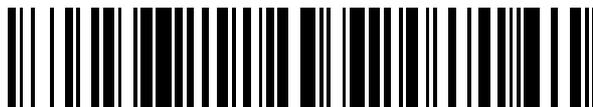


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 973**

21 Número de solicitud: 201201255

51 Int. Cl.:

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

30.05.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

14.02.2014

62 Número y fecha presentación solicitud principal:

P 201230823 30.05.2012

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE ALICANTE (100.0%)
Carretera San Vicente del Raspeig, s/n
03690 San Vicente del Raspeig (Alicante) ES**

72 Inventor/es:

**LÓPEZ LLORCA, Luis Vicente;
NISLOW, Corey y
JAIME, M^a De Los Angeles**

54 Título: **Composición para su uso como agente antifúngico**

57 Resumen:

Composición para su uso como agente antifúngico. La presente invención proporciona una composición que comprende quitosano, o un oligosacárido de quitosano, y fluconazol, la cual es de utilidad para inhibir el crecimiento en células eucariotas. Por tanto, se propone su uso como agente antifúngico y para la prevención y/o tratamiento de infecciones fúngicas.

ES 2 442 973 A1

COMPOSICIÓN PARA SU USO COMO AGENTE ANTIFÚNGICO

DESCRIPCIÓN

5 La presente invención se encuadra en el campo de las composiciones antifúngicas, específicamente dentro de las composiciones que conducen a una mayor sensibilidad de las células eucariotas a los efectos del quitosano o de sus oligosacáridos.

ESTADO DE LA TÉCNICA

10

La quitina es un polímero natural abundante que forma el exoesqueleto de los crustáceos, la cutícula de los artrópodos y las paredes celulares de la mayoría de los hongos. El quitosano es un polímero de N-glucosamina obtenido por N-deacetilación parcial de la quitina. La hidrólisis ácida o la rotura enzimática de los enlaces
15 glicosídicos de las cadenas de quitosano, genera cadenas más cortas de un tamaño <1-10 KDa de oligosacáridos de quitosano (COS). COS tienen mayores propiedades antimicrobianas que el quitosano y actúan como aquél desestabilizando/permeabilizando las membranas celulares de bacterias, levaduras y de otros hongos.

20

El quitosano ejerce una acción antifúngica en diversos hongos (Palma-Guerrero J., *et al.*, 2010, *Appl Microbiol Biot.*, 87:2237-2245). Dicho compuesto inhibe tanto el crecimiento de las hifas como la germinación de esporas y reduce la producción de toxinas. Recientemente, se ha demostrado que el quitosano incrementa la producción
25 de conidios en hongos filamentosos, incluso a concentraciones a las que el crecimiento de las hifas está bloqueado. En conjunto dichas observaciones sugieren que el quitosano ejerce su actividad antifúngica por múltiples mecanismos.

30

Por otro lado, COS es más soluble y activo biológicamente que el quitosano (Kim SK., Rajapakse N., 2005, *Carbohydr Polym.*, 62:357-368). La actividad biológica del quitosano y del COS depende de su peso molecular, grado de deacetilación y pH del medio. La actividad antibiótica del quitosano y del COS se debe a la permeabilización de las membranas plasmáticas bacterianas (Liu H., Du Y., Wang X., Sun L., 2004, *International journal of food microbiology*, 95:147-155). De igual forma los efectos
35 antifúngicos del quitosano en levaduras y hongos filamentosos son debidos al daño

que este compuesto causa a sus membranas plasmáticas. La sensibilidad fúngica al quitosano depende de la fluidez de la membrana. La permeabilización de la membrana plasmática por quitosano también se ha detectado (indirectamente) en *Saccharomyces cerevisiae*, ya que la delección de genes codificantes para proteínas implicadas en el mantenimiento de la integridad de la membrana plasmática incrementó la sensibilidad al quitosano en dicho microorganismo (Zakrzewska A., *et al.*, 2007, *Eukaryotic cell*, 6:600-608).

Los COS son no-tóxicos para mamíferos, por lo que son de particular interés para su uso como antifúngicos en diversas aplicaciones. No obstante, debido a que muchos de los hongos patógenos pueden desarrollar resistencias al tratamiento prolongado con quitosano o con COS, es deseable mejorar la acción antifúngica del mismo mediante la identificación de dianas moleculares cuya inhibición/activación contribuya a mejorar el efecto de dicho compuesto en la muerte o inhibición del crecimiento de células eucariotas, preferiblemente de hongos. Además, mediante la identificación de dichas dianas moleculares de quitosano o de COS, se consigue incrementar el conocimiento del modo de acción antifúngico de este compuesto.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En los ejemplos de la presente invención se muestra que el uso combinado de quitosano, o de oligosacáridos del quitosano, con el antifúngico fluconazol presenta un efecto sinérgico en la inhibición del crecimiento de células eucariotas.

Tras el uso combinado de quitosano, o sus oligosacáridos, con fluconazol se observa una dramática disminución del crecimiento celular de células eucariotas, preferiblemente de hongos. La combinación de quitosano, o de sus oligosacáridos, preferiblemente de COS, más preferiblemente de COS-5.44, y fluconazol actúa de modo sinérgico, ya que la combinación de ambos compuestos inhibe el crecimiento celular en mayor medida que la suma de la inhibición del crecimiento celular causada por cada uno de estos dos compuestos individualmente.

Por ello, un primer aspecto de la invención se refiere a una composición, de ahora en adelante "composición de la invención", que comprende quitosano, o un oligosacárido

de quitosano, y fluconazol. Preferiblemente, esta composición de la invención comprende COS, más preferiblemente COS-5.44, y fluconazol.

5 La "célula eucariota" a la que se refiere la presente invención puede proceder de cualquier organismo eucariota, aunque preferiblemente procede de un hongo o de un mamífero. El término "hongo", tal y como se utiliza en la presente invención, se refiere tanto a hongos filamentosos como a levaduras. Preferiblemente, el hongo al que se refiere la presente invención se selecciona de la lista que comprende: *S. cerevisiae*,
10 *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon spp.*, *Malassezia spp.*, *Scedosporium spp.* o cualquiera de los hongos descritos como sensibles a quitosano en Palma Guerrero *et al.*, 2008, *Journal of Applied Microbiology*, 104(2): 541-553.

15 En la presente invención se entiende por "quitosano" el polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de β -(1-4) D-glucosamina (unidades deacetiladas) y de N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada) obtenido por N-deacetilación parcial de la quitina, y que posee efectos inhibidores del crecimiento de hongos y bacterias.

20 Un "oligosacárido de quitosano" o "COS" es aquel oligosacárido del quitosano que presenta cadenas cortas, preferiblemente de un tamaño <1-10 KDa, obtenido por la hidrólisis ácida o la rotura enzimática de los enlaces glicosídicos de las cadenas de quitosano, y que presenta efectos inhibidores del crecimiento de hongos y bacterias.
25 Preferiblemente, el COS al que se refiere la presente invención es COS-5.44.

El "fluconazol" es un medicamento triazol antimicótico usado en el tratamiento y prevención de infecciones fúngicas superficiales y sistémicas, y disponible comercialmente.

30 Otro aspecto de la invención se refiere al uso de la composición de la invención como antifúngico.

El término "antifúngico" se refiere a un compuesto que inhibe el crecimiento del hongo sin llegar a provocar su muerte (fungistático), o que destruye, es decir, provoca la

muerte, del hongo (fungicida). Este uso como agente antifúngico de la composición de la invención se refiere a un uso *ex vivo*. Así, la composición de la invención puede ser utilizada como antifúngico en diversas aplicaciones, por ejemplo, aunque sin limitarnos, en la industria textil; en la industria alimentaria, como por ejemplo, para el recubrimiento de alimentos con el fin de evitar su contaminación microbiana y, por tanto, de evitar una potencial intoxicación en el cuerpo humano o animal una vez que el alimento es ingerido; en agricultura, como por ejemplo, en tratamientos fitosanitarios, preferiblemente en infecciones causadas por *Botrytis cinerea* o *Fusarium oxysporum*; o como detergente, por ejemplo, para la limpieza de diversas superficies.

La expresión “*ex vivo*” se refiere a que la célula eucariota tratada con la composición de la invención se encuentra fuera del cuerpo humano o animal.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de la composición de la invención para la elaboración de un medicamento, o alternativamente, a la composición de la invención para su uso como medicamento. En una realización preferida, el medicamento es para el tratamiento y/o prevención de infecciones fúngicas. Más preferiblemente, la infección fúngica es producida por hongos tales como por ejemplo, aunque sin limitarnos, *S. cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon spp.*, *Malassezia spp.* o *Scedosporium spp.*. Aun más preferiblemente, la infección fúngica se produce en humanos.

El término “medicamento” en la presente invención se refiere a un medicamento de uso humano o veterinario. El “medicamento de uso humano” es toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico. El “medicamento de uso veterinario” es toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades curativas o preventivas con respecto a las enfermedades animales o que pueda administrarse al animal con el fin de restablecer, corregir o modificar sus funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico veterinario.

Se entiende por "infección fúngica" la colonización de un organismo huésped, preferiblemente de un mamífero no humano o de un humano, más preferiblemente de un humano, por parte de un hongo patógeno. Aun más preferiblemente, la infección fúngica es producida por hongos tales como por ejemplo, aunque sin limitarnos, *S. cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon spp.*, *Malassezia spp.* o *Scedosporium spp.*.

El término "tratamiento", tal como se entiende en la presente invención, se refiere a combatir los efectos causados como consecuencia de la enfermedad o condición patológica de interés en un sujeto (preferiblemente mamífero, y más preferiblemente un humano) que incluye:

- (i) inhibir la enfermedad o condición patológica, es decir, detener su desarrollo;
- (ii) aliviar la enfermedad o la condición patológica, es decir, causar la regresión de la enfermedad o la condición patológica o su sintomatología;
- (iii) estabilizar la enfermedad o la condición patológica.

El término "prevención", tal como se entiende en la presente invención, consiste en evitar la aparición de la enfermedad, es decir, evitar que se produzca la enfermedad o la condición patológica en un sujeto (preferiblemente mamífero, y más preferiblemente un humano), en particular, cuando dicho sujeto tiene predisposición por la condición patológica, pero aún no se ha diagnosticado que la tenga.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica, "composición farmacéutica de la invención", que comprende la composición de la invención.

En una realización preferida, la composición farmacéutica de la invención además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y/u otro principio activo. En una realización más preferida, el otro principio activo es un compuesto antifúngico. Esta composición farmacéutica de la invención puede comprender además uno o más excipientes.

El término "excipiente" hace referencia a una sustancia que ayuda a la absorción de los elementos de la composición farmacéutica de la invención, estabiliza dichos elementos, activa o ayuda a la preparación de la composición en el sentido de darle

consistencia o aportar sabores que la hagan más agradable. Así pues, los excipientes podrían tener la función de mantener los ingredientes unidos, como por ejemplo es el caso de almidones, azúcares o celulosas, la función de endulzar, la función de colorante, la función de protección de la composición, como por ejemplo, para aislarla del aire y/o la humedad, la función de relleno de una pastilla, cápsula o cualquier otra forma de presentación, la función desintegradora para facilitar la disolución de los componentes y su absorción en el intestino, sin excluir otro tipo de excipientes no mencionados en este párrafo.

El "vehículo farmacéuticamente aceptable", al igual que el excipiente, es una sustancia que se emplea en la composición para diluir cualquiera de los componentes comprendidos en ella hasta un volumen o peso determinado. El vehículo farmacéuticamente aceptable es una sustancia inerte o de acción análoga a cualquiera de los elementos comprendidos en la composición farmacéutica de la presente invención. La función del vehículo es facilitar la incorporación de otros elementos, permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma a la composición.

Preferiblemente, la composición farmacéutica de la invención comprende la composición de la invención, es decir, quitosano, o un oligosacárido de quitosano, y fluconazol, en una cantidad terapéuticamente efectiva, entendiéndose por "cantidad terapéuticamente efectiva" el nivel, cantidad o concentración de quitosano, o un oligosacárido de quitosano, y fluconazol, que produzca el efecto deseado tratando y/o previniendo infecciones fúngicas, sin causar efectos adversos.

La composición farmacéutica de la presente invención puede formularse para su administración en una variedad de formas conocidas en el estado de la técnica. Como ejemplos de preparaciones se incluye cualquier composición sólida (comprimidos, píldoras, cápsulas, gránulos, etc.) o líquida (soluciones, suspensiones o emulsiones) para administración oral, tópica o parenteral. La composición farmacéutica de la presente invención también puede estar en forma de formulaciones de liberación sostenida de drogas o de cualquier otro sistema convencional de liberación, así puede estar contenida, aunque sin limitarnos, en nanopartículas, liposomas o nanosferas, en un material polimérico, en un implante biodegradable o no biodegradable o en micropartículas biodegradables, como por ejemplo, microesferas biodegradables.

Tal composición y/o sus formulaciones pueden administrarse a un animal, incluyendo un mamífero y, por tanto, al hombre, en una variedad de formas, incluyendo, pero sin limitarse, parenteral, intraperitoneal, intravenosa, intradérmica, epidural, intraespinal, intraestromal, intraarticular, intrasinovial, intratecal, intralesional, intraarterial, intracardíaca, intramuscular, intranasal, intracraneal, subcutánea, intraorbital, intracapsular, tópica, mediante parches transdérmicos, vía vaginal o vía rectal, mediante la administración de un supositorio, percutánea, espray nasal, implante quirúrgico, pintura quirúrgica interna, bomba de infusión o vía catéter.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos o componentes. 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 y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1. Muestra el efecto sinérgico inhibitorio de COS-5.44 sobre el crecimiento celular cuando se utiliza en combinación con fluconazol. A) Curvas de crecimiento de la cepa de tipo salvaje (BY4743) creciendo en el medio sin quitosano (vehículo, DMSO), COS-5,44 (77 $\mu\text{g}/\text{ml}$), Fluconazol (16 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y COS-5,44 + fluconazol (77 + 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivamente). B) Curvas de crecimiento de la cepa de tipo salvaje (BY4743): crecimiento en presencia del vehículo, COS-5,44 (84 $\mu\text{g}/\text{ml}$), fluconazol (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y COS-5,44 + fluconazol (84 + 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivamente). Las lecturas de densidad óptica (DO) se tomaron cada 15 minutos durante 20 horas utilizando un lector Tecan Genios. Las medidas DO Tecan se convirtieron a DO de cubetas convencionales de 1 mm de longitud de paso de luz.

EJEMPLOS DE REALIZACIÓN

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la efectividad de la composición de la invención, la cual comprende quitosano o sus oligosacáridos y fluconazol, en la inhibición del

crecimiento de células eucariotas. Estos ejemplos específicos que se proporcionan sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención y se incluyen solamente con fines ilustrativos, por lo que no han de ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica. Por tanto, los ejemplos descritos más adelante
5 ilustran la invención sin limitar el campo de aplicación de la misma.

EJEMPLO 1. SINERGIA DE COS CON ANTIFÚNGICOS.

1.1. INTERACCIÓN ENTRE COS Y FLUCONAZOL.

10

Para COS-5.44, se preparó un intervalo de concentración de 35-105 µg/ml y para fluconazol, un intervalo de concentración 4-24 µg/ml. Se prepararon soluciones stock para cada fármaco en 12,5% de DMSO para obtener una concentración final de 1% en DMSO. Se crecieron levaduras de tipo salvaje (BY4743) por la noche y se diluyó a una
15 OD₆₀₀ de 0,0625 en YPD 0.54X pH 5. Se tomaron alícuotas de 92 µl de la mezcla de células y se sembraron en cada pocillo de una placa de 96 pocillos (Nunc), y se añadieron 4 µl stock de COS-5.44 y/o fluconazol en una matriz de 7 x 12 dosis-respuesta. Se realizaron dos matrices de dosis-respuesta: la auto-auto (COS-5,44 - 5,44 y COS-Fluconazol - Fluconazol) y dos repeticiones de la COS-5.44 y la matriz de
20 fluconazol. Las células se cultivaron a 30°C en un espectrofotómetro con agitación (Tecan), tomándose lecturas cada 15 minutos durante 24 horas. Se utilizó el área bajo la curva de crecimiento como un indicador para medir el defecto en el crecimiento y la interacción de fármacos.

25

1.2. INTERACCIÓN SINÉRGICA DE COS-5.44 CON FLUCONAZOL.

Debido a que COS-5.44 y el fluconazol tienen diferentes modos de acción, se analizó el efecto del tratamiento de células con ambos compuestos simultáneamente, para comprobar si estos dos compuestos podrían interactuar de manera sinérgica. A
30 concentraciones en las que ninguno de los fármacos inhibe o inhibe débilmente el crecimiento de las células (COS inhibe el crecimiento de <15%, mientras que el fluconazol inhibe <9%), cuando se utilizan en combinación se observa una dramática disminución en el crecimiento celular (Figura 1A-B). Usando el área bajo la curva de crecimiento como una medida, se vio que la combinación de COS-5.44 y Fluconazol
35 actúa de modo sinérgico ya que la combinación de ambos fármacos inhibe el

crecimiento mucho más (45 a 86%) que la suma de inhibición del crecimiento causado por cada compuesto individualmente.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende quitosano, o un oligosacárido de quitosano, y fluconazol.

5

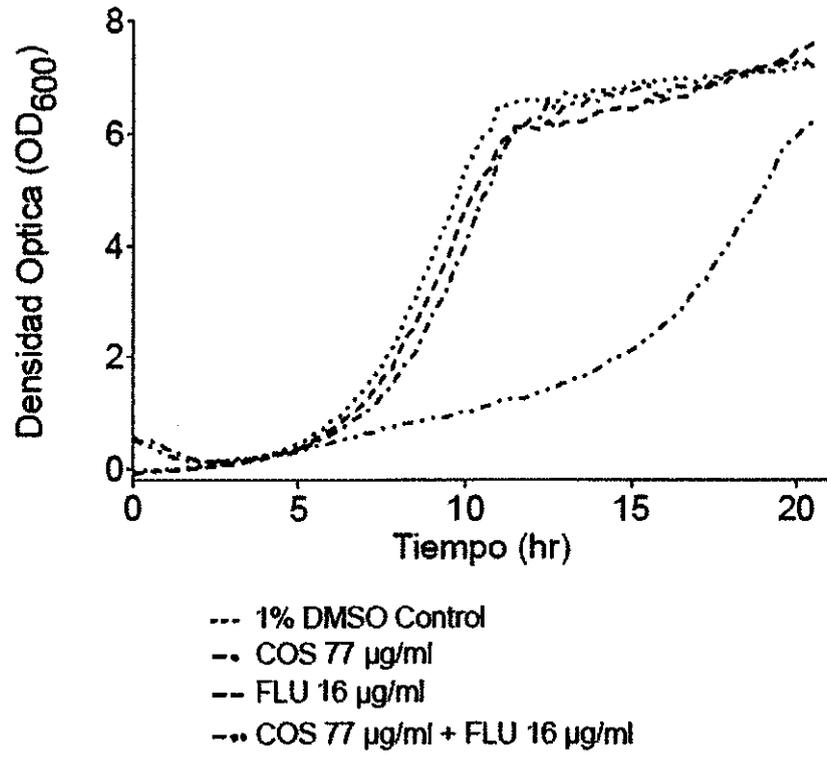
2. Uso *ex vivo* de la composición según la reivindicación 1, como antifúngico.

3. Uso de la composición según la reivindicación 1, para la elaboración de un medicamento.

10

4. Uso de la composición según la reivindicación 1 para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de infecciones fúngicas.

A



B

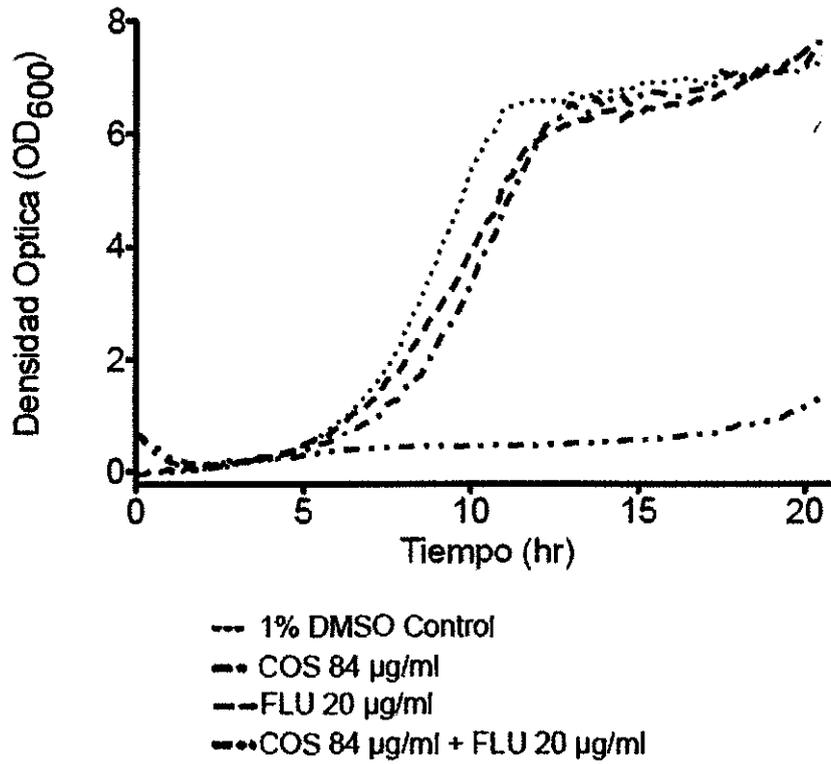


FIG. 1.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA

- ②1 N.º solicitud: 201201255
②2 Fecha de presentación de la solicitud: 30.05.2012
③2 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤1 Int. Cl.: **A61K47/36** (2006.01)
A61K31/4196 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤6 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	TAS GRATIERI et al. Enhancing and sustaining the topical ocular delivery of fluconazole using chitosan solution and poloxamer/chitosanforming gel. EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS, 20110520 ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL 20.05.2011 VOL: 79 No: 2 Págs: 320-327 ISSN 0939-6411 Doi: doi:10.1016/j.ejpb.2011.05.006, página 321, columna 1, página 324, discusión y figura 4 y página 326, conclusiones.	1-4
X	JAIME MARIA D L A et al. Identification of yeast genes that confer resistance to chitosan oligosaccharide (COS) using chemogenomics. BMC genomics England 2012 VOL: 13 Pág: 267 ISSN 1471-2164 (Electronic) Doi: doi:10.1186/1471-2164-13-267 pubmed:22727066, página 17, figura 8, y columna 2, penúltimo párrafo.	1-4
X	CALAMARI S -E et al. Antifungal and post-antifungal effects of chlorhexidine, fluconazole, chitosan and its combinations on Candida albicans. Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal 20110101 Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal esp 01.01.2011 VOL: 16 No: 1 Págs: e23-e28 ISSN 1698-4447 (print) ISSN 1698-6946 (electronic) Doi: doi:10.4317/medoral.16.e23, página e24 y página e26, figura 1.	1-4
X	ALBURQUENQUE CLAUDIO et al. Antifungal activity of low molecular weight chitosan against clinical isolates of Candida spp. Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology England Dic 2010 (12.2010) VOL: 48 No: 8 Págs: 1018-1023 ISSN 1460-2709 (Electronic) Doi: doi:10.3109/13693786.2010.486412 pubmed:20482450, página 1022.	1-4
A	ES 2215918 T3 (POLICHEM, S.A.) 16.10.2004, página 3; reivindicaciones.	1-4

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
13.11.2013

Examinador
H. Aylagas Cancio

Página
1/4

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

A61K

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

INVENES, EPODOC, WPI, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, NPL, XPESP, XPESP2, REGISTRY, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 13.11.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-4	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-4	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	TAS GRATIERI et al. Enhancing and sustaining the topical ocular delivery of fluconazole using chitosan solution and poloxamer/chitosanforming gel. EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS, 20110520 ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL 20.05.2011 VOL: 79 No: 2 Págs: 320-327 ISSN 0939-6411 Doi: doi:10.1016/j.ejpb.2011.05.006, página 321, columna 1, página 324, discusión y figura 4 y página 326, conclusiones.	20.05.2011
D02	JAIME MARIA D L A et al. Identification of yeast genes that confer resistance to chitosan oligosaccharide (COS) using chemogenomics. BMC genomics England 2012 VOL: 13 Pág: 267 ISSN 1471-2164 (Electronic) Doi: doi:10.1186/1471-2164-13-267 pubmed:22727066, página 17, figura 8, y columna 2, penúltimo párrafo.	30.11.2011
D03	CALAMARI S -E et al. Antifungal and post-antifungal effects of chlorhexidine, fluconazole, chitosan and its combinations on Candida albicans. Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal 20110101 Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal esp 01.01.2011 VOL: 16 No: 1 Págs: e23-e28 ISSN 1698-4447 (print) ISSN 1698-6946 (electronic) Doi: doi:10.4317/medoral.16.e23, página e24 y página e26, figura 1.	01.01.2011
D04	ALBURQUENQUE CLAUDIO et al. Antifungal activity of low molecular weight chitosan against clinical isolates of Candida spp. Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology England Dic 2010 (12.2010) VOL: 48 No: 8 Págs: 1018-1023 ISSN 1460-2709 (Electronic) Doi: doi:10.3109/13693786.2010.486412 pubmed:20482450, página 1022.	30.11.2010

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 se refiere a una composición que comprende quitosano o un oligosacárido de quitosano (COS) y fluconazol y a su uso en la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de infecciones fúngicas.

El documento D1 se refiere a la mejora y mantenimiento de la liberación tópica del fluconazol utilizando una solución de quitosano o de poloxámero/quitosano. Tiene aplicación para uso oftálmico y en el tratamiento de la queratitis provocada por hongos (ver figura 4 y página 326, conclusiones).

El documento D2 se refiere a un estudio sobre la interacción sinérgica entre el fluconazol y el COS-5.44 (ver página 17, figura 8 y segunda columna, segundo párrafo). Se muestra el efecto sinérgico de dicha combinación en el crecimiento celular.

El documento D3 se refiere a los efectos antifúngicos de clorhexidina, fluconazol y quitosano y sus combinaciones en Candida Albicans (ver figura 1). En las páginas e24 y e26 y en la figura 1 se describe la combinación de quitosano de alto peso molecular y fluconazol.

El documento D4 se refiere se refiere a combinaciones de quitosano de bajo peso molecular y fluconazol y su actividad antifúngica.

Por lo tanto, a la vista de los documentos citados es conocido en el estado de la técnica la combinación fluconazol y de quitosano o de oligosacárido de quitosano, así como su aplicación como antifúngico.

En consecuencia, la materia correspondiente a reivindicaciones 1-4 de la presente solicitud carecen de novedad y de actividad inventiva según los Artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.