

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 102**

51 Int. Cl.:

A61K 31/715 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 11/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.04.2008** **E 12161928 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2017** **EP 2500025**

54 Título: **Composiciones de oligo-guluronato y galacturonato**

30 Prioridad:

12.04.2007 GB 0707096

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

16.02.2018

73 Titular/es:

**NORWEGIAN UNIVERSITY OF SCIENCE AND
TECHNOLOGY (NTNU) (100.0%)
7491 Trondheim, NO**

72 Inventor/es:

**TAYLOR, CATHERINE;
DRAGET, KURT y
SMIDSRØD, OLAV**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 655 102 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

Composiciones de oligo-guluronato y galacturonato

Esta invención se refiere a composiciones de oligoguluronato y galacturonato como se define en las reivindicaciones para su uso en un método para tratar seres humanos o animales no humanos, en particular mamíferos, con oligoguluronatos u oligogalacturonatos, por ejemplo, para combatir la viscosidad elevada del mucus, por ejemplo, para aumentar el aclaramiento del mucus, especialmente del tracto respiratorio, en particular de los senos y pulmones, en particular en el tratamiento de la fibrosis quística (CF) y sinusitis.

La fibrosis quística es la enfermedad genética letal más común en la población europea. La enfermedad se produce por una mutación en el gen que codifica el regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), un canal de cloruro que está presente en las células secretoras y otras células del cuerpo. La enfermedad se caracteriza por la presencia de secreciones de mucus densas, intratables, en el cuerpo que pueden dar lugar a una enfermedad pulmonar, problemas digestivos e infertilidad. El patrón normal del aclaramiento mucociliar en los pulmones no consigue aclarar el mucus excesivamente viscoso que puede ser colonizado por microorganismos, que a su vez aumentan la viscosidad del mucus y puede dar lugar a inflamación pulmonar crónica y obstrucción. Por lo tanto la enfermedad pulmonar es el mayor problema sanitario en la mayoría de los pacientes con CF y es la principal causa de muerte.

El mucus es una secreción normal de todo el tracto respiratorio, incluyendo los pulmones. Su función primaria es como parte del sistema de aclaramiento mucociliar, que mantiene los pulmones limpios y los protege contra la infección. El sistema de aclaramiento mucociliar tiene tres componentes principales: el mucus; los cilios; y el líquido de superficie de vías respiratorias. La superficie epitelial comprende por lo tanto las células caliciformes que segregan el mucus y las células epiteliales ciliadas con una capa encima de líquido de superficie de vías respiratorias y por encima de esta una capa de mucus, en el que protruyen las puntas de los cilios. El mucus es un material tipo gel pegajoso compuesto principalmente por agua (aproximadamente el 95 % p.) y mucinas, moléculas que forman el gel que son responsables de las propiedades físicas del mucus. Los cilios son pequeñas proyecciones pilosas de la superficie de las células epiteliales que tienen pulsaciones rítmicas en el líquido acuoso, no viscoso de superficie de vías respiratorias con las puntas inmersas en la capa de mucus. La capa de mucus forma una lámina pegajosa en la superficie pulmonar que atrapa bacterias, virus, partículas inhaladas, polución ambiental y desechos celulares. La pulsación de los cilios sirve para propulsar esta lámina de mucus y cualquier cosa que esté atrapada en ella hacia la boca y fuera de los pulmones. Bajo condiciones normales, el sistema de aclaramiento mucociliar funciona eficazmente y los pulmones se mantienen limpios y libres de infecciones. Si el sistema se sobrepasa, hay una segunda línea de defensa - la tos. Por lo tanto, cuando aumenta la secreción de los niveles de mucus en respuesta a irritación o inflamación, por ejemplo, debido a partículas inhaladas o infección, el mucus se proyecta fuera de los pulmones por el reflejo tusígeno.

En los pacientes con CF el mucus en el pulmón es más denso y más viscoso de lo normal, y este mucus más denso no es fácil de transportar por los cilios. Como resultado se compromete el sistema de aclaramiento mucociliar y los pulmones son más vulnerables a la infección. Además, parece que los pulmones de los pacientes con CF están en un estado hiperinflamatorio con un bajo nivel continuo de inflamación y tienen una respuesta reforzada a los agentes que normalmente producen inflamación. Esto es problemático porque como parte de la respuesta a la inflamación la producción de mucus aumenta. El aumento de mucus se acumula si es demasiado espeso para aclararse por el sistema de aclaramiento mucociliar o la tos, se reduce la capacidad pulmonar y disminuye el intercambio de oxígeno a través de la mucosa. Esto proporciona un ambiente ideal para la colonización bacteriana, un serio problema para los pacientes con CF ya que esta también produce inflamación y activa la respuesta inmunitaria. Esto da lugar no solo al aumento de la secreción de mucus sino también al aumento de la presencia de células de respuesta inmunitaria y agentes tales como los macrófagos y las lisozimas. Según mueren las bacterias y macrófagos, sus contenidos celulares se liberan en el mucus y estos incluyen moléculas viscosas tales como el ADN. Además, algunas bacterias, por ejemplo *Burkholdia* sp. y *Pseudomonas aeruginosa*, también segregan polisacáridos altamente viscosos, en el último caso alginatos. Estas moléculas aumentan adicionalmente la viscosidad del mucus, en el caso de los alginatos aparentemente por la interacción con la matriz de la mucina del mucus pero en el caso del ADN aparentemente por aumento de la viscosidad de la fase sol en la matriz de mucina.

El mantenimiento del mucus en una forma capaz de ser transportada por los cilios es por lo tanto un objetivo clave del tratamiento de la CF. Los agentes que simplemente degradan su estructura tipo gel darían como resultado un fluido que es tan no transportable como el mucus hiperviscoso del paciente con CF. Por lo tanto, es importante que cualquier agente de tratamiento no debiera degradar la matriz de gel formada por las mucinas glucoproteicas.

Los inventores han descubierto que esto se puede conseguir utilizando oligoguluronatos u oligogalacturonatos (preferentemente oligoguluronatos) que tienen un promedio en número del grado de polimerización (DP_n) en el intervalo de 5 a 18.

En cualquier sitio del cuerpo, por ejemplo, los oídos, el cuello uterino y especialmente en el tracto respiratorio, en particular en los senos, especialmente los senos paranasales, el mucus excesivamente viscoso puede presentar problemas. Los oligoguluronatos y oligogalacturonatos también se pueden utilizar para abordar estos problemas.

El mucus del cuello uterino, que se produce por las glándulas del cuello uterino, es una entidad heterogénea que contiene diferentes tipos de secreciones en diferentes proporciones a lo largo del ciclo menstrual. La naturaleza de la secreción es tal que proporciona una barrera a la migración del esperma a través del cuello uterino todas las veces excepto durante la "ventana fértil" cuando se produce la ovulación y es posible la concepción. Esto actúa para proteger el útero, las trompas de Falopio y los ovarios de la exposición innecesaria a agentes patógenos.

Con el fin de mantener la migración del esperma durante la ventana fértil, el mucus del cuello uterino debe tener las características bioquímicas y biofísicas adecuadas. Las propiedades bioquímicas, tales como el pH y la osmolaridad son importantes para proporcionar las condiciones adecuadas para la supervivencia del esperma (véase Marriott *et al.*, "Mucus physiology and pathology" en Bioadhesive Drug Delivery Systems, CRC Press, 1990), mientras que las propiedades biofísicas, tales como la reología y la morfología del entramado macromolecular, afectan a la motilidad del esperma en el mucus (véase Rutllant *et al.*, Reprod. Dom. Anim. 40: 79-86 (2005)).

Clínicamente, la ventana fértil se puede identificar detectando el aumento de hormona luteinizante antes de la ovulación y el aumento de temperatura basal corporal tras la ovulación y examinando las propiedades biofísicas del mucus del cuello uterino en particular su fibrosidad, que esencialmente es una medida de cómo de elástico es el mucus y como tal se relaciona con la reología del mucus. También se ha demostrado que la cristalización en forma de hoja de helecho del mucus cervical, es decir, los patrones de cristalización que se forman cuando el mucus del periodo ovulatorio se deja secar al aire, está relacionada con la morfología del entramado macromolecular del mucus (véase, Menarguez *et al.*, Human Reproduction 18: 1782-1789 (2003)).

Se ha demostrado que los patrones de cristalización en forma de hoja de helecho (y por lo tanto la morfología del entramado macromolecular) son un factor significativo en la probabilidad de conseguir una gestación con el uso de la inseminación artificial y para un subgrupo de mujeres, el "mucus problemático" parece ser una de las barreras más importantes para conseguir una gestación (véase Boyers *et al.*, Human Reproduction 6: 1108-1114 (1991)).

Por lo tanto existe la necesidad de un método para modular las propiedades biofísicas del mucus cervical para la motilidad óptima del esperma, no solo para las mujeres con "mucus problemático" sino para cualquier mujer que desee maximizar su probabilidad de concebir, y también para criadores de animales que deseen maximizar la probabilidad de gestación en sus animales.

Los inventores han descubierto que se puede conseguir utilizando oligoguluronatos u oligogalacturonatos (preferentemente oligoguluronatos) que tienen un promedio en número del grado de polimerización (DP_n) en el intervalo de 5 a 18.

Estos usos de los oligoguluronatos u oligogalacturonatos se describen por ejemplo en el documento WO2007/039754 y los miembros de su familia GB2430881 y WO2007/039760. Los oligoguluronatos y oligogalacturonatos (de aquí en adelante "Bloques-G") se pueden preparar a partir de polisacáridos naturales como se describe posteriormente y comprenden una mezcla de compuestos de grados de polimerización (DP) diferentes. Los inventores han descubierto ahora que retirando la "cola" de alto peso molecular de la mezcla bloque-G, se obtiene un material con características mejoradas en términos de su capacidad para modificar la estructura del mucus.

Las reivindicaciones al respecto exponen, por lo tanto, valores del promedio en número del grado de polimerización (DP_n), fracción guluronato/galacturonato (F_G), fracción de manuronato (F_M) y distribución del peso molecular de acuerdo con la invención. Los inventores han descubierto también sorprendentemente que los bloques-G (especialmente los oligoguluronatos) se pueden utilizar ventajosamente para facilitar la captación de fármacos macromoleculares por las superficies mucosas, es decir, fármacos que tienen un peso molecular por encima de 2000 Da (preferentemente por encima de 4000 Da, por ejemplo 5-2000 kDa) cuando se co-administran (no reivindicado). Este efecto se ha demostrado claramente utilizando un modelo celular de riñón de perro Madin-Darby (MDCK).

Por lo tanto, vista desde un aspecto, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un oligoguluronato u oligogalacturonato y un fármaco macromolecular.

Vista desde un aspecto más, la divulgación proporciona un método de tratamiento de un sujeto humano o vertebrado no humano (por ejemplo, un mamífero, ave o reptil, especialmente un mamífero) que comprende la administración a dicho sujeto de una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un fármaco macromolecular, comprendiendo la mejora la co-administración de dicho fármaco en una superficie mucosa de dicho sujeto con una cantidad eficaz de un oligoguluronato u oligogalacturonato.

Vista desde otro aspecto, la divulgación proporciona el uso de un oligoguluronato u oligogalacturonato para la fabricación de un medicamento que comprende adicionalmente un fármaco macromolecular para su uso en un método de tratamiento que comprende la administración de dicho medicamento a una superficie mucosa en un sujeto humano o un vertebrado no humano.

Por superficie mucosa se entiende por ejemplo, el interior de la nariz, la vagina, los pulmones, el revestimiento de la boca (por ejemplo, bajo la lengua) o el ano. La administración en la boca será generalmente por inhalación con un pulverizador o la colocación sublingual o por retención en la boca. La administración por vía oral en el tracto gastrointestinal para la captación del fármaco en el estómago o los intestinos es una opción más pero es menos preferida debido a que los fármacos macromoleculares frecuentemente son propensos a la destrucción si se administran de esta manera.

Los ejemplos de fármacos macromoleculares adecuados incluyen los ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN o ARN), proteínas, péptidos, hormonas, anticuerpos, etc., más particularmente, insulina, anti-TNF (por ejemplo, etenercept, infliximab, adalimumab, etc.), interferón (por ejemplo, interferón alfa o beta), factor VII, factor VIIa, factor VIII, factor IX, hormona foliculoestimulante, eritropoyetina, trastuzumab, rituximab, factor estimulante de colonias de granulocitos (y equivalentes PEGilados), hormonas de crecimiento tales como somatotropina, apotransferrina (que se utilizan en el tratamiento de atransferrinemia), y beta-glucocerebrosidasa. La mayoría de estos tienen una captación biológica tan baja de las superficies mucosas que convencionalmente se administran por inyección, una vía de administración que es menos admitida por el paciente que la administración por superficie mucosa. En el método de la divulgación, tales fármacos pueden utilizarse por supuesto para sus indicaciones normales. La dosificación adecuada se puede determinar fácilmente a partir de modelos animales, trabajando basándose en que la cantidad que se capta debería ser comparable a la dosis convencional que se inyecta. Si se desea, las composiciones de la divulgación se pueden administrar por vía subcutánea o intramuscular; sin embargo, esto se prefiere menos y en general la inyección iv no es deseable.

Los ejemplos de fármacos macromoleculares adecuados para su incorporación en las composiciones de la divulgación incluyen los fármacos anti-TNF que se comercializan bajo los nombres comerciales Enbrel y Remicade; los anti-CD20 que se comercializan bajo el nombre comercial Rituxan; las eritropoyetinas que se comercializan bajo los nombres comerciales Procrit, Eprex, Aranesp, Epogen, NeoRecormon, y Epogin; el G-CSF que se comercializa bajo el nombre comercial Neulasta; el anti-EGFR que se comercializa bajo el nombre comercial Herceptin; los interferones que se comercializan bajo los nombres comerciales Avonex, Rebif, Betaseron, Neupogen y Pegasys; el factor VIII que se comercializa bajo el nombre comercial Kogenate; el factor VII que se comercializa bajo el nombre comercial NovoSeven; el factor IX que se comercializa bajo el nombre comercial Benefix; las hormonas de crecimiento que se comercializan bajo los nombres comerciales Genotropin y Nutropin; el tPA que se comercializa bajo el nombre comercial Activase; la FSH que se comercializa bajo el nombre comercial Follistim; y la glucocerebrosidasa que se comercializa bajo el nombre comercial Cerezyme. Las páginas web de los fabricantes dan detalles de las indicaciones y dosificaciones.

El fármaco macromolecular por supuesto puede ser un ácido nucleico para su uso en terapia génica.

El fármaco macromolecular es preferentemente uno que tiene un efecto fisiológico deseado más allá de cualquier efecto simplemente para reducir la infección, inflamación, viscosidad del mucus u otros problemas pulmonares. En particular es preferentemente distinto de una enzima de escisión de ácidos nucleicos, gelsolina, dextrano, poliASP o poliGLU.

Los fármacos macromoleculares a veces tienen una tendencia para formar agregados en solución acuosa y, aunque no deseando quedar ligados por teoría alguna, se cree que parte de la mejoría de la captación que se consigue por la co-administración con bloques-G es como resultado del efecto de los bloques-G en la reducción de la formación de agregados. La divulgación por lo tanto es especialmente adecuada para su uso con macromoléculas, tales como la insulina, que tienen esta tendencia a agregarse. Se cree que una parte adicional de la captación mejorada que se consigue por la co-administración de los bloques-G reside en la capacidad de los bloques-G para promover el paso a través de estructuras de glucocáliz en las superficies celulares, esto puede surgir en virtud de que los bloques G faciliten el acceso del fármaco macromolecular a los receptores de superficie celular adecuados.

El bloque-G que se utiliza de acuerdo con la invención es un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 5 a 18 (especialmente de 7 a 15), una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08, y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 20 (preferentemente menor de 17). El bloque-G está presente preferentemente en las composiciones en 0,1-50 mg/ml, especialmente de 0,5-25 mg/ml, particularmente de 1-10 mg/ml en una solución acuosa cuando está lista para su uso.

Vista desde otro aspecto, la invención proporciona un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable como se reivindica para su uso en un método de tratamiento de un sujeto humano o vertebrado no humano (por ejemplo, un mamífero, ave o reptil, especialmente un mamífero) para reducir la viscosidad del mucus en una superficie mucosa en dicho sujeto y en particular para combatir la hiperviscosidad mucosa (por ejemplo, para tratar

la otitis media adhesiva, sinusitis, o fibrosis quística, para aumentar la posibilidad de gestación después de la inseminación o el coito, para aumentar el suministro del fármaco a través de las superficies mucosas), cuyo método comprende la aplicación a dicha superficie mucosa de una cantidad eficaz de un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 5 a 18, una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08, y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 20. También se desvela dicho oligoguluronato u oligogalacturonato para su uso en la potenciación de la probabilidad de embarazo después de inseminación o acto sexual o para potenciar el suministro de fármaco a través de superficies mucosas. Cuando el oligoguluronato u oligogalacturonato se aplica a una superficie mucosa en el tracto respiratorio (es decir, la nariz, senos y los pulmones) o en los oídos, preferentemente se formulará en una solución acuosa con una concentración de 40 a 140 mg/ml (calculada basándose en el peso del oligoguluronato u oligogalacturonato en forma de sal sódica, que se denomina en lo sucesivo en el presente documento "basándose en la sal sódica").

Cuando se administra en los pulmones, la dosificación diaria para un ser humano será de 100 a 2000 mg/día para un adulto (basándose en la sal sódica), preferentemente de 120 a 1000 mg/día, especialmente de 150 a 500 mg/día. Para un niño la dosificación puede ser proporcional al peso corporal del niño asumiendo un peso corporal de 70 kg para el adulto en los intervalos de dosis anteriores. Esta dosificación diaria preferentemente se dará en 2, 3 o 4 aplicaciones separadas en el tiempo.

Cuando el oligoguluronato u oligogalacturonato se aplica a una superficie mucosa en la vagina o se aplica por vía rectal, también se puede presentar en una forma distinta de una solución acuosa. Por lo tanto, por ejemplo, puede estar en forma de comprimido, comprimido recubierto (especialmente un comprimido revestido de liberación retardada o sostenida), cápsula, supositorio, supositorio vaginal, gel, emulsión, jarabe, dispersión, suspensión, emulsión, polvo, crema, pasta, etc. Para este fin se puede formular con vehículos y excipientes farmacéuticos convencionales y la forma de dosificación se puede preparar de una manera convencional.

Para la aplicación vaginal, el oligouronato (es decir oligoguluronato u oligogalacturonato) se aplica preferentemente en forma de una composición acuosa estéril, por ejemplo, una solución, gel, emulsión, crema o pasta, o como un comprimido, cápsula o supositorio vaginal. Sin embargo, se prefieren las formas en gel, especialmente los geles acuosos lubricantes. Tales composiciones, que estarán libres de espermicida, pueden contener si se desea, agentes adicionales para aumentar la función del esperma, por ejemplo, reguladores del pH y antioxidantes, o para ayudar a la inseminación, por ejemplo, relajantes musculares, lubricantes, etc. Claramente, las composiciones pueden contener componentes adicionales farmacéuticos o cosméticos fisiológicamente tolerables tales como los que se encuentran normalmente en las composiciones para la aplicación vaginal, por ejemplo, aglutinantes, diluyentes, cubiertas de cápsulas solubles, aromas, antibióticos, vitaminas, aceites, emulsionantes, bases de supositorio, etc.

El oligouronato estará preferentemente presente como aproximadamente de 0,1 a 2,5 g por unidad de dosificación, más preferentemente de 0,5 a 2 g por unidad de dosificación, más preferentemente de 0,5 a 2 g/unidad de dosificación para una mujer adulta humana. Las dosificaciones para otras especies se pueden calcular de manera análoga en referencia al tamaño medio corporal, por ejemplo [(0,1 a 2,5)/60] g/unidad de dosificación/kg de peso corporal, etc.

La composición se aplica preferentemente antes de la inseminación, por ejemplo, de 1 a 60 horas antes, preferentemente de 2 a 48 horas antes, especialmente de 4 a 36, por ejemplo, de 20 a 52 horas antes. Esto se puede conseguir por ejemplo por ducha vaginal, por inserción vaginal de un comprimido o cápsula degradable en agua, o por inyección de un gel o pasta. El momento de la aplicación se puede seleccionar controlando los parámetros indicativos de la ovulación o proximidad de la ovulación, por ejemplo, la temperatura.

Si se desea, la composición se puede aplicar dos o más veces, por ejemplo, bastante antes de la inseminación y poco antes (por ejemplo, 1 hora antes) de la inseminación.

Cuando se incluye un regulador del pH en la composición, es preferentemente tal que produzca que el pH vaginal se vuelva ligeramente básico, por ejemplo un pH de 7,1 a 7,6, especialmente aproximadamente un pH de 7,4. Se pueden utilizar tampones de rutina fisiológicamente tolerables a este respecto.

La hembra tratada con el método de la divulgación es preferentemente una mujer humana, en particular una a la que se le han diagnosticado problemas de fertilidad debido a mucus problemático. El método, sin embargo, se puede utilizar por otras mujeres humanas con una edad capaz de gestar con el fin de aumentar la probabilidad de gestación. También se puede utilizar por veterinarios y criadores de animales, por ejemplo, granjeros, para animales tales como vacas, caballos, perros, gatos, ovejas, cabras, cerdos, etc.

Las composiciones de la divulgación para aplicación vaginal se envasan preferentemente junto con instrucciones de uso en el método de la divulgación, particularmente preferentemente en forma de unidad de dosificación, y especialmente preferentemente junto con un aplicador, por ejemplo, una jeringa. Se prefiere especialmente el uso de jeringas pre-cargadas. De manera alternativa el aplicador puede tener forma de un diafragma del cuello uterino, cargado en el lado cóncavo con la composición, que se eliminará antes de la inseminación a menos que la

membrana del diafragma sea permeable al esperma o material hidrosoluble. Tales jeringas y diafragmas forman aspectos adicionales de la presente divulgación.

Para la administración en el tracto gastrointestinal de manera rectal, la dosificación diaria será típicamente de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal, más preferentemente de 1 a 50 mg/kg, especialmente de 1,5 a 25 mg/kg (basándose en la sal sódica). La administración es preferentemente de una a cuatro veces al día.

Para la administración en los oídos, la dosificación diaria será típicamente de 0,05 a 4 mg/kg de peso corporal (basándose en la sal sódica), más preferentemente de 0,1 a 2 mg/kg. La administración se efectúa preferentemente una a cuatro veces al día.

La dosis óptima se puede determinarse fácilmente por los experimentos de variación de dosificación de rutina, opcionalmente a continuación de una investigación inicial de un modelo animal, por ejemplo, un modelo de perro.

Las composiciones de la invención pueden producirse utilizando vehículos y excipientes farmacéuticos convencionales, por ejemplo, disolventes estériles (tales como el agua, especialmente el agua para inyecciones), modificadores de la osmolalidad, saborizantes, reguladores del pH, etc. Pueden contener principios activos adicionales, por ejemplo, agentes que sirvan para degradar biopolímeros que no estén implicados en la matriz de mucina del mucus (por ejemplo, DNasa, particularmente la rhDNasa), agentes antibacterianos, anestésicos y anti-inflamatorios.

La terapia de combinación utilizando tal agente adicional y el oligoguluronato u oligogalacturonato, que se administran por separado o juntos es una realización particularmente preferida del método de la divulgación. Tales agentes adicionales se pueden utilizar en sus dosis normales o incluso a dosis menores, por ejemplo, al 50 % de la dosis normal.

El oligoguluronato u oligogalacturonato que se utiliza de acuerdo con la invención tiene un promedio en número del grado de polimerización (DP_n) desde 7 a 15, más preferentemente de 8 a 12, especialmente aproximadamente 10. La distribución del peso molecular es preferentemente tal que no más del 5 % molar tenga un grado de polimerización (DP) por encima de 17, más preferentemente no más del 5 % molar tiene un DP por encima de 14, aún más preferentemente no más del 5 % molar tiene un DP por encima de 12 (por ejemplo, en cada caso anterior un DP dos veces mayor que el límite superior relevante para el DP_n). Igualmente se prefiere que no más del 5 % molar tenga un DP por debajo de un número dos veces menor que el límite inferior relevante de DP_n .

El contraión del oligoguluronato u oligogalacturonato puede ser cualquier catión fisiológicamente tolerable, por ejemplo, cualquiera de los iones fisiológicamente tolerables que se utilizan comúnmente para sustancias farmacológicas con carga, por ejemplo, iones de sodio, potasio, meglumina, etc. que promueven la gelificación de alginato, por ejemplo, metales grupo 2, sin embargo preferentemente no se utilizarán. Se prefiere en general el sodio.

Por lo tanto, vista desde un aspecto más, la invención proporciona una composición líquida acuosa pulverizable estéril que comprende una solución acuosa de un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 5 a 18 (preferentemente de 7 a 15, más preferentemente de 8 a 12, especialmente aproximadamente 10), una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92 (más preferentemente al menos de 0,95), una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08 (más preferentemente no más de 0,05), y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 20 (preferentemente menos de 17, más preferentemente menos de 14), conteniendo dicha solución dicho oligoguluronato a una concentración de 40 a 140 mg/ml, preferentemente de 50 a 100 mg/ml, especialmente de 55 a 75 mg/ml (basándose en la solución salina).

Vista desde un aspecto más, la invención proporciona un aplicador en pulverizador que comprende un depósito y un generador de gotas, conteniendo dicho depósito una solución o composición acuosa estéril de acuerdo con la invención. Tales aplicadores en pulverizador, y también los oligoguluronatos u oligogalacturonatos, se pueden utilizar en el tratamiento de fibrosis quística, bloqueo nasal o sinusal, o congestión que resulta del resfriado común u otras razones.

Las composiciones que se pretenden para inhalación en los pulmones contienen convenientemente un agente reductor de la viscosidad adicional fisiológicamente tolerable, por ejemplo, una enzima de escisión de ácido nucleico (por ejemplo una DNasa tal como la DNasa I), gelsolina, un agente reductor de tiol, una acetilcisteína, cloruro sódico, un polisacárido sin carga de bajo peso molecular (por ejemplo, dextrano), arginina (u otros precursores o estimulantes de la síntesis de ácido nítrico), o un poliaminoácido aniónico (por ejemplo, poliASP o poliGLU). Se prefiere especialmente el uso de una DNasa.

Para la administración en los pulmones, los oligouronatos pueden estar en forma de polvo, por ejemplo, con un tamaño de partícula de aproximadamente modo nanómetro a micrómetro (por ejemplo, de 10 a 50.000 nm).

Vista desde un aspecto más, la invención proporciona oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables que tienen un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 7 a 15 (preferentemente de 8 a 12), una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92 (preferentemente al menos de 0,95), una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08 (preferentemente no más de 0,05), y que tienen al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 17 (preferentemente menor de 14) para su uso en medicina.

Vista desde un aspecto más, la invención proporciona el uso de un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 7 a 15 (preferentemente de 8 a 12), una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92 (preferentemente al menos 0,95), una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08 (preferentemente no más de 0,05), y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 17 (preferentemente menor de 14) para la fabricación de un medicamento para su uso en un método de tratamiento médico para reducir la viscosidad del mucus en una superficie mucosa por la aplicación en dicha superficie, por ejemplo, en el tratamiento de la fibrosis quística, otitis media adhesiva, sinusitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC, especialmente sus formas húmedas), bronquitis o enfisema. También se desvela dicho oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable para su uso en el tratamiento de fertilidad alterada, o para aumentar el suministro de un fármaco a través de una superficie mucosa.

Vista desde un aspecto adicional más, la invención proporciona el uso de un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número de polimerización en el intervalo de 7 a 15 (preferentemente de 8 a 12), una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08, y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 17 (preferentemente menor de 14) para la fabricación de un medicamento que contiene dicho oligoguluronato u oligogalacturonato en una solución acuosa estéril con una concentración de 40 a 140 mg/ml (basándose en la sal sódica) para su uso en un método de tratamiento médico para reducir la viscosidad del mucus en una superficie mucosa por la aplicación en dicha superficie, por ejemplo, en el tratamiento de la fibrosis quística, otitis media adhesiva, sinusitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC, especialmente sus formas húmedas), bronquitis o enfisema. También se desvela dicho oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable para su uso en el tratamiento de fertilidad alterada, o para aumentar el suministro de un fármaco a través de una superficie mucosa.

Vista desde un aspecto adicional más, la invención proporciona un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable para su uso en un método de tratamiento de un sujeto humano o animal vertebrado no humano (por ejemplo, un mamífero, ave o reptil, preferentemente un mamífero) para reducir la viscosidad del mucus en una superficie mucosa del mismo, cuyo método comprende la administración a dicha superficie de una cantidad eficaz de un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 7 a 15 (preferentemente de 8 a 12), una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92 (preferentemente al menos 0,95), una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08 (preferentemente no más de 0,05), y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización de menos de 17 (preferentemente menor de 14).

Vista desde un aspecto adicional más, la invención proporciona un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable para su uso en un método de tratamiento de un sujeto humano o animal vertebrado no humano (por ejemplo, un mamífero, ave o reptil, preferentemente un mamífero) para reducir la viscosidad del mucus en una superficie mucosa del mismo, cuyo método comprende la administración a dicha superficie de una cantidad eficaz de una solución acuosa estéril que contiene, con una concentración de 40 a 140 mg/ml (basándose en la sal sódica), un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 7 a 15 (preferentemente de 8 a 12), una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08, y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 17 (preferentemente menor de 14).

En la invención, la administración a la superficie mucosa puede ser directa, por ejemplo, por inserción de un supositorio vaginal, por inyección de un gel vaginal, por inyección o administración de gotas en el oído o la nariz, o por inhalación de gotas pulverizadas en la nariz o los pulmones, o indirecta, por ejemplo, por la administración de un supositorio o enema para alcanzar el extremo distal del tracto gastrointestinal.

Vista desde otro aspecto, la invención proporciona un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable para su uso en un método de tratamiento de un sujeto humano o animal vertebrado no humano (por ejemplo, un mamífero, ave o reptil, preferentemente un mamífero) para combatir la hiperviscosidad del mucus en los oídos, senos o pulmones de dicho sujeto, cuyo método comprende la administración en los oídos, nariz o pulmones de dicho sujeto de una cantidad eficaz de un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 5 a 18, una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08, y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 20, preferentemente en una solución acuosa estéril a una concentración de 40 a 140 mg/ml (basándose en la sal sódica).

La aplicación del oligouronato en este método puede ser por medios que lo suministran en una superficie secretora de mucus, o que porta mucus en los oídos o tracto respiratorio del paciente, por ejemplo, los senos paranasales o más preferentemente en los pulmones. La introducción será típicamente por inhalación, por ejemplo de gotas líquidas (por ejemplo, un aerosol) o un polvo, o por administración de gotas en la nariz u oídos.

Los inventores también han descubierto que los oligoguluronatos y oligogalacturonatos se pueden utilizar para aumentar la captación a través de una superficie mucosa de un agente fisiológicamente activo (en lo sucesivo en el presente documento "una sustancia farmacológica"). Por lo tanto, vista desde un aspecto adicional, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende una sustancia farmacológica y un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 5 a 18, una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,80, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,20, y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 20, preferentemente se prefiere uno de los oligouronatos descritos anteriormente. Tales composiciones pueden tener cualquier forma convencional, por ejemplo polvos, comprimidos, cápsulas, soluciones, supositorios, dispersiones, etc., y se pueden producir de una manera convencional utilizando vehículos y excipientes farmacéuticos convencionales. La sustancia farmacológica preferentemente es una molécula cargada, especialmente una macromolécula (por ejemplo, que tiene un peso molecular por encima de 2 kDa), por ejemplo un poli-electrolito o anfólito, en particular una molécula cargada negativamente. Por lo tanto, por ejemplo, la sustancia farmacológica puede ser una macromolécula compleja tal como una glucoproteína, por ejemplo transferrina. Vista desde un aspecto más, la divulgación proporciona el uso de un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 5 a 18, una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,80, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,20, y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 20, preferentemente se prefiere uno de los oligouronatos descritos anteriormente, para la fabricación de un medicamento que contiene además una sustancia farmacológica para su administración a una superficie mucosa para la captación de dicha sustancia farmacológica a través de la misma. Vista desde un aspecto adicional más, la divulgación proporciona un método de tratamiento de un sujeto humano o animal vertebrado no humano por la administración a una superficie mucosa de este de una cantidad eficaz de una sustancia farmacológica para combatir una afección que responde a dicha sustancia farmacológica, comprendiendo la mejoría la administración de dicha sustancia farmacológica con un oligoguluronato u oligogalacturonato fisiológicamente tolerable que tiene un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 5 a 18, una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,80, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,20, y que tiene al menos un 95 % molar con un grado de polimerización menor de 20, preferentemente se prefiere uno de los oligouronatos descritos anteriormente. La administración será típicamente nasal, por inhalación, rectal o vaginal. La sustancia farmacológica se utilizará típicamente de 50 a 110 % de su dosis normal.

Aunque el oligouronato puede ser un material sintético, es preferentemente un derivado de un polisacárido de origen natural. De acuerdo con la invención, es una mezcla de compuestos de oligouronato, es decir, de un intervalo de grados de polimerización.

Los oligouronatos son fácilmente accesibles a partir de fuentes naturales ya que muchos polisacáridos naturales están en una forma de bloques de co-polímeros que contienen bloques de restos de ácido gulurónico (denominados bloques-G), frecuentemente junto con bloques de restos de ácido manurónico (denominados bloques-M). Los bloques-M o bloques-M/G se pueden utilizar en lugar de los bloques-G. Esto sin embargo no está de acuerdo con la invención. La escisión del polisacárido a oligosacárido para producir oligouronatos que se puedan utilizar de acuerdo con la presente invención se puede llevar a cabo utilizando técnicas de lisis de polisacáridos convencionales tales como digestión enzimática e hidrólisis ácida. Sin embargo se prefiere el uso de hidrólisis ácida. Los oligouronatos con la DP_n y la distribución del peso molecular deseadas se pueden separar entonces de los productos de degradación del polisacárido de manera cromatográfica utilizando una resina de intercambio iónico, por precipitación o solubilización fraccionada, o por diálisis.

Los polisacáridos adecuados se tratan por ejemplo en "Handbook of Hydrocolloids", Ed. Phillips and Williams, CRC, Boca Raton, Florida, Estados Unidos, 2000. El uso de alginatos sin embargo se prefiere especialmente ya que estos se encuentran naturalmente como co-polímeros de bloques de ácidos manurónico (M) y gulurónico (G) y los oligómeros de bloques-G se pueden producir fácilmente a partir de materiales de una fuente de alginato.

Cuando se utilizan los alginatos como material de partida para la preparación del oligouronato, el contenido de ácido gulurónico puede aumentarse si se desea por epimerización con epimerasas C-5 del manouronano de *A. vinelandii*.

Los oligoguluronatos adecuados para su uso de acuerdo con la invención se pueden producir convenientemente por hidrólisis ácida del ácido alginico de *Laminaria hyperborea*, disolución a pH neutro, adición de ácido mineral para reducir el pH a 3,4 para precipitar el oligoguluronato, lavado con un ácido débil, resuspensión a pH neutro y liofilización.

La invención se describirá ahora adicionalmente en referencia a los siguientes Ejemplos y los dibujos adjuntos, en los que:

Las Figuras 1a y 1b, 2a y 2b, y 3a y 3b muestran los cambios en G^* (arriba) y η^* (abajo) en el esputo de un paciente con EPOC con el tiempo y en función de oligouronato añadido;

La Figura 4 es un cromatograma Dionex del material del bloque-G con DP_n 10 que se utiliza en el Ejemplo 7 y a modo de comparación el material precursor con DP_n 19 del que no se ha retirado la cola de alto peso molecular; y

La Figura 5 muestra el desarrollo con el tiempo de las propiedades mecánicas de un mucus modelo en presencia de los materiales de bloque-G de la Figura 4.

Ejemplo 1

Preparación de oligoguluronato sódico de DP_n 5 a 18

1. Se hidrolizó extensamente un ácido alginico rico en guluronato (pH 2-3; 15-40 % de peso seco) del peciolo de *Laminaria hyperborea* con un ácido mineral u orgánico, preferentemente HCl, a 70-100 °C durante 2-12 h.

2. Tras la hidrólisis, el pH de la mezcla de oligosacáridos se aumenta a 3-4 y se lava con agua de baja fuerza iónica para eliminar los fragmentos ricos en M y componentes de bajo peso molecular.

3. Si fuera necesario, la mezcla de oligosacáridos purificada se hidroliza y se purifica adicionalmente como en las etapas 1 y 2.

4. La mezcla purificada de oligosacáridos se neutraliza entonces con un álcali, preferentemente NaOH o Na_2CO_3 , para dar los bloques-G solubles y se ajusta el contenido en peso seco a 2,5-20 %.

5. Para obtener un producto con un promedio en número del grado de polimerización aceptable así como una distribución del peso molecular, la solución de bloques-G se filtra dos veces. Primero a través de un filtro con un corte aproximado de 1000 Da para retirar los oligómeros por debajo de DP 5. Lo retenido se filtra entonces a través de un filtro con un corte aproximado de 4000 Da para retirar los fragmentos de bloque-G por encima de DP 20 aproximadamente.

6. Si fuera necesario, el contenido en sustancia seca del permeado se ajusta y la solución se seca por pulverización. El polvo blanquecino o amarillo claro resultante (producto) tienen un contenido de humedad menor del 15 %.

Ejemplo 2

Preparación de oligoguluronato sódico de DP_n 7 a 15

Las etapas de preparación son las siguientes:

1. Como en el Ejemplo 1 anterior.

2. Como en el Ejemplo 1 anterior.

3. Como en el Ejemplo 1 anterior.

4. Para optimizar el rendimiento y la pureza, el contenido en sustancia seca de la mezcla de oligosacáridos se ajusta a 5-15 %, la mezcla de oligosacáridos se solubiliza en un tampón de ácido acético (50-250 mM) para conseguir un pH final de la solución de 3,8 - 5,0.

5. El oligosacárido solubilizado en tampón de acetato se hidroliza adicionalmente homogéneamente a 70-100 °C durante 1-15 horas para disminuir el contenido de fragmentos de alto peso molecular y aumentar los fragmentos de bloques-G fisiológicamente activos.

6. La filtración (incluyendo también la desalación) y el secado por pulverización se efectúa como se ha descrito en las etapas 5 y 6 del Ejemplo 1 anterior.

Los oligoguluronatos también se pueden preparar como se describe en la Patente de EE. UU. N° 6121441 y en la Patente de EE. UU. N° 6407226. De hecho, los productos de los Ejemplos 1 y 2 del presente documento pueden producirse ventajosamente utilizando un oligoguluronato que se produce de acuerdo con la Patente de EE. UU. N° 6121441 como el material de partida.

Ejemplo 3

Caracterización y control de calidad

Para los Ejemplos 1 y 2, incluyendo la comprobación de los productos intermedios, se utilizaron las siguientes técnicas:

Se determinó la pureza (contenido de restos de ácido gulurónico) y promedio en número del grado de polimerización por espectroscopia 1H -NMR como está descrito por Grasdalen *et al* en Carbohydr. Res. 68(1):23-31 (1979).

También se utilizó cromatografía aniónica de alta precisión combinada con detección amperiométrica de pulso (HPAEC-PAD), comercializada por Dionex, para la caracterización del material oligomérico. Se utilizó el siguiente método para la caracterización de los bloques-G:

1. Se solubilizan las muestras de bloques-G en agua MQ, 1-2 mg/ml.
2. Se utilizó una solución de NaOH 0,1 M (sin carbonato) como fase móvil, y se utilizó acetato sódico 1,0 M como eluyente. Todas las soluciones se desgasificaron con helio y se filtraron a través de un filtro de 0,22 micrómetros.
3. Se inyectaron muestras de 20 microlitros, y se emplearon una pre-columna AG4A y una columna principal IonPac 4x250 AS4A.
4. Las columnas se eluyeron con un gradiente lineal desde 0 a 87,5 % de acetato de Na en un NaOH 0,1 M durante 90 minutos. La velocidad de elución es de 1 ml/min con un régimen de presión de 650-750 psi.
5. Tras determinar el factor de respuesta como una función de la longitud de cadena, se puede calcular la concentración de cada oligómero, lo que implica que se puede determinar tanto el número como el promedio en peso del peso molecular así como la distribución de peso molecular.

Posible tratamiento adicional de los oligosacáridos: esta consideración, es decir, si los parámetros relevantes están fuera de los intervalos deseados, se relaciona con el rendimiento de fabricación del producto. No es problema tener algo de producto hidrolizado de alginato alto en G para ajustarse dentro de los intervalos de parámetros requeridos, pero el rendimiento puede ser menor. Con el fin de optimizar el rendimiento y continuar dentro de los intervalos de parámetros requeridos, se pueden sugerir las siguientes advertencias:

- a) F_c demasiado bajo: hidrólisis adicional (siendo las uniones GG más estables frente a la hidrólisis ácida) o/y lavado adicional con valores de pH ligeramente más altos (los fragmentos ricos en M son más solubles en ácido que los fragmentos ricos en G).
- b) DP_n "erróneo": si el DP_n promedio es demasiado bajo, el rendimiento se reducirá debido a un aumento de la pérdida cuando se filtra a través del filtro de 1 kDa. El rendimiento sin embargo se puede aumentar cuando el DP_n promedio es demasiado alto; aquí, un aumento de la hidrólisis ácida resultará en más moléculas que están en el intervalo de parámetros deseados.

Ejemplo 4

Soluciones para la administración

Las soluciones para inhalación se preparan disolviendo oligoguluronatos sódicos de un DP_n 5 a 18 o 7 a 15 que se preparan según los Ejemplos 1 y 2 respectivamente en agua estéril para inyección a concentraciones de 6, 8 y 10 % p.

Se cargan entonces alícuotas de estas en un aplicador pulverizador para la administración en los pulmones en dosis de 1 a 5 ml, preferentemente 2-3 ml.

Se cargan alícuotas adicionales en botellas con tapas que tienen cuentagotas. Se pueden administrar las gotas en la nariz u oídos, por ejemplo, 2-4 gotas por oído o narina.

Ejemplo 5

Gel vaginal

Los oligoguluronatos sódicos preparados según los Ejemplos 1 y 2 se mezclan en un gel lubricante comercial (por ejemplo, K-Y Jelly (de Johnson & Johnson) o Astroglide (de BioFilm Inc)) a concentraciones de 5 y 15 % p. El gel se aplica liberalmente, preferentemente de 2-4 horas antes de la inseminación o el coito.

Ejemplo 7

Efecto sobre la mucina

Las muestras de esputo se recolectaron de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Las muestras se agitaron suavemente, se dividieron en porciones, se congelaron y se almacenaron a -40 °C.

Las muestras de control y las mezcladas (esputo y bloque-G) se agitaron suavemente durante 1 min, se eliminaron los gases a aproximadamente 10 mBar durante 2 x 1 minuto y posteriormente se colocaron en el frigorífico durante 5 min antes de transferirse al reómetro para el ensayo.

Las mediciones reológicas del esputo de EPOC puro y mezclado se llevó a cabo en placa/cono (40 mm/1° o 25 mm/1°, dependiendo de la calidad de la muestra) utilizando el reómetro de uso general Rheologica Stress-Tech a 10 °C para minimizar el efecto de cualquier enzima proteolítica que estuviera presente.

La caracterización reológica del esputo de EPOC puro y el esputo mezclado con bloques-G se llevó a cabo en cuatro etapas diferentes:

1. Control del esfuerzo oscilante durante 2 minutos con esfuerzo constante de 0,03 y frecuencia a 1 Hz.
2. Control del esfuerzo oscilante después de una pre-cizalladura (tasa de cizalladura de 1 min a 20 s⁻¹) durante 60 min con esfuerzo constante de 0,03 y frecuencia a 1 Hz.
3. Barrido de frecuencia con un intervalo de 0,01 - 5 Hz a un esfuerzo constante de 0,03.
4. Barrido de estrés con un intervalo de 0,02 - 20 Pa a 1 Hz.

- El tratamiento nº 2 (pre-cizalladura y medición de 1 hora) representa la base de los resultados experimentales que se presentan. Este tratamiento se repitió 2-3 veces en 0-24 h.

Se presentan aquí los resultados de tres muestras de esputo de EPOC *ex vivo*. Se ensayaron reológicamente "como tal" (control) así como habiéndose dosificado con la adición de bloques-G:

- esputo puro (control)
- esputo + 75 microlitros 150 mg/ml (por cada 0,5 g de muestra de esputo) de oligómeros de guluronato sódico DP 10.

- El oligómero de guluronato sódico DP 10 tenía las siguientes características:

F_G 0,79, F_M 0,11, F_{GG} 0,76, $F_{GM}=F_{MG}$ 0,03, F_{MM} 0,07, $F_{MGG}=F_{GGM}$ 0,02, F_{MGM} 0,01, F_{GGG} 0,74, F_G (rojo) 0,10, F_G (tot) 0,89, DP_n 10

- Las Figuras 1a, 2a y 3a muestran el desarrollo del módulo complejo (G^*) para las muestras de esputo de EPOC (con y sin oligoguluronato) después del final del tratamiento de pre-cizalladura y a determinados espacios de tiempo tras la introducción del oligoguluronato. Las Figuras 1b, 2b y 3b muestran el desarrollo de la viscosidad del complejo de la misma muestra de esputo de las Figuras 1a, 2a y 3a.

- La adición de oligoguluronato reduce obviamente con el tiempo las propiedades mecánicas del esputo de EPOC *ex vivo*. Tanto el módulo del complejo dinámico así como la viscosidad del complejo dinámico están considerablemente reducidos. El cambio en el ángulo de fase, sin embargo, no está afectado en tanta medida como G^* y η^* (datos no incluidos). Esto es lo más importante ya que claramente muestra que las propiedades mecánicas del entramado de mucina están preservadas.

Ejemplo 8

Cristalización en forma de hoja de helecho

- Las composiciones de mucina se prepararon de la siguiente manera:

- a) 18 mg de mucina por ml de NaCl acuoso 0,05 M;
- b) 18 mg de mucina y 1 mg de alginato por ml de NaCl acuoso 0,05 M; y
- c) 18 mg de mucina y 0,5 mg de oligómero de guluronato (DP_n = 10, como en el Ejemplo 7) por ml de NaCl 0,05 M.

Las composiciones se secaron al aire y se registraron microfotografías. Estas (no incluidas en el presente documento) mostraban claramente que el oligómero de guluronato promovía la cristalización en forma de hoja de helecho.

Ejemplo 9

Propiedades mecánicas del mucus

- Se prepararon dos modelos de materiales de mucus, el primero 18 mg/ml de mucina y 0,6 mg/ml de alginato en agua, el segundo solamente 18 mg/ml de mucina. Se añadió bloque-G DP_n = 10 a 4 mg/ml (como en el Ejemplo 7) o DP_n = 19 a cada uno y se registró el módulo del complejo dinámico G^* de cada muestra. El G^* es indicativo de las propiedades mecánicas del mucus. Los resultados se exponen en la Figura 5: desde arriba mucina/alginato; mucina; mucina/alginato más DP_n 19; y mucina/alginato más DP_n 10. Como se puede apreciar, el bloque-G DP_n10, que carece de la cola de alto peso molecular, reduce el comportamiento tipo sólido del mucus más que el bloque-G DP_n 19. La Figura 4 es un cromatograma Dionex para los dos bloques-G que se utilizaron. Como se puede apreciar, la muestra con DP_n 19 tiene una protuberancia en el extremo derecho indicando la presencia de la cola de alto peso molecular. Los ejemplos 10-17 son ejemplos de referencia.

Ejemplo 10

Composición de Etanercept

- 5 Se disolvió el bloque-G DP_n = 10 (como en el Ejemplo 7) a 40 mg/ml en una solución acuosa para inyección de Etanercept de 50 mg/ml (disponible bajo la marca registrada Enbrel de Amgen, CA, EE. UU.).

Ejemplo 11

10 Composición de Infliximab

Se disolvieron en agua estéril bloque-G DP_n = 10 a 8 mg/ml (como en el Ejemplo 7) e infliximab a 10 mg/ml (disponible en Centocor, PA, EE. UU. bajo la marca registrada Remicade).

15 Ejemplo 12

Composición de Rituximab

- 20 Se disolvió el bloque-G DP_n = 10 (como en el Ejemplo 7) a 10 mg/ml en una solución acuosa para inyección de rituximab de 10 mg/ml (disponible bajo la marca registrada Rituxan de Genentech, CA, EE. UU.).

Ejemplo 13

Composición de Eritropoyetina

- 25 Se disolvió el bloque-G DP_n = 10 (como en el Ejemplo 7) a 8 mg/ml en una solución acuosa para inyección de epoetina alfa de 4000 U/ml (disponible bajo la marca registrada Epogen de Amgen, CA, EE. UU.).

Ejemplo 14

30 Composición de G-CSF

Se disolvió el bloque-G DP_n = 10 (como en el Ejemplo 7) a 9 mg/ml en una solución acuosa para inyección de pegfilgrastin de 10 mg/ml (disponible bajo la marca registrada Neulasta de Amgen, CA, EE. UU.).

35 Ejemplo 15

Composición de Trastuzumab

- 40 Se disolvieron en agua bacteriostática para inyección el bloque-G DP_n = 10 a 15 mg/ml (como en el Ejemplo 7) y trastuzumab a 22 mg/ml (disponible bajo la marca registrada Herceptin en Genentech, CA, EE. UU.).

Ejemplo 16

45 Composición de Interferón

Se disolvió el bloque-G DP_n = 10 (como en el Ejemplo 7) a 1 mg/ml en una solución acuosa para inyección de interferón beta-1a de 30 microgramos/ml (disponible bajo la marca registrada Avonex de Biogen Idec, Hoofddorp, NL).

50 Ejemplo 17

Composición de Insulina

- 55 Se disolvió el bloque-G DP_n = 10 (como en el Ejemplo 7) a 10 mg/ml en una solución acuosa para inyección de insulina de 100 U/ml (disponible bajo la marca registrada Humulin de Ely Lilly, IN, EE. UU.).

60 Las composiciones de los Ejemplos 10 a 17 se pueden administrar típicamente por vía nasal, vaginal o sub-lingual, generalmente a dosificaciones del orden de magnitud recomendado por los proveedores de los compuestos farmacológicos disponibles comercialmente a los que se hace referencia en estos Ejemplos.

REIVINDICACIONES

1. Oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables que tienen un intervalo de grados de polimerización, un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 5 a 18, una fracción de guluronato (o galacturonato) (F_G) de al menos 0,92, una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0,08, y que tienen al menos 95 % molar con un grado de polimerización menor de 20 para su uso en terapia.
5
2. Oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, que tienen un intervalo de grados de polimerización, un promedio en número del grado de polimerización en el intervalo de 7 a 15, y que tienen al menos 95 % molar con un grado de polimerización menor de 17.
10
3. Una composición líquida acuosa pulverizable estéril que comprende una solución acuosa de oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables como se definen en la reivindicación 1 o reivindicación 2, conteniendo dicha solución dichos oligoguluronatos u oligogalacturonatos a una concentración de 40 a 140 mg/ml (base de sal de sodio).
15
4. La composición de la reivindicación 3, en la que dichos oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables son como se define en la reivindicación 2.
5. Oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables como se define en la reivindicación 1 o reivindicación 2, o una composición acuosa estéril de los mismos como se define en la reivindicación 4, para su uso en un método de tratamiento de un sujeto humano o vertebrado no humano para combatir la hiperviscosidad mucosa en una superficie mucosa en dicho sujeto, comprendiendo dicho método la aplicación a dicha superficie mucosa de una cantidad eficaz de dichos oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables, o dicha composición.
20
25
6. Los oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables, o la composición acuosa estéril de los mismos, para el uso de la reivindicación 5, en los que dicho tratamiento es para otitis media adhesiva, sinusitis, fibrosis quística, bloqueo nasal o de los senos paranasales o congestión resultante del resfriado común.
30
7. Los oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables, o la composición acuosa estéril de los mismos, para el uso de la reivindicación 5, en los que dichos oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables son como se define en la reivindicación 2, y dicho tratamiento es para fibrosis quística, otitis media adhesiva, sinusitis, bloqueo nasal o de los senos paranasales, congestión resultante del resfriado común, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis o enfisema.
35
8. El uso de oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables como se define en la reivindicación 2, o una composición acuosa estéril como se define en la reivindicación 4, para la fabricación de un medicamento para su uso en un método de tratamiento médico para combatir la hiperviscosidad mucosa en una superficie mucosa mediante aplicación a dicha superficie.
40
9. El uso de oligoguluronatos u oligogalacturonatos fisiológicamente tolerables, o una composición acuosa estéril de los mismos, para el uso de la reivindicación 8, en el que dicho tratamiento es para fibrosis quística, otitis media adhesiva, sinusitis, bloqueo nasal o de los senos paranasales, congestión resultante del resfriado común, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis o enfisema.
45
10. Un aplicador de pulverización que comprende un depósito y un generador de gotas, conteniendo dicho depósito la composición acuosa estéril de la reivindicación 3 o reivindicación 4.

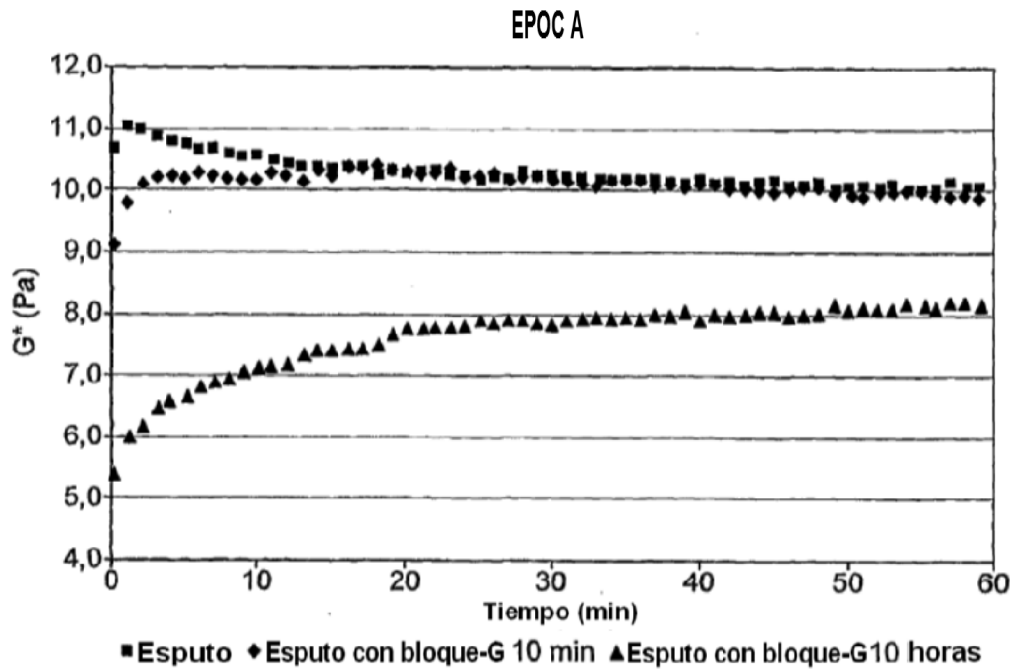


FIG. 1A

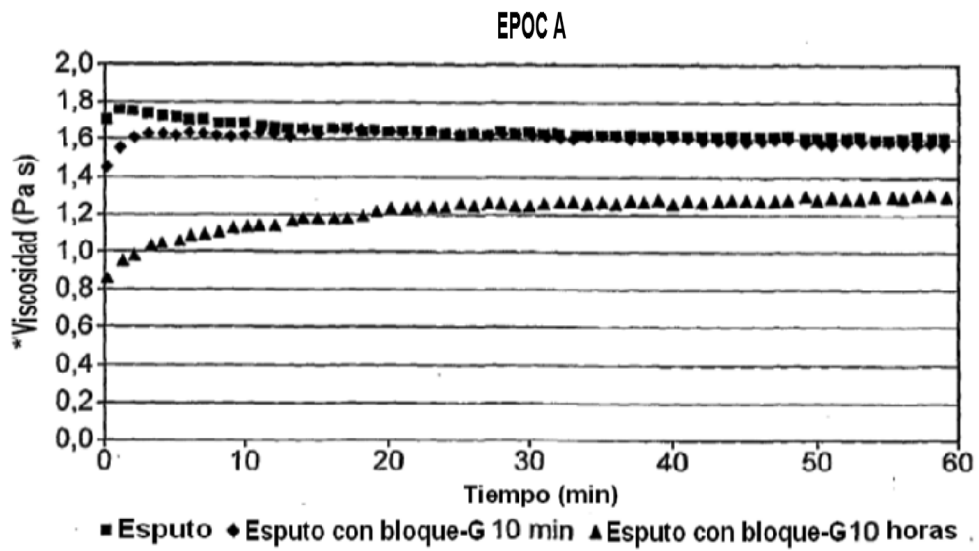


FIG. 1B

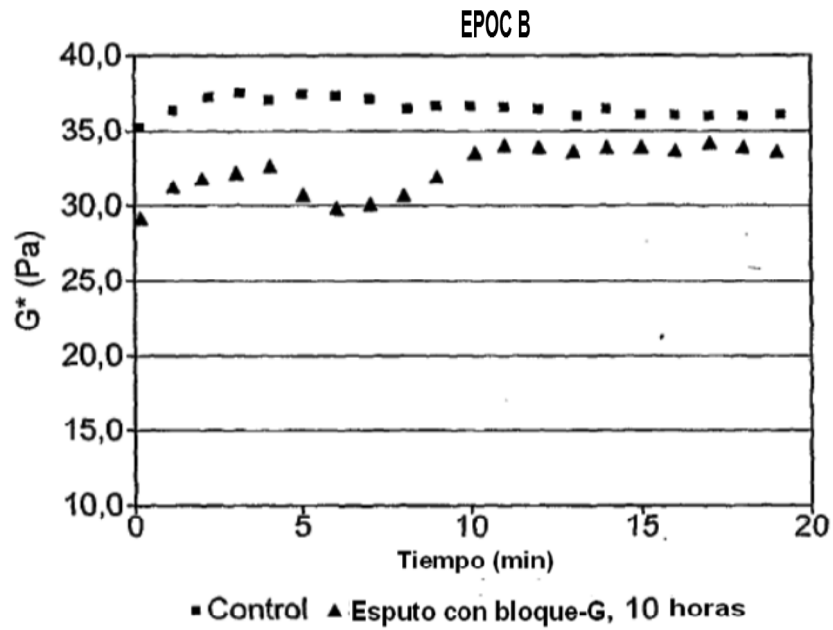


FIG. 2A

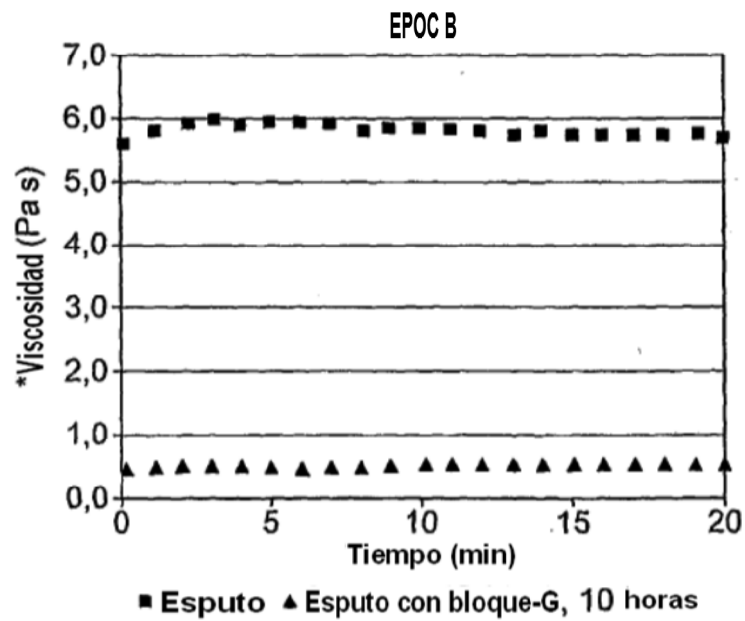


FIG. 2B

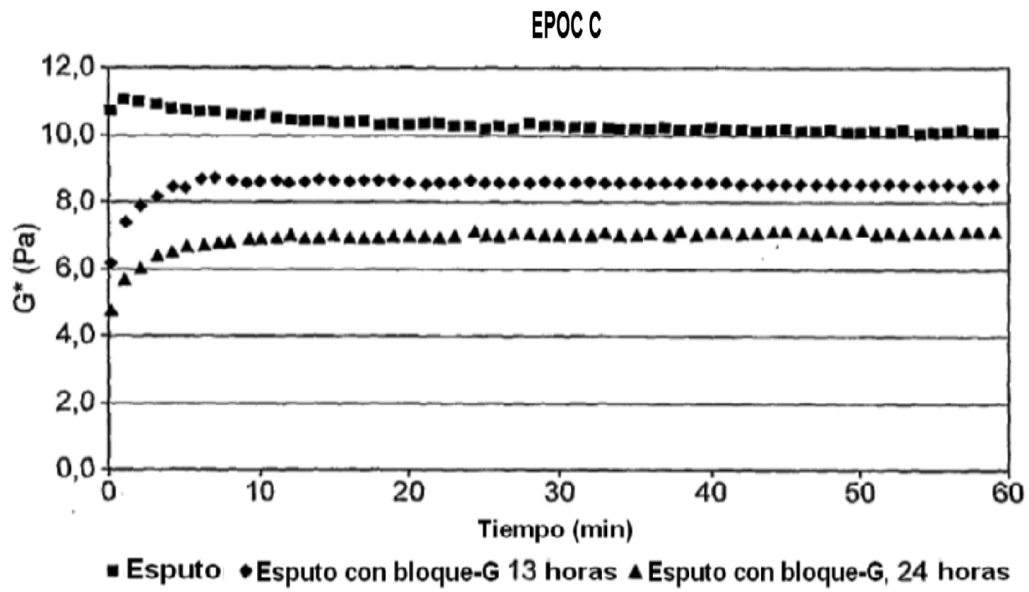


FIG. 3A

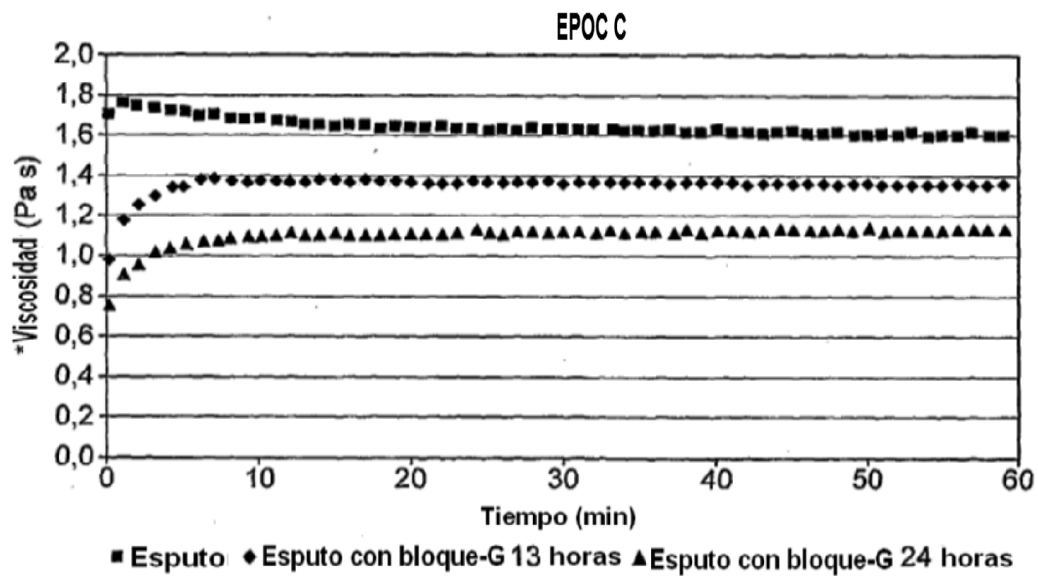


FIG. 3B

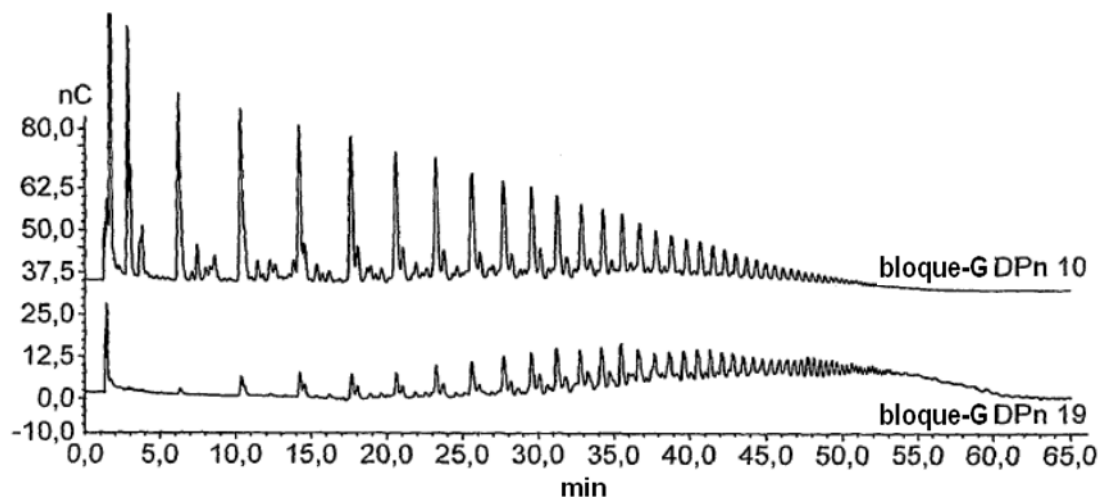


FIG. 4

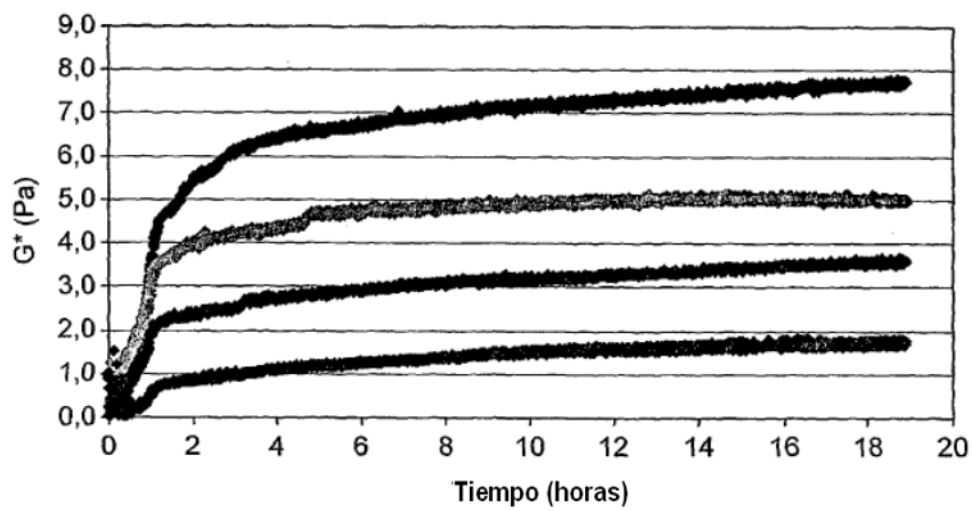


FIG. 5