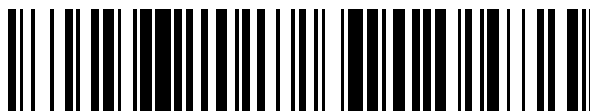


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 761**

51 Int. Cl.:

A61K 31/715 (2006.01)

A61K 36/48 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2012 E 12735548 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2015 EP 2741754**

54 Título: **Utilización de un polímero polisacárido procedente de las semillas del árbol tamarindo para la protección frente a los daños asociados al tabaco**

30 Prioridad:

12.08.2011 EP 11006634

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.07.2015

73 Titular/es:

**ZAMBON S.P.A. (100.0%)
Via Lillo del Duca, 10
20091 Bresso MI, IT**

72 Inventor/es:

**SARDINA, MARCO;
ALETTI, ADONELLA y
MELLONI, ELSA**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 541 761 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

Utilización de un polímero polisacárido procedente de las semillas del árbol tamarindo para la protección frente a los daños asociados al tabaco.

Campo técnico

La presente invención se refiere a la utilización de polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol tamarindo para la protección de las células epiteliales del tracto respiratorio de los daños inducidos por el humo del tabaco.

Especialmente la presente invención se refiere a la utilización de polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol tamarindo para la protección de las células epiteliales de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo de los cigarrillos, cigarros o pipas.

Descripción de la invención

Según R. Kulkarni *et al.* (Infection and Immunity, mayo de 2010, páginas 2146 a 2152), el tabaco y, en particular, el humo de los cigarrillos y la exposición al humo de otros fumadores son factores de riesgo importantes para una diversidad de enfermedades sistémicas y del tracto respiratorio entre las que se incluyen seis de las ocho causas principales de muerte en el mundo (WHO 2008, WHO report on global tobacco epidemic, 2008: the MPOWER package. World Health Organization, Geneva, Suiza). Actualmente el tabaco provoca la muerte de aproximadamente 5 millones de personas cada año en todo el mundo y se estima que este número se incrementará a 8,3 millones para el 2030 (Mathers C.D. y D. Loncar, Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030, pLoS Med. 3:e442, 2006).

Los fumadores presentan un riesgo particular de infecciones del tracto respiratorio superior e inferior.

El epitelio nasofaríngeo humano, un sitio centinela de la inmunidad del tracto respiratorio, se encuentra constantemente expuesto a patrones microbianos y otros estímulos ambientales.

En particular, el humo de los cigarrillos puede considerarse una de las tensiones ambientales más peligrosas, ya que produce cambios estructurales en el tracto respiratorio, así como alteraciones de las respuestas inmunológicas que pueden conducir a una predisposición a la infección o a la exacerbación de patologías existentes.

Las fases gaseosas y solubles del humo de los cigarrillos contribuyen a la patogénesis de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). El estrés oxidativo crónico debido al tabaquismo crónico induce la secreción de moco e inhibe el funcionamiento del regulador de la conductancia transmembranal de la fibrosis quística. La viscosidad incrementada del moco provoca que las vías respiratorias sean susceptibles a las infecciones bacterianas, una característica distintiva de la bronquitis crónica.

Por lo tanto, los daños a las células epiteliales de las vías respiratorias debidos al humo del tabaco, particularmente el humo de los cigarrillos, se relaciona íntimamente con la patogénesis de una diversidad de trastornos respiratorios agudos y crónicos.

El árbol del tamarindo está ampliamente extendido en la India, África y en el sudeste asiático. En los países de Oriente Medio, el zumo de tamarindo del fruto del tamarindo puede ser una bebida preparada mediante la infusión de la pulpa seca del tamarindo. El tamarindo también puede resultar de utilidad para la conservación de productos alimentarios y como salsa en algunas recetas.

Las semillas del tamarindo encuentran diversas aplicaciones, tras molerlo hasta una forma de polvos (conocida como "goma de tamarindo" o "grano de tamarindo en polvo"). El grano de tamarindo en polvo disponible comercialmente puede utilizarse como espesante y como agente de apresto en las industrias textil y del papel, y como agente espesante, gelificante, estabilizante y ligante en las industrias alimentaria y farmacéutica.

Las propiedades generales, la composición química y la estructura química del grano de tamarindo en polvo y de los polisacáridos de la semilla del tamarindo pueden encontrarse en: Gupta V., Puri R., Gupta S., Jain S., Rao G.K., Tamarind kernel gum: an upcoming natural polysaccharide, Syst. Rev. Pharm. 1:50-4, 2010.

Se ha descubierto inesperadamente que un polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol tamarindo proporciona protección a las células epiteliales de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo del tabaco, mediante la conservación de la integridad de la barrera epitelial y, por lo tanto, evitando los cambios estructurales en el tracto respiratorio que pueden conducir a una predisposición a la infección o a la exacerbación de trastornos respiratorios agudos y crónicos existentes.

Por lo tanto, un primer objeto de la presente invención es un polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol tamarindo (polisacárido de semilla del tamarindo), para la utilización en la protección de las células epiteliales de las

vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo del tabaco.

Más concretamente, la presente invención se refiere a la protección frente a los daños en las células epiteliales de las vías respiratorias causados por el humo de los cigarrillos, mediante la administración de un polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol tamarindo (polisacárido de semilla del tamarindo).

La administración local en las células epiteliales de las vías respiratorias de un fumador o de un fumador pasivo de una preparación que contiene polisacárido de semillas del tamarindo según la invención desempeña un papel eficaz en la protección de las células epiteliales de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo del tabaco, en particular los daños inducidos por el humo de los cigarrillos.

El polisacárido de semilla de tamarindo es un polisacárido ramificado neutro no iónico que comprende un esqueleto de tipo celulosa sustituido con sustituyentes xilosa (α 1→6) y galacto (β 1→2)xilosa (α 1→6) (Lang P. *et al.*, *Macromolecules* 26:3992-3998, 1993).

El polisacárido de semilla de tamarindo adecuado para las preparaciones según la presente invención puede obtenerse según cualquier método conocido en la técnica, preferentemente siguiendo los métodos descritos en el documento WO 97/28787.

Para conseguir el efecto deseado, un polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol tamarindo según la invención puede administrarse localmente, preferentemente en forma de una preparación líquida dispersada en aerosol, mediante dispositivos de inhalación disponibles comercialmente adecuados, en las membranas mucosas de las vías respiratorias de un fumador de cigarrillos o de un fumador pasivo (en la presente memoria también denominado fumador indirecto), es decir, una persona que involuntariamente inhala humo de tabaco ambiental procedente de un fumador de cigarrillos.

Por lo tanto, otro objeto de la presente invención es una preparación en forma de una dosificación líquida para la aplicación tópica, en particular la aplicación tópica dispersada en aerosol, que comprende un polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol del tamarindo, resultando útil dicha preparación para la protección de las células epiteliales de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo del tabaco, en particular los daños inducidos por el humo de los cigarrillos.

La preparación según la invención contiene entre 0,25% y 0,5% p/v (en adelante la unidad "% p/v" se denomina "%" por simplicidad) del polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol del tamarindo. Preferentemente, la preparación según la invención contiene 0,3% del polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol del tamarindo.

La preparación según la invención puede comprender además agentes de ajuste del pH bien conocidos por el experto en la materia, incluyendo ácidos o bases farmacéuticamente aceptables y agentes tamponadores. Por ejemplo, entre los ácidos pueden incluirse uno o más ácidos minerales inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y ácido nítrico, o uno o más ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido succínico, ácido tartárico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido glutámico, ácido benzoico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico y ácido trifluoroacético. Entre las bases pueden incluirse bases inorgánicas y bases orgánicas, tales como carbonato alcalino, bicarbonato alcalino, carbonato de metal alcalino-térreo, hidróxido alcalino e hidróxido de metal alcalino-térreo. Por ejemplo, la base inorgánica puede ser un hidróxido alcalino, tal como hidróxido de litio, hidróxido de potasio, hidróxido de cesio o hidróxido de sodio; un carbonato alcalino puede ser carbonato de calcio o carbonato de sodio; un bicarbonato alcalino puede ser bicarbonato de sodio. Por ejemplo, entre los agentes tamponadores se incluyen un tampón de fosfato, tal como dihidrogenofosfato de sodio, denominado comúnmente fosfato monosódico (NaH_2PO_4) e hidrogenofosfato disódico, denominado comúnmente fosfato disódico (Na_2HPO_4), un tampón de acetato (sistema de acetato sódico-ácido acético), un tampón de citrato (sistema de citrato sódico-ácido cítrico) y mezclas de los mismos.

En un aspecto particular de la presente invención, el agente tamponador preferentemente se selecciona de entre fosfato monosódico (NaH_2PO_4), fosfato disódico (Na_2HPO_4) o una mezcla de los mismos, y el sistema de citrato sódico-ácido cítrico.

El tipo y concentración de los agentes de ajuste del pH adecuados para la utilización en la preparación dada a conocer sería dependiente del valor de pH deseado, que es de entre 6,0 y 8,0, preferentemente de entre 6,8 y 7,5.

La isotonicidad del vehículo de preparación preferentemente se ajusta con cloruro sódico.

La administración local en las células epiteliales de las vías respiratorias de un fumador o de un fumador pasivo de la preparación según la invención puede llevarse a cabo con un sistema de administración de aerosol. Por lo tanto, la preparación líquida dispersada como aerosol es suficientemente móvil para recubrir un área amplia de las células epiteliales de las vías respiratorias del tracto respiratorio, proporcionando de esta manera un efecto protector de la integridad de la barrera epitelial.

Preferentemente, el sistema de administración de aerosol es un nebulizador disponible comercialmente, tal como un nebulizador de chorro, que contiene la preparación líquida y la transforma en gotas finas de manera que pueda ser fácilmente inhalado a través de una boquilla o una mascarilla facial.

A título de ejemplo, con el nebulizador de chorro activado, se fuerza un chorro de aire a través de la preparación según la invención, convirtiéndola en gotas finas que se desplazan a lo largo de un tubo. El sujeto inhala la preparación a través de una boquilla o de una mascarilla facial. Para sujetos pediátricos preferentemente se utiliza una mascarilla facial.

La cantidad de la preparación administrada en un sujeto puede ser dependiente de una diversidad de factores, incluyendo el estado general de salud, la edad, el género y el peso del sujeto que lo requiere. Por ejemplo puede administrarse entre 6 y 18 mg/día de polisacárido de semilla de tamarindo en un sujeto que lo requiere.

Un procedimiento para preparar una preparación tal como se ha indicado anteriormente puede llevarse a cabo según métodos bien conocidos por el experto en la materia; por ejemplo, dicho procedimiento comprende disolver el polisacárido de semilla de tamarindo en agua purificada, tal como agua para inyección y añadir un agente de ajuste del pH hasta alcanzar el pH deseado.

Tal como se utiliza en la presente memoria, las formas singulares "un", "una" y "el" y "ella" incluyen los referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. De esta manera, por ejemplo, la referencia a "un polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol del tamarindo" incluye las mezclas de polímeros polisacáridos obtenidas de las semillas del árbol tamarindo.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "células epiteliales de las vías respiratorias" se refiere a células epiteliales de las vías respiratorias.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "humo del tabaco" incluye el humo de cigarrillos beedi, cigarros, cigarrillos de filtro y sin filtro, pipa, hookah y kretek.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "alivio" incluye la mitigación, reducción, disminución y reducción.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "inhalación" o "administración mediante inhalación" se refiere a la introducción en los órganos respiratorios, especialmente en o mediante las vías respiratorias, preferentemente en o mediante la cavidad nasal y la cavidad oral.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "nebulizador" incluye los nebulizadores de chorro.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "polímero polisacárido obtenido de las semillas del árbol del tamarindo", intercambiabilmente con la expresión "polisacárido de la semilla del tamarindo" y abreviadamente "PST", se refiere a cualquier fracción enriquecida en polisacáridos obtenible a partir del grano de tamarindo en polvo disponible actualmente en el mercado. Una fracción de polisacárido parcialmente purificada de goma de tamarindo es comercializada, por ejemplo, por Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd. de Osaka, Japón, bajo el nombre comercial Glyloid®. Sin embargo, para el propósito de la presente invención, el polisacárido en cuestión preferentemente se obtiene siguiendo cualquier método conocido de la técnica, proporcionando un polisacárido de semilla de tamarindo prácticamente puro a partir de las fuentes comerciales de goma de tamarindo.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "preparación" pretende en un sentido más amplio incluir no sólo todas las preparaciones farmacéuticas convencionales, sino también las preparaciones útiles como complementos dietéticos, dispositivos médicos y aditivos alimentarios.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "sujeto" se refiere a un fumador de tabaco, especialmente un fumador de cigarrillos o un fumador pasivo, es decir, una persona que respira involuntariamente humo de tabaco ambiental de un fumador de tabaco, especialmente de un fumador de cigarrillos.

Los Ejemplos a continuación ilustran de manera no limitativa la presente invención.

Ejemplo 1

El condensado de humo de cigarrillo (CHC) es capaz de alterar la integridad e inducir daño en las células epiteliales de las vías respiratorias.

La eficacia del PST en la protección de las células epiteliales de las vías respiratorias frente a daños inducidos por CHC se investigó *in vitro* en la línea celular humana Calu-3.

Se diluyó la cantidad necesaria de PST en medio de cultivo hasta alcanzar la concentración de 0,3% (g/ml).

Se expusieron células Calu-3 durante 24 h a PST al 0,3% solo, a un daño inducido por humo de cigarrillos únicamente (CHC al 5%) o preincubado con PST al 0,3% durante 1 h antes de la exposición a CHC al 5% durante 24 h.

Al final de los tratamientos se determinó la viabilidad celular mediante el ensayo de exclusión de pigmento azul tripán según una técnica estándar.

Tal como se informa en la figura 1, el porcentaje de supervivencia celular fue significativamente inferior en los cultivos expuestos a CHC al 5% que en cultivos de control cultivados en medio solo (59,95% y 83,08%, respectivamente, $p < 0,05$), mientras que, inesperadamente, el efecto tóxico del CHC se bloqueó significativamente mediante la preincubación de las células con PST al 0,3% ($p < 0,05$), ya que el porcentaje de supervivencia celular de Calu-3 cultivadas con PST solo o asociado con CHC fue similar al informado para el control celular (81,96% y 76,19%, respectivamente).

La figura 1 muestra las células Calu-3 supervivientes tras 24 h de tratamiento con CHC al 5% y/o PST al 0,3% mediante el ensayo de exclusión de azul tripán. Los datos, que representan los resultados de cinco experimentos por triplicado, se expresan como medias $\pm$ SEM. $\ast = p < 0,05$ frente a cultivos de control, y $\S = p < 0,05$ frente a muestras tratadas con CHC.

Los resultados anteriormente proporcionados demuestran que PST podría contribuir a la protección de la barrera de epitelio de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo de los cigarrillos al conservar la integridad de la barrera epitelial.

Ejemplo 2

Se pesó la cantidad necesaria de polisacárido de semilla del tamarindo (PST) en un recipiente adecuado, se añadió agua para inyección hasta el volumen final (100 ml) hasta la completa disolución del PST. Se ajustó la isotonicidad de la preparación con NaCl y seguidamente se añadieron agentes de ajuste del pH para mantener el pH en niveles de pH fisiológico (entre 6,8 y 7,5). La preparación obtenida de esta manera presentaba la composición siguiente:

PST	0,3%
NaCl	0,9%
Na ₂ HPO ₄	0,9%
NaH ₂ PO ₄	0,09%
Agua para inyección	hasta 100 ml

Siguiendo un procedimiento análogo se obtuvo la preparación a continuación:

PST	0,3%
NaCl	0,9%
Ácido cítrico	0,03%
Citrato sódico	0,5%
Agua para inyección	hasta 100 ml

REIVINDICACIONES

- 5 1. Polímero polisacárido obtenido a partir de las semillas del árbol tamarindo (polisacárido de semilla del tamarindo), para la utilización en la protección de las células epiteliales de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo del tabaco.
2. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 1, en el que el humo del tabaco es humo de cigarrillo.
- 10 3. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 2, en el que la protección de las células epiteliales de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo de cigarrillo contribuye a la prevención de la patogénesis de la variedad inducida por humo de cigarrillo de los trastornos respiratorios agudos y crónicos en los fumadores de cigarrillos.
- 15 4. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 2, en el que la protección de las células epiteliales de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo de cigarrillo contribuye al alivio del perjuicio del tabaquismo pasivo a los fumadores pasivos.
- 20 5. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 1, en el que el polímero se administra localmente a un sujeto necesitado del mismo como una una preparación tópica.
6. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 5, en el que la preparación tópica es una preparación en forma de una forma de dosificación líquida para la aplicación tópica.
- 25 7. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 6, en el que la forma de dosificación líquida para la aplicación tópica es una forma de dosificación líquida dispersada como aerosol para la aplicación tópica.
8. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 5, en el que la preparación contiene de 0,25 a 0,5% del polímero polisacárido obtenido a partir de las semillas del árbol tamarindo.
- 30 9. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 8, en el que la preparación contiene 0,3% del polímero polisacárido obtenido a partir de las semillas del árbol tamarindo.
10. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 9, en el que la preparación comprende además un agente de ajuste del pH.
- 35 11. Polímero polisacárido para la utilización según la reivindicación 10, en el que el agente de ajuste del pH es un agente tamponador seleccionado de entre fosfato monosódico (NaH_2PO_4), fosfato disódico (Na_2HPO_4), sistema de citrato sódico-ácido cítrico o una mezcla de los mismos.
- 40 12. Preparación en forma de una dosificación líquida para la aplicación tópica, que comprende un polímero polisacárido obtenido a partir de las semillas del árbol tamarindo, para la utilización en la protección de las células epiteliales de las vías respiratorias frente a los daños inducidos por el humo del tabaco.

Figura1

