede obtenerse de la formulación estándar del agente terapéutico al cual se añade el polisacárido en un disolvente compatible o en polvo. Por ejemplo, el agente quimioterapéutico 5-FU se formula normalmente en una solución acuosa con excipientes. En el ejemplo 1, se añadió galactomanano acuoso al 5-FU acuoso para proporcionar la formulación que se administraba al sujeto.

50 En las formulaciones farmacéuticas típicas se añaden normalmente vehículos farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo en formulaciones orales, pueden utilizarse hidroxipropil-celulosa, dióxido de silicio coloidal, carbonato de magnesio, copolímero de ácido metacrílico, almidón, talco, esferas de azúcar, sacarosa, polietilenglicol, polisorbato 80 y dióxido de titanio: croscarmelosa sódica, tintas comestibles, gelatina, lactosa monohidratada, estearato de magnesio, polividona, lauril-sulfato sódico, cera de carnauba, crosvidona, hidroxipropilmetil-celulosa, lactosa, celulosa microcristalina y otros ingredientes. Además, se ha utilizado galactomanano como vehículo para la administración oral de agentes, que están en una forma no líquida (patentes de EE.UU: nº 4.447.337; nº 5.128.143; y nº 6.036.402).

Cualquier experto en la materia puede determinar y recetar la cantidad eficaz de una composición farmacéutica

requerida basándose en protocolos clínicos. En general, una dosis diaria adecuada de una composición de la invención será la cantidad de la composición, que es la dosis eficaz menor para producir un efecto terapéutico.

5 Las realizaciones de la invención demuestran que la administración de una mezcla de un polisacárido y un agente terapéutico citotóxico puede producir toxicidad reducida y puede proporcionar además un efecto terapéutico aumentado en comparación con el agente terapéutico en ausencia del polisacárido. Una mezcla puede estar formada por galactomanano y cualquier agente terapéutico sintético a fin de conseguir el aumento de eficacia del efecto terapéutico del agente. Un ejemplo de un polisacárido con esta actividad es el galactomanano. El galactomanano puede obtenerse a partir de varias fuentes naturales tales como plantas y puede prepararse sintéticamente por reacciones enzimáticas o por reacciones químicas. Los ejemplos 1 y 2 muestran los efectos de utilizar galactomananos procedentes de dos fuentes vegetales independientes que se ha demostrado que son eficaces para reducir la toxicidad de los agentes terapéuticos. En particular, el ejemplo 1 describe la utilización de galactomanano de una segunda especie vegetal *Gleditsia triacanthos* y el ejemplo 2 describe la utilización de galactomanano obtenido de la especie vegetal *Medicago falcata*.

10 El galactomanano es un polímero que puede darse en varias gamas de tamaño. Además, el galactomanano puede modificarse o hidrolizarse para producir fragmentos de la molécula natural o puede hacerse reaccionar para producir formas químicamente modificadas de la molécula natural. Las formas de realización de la invención proporcionan un galactomanano con un peso molecular en el intervalo de 20.000 a 600.000 D. El galactomanano puede tener además un tamaño comprendido en el intervalo de 90 a 415.000 D o de 40.000 a 200.000 D. El ejemplo 1 utiliza un galactomanano con un peso molecular medio de 215.000 D en tanto que el ejemplo 2 utiliza un galactomanano con un peso molecular medio de 83.000 D.

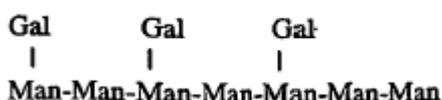
15 La relación de manosa a galactosa puede variar según la procedencia del galactomanano y el procedimiento de aislamiento. En realizaciones de la invención, el galactomanano puede tener una relación manosa a galactosa de 1-3 de manosa : 0,3-1,5 de galactosa. La relación de manosa puede ser 2,6:1,5 o 2,2:0,9 o 1,13:1 o 2,2:1. En el ejemplo 1 la relación de manosa a galactosa es 2,2:1 y en el ejemplo 2 la relación seleccionada de manosa a galactosa en el galactomanano es 1,13:1. En el ejemplo 3, el galactomanano tiene una relación manosa a galactosa de 2,2:1,0.

20 El galactomanano puede suministrarse con el agente terapéutico en una mezcla a una relación de 0,1:1 p/p a 10:1 p/p con el agente terapéutico. En el ejemplo 1, la relación de galactomanano a 5-FU es 1:1,9 y en el ejemplo 2 la relación de galactomanano a adriamicina es 1:0,6. En el ejemplo 3, la relación de galactomanano a 5-FU es 1,6:1. Los resultados presentados en los ejemplos 1 y 2 muestran la reducción significativa en la toxicidad cuando se administran agentes quimioterapéuticos en presencia de galactomanano. En el ejemplo 3, los resultados muestran un aumento significativo en la eficacia observada cuando se administran agentes quimioterapéuticos en presencia de galactomanano.

25 Estos resultados son drásticos como se muestra en el ejemplo 1 en el que en lugar de una tasa mortal de 3/5 ratones con 5-FU mostrando los ratones supervivientes una carencia sustancial del aumento de peso normal, la misma dosis administrada con galactomanano da como resultado 0/5 ratones muertos. Todos los ratones sobreviven y los ratones supervivientes tienen pesos equivalentes a los ratones de referencia (tratados con solución salina). Los ratones supervivientes parecen normales en todos los aspectos sin ninguna señal de toxicidad. En el ejemplo 2, los resultados demuestran las ventajas de formular una mezcla de adriamicina con galactomanano. Los animales tratados con una dosis DL₅₀ de adriamicina según las pruebas de toxicidad normales dan como resultado una mortalidad de 3/5 ratones. Por el contrario, cuando se administra adriamicina junto con galactomanano, la toxicidad se reduce de modo que solo mueren 1/5 ratones. Por otra parte, aunque existe alguna pérdida de peso en los ratones que sobreviven, esta pérdida de peso disminuye.

30 En el ejemplo 3, se observó una reducción sustancial en el peso del tumor en cuya masa tumoral en los ratones de referencia no tratados fue de 2.058 mg y en los ratones tratados con 75 mg/kg de 5-FU, la masa tumoral fue de 2.254 mg a los 56 días tras el inicio del tratamiento (el último día del estudio). La misma dosis de 5-FU administrada con galactomanano produjo un peso del tumor de 405 mg. Treinta y cinco días después del inicio del tratamiento, el peso del tumor fue de 2.450 mg (referencia sin tratar), 990 mg (5-FU, 75 mg/kg) y 288 mg (misma dosis de 5-FU en combinación con galactomanano). Veintiocho días después del inicio del tratamiento, el peso del tumor fue de 1.296 mg (referencia sin tratar), 527 mg (5-FU, 75 mg/kg) y 144 mg (misma dosis de 5-FU en combinación con galactomanano).

35 En una realización preferida, la estructura de galactomanano es un eje central de poli-β→4-manano, con los sustituyentes laterales unidos por enlaces α-1→6 glucósido, por ejemplo:



- Sin estar ligados por ninguna teoría en particular, los tres mecanismos posibles pueden tenerse en cuenta para el efecto beneficioso de galactomanano en una mezcla con un fármaco citotóxico o quimioterapéutico. Uno implica una interacción terapéutica directa entre el fármaco y el galactomanano. Por ejemplo, el galactomanano puede aumentar la fluidez y la permeabilidad de la membrana de la célula cancerosa, como resultado de las interacciones específicas de la galactosa en la superficie de la célula diana. El polisacárido puede servir por tanto como vehículo eficaz para el suministro del fármaco al objetivo. Con respecto al tratamiento del cáncer con agentes quimioterapéuticos, el galactomanano puede actuar para inhibir la acumulación de células tumorales y su adherencia a las células normales, de modo que el cáncer no se puede metastatizar. Una vez el conjugado polímero-fármaco se introduce en el tumor, que el galactomanano reconoce en virtud de su estructura y composición, el galactomanano puede liberar el fármaco anticanceroso. La toxicidad del fármaco quimioterapéutico puede reducirse porque el fármaco es inactivo siempre que esté unido al polímero. Una vez que el conjugado polímero-fármaco se introduce en el tumor, que el galactomanano reconoce en virtud de su estructura y composición, el galactomanano puede liberar el agente anticanceroso. Otro posible modo de actuación del galactomanano puede implicar su interacción con algunas zonas reguladoras en un sistema biológico, particularmente si estas zonas están controladas por restos específicos de galactosa, tal como galectinas. Aún otro posible modo de actuación puede implicar un efecto inhibidor de galactomananos de una determinada estructura química (una determinada relación Man:Gal) y un determinado tamaño (peso molecular) de sistemas enzimáticos responsables de una rápida eliminación de 5-FU en el cuerpo, y por consiguiente puede aumentar potencialmente la biodisponibilidad y prolongar el tiempo de residencia medio de 5-FU en el cuerpo, mejorando de este modo el perfil terapéutico de 5-FU en la terapia del cáncer.
- La utilización de la formulación que contiene galactomanano puede tener un efecto inmediato de aumentar las respuestas de los pacientes a la quimioterapia, por ejemplo, un efecto es una disminución de la dosis del agente requerido para la quimioterapia eficaz, en presencia de la formulación. Pueden tener un efecto beneficioso inmediato para el paciente al disminuir la toxicidad de los fármacos como se ilustra en la presente memoria pero sin limitarse a adriamicina y 5-FU, y de este modo mejorar la calidad de vida del paciente.
- La utilización de galactomanano administrado en una mezcla con un agente citotóxico puede aplicarse a un amplio espectro de agentes y no está restringida a los agentes antitumorales y anticancerosos. Las áreas terapéuticas agentes antidepresivos, antiinflamatorios, fármacos gastroenterológicos (para tratar úlceras y trastornos asociados), fármacos antipsicóticos, agentes antihiperlipidémicos, etc. Como muchos agentes terapéuticos deben administrarse como medicina crónica, es decir, a largo plazo, la reducción potencial en la dosis y la mejora en la calidad de vida llegan a ser factores significativos en disponibilidad, coste de los agentes terapéuticos y aceptación por el paciente.
- Ejemplos de agentes quimioterapéuticos según las realizaciones de la invención incluyen: 1. agentes alquilantes tales como mustargen mostaza nitrogenada, ciclofosfamida (citoxano), melfalán (alckeran), clorambucilo (leukeran), cisplatino (agente alquilante "no clásico"), carbo-platino (agente alquilante "no clásico"), carmustina (BCNU), tiotepa, busulfán (myleran); 2. alcaloides de los vinca y sustancias relacionadas tales como vincristina, vinblastina, VP-16; 3. antibióticos de antraciclina tales como doxorubicina (adriamicina), actinomicina D, daunorrubicina (daunomicina), bleomicina, idarrubicina, mitoxantrona; 4. glucocorticoides tales como prednisona/prednisolona, triamcinolona (vetalog); 5. inhibidores de la síntesis de proteínas/ADN/ARN, metotrexato, 6-tioguanina, 5-florouracilo (5-FU), citosina arabinósido (ara-C, cytosar), L-asparaginasa (Elspar), dacarbazina (DTIC), hidroxurea (hydrea), procarbazina (matulano) y 6. agentes diversos tales como paclitaxel.
- Ejemplos de agentes terapéuticos que pueden administrarse con galactomanano para reducir su toxicidad o aumentar la eficacia incluyen los siguientes: agentes antifécciosos incluyendo antibióticos, antivíricos y vacunas, antineoplásicos, fármacos cardiovasculares incluyendo antiarrítmicos, antihipertensores, etc., fármacos para el sistema nervioso central incluyendo analgésicos, anoréxicos, anticonvulsivos, antiinflamatorios y tranquilizantes, etc. Óticos, oftálmicos, gastrointestinales incluyendo fármacos antiulcerosos, fármacos anticolinérgicos, etc.: hormonas, fármacos respiratorios incluyendo medicaciones para la alergia, broncodilatadores y descongestionantes, fármacos tópicos y vitaminas y minerales. Ejemplos específicos en las categorías anteriores se proporcionan a modo de ilustración. Prilosec (AstraZeneca) descrito en la patente de EE.UU. nº 4.255.431 y Prevacid (TAP) descrito en la patente de EE. UU. nº 4.628.098; Lipitor (Pfizer) y fármaco contra el colesterol descrito en la patente de EE.UU. nº 5.273.995. El agente antihiperlipidémico, Zocor (Merck) patente de EE. UU. nº 4.444.784; antidepresivos tales como Prozac (Eli Lilly) descrito en la patente de EE. UU. nº 4.314.081; y Zoloft (Pfizer) descrito en la patente de EE. UU. nº 4.536.518; Paxil (SmithKline Beecham) en las patentes de EE. UU. nº 3.923.743 y nº 4.007.196; nº 4.721.723; agentes antipsicóticos tales como Zyprexa (Eli Lilly) agentes hematínicos tales como Epogen (Amgen), conocido también como Eritropoyetina, y agentes antiinflamatorios tales como Celebrex (Searle). Las formulaciones y dosis se proporcionan en la Physicians Desk Reference.
- La combinación de agente terapéutico citotóxico junto con galactomanano puede administrarse en cualquiera de los procedimientos conocidos en la técnica tales como en una formulación líquida, comprimido, supositorio, gel, crema, parche transdérmico o tópico o aerosol. La formulación puede administrarse a un sujeto por cualquiera de las vías conocidas en la técnica incluyendo por administración oral, por las mucosas, inhalación o parenteral como se definió anteriormente.

La utilización del galactomanano que contiene la formulación puede tener un efecto inmediato de aumentar las respuestas de los pacientes a la quimioterapia, por ejemplo, un efecto es una disminución en la dosis del agente requerido para la quimioterapia eficaz, en presencia de la formulación. La combinación de 5-FU junto con galactomanano puede administrarse en cualquiera de los procedimientos conocidos en la técnica tal como en una formulación líquida, comprimido, supositorio, gel, crema, parche transdérmico o tópico o aerosol. La formulación puede administrarse a un paciente por cualquiera de las vías conocidas en la técnica incluyendo por administración oral, por las mucosas, por inhalación o por vía parenteral como se definió anteriormente.

Los ejemplos siguientes se proporcionan a modo de realizaciones ilustrativas de la invención pero no se pretende que sean restrictivas.

10 Ejemplos

Ejemplo1: Pérdida de toxicidad aguda del fármaco antitumoral 5-FU en presencia de galactomanano

Se evaluó la toxicidad generalizada aguda del fármaco antitumoral 5-FU en presencia y ausencia de galactomanano en ratones albinos suizos.

Se utilizaron ratones albinos suizos (Harlan, Indianápolis, IN) como animales experimentales para medir la toxicidad de preparaciones terapéuticas según la ICH-Guideline en la Evaluación de la Exposición General en Estudios de Toxicidad, Marzo de 1995. Aunque este estudio fue sin GMP, era conforme con las directrices publicadas por las siguientes referencias: la FDA actual, 21 CFR, parte 58-Buenas Prácticas de Laboratorio para Estudios de Laboratorio no clínicos; AAALCA (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals", National Research Council, 1996. (NIH) (OPRR), "Public Health Service Policy of Humane Care and Use of Laboratory Animals", Health Research Extension Act of 1985 (Public Law 99-158 20 de noviembre, 1985), reimpresso en 1996; USDA, Departamento de Agricultura, Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas, 9 CFR Cap. 1 Edición (1/1/95), subcapítulo A-Bienestar Animal. ISO 10993-2, 1992. El intervalo de peso/edad: 17,8-27,3 gramos/ al menos 34 días de edad (adulto) pesado con precisión de 0,1 g. Los ratones estaban sanos, no utilizados anteriormente en otros procedimientos experimentales mínimo 5 días en las mismas condiciones que para la prueba real. Temperatura ambiente del animal: 68±5°F (20±2,8°C).

Se observaron señales clínicas en los animales inmediatamente después de la inyección, y a diario durante el estudio. Las observaciones realizadas incluían todas las señales clínicas y toxicológicas. Se pesaron los animales antes de la inyección y al final del período de observación. Los animales supervivientes al final del estudio se sacrificaron por inhalación de dióxido de carbono. Había un total de 4 grupos de 5 animales cada uno. Los grupos eran los siguientes: 1) NaCl (0,9%), 2) 5-FU (17 mg/ml), 3) galactomanano (4,73 mg/ml) 4) 5-FU (17 mg/ml) + galactomanano (9,06 mg/ml). El diluyente en todos los casos era NaCl al 0,9%. Las soluciones del artículo de ensayo y el NaCl (referencia negativa) se inyectaron por vía intravenosa por la vena caudal a una dosis de 0,5 ml/ratón.

El galactomanano que en la naturaleza tiene un peso molecular de aproximadamente 800.000 D se hidrolizó para proporcionar un galactomanano que tiene un peso molecular medio de 215.000 D. El galactomanano de esta procedencia tiene una relación galactosa a manano de 2,2.

Se aisló galactomanano de *Gleditsia triacanthos*: (corona de Cristo, o acacia de tres espinas) Fabaceae (familia Leguminosas; familia de legumbres, familia de alubias). Las semillas de corona de Cristo, como las de muchas especies de leguminosas tienen capas impermeables y de este modo continúan siendo viables durante largos períodos. El promedio de semillas cerradas alrededor de 6.170/kg (2.800 lb), que es alrededor de 162 mg/semilla (Vines R.A. Trees, Shrubs and Woody Vines of the Southwest University of Texas Press, Austin, págs. 1.114 (1.960). Puede conservarse la viabilidad durante varios años cuando las semillas se guardan en recipientes sellados entre 0° y 7°C (32° a 45°F) (Bonner, F.T., Burton, J.D., y Grisby, H.C., *Gleditsia L. Honeylocust*, en *Seeds of Woody plants in the U.S.A.*, págs. 431-433. EE.UU. Departamento de Agricultura Handbook 450, Washington, DC, págs. 883 (1974)). Las alubias de algunos cultivos contienen como mucho del 12 al 13% de proteínas, y las vainas contienen hasta el 42% de carbohidratos (Matoon, H.G., *Farm Use for Tree Crops, Forest Leaves*, 33, 5-7, 10-11 (1943); Stoutemeyer, V.T., O'Rourke, F.L., y Steiner, W.W., *Some Observations on the Vegetable Propagation of Honey Locust*, J. Forestry, Vol. 42, págs. 32-36 (1994). Las semillas eran la fuente principal de la que se aisló el galactomanano.

Aislamiento, purificación y caracterización de galactommanano de *Gleditsia triacanthos*

(a) Triturado de las semillas.

Se molieron las semillas, y el material obtenido (partículas en bruto) se colocó en etanol al 85% en un matraz equipado con un condensador, en una proporción de 10 g de semillas molidas a 100 ml de etanol. El matraz se colocó dentro de un baño de agua y la mezcla se hirvió durante 45 min., para eliminar los carbohidratos de bajo peso molecular y los pigmentos. El material sedimentado (o filtrado) se lavó con una pequeña cantidad de etanol al 85% y se secó con aire.

(b) Extracción con agua.

5 Aproximadamente cinco volúmenes de agua se añadieron al material secado con aire, y la mezcla se dejó durante 6 a 10 h hasta hincharse. A continuación se añadieron cinco volúmenes más de agua, se homogeneizó la mezcla en un mezclador, y a continuación se agitó continuamente durante 9 horas a temperatura ambiente. Debería añadirse algo más de agua durante la homogeneización y/o agitación, para hacer la proporción final de agua y el material seco inicial (p/p) igual a 40. (c) Precipitación con etanol.

Se centrifugó la mezcla a 10.000 g durante 30 min., se recogió el extracto en agua, se lavó en precipitado con agua en agitación y se centrifugó otra vez, y se repitió el procedimiento de lavado-centrifugación. Los tres extractos en agua se combinaron, se midió el volumen restante y se registró.

10 Se tomó un volumen de 10 ml y se mezcló con un volumen de 10 ml de etanol al 96% en agitación. Se observa precipitación de un galactomanano. El volumen total se colocó en un frigorífico (4°C) durante la noche, se centrifugó el precipitado, se recogió y se lavó tres veces con etanol al 75% con agitación y centrifugación. Se descartaron las fases líquidas de cada centrifugación. El precipitado fibroso final se secó con aire y se pesó. El rendimiento del galactomanano estaba dentro del intervalo del 20% al 26% del peso de las semillas iniciales.

15 Dado que la figura final proporciona el rendimiento del galactomanano en un volumen de 10 ml del extracto (véase anteriormente), se calculó la cantidad total del galactomanano en el volumen total de extracto.

Se repitió el procedimiento de precipitación/centrifugación con el volumen total del extracto (se eliminaron menos de 10 ml en la etapa anterior), excepto que el secado con aire final no fue completo, y el material final debería estar ligeramente húmedo. Esto es porque era necesario un aislamiento de "calibración" por separado de galactomanano, es decir para calcular una cantidad total del polisacárido en el extracto total para el seguimiento de la purificación.

20 (d) Purificación posterior

Se disolvió galactomanano húmedo en agua, teniendo como objetivo una concentración de 10 mg/ml. Para alcanzar dicha concentración, se dejó hinchar el galactomanano en agua entre 40° y 50°C, y a continuación se agitó la mezcla utilizando un homogeneizador. A la solución resultante, se añadió una solución del reactivo Fehling reciente (véase a continuación) (en la proporción de 2 a 3 ml por cada 100 ml) en agitación continua, para precipitar un complejo de galactomanano-Cu⁺². Al final del procedimiento de precipitación, la solución madre debería ser transparente y ligeramente coloreada de verde-azul. Debería enviarse un exceso de solución del reactivo de Fehling, ya que puede disolver el precipitado en formación.

30 El precipitado resultante se dejó en reposo durante 4 horas a temperatura ambiente. Tras la primera hora, se recomienda tomar una alícuota de la solución madre y añadir unas pocas gotas de la solución del reactivo de Fehling, para comprobar la terminación de la precipitación. Después de 4 horas, se centrifugó la mezcla, se lavó el precipitado con agua fría (a aproximadamente 10°C) y se centrifugó de nuevo. Se descartó la solución madre.

35 Para recuperar el galactomanano de su complejo de cobre, se transfirió el precipitado a un congelador preenfriado y se puso en un mortero de porcelana con hielo, y se añadió ácido clorhídrico al 5% frío (10°C) en etanol al 96% (v/v) hasta cubrir el precipitado. El precipitado se cizalló con una mano de mortero hasta tal punto, que el material liberó todo el colorante en la solución, y se convirtió desde gel en un material fibroso. Para facilitar el proceso de cizallamiento, si es necesario, puede añadirse una pequeña cantidad de solución del ácido en etanol.

Se añadieron 4 volúmenes de etanol al 80% (por volumen de precipitado) a la mezcla en el mortero, y el precipitado restante se aisló por centrifugación. Se lavó de 3 a 5 veces con etanol al 80%, con una centrifugación después de cada lavado (para una completa eliminación de la sal de cobre), y se secó con aire durante 1 a 2 horas.

40 El rendimiento del galactomanano purificado fue del 13% al 18% del peso de las semillas iniciales.

(e) Atenuación del peso molecular

45 Se colocó el galactomanano purificado en un matraz (equipado con un condensador, para ser utilizado después durante la ebullición) y se disolvió en agua a una concentración de 6 a 7 mg/ml. Esto puede conseguirse después del hinchamiento (entre 45° y 50°C) y agitación del material a esta temperatura. El pH de la solución viscosa resultante se ajustó entre 2,0 y 2,3, utilizando ácido clorhídrico 1 N. El matraz equipado con un condensador se colocó en un baño de agua hirviendo durante 2 ½ horas.

50 Tras la hidrólisis, se filtró el líquido y se recogió, y se descartó el precipitado. El líquido, que era una solución del galactomanano parcialmente despolimerizado (GD), se neutralizó con NaOH 1 N a pH de 6,0 a 6,5, y el GD se precipitó con 1,5 volúmenes de etanol al 96 % en agitación continua. El precipitado y la solución madre se colocaron en un frigorífico. Al día siguiente se centrifugó en precipitado, se lavó con etanol al 75% y se centrifugó de nuevo. Se lavó el precipitado con etanol al 85%, se centrifugó, se lavo con etanol al 96% y se centrifugó de nuevo. El precipitado de galactomanano resultante parcialmente despolimerizado se secó sobre P₂O₅. Se determinó su peso molecular (en un experimento por separado, véase a continuación el procedimiento) como 215.000 D y la relación manosa/galactosa fue

2,2. El rendimiento fue del 11 al 14% en peso de las semillas iniciales.

(f) Preparación de la solución de reactivo Fehling

La solución del reactivo consta de dos soluciones, A y B, en volúmenes iguales.

5 Solución A: Se disuelve en agua 34,6 g de CuSO_4 , se añaden unas pocas gotas de H_2SO_4 y se añade agua hasta el volumen final de 500 ml.

Solución B: Se disuelve en agua 60 g de NaOH y 173 g de $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, y añadir agua hasta el volumen final de 500 ml.

Se combinaron las soluciones A y B en volúmenes iguales inmediatamente antes de utilizar la solución del reactivo Fehling. Las soluciones A y B pueden almacenarse con seguridad durante dos años.

10 (g) Hidrólisis completa del ácido (para determinación de la relación manosa/galactosa en galactomananos)

15 Se colocaron 5 mg de galactomananos en un tubo de vidrio y se añadieron 0,5 ml de ácido sulfúrico 2N. Se fundió el tubo a continuación y se colocó en un baño de agua hirviendo durante 4 horas. La solución resultante se diluyó con un volumen igual de agua, y se neutralizó a pH entre 5,5 y 6,0 (el pH se controla con un papel de tornasol) con intercambiadores aniónicos Dowex-2 en su forma de HCO_3^- . Se filtró la solución y se evaporó el líquido (p. ej., utilizando un evaporador rotativo) a sequedad.

(h) Determinación de la relación manosa/galactosa en galactomananos

20 Se mezcló el hidrolizado ácido seco (véase anteriormente) en un pequeño matraz con 1 ml de agua y 25 mg de borohidruro sódico y se dejó durante 4 a 5 horas a temperatura ambiente para que se reduzcan los grupos aldehído de los polisacáridos. A continuación se añadió 1 ml de agua y se neutralizó la mezcla a pH 5,5-6,0 añadiendo Dowex-50 en su forma H^+ . Se hizo el seguimiento del pH utilizando papel de tornasol. Se filtró el líquido, se recogió y se secó completamente.

25 El residuo seco se mezcló con 1 a 2 ml de metanol, se agitó y se secó (para eliminar el ácido bórico en forma de su derivado de éter metílico volátil). Ésta etapa se repitió dos o tres veces, hasta que desapareció el residuo de ácido bórico. Se colocó a continuación el matraz en un desecador al vacío durante dos horas, y los alcoholes de azúcar resultantes se acetilaron de la forma siguiente:

30 Se añadieron en el matraz con alcoholes de azúcar anhidros 0,3 ml de piridina destilada exenta de agua y 0,3 ml de anhidro acético destilado exento de agua, el matraz se cerró herméticamente utilizando un tapón de vidrio esmerilado y se colocó dentro del baño de agua hirviendo durante 60 a 70 segundos. Después el matraz se sacó del baño, se abrió con cuidado y se interrumpió la reacción por adición de 1 ml de metanol. La mezcla resultante de piridina y éster acético se evapora entre 30° y 40°C utilizando un evaporador rotativo. Para facilitar la evaporación, deberían añadirse 2 a 3 veces en el matraz 1 a 2 ml de metanol y 1 a 2 ml de heptano (en este orden). El residuo seco obtenido se mezcla con 0,2 a 0,5 ml de cloroformo, y la solución resultante se inyecta en un cromatógrafo de gas-líquido. Como opción, puede utilizarse la columna de cromatografía rellena con XE 60 al 5% en cromatona N-AW. Una relación de manosa a galactosa es igual a una relación de un área relativa de sus picos respectivos, que se identifican utilizando manosa pura y galactosa como azúcares de calibración.

35 (i) Viscosidad de soluciones de galactomanano y peso molecular de galactomanano

40 La viscosidad relativa de las soluciones acuosas de galactomanano se determina utilizando los viscosímetros tipo Ostwald y Ubbelohde, calibrados con tiempos de descarga del agua a 25°C. Se determinan los tiempos de descarga para una serie de concentraciones de galactomanano en el intervalo de 0,5 a 5,0 mg/ml. Los datos obtenidos se calculan de la forma siguiente:

$$\eta_{rel} = \tau/\tau^0,$$

45 en la que la viscosidad relativa es igual a la relación de los tiempos de descarga para la solución de galactomanano y agua (a volúmenes iguales), y se determina a varias concentraciones de galactomanano. Para una serie de concentraciones de galactomanano (C, mg/ml), se determina la viscosidad específica para cada concentración de galactomanano:

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1,$$

y se representa en un gráfico de η_{sp}/C frente a C, así como en η_{sp}/C frente a C. Ambas líneas rectas se extrapolan a la

ES 2 376 739 T3

concentración cero de galactomanano (C=0) dando la viscosidad intrínseca $[\eta]$ del galactomanano.

Peso molecular del galactomanano se calcula a partir de su viscosidad intrínseca como

$$[\eta] = 0,168 \times DP^{0,98},$$

5 en la que DP es el grado de polimerización. Como el "peso molecular" de una sola unidad repetida en galactomanano es 162, el peso molecular (PM) del galactomanano es $PM = 162 \times DP$.

Se observó que el galactomanano ha aumentado la solubilidad en una solución que contiene 5-FU. El 5-FU se formuló para la inyección intravenosa a la concentración y pH proporcionado en la Physician's Desk Reference.

10 Una inyección intravenosa de una sola dosis de 5-FU sólo o 5-FU junto con preparaciones de galactomanano se proporcionó a través de la vena caudal a una dosis de 0,5 ml/ratón a las dosis descritas a continuación en los apartados (1) a (4) y se observaron las señales clínicas inmediatamente después de la inyección, y a diario durante el estudio.

Había un total de 3 grupos de 5 animales cada uno. Los grupos eran los siguientes 1) NaCl a 0,9% solamente, 2) 5-FU solamente (17 mg/ml) 3) galactomanano (4,73 mg/ml) y 5-FU (17 mg/ml) + galactomanano (9,06 mg/ml).

La dosis de 5-FU era del 20% por encima de la DL_{50} es decir 420 mg/kg en comparación con 340 mg/kg para una DL_{50} .

15 Se utilizó NaCl al 0,9% como diluyente. Se pesaron los animales antes de la inyección y al final del periodo de observación. Los animales que sobreviven al final del estudio se sacrificaron por inhalación de dióxido de carbono.

Dado que se inyectó por vía intravenosa 5-FU a la dosis DL_{50} , era de esperar una mortalidad en el 50% de los animales. La capacidad de galactomanano para reducir la toxicidad de la dosis de DL_{50} de 5-FU se midió en presencia o ausencia de mortalidad en animales inyectados con la combinación de 5-FU y galactomanano.

Tabla 1

Grupo	Animal #	Peso corporal (g)			Señales de toxicidad #
		Día 0 9/1/01	Día 17 26/1/01	Cambio de peso	
NaCl	1	19,0	26,2	7,2	Ninguna
	2	22,1	24,8	2,7	Ninguna
	3	21,6	25,4	3,8	Ninguna
	4	18,7	25,3	6,6	Ninguna
	5	17,5	24,9	7,4	Ninguna
5-FU	6	20,4	22,1	1,7	L, P
	7	20,6	*	-	D
	8	19,4	*	-	D
	9	22,5	24,0	1,5	L, P
	10	21,2	*	-	D
GM	21	18,4	22,4	4,0	Ninguna
	22	21,7	26,3	4,6	Ninguna
	23	20,4	25,2	4,8	Ninguna
	24	22,6	27,1	4,5	Ninguna
	25	22,5	27,5	5,0	Ninguna

5-FU/GM					
	41	19,8	26,8	7,0	Ninguna
	42	20,8	25,9	5,1	Ninguna
	43	20,3	27,1	6,8	Ninguna
	44	18,8	24,9	6,1	Ninguna
	45	22,4	27,5	5,1	Ninguna
# Resumen de observaciones clínicas. *Toxicidad observada. Animales muertos antes del final del estudio. L - letargia, P - piloerección, D - muerte. Todos los ratones eran machos.					

La fracción con vida de esta prueba de toxicidad general aguda, fue originalmente de 14 días. Sin embargo, la primera mortalidad se observó el 13º día. Por lo tanto la duración con vida del estudio se prolongó a 17 días.

- 5 Los animales inyectados con NaCl sólo, o polisacáridos solos, no presentaban señales de toxicidad y todos los animales sobrevivieron hasta el final del estudio. Todos los animales ganaron peso al final del estudio. Además, no se observó ninguna señal de toxicidad o mortalidad en los animales inyectados con 5-FU y galactomanano en los que los animales ganaron peso similar a las referencias. Este resultado estaba en marcado contraste con los resultados en los ratones tratados con 5-FU.

Ejemplo 2: Pérdida de toxicidad aguda del fármaco antitumoral adriamicina en presencia de galactomanano

- 10 Se evaluó en ratones albinos suizos la toxicidad general aguda del fármaco adriamicina en presencia y ausencia de galactomanano. Se cruzaron los ratones como se describe en el ejemplo 1. Los procedimientos experimentales siguieron las directrices gubernamentales aprobadas como se describe en el ejemplo 1.

- 15 El galactomanano procedía de *Medicago falcata*. El galactomanano aislado se escindió para obtener una preparación con un peso molecular medio de 83.000 D. La proporción de galactosa a manosa para esta preparación fue 1,13. El galactomanano se aisló de *Medicago falcata* de la forma siguiente:

Aislamiento, purificación y caracterización de galactomanano biológicamente activo de *Medicago falcata* (Lucerne)

Las semillas fueron la fuente principal de galactomanano que se aisló de *Medicago falcata* en este estudio.

- (a) Triturado de las semillas (como en el ejemplo 1)
- (b) Tratamiento con benceno
- 20 El material seco se mezcló con 3 volúmenes de benceno destilado, y la mezcla se agitó periódicamente durante aproximadamente 45 min. El material se filtró, se lavó con una pequeña cantidad de benceno destilado y se secó con aire.
- (c) Extracción con agua (como en el ejemplo 1)
- (d) Precipitación con etanol
- 25 La mezcla se centrifugó a 10.000 g durante 30 min., se recogió el extracto acuoso, se lavó el precipitado con agua en agitación y se centrifugó de nuevo, y se repitió el procedimiento de lavado-centrifugación. Los tres extractos acuosos se combinaron, y se concentraron cuatro veces entre 60º y 65ºC utilizando un evaporador rotativo. El volumen resultante se centrifugó a 5.000 rpm durante 60 min. para eliminación de proteínas, que se coagularon en los fondos de los recipientes de la centrifugadora. Se midió y se registró el volumen resultante.
- 30 Se tomó un volumen de 5 ml y se mezcló con un volumen de 5 ml de etanol al 96% en agitación. Se observó la precipitación de un galactomanano. Toda la mezcla se colocó en un frigorífico (4ºC) durante la noche, se centrifugó el precipitado, se recogió y se lavó tres veces con etanol al 75% con agitación y centrifugación. Se descartaron las fases líquidas después de cada centrifugación. El precipitado fibroso final se secó con aire y se pesó. El rendimiento del galactomanano debería estar comprendido entre el 6% al 8% del peso de las semillas iniciales.
- 35

Dado que la figura final proporciona el rendimiento del galactomanano en un volumen de 5 ml del extracto (véase anteriormente), se calculó la cantidad total de galactomanano en el volumen total del extracto.

Se repitió el procedimiento de precipitación/centrifugación con todo el volumen del extracto (menos de 5 ml eliminados en la etapa anterior), excepto que el secado con aire final no fue completo, y el material final debería estar ligeramente húmedo. Es por esto por lo que fue necesaria una "calibración" de aislamiento por separado de galactomanano, concretamente para calcular la cantidad total del polisacárido en todo el extracto para el seguimiento de la purificación.

(e) Purificación adicional (véase el ejemplo 1)

El rendimiento del galactomanano purificado debería ser del 6,5% del peso de las semillas iniciales.

(f) Preparación de la solución del reactivo de Fehling como en el ejemplo 1.

(g) Preparación de las resinas Dowex.

Las resinas secas se dejan en agua durante la noche para esponjamiento, a continuación una resina esponjada se coloca en un filtro de vidrio y se pasan a través las soluciones acuosas respectivas. Para que Dowex-1 se cargue en su forma aniónica, la solución de bicarbonato sódico al 4% se pasa a su través lentamente, y a continuación la resina se lava con agua hasta que el agua que pasa a través tenga el pH neutro (controlado con papel de tornasol). Para que Dowex-50 se cargue en su forma catiónica (H^+), se pasan a su través 3 a 4 volúmenes de ácido clorhídrico 1 N, y a continuación se lava la resina con agua como se describió anteriormente hasta que el pH del agua sea neutro.

(h) Hidrólisis ácida completa (como en ejemplo 1)

(i) Determinación de la relación manosa/galactosa en galactomananos (véase el ejemplo 1)

(j) Viscosidad de soluciones de galactomanano, y peso molecular de galactomanano (véase el ejemplo 1).

Se observó que el galactomanano presenta aumento de solubilidad en una solución que contiene adriamicina A. La adriamicina se formuló para inyección intravenosa a la concentración y pH proporcionados por la Physician's Desk Reference.

Se suministró por la vena caudal una inyección intravenosa de una sola dosis de adriamicina sola o de adriamicina junto con preparaciones de galactomanano a una dosis de 0,5 ml/ratón a las dosis descritas a continuación en los apartados (1) a (3) y se observaron las señales clínicas inmediatamente después de la inyección, y a diario durante el estudio.

Había un total de 3 grupos de 5 animales cada uno. Los grupos fueron los siguientes: 1) NaCl al 0,9% sólo, 2) adriamicina sólo (1,1 mg/ml) y adriamicina (1,1 mg/ml) + galactomanano (7,2 mg/ml). DL_{50} para adriamicina (i.v. en ratones) es 21,1 mg/kg (The Merck Index, 12ª Edición, pág. 582).

Se utilizó NaCl al 0,9% como diluyente. Se pesaron los animales antes de la inyección y al final del periodo de observación. Los animales supervivientes al final del estudio se sacrificaron por inhalación de dióxido de carbono.

Como la adriamicina se inyectó por vía intravenosa a la dosis DL_{50} , era de esperar una mortalidad en el 50% de los animales. La capacidad de galactomanano para reducir la toxicidad de la dosis DL_{50} de adriamicina se midió por la presencia o ausencia de mortalidad en los animales inyectados con la combinación de adriamicina y el polisacárido específico.

Resultados

Los animales inyectados con NaCl sólo no presentan ninguna señal de toxicidad y todos los animales sobrevivieron al final del estudio. Todos los animales ganaron peso al final del estudio.

Tres de cada 5 animales en el grupo con adriamicina sólo (un animal de cada el 1^{er} día, el 4^o día y el 5^o día) murieron antes del final del estudio. Los dos animales supervivientes perdieron peso al final del estudio (Tabla I).

Uno de cada 5 animales inyectados con adriamicina y galactomanano (un animal el 4^o día) murió antes del fin del estudio. Tres de cada cuatro animales restantes perdieron peso al final del estudio. El cuarto animal ganó muy poco peso (Tabla I). Las observaciones realizadas incluían todas las señales clínicas y toxicológicas. La adriamicina produjo la muerte en 3 de cada 5 ratones solamente a la dosis DL_{50} . Sin embargo, los ratones inyectados con la combinación de galactomanano y una dosis DL_{50} de adriamicina produjo la muerte de sólo un ratón demostrando que galactomanano tiene capacidad para disminuir la toxicidad del fármaco antitumoral adriamicina.

Tabla 2: Efecto de galactomanano (GM) cuando se administra junto con adriamicina

Grupo	Animal #	Peso corporal (g)			Señales de toxicidad #
		Día 0 5/02/01	Día 14 19/02/01	Cambio de peso	
NaCl	1	21,8	26,0	4,2	Ninguna
	2	17,8	30,2	12,4	Ninguna
	3	27,0	29,9	2,9	Ninguna
	4	23,6	27,5	3,9	Ninguna
	5	25,7	33,2	7,5	Ninguna
Adriamicina	6	27,3	25,2	-2,1	Ninguna
	7	22,7	19,1	-3,6	Ninguna
	8	21,0	*	-	D
	9	25,2	*	-	D
	10	21,6	*	-	D
Adriamicina/GM	16	25,3	*	-	D
	17	25,1	23,2	-1,9	Ninguna
	18	25,8	24,2	-1,6	Ninguna
	19	24,7	23,7	-1,0	Ninguna
	20	24,5	25,6	1,1	Ninguna

Resumen de observaciones clínicas. *Toxicidad observada. Animales muertos antes del final del estudio. D - muerte. Se utilizaron ratones macho en todo el estudio.

Ejemplo 3: Efecto sinérgico sobre la reducción del tumor del fármaco antitumoral 5-FU en presencia de galactomanano de *Gleditsia triacanthos*

- 5 La respuesta del tumor de colon humano COLO 205 implantado por vía subcutánea al tratamiento con agente quimioterapéutico citotóxico, 5-fluorouracilo (5-FU), en presencia y ausencia de galactomanano se evaluó en ratones macho lampiños atímicos NCr-nu.
- 10 Los ratones macho lampiños atímicos NCr-nu (Centro de Investigación y Desarrollo del Cáncer de Frederick, Frederick MD) se aclimataron en el laboratorio una semana antes de la experimentación. Los animales se alojaron en jaulas de microaislante, cinco por jaula en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales recibieron agua filtrada y alimento para roedores esterilizado a discreción. Se observaron los animales diariamente y se anotaron las señales clínicas. El peso de los animales estaba en el intervalo de 25 a 34 g el 13^o día del estudio, es decir el primer día de inicio del tratamiento. Los ratones estaban sanos, no utilizados anteriormente en otros procedimientos experimentales.
- 15 Treinta a cuarenta fragmentos de mg de tumor de colon humano COLO 205 se implantaron por vía subcutánea (s.c.) en ratones cerca del área axilar derecha utilizando una aguja de punción del calibre 12 y se dejó desarrollar. Se dejaron que los tumores alcanzaran de 75 a 198 mg de peso (75 a 198 mm³ de tamaño) antes de comenzar el tratamiento. Se implantaron a un número suficiente de ratones de modo que el día del inicio del tratamiento (el 13^o día después de la implantación del tumor) se seleccionaron para la prueba los tumores en un intervalo de peso tan estrecho como era posible. Estos animales seleccionados con tumores en el intervalo de tamaño apropiado se dividieron en varios grupos
- 20 de tratamiento. Los pesos medios del tumor en cada grupo de tratamiento oscilaban entre 94 y 117 mg.
- La duración del estudio fue de setenta días después de la implantación del tumor, o de cincuenta y seis días después del inicio del tratamiento. Cualquier animal cuyo tumor ulceraba o alcanzaba 4000 mg de tamaño se sacrificó antes de la terminación del estudio.

El tiempo de cada uno de los animales para alcanzar el tamaño de evaluación (tiempo para alcanzar el doble de la masa tumoral) se utilizó en los cálculos del retardo global en el crecimiento del tumor medio $[(T-C)/C \times 100, \%]$ y como punto final en el análisis de las tablas de vida (estimación estratificada de Kaplan-Meier seguido de la prueba de orden logarítmico de Mantel-Haenszel) para comparar estadísticamente los datos de crecimiento entre los grupos.

5 Se midieron los tumores por s.c. y se pesaron los animales dos veces a la semana comenzando el primer día de tratamiento. Se determinó el volumen del tumor por mediciones con calibrador (mm) y utilizando la fórmula para una esfera elipsoide: $L \times W^2/2 = \text{mm}^3$, en la que L y W se refieren a las dimensiones mayor y menor recogidas en cada medición. Esta fórmula se utilizó también para calcular el peso del tumor, suponiendo una unidad de densidad ($1 \text{ mm}^3 = 1 \text{ mg}$).

10 El galactomanano que en la naturaleza tiene un peso molecular de aproximadamente 800.000 D se escindió para proporcionar un galactomanano que tiene un peso molecular medio de 215.000 D. El galactomanano de esta procedencia tiene una relación de galactosa a manano de 2,2. La procedencia de galactomanano y su aislamiento, la purificación caracterización son como se describen en el ejemplo 1.

15 Se administró por vía intravenosa (i.v.) galactomanano una vez cada cuatro días un total de tres inyecciones (q4d x 3) a una dosis de 120 mg/kg/dosis (excepto una dosis de 60 mg/kg, véase a continuación) o se administró junto con una inyección con 5-FU o el mismo programa de tratamiento q4d x 3 a dosis de 120 mg/kg/dosis de galactomanano y 75 mg/kg/dosis de 5-FU. Se administró i.v. 5-FU sólo en el mismo programa de tratamiento q4d x 3 a dosis de 75 mg/kg/dosis. El 5-FU se formuló en solución salina reciente cada día de tratamiento a una concentración de 3,75 mg/ml a pH 8,4-9,0 (con NaOH 1 N). En los grupos en los que se administraron galactomanano y 5-FU juntos, se disolvió polvo de galactomanano en la solución de 5-FU para proporcionar la concentración de galactomanano de 6 mg/ml y concentración de 5-FU de 3,75 mg/ml. Tanto los compuestos individuales como su mezcla se administraron por el peso corporal exacto con un volumen de inyección que es 0,2 ml/10 g de peso corporal.

20 Había un total de siete grupos de 10 animales cada uno, implantados por s.c. con xenotrasplantes de tumor de colon humano COLO 205. Los grupos se trataron el 13º día después de la implantación del tumor en el programa q4d x 3 (excepto para el último grupo, que se trató con fines comparativos con una dosis inferior de galactomanano sólo en el programa q1d x 5, véase la Tabla 1) de la forma siguiente:

- (1) Solución salina (NaCl, 0,9%),
- (2) 5-FU (75 mg/kg),
- (3) Galactomanano (120 mg/kg),
- 30 (4) 5-FU (75 mg/kg) + Galactomanano (120 mg/kg),
- (5) 5-FU (375 mg/kg),
- (6) 5-FU (375 mg/kg) + Galactomanano (120 mg/kg),
- (7) Galactomanano (60 mg/kg) durante cinco días consecutivos (q1d x5).

Los datos (excepto de los grupos 5 y 6, véase a continuación) se muestran en la Tabla1.

35 **Tabla 1**

Respuesta de los animales en los cinco grupos siguientes (10 ratones en cada uno al inicio del tratamiento)					
	Solución salina (referencia) q4d x 3	5-FU (75 mg/kg) q4d x 3	Galactomanano (GM) (120 mg/kg) q4d x 3	5-FU (75 mg/kg) + GM (120 mg/kg) q4d x 3	GM (60 mg/kg) q1d x 5
Días de media para 2 x duplicar el peso del tumor	12,5	23,7	15,5	56,0	20,0

Respuesta de los animales en los cinco grupos siguientes (10 ratones en cada uno al inicio del tratamiento)					
Animales con pequeños tumores (20% y menos) en comparación con la media sin tratar después de 4 a 8 semanas de tratamiento	0	1	1	4	0
Remisión completa del tumor después de 56 días de tratamiento	0	0	0	1	0
Peso medio del tumor (en días después del inicio del tratamiento)					
Día 0	111 mg	101 mg	100 mg	111 mg	117 mg
Día 3	189 mg	135 mg	162 mg	144 mg	162 mg
1 Semana	415 mg	198 mg	258 mg	209 mg	216 mg
2 Semanas	527 mg	245 mg	320 mg	158 mg	319 mg
3 Semanas	968 mg	352 mg	629 mg	126 mg	512 mg
4 Semanas	1296 mg	527 mg	959 mg	144 mg	690 mg
5 Semanas	2450 mg	990 mg	1692 mg	288 mg	1116 mg
6 Semanas	1651 mg	1345 mg	1690 mg	288 mg	1421 mg
7 Semanas	2432 mg	1881 mg	1764 mg	320 mg	1152 mg
8 Semanas	2058 mg	2254 mg	1813 mg	405 mg	1152 mg
Animales muertos (en semanas después del inicio del tratamiento)					
1 Semana	0	1 (no específico)	0	0	1 (no específico)
2 Semanas	0	2 (no específico)	0	4 (no específico)	0
3 Semanas	1	0	0	0	0
4 Semanas	0	0	0	1	1
5 Semanas	0	1	0	0	0
6 Semanas	1 (sac)	0	1 (sac)	0	0
7 Semanas	1 (sac)	0	0	1 (sac)	1 (sac)
8 Semanas	2 (sac)	1 (sac)	1(sac)	0	0
Total	5	5	2	6	3
Tiempo de supervivencia medio días	14,2	23,7	19,2	44,2	18,1
(sac) – animales sacrificados					

Los tumores sin tratar de referencia se desarrollaron bien en todos los ratones, con una media para cuadruplicar el peso del tumor igual a 12,5 días. No hubo ninguna remisión tumoral después de 56 días del estudio, y no hubo prácticamente ninguna reducción tumoral. El peso medio del tumor aumentó desde 111 mg al inicio del tratamiento (en este caso con solución salina solamente) hasta 2000 a 2450 mg después de 5 a 8 semanas. Un ratón murió y cuatro animales más al final del estudio debido a un tumor grande (>4 gramos) o ulceración del tumor. EL tiempo medio de supervivencia calculado utilizando modelos paramétricos y la estimación estratificada de Kaplan-Meier seguido de la prueba de orden logarítmico de Mantel-Haenszel fue igual a 14,2 días.

5 El 5-FU administrado sólo a una dosis de 375 mg/kg/dosis en un programa q4d x 3 fue letal, produciendo nueve ratones muertos de cada diez a los 10 días después del inicio del tratamiento (una sola dosis DL₅₀ para 5-FU en ratones se publicó que era 340 mg/kg, véase la Physician's Desk Reference 48ª edición (1994), pág. 1925). El mismo tratamiento en una combinación con galactomanano (120 mg/kg/dosis) dio lugar a siete muertes en el mismo periodo. Los datos no se muestran en la Tabla 1.

10 Una dosis de 75 mg/kg/dosis de 5-FU (es decir, 225 mg/kg de dosis total durante 8 días) estaba en exceso de la dosis máxima tolerada produciendo tres muertes relacionadas con el tratamiento de cada diez ratones en dos semanas. El tratamiento dio lugar a un retardo en una media para cuadruplicar el peso del tumor de 12,5 a 23,7 días. De nuevo, no hubo ninguna remisión del tumor después de 56 días del estudio, se observaron dos tumores relativamente pequeños que crecían desde 75 mg cada uno al inicio del tratamiento hasta 126 mg y 567 mg al final del estudio. El peso del tumor medio aumento desde 101 mg al inicio del tratamiento hasta 2254 mg después de 56 días del estudio. Se observaron tres muertes inespecíficas en dos semanas (aparentemente debidas a la toxicidad), un ratón murió en la quinta semana, y uno más fue sacrificado al final del estudio debido a la ulceración del tumor. El tiempo de supervivencia medio se desplazó desde 14,2 días (referencia, animales no tratados) hasta 23,7 días.

15 El galactomanano a una dosis de 120 mg/kg/dosis administrado sólo en un programa q4d x 3 fue bien tolerado sin muertes o pérdida de peso corporal, con una media para cuadruplicar el peso del tumor igual a 15,5 días, que está ligeramente retardado (3 días) en comparación con los animales no tratados. No hubo ninguna remisión tumoral después de 56 días de estudio, sin embargo, se observó que dos tumores relativamente pequeños (comparados con el peso medio del tumor) crecían desde 100 mg y 126 mg al inicio del tratamiento hasta 270 mg y 729 mg, respectivamente, al final del estudio. El peso medio del tumor aumentó desde 100 mg al inicio del tratamiento hasta 1813 mg después de 56 días del estudio, lo que es sensiblemente menos en comparación con 2.000 a 2.450 mg para animales sin tratar, y 2.254 mg para animales tratados con 5-FU (75 mg/kg/dosis). Se sacrificaron dos ratones al final del estudio, uno debido a un tumor grande (>4 gramos), otro debido a la ulceración del tumor. El tiempo de supervivencia medio se desplazó desde 14,2 días (referencia, animales sin tratar) hasta 19,2 días.

25 Un cambio del programa de administración para galactomanano de 120 mg/kg/dosis una vez en cuatro días, tres inyecciones (q4d x 3) hasta 60 mg/kg/dosis cada día, cinco inyecciones (q1d x 5) produjo un retardo adicional al cuadruplicar el peso del tumor, desde 12,5 días (en animales no tratados) de referencia hasta 15,5 días y 20,0 días, respectivamente (véase la Tabla 1). El tiempo de supervivencia medio era próximo para los dos programas de administración de galactomanano, a saber 19,2 y 18,1 días (Tabla 1), sin embargo, el tamaño medio del tumor fue significativamente más pequeño con una administración más frecuente de una dosis menor de galactomanano (1813 mg y 1152 mg, respectivamente), e incluso más pequeño en comparación con el de la administración de 5-FU (2254 mg).

35 La administración conjunta de galactomanano (120 mg/kg/dosis) y 5-FU (75 mg/kg/dosis) en un programa q4d x 3 produjo un efecto notable. Dio lugar a un retardo significativo al cuadruplicar el peso del tumor, desde 12,5 días para animales sin tratar (referencia) y 23,7 y 15,5 días para 5-FU sólo y galactomanano sólo respectivamente, hasta 56,0 días para su combinación. Hubo un tumor que desapareció completamente al final del estudio; fue desde los 75 mg iniciales hasta 126 mg el tercer día tras el inicio del tratamiento (es decir, después de la primera inyección) y además hasta 144 mg después de la segunda y tercera inyecciones, y después de dos semanas de estudio disminuyó hasta un nivel apenas detectable, y a continuación desapareció completamente. Dos tumores más eran de un tamaño relativamente pequeño (352 y 405 mg) al final del estudio. En general, el peso medio del tumor aumentó desde 111 mg al inicio del tratamiento hasta solamente 405 mg tras de 56 días de estudio, es decir significativamente menos en comparación con 2000 a 2450 mg para los animales no tratados, y 2254 mg para los animales tratados con 5-FU (75 mg/kg/dosis). Sin embargo, existía todavía toxicidad, con cuatro muertes no específicas en dos semanas, una muerte después de cuatro semanas y un ratón sacrificado al final del estudio debido a la ulceración del tumor. El tiempo de supervivencia medio se desplazó desde 14,2 días (referencia, animales sin tratar) y 23,7 días (tratamiento con 5-FU) hasta 44,2 días para un tratamiento de combinación.

45 Por lo tanto, este resultado estaba en marcado contraste con los resultados en los ratones que tienen cáncer tratados con 5-FU sólo.

REIVINDICACIONES

1. Un polisacárido de galactomanano para su utilización en la administración conjunta con un agente quimioterapéutico en el tratamiento del cáncer, en el que la relación de manosa a galactosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 1,0 - 3,0 de manosa : 0,5 - 1,5 de galactosa.
- 5 2. Una composición para su utilización según la reivindicación 1, en la que el tamaño del galactomanano está comprendido en el intervalo de 40.000 a 200.000 D.
3. Una composición para su utilización según la reivindicación 1 ó 2, en la que la relación de manosa a galactosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 2,6 de manosa : 1,5 de galactosa (1,73 de manosa : 1 de galactosa).
- 10 4. Una composición para su utilización según la reivindicación 1 ó 2, en la que la relación de manosa a galactosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 2,2 de manosa : 0,9 de galactosa, 1,13 de manosa : 1 de galactosa o 2,2 de manosa : 1 de galactosa.
5. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el galactomanano sirve para reducir un efecto tóxico asociado a la administración del agente terapéutico en el tratamiento del cáncer.
- 15 6. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el galactomanano sirve para aumentar la eficacia del agente quimioterapéutico en el tratamiento del cáncer.
7. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el galactomanano y el agente quimioterapéutico se mezclan antes de la administración.
- 20 8. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que el galactomanano tiene un peso molecular medio de 48.000 D.
9. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el galactomanano es un β -1,4-D-galactomanano.
10. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que el galactomanano y el agente quimioterapéutico son para administración conjunta en una proporción de 0,1:1 p/p a 10:1 p/p.
- 25 11. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el agente quimioterapéutico es adriamicina.
12. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el agente quimioterapéutico es 5-FU.
13. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que el cáncer es cualquiera de entre la leucemia crónica, cáncer de mama, sarcoma, carcinoma de ovario, cáncer rectal, cáncer de garganta, melanoma, 30 cáncer de colon, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón, adenocarcinoma de mama, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer de próstata, cáncer pancreático o sarcoma de Kaposi.
14. Una composición según la reivindicación 13, en la que el sujeto es un sujeto humano.
15. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que el medicamento es para administración parenteral.
- 35 16. Una formulación farmacéutica que comprende: una mezcla de un polisacárido y una dosis eficaz para el tratamiento del cáncer de un agente quimioterapéutico en una formulación farmacéuticamente aceptable, en la que la relación de galactosa a manosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 1,0 - 3,0 de manosa : 0,5 - 1,5 de galactosa.
- 40 17. La formulación farmacéutica según la reivindicación 16, en la que el tamaño del galactomanano está comprendido en el intervalo de 40.000 a 200.000 D.
18. La formulación farmacéutica según la reivindicación 16 ó 17, en la que la relación de manosa a galactosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 2,6 de manosa : 1,5 de galactosa (1,73 de manosa : 1 de galactosa).
- 45 19. La formulación farmacéutica según la reivindicación 16 ó 17, en la que la relación de manosa a galactosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 2,2 de manosa : 0,9 de galactosa, 1,13 de manosa : 1 de galactosa o 2,2 de manosa : 1 de galactosa.
20. Una formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 19, en la que el agente

quimioterápico es 5-FU.

21. Una formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 19, en la que el agente quimioterápico es adriamicina.

5 22. Una formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 21, en la que la formulación está en forma de polvo o de líquido.

23. Un polisacárido de galactomanano para su utilización en la administración conjunta con un agente quimioterápico para reducir un efecto tóxico asociado a la administración del galactomanano sin agente quimioterápico o para aumentar la eficacia del agente quimioterápico, en el que la relación de manosa a galactosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 1,0 - 3,0 de manosa : 0,5 - 1,5 de galactosa.

10 24. Una composición para su utilización según la reivindicación 23, en la que el tamaño del galactomanano está comprendido en el intervalo de 40.000 a 200.000 D.

25. Una composición para su utilización según la reivindicación 23 ó 24, en la que la relación de manosa a galactosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 2,6 de manosa : 1,5 de galactosa (1,73 de manosa : 1 de galactosa).

15 26. Una composición para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 23 a 25, en la que la relación de manosa a galactosa en el galactomanano está comprendida en el intervalo de 2,2 de manosa : 0,9 de galactosa, 1,13 de manosa : 1 de galactosa o 2,2 de manosa : 1 de galactosa.

27. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 23 a 26, en la que el galactomanano y el agente quimioterápico se mezclan antes de la administración.

20 28. Una composición para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 23 a 27, en la que el polisacárido de galactomanano está en forma de polvo o de líquido.