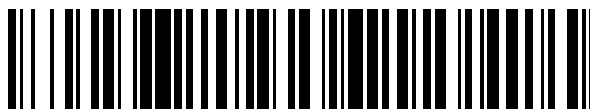


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 566**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01)

A61K 31/5375 (2006.01)

A61K 31/65 (2006.01)

A61K 31/7072 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.07.2014** **PCT/EP2014/002052**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.02.2015** **WO15014470**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2014** **E 14755588 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2017** **EP 3027213**

54 Título: **Composiciones para aliviar y/o prevenir efectos secundarios adversos en terapias con antibióticos**

30 Prioridad:

31.07.2013 EP 13003810

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

20.02.2018

73 Titular/es:

MITOGENOMIX GMBH (100.0%)
Münchener Strasse 23
97292 Uettingen, DE

72 Inventor/es:

SEIBEL, MARTINA y
SEIBEL, PETER

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 655 566 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 para aliviar y/o prevenir efectos secundarios adversos en terapias con antibióticos

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende: (i) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antibiótico; y (ii) una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de uridina y un compuesto de piruvato. La formulación se prepara en una forma de dosificación adecuada para el suministro de antibióticos y la reducción de los efectos secundarios adversos conocidos de los antibióticos se logra mediante los compuestos de uridina y/o piruvato añadidos cuando se administra a un sujeto. La presente invención neutraliza estos efectos secundarios con gran eficacia sin interferir con el efecto antibiótico de los fármacos. Mediante la administración conjunta de (i) antibióticos y (ii) compuestos de uridina y piruvato, se soporta la capacidad de la célula para generar energía y sintetizar ácidos nucleicos. Especialmente, se suprimen de manera eficaz los efectos secundarios causados por los antibióticos que interfieren con el metabolismo celular y mitocondrial como acciones secundarias de los fármacos.

También se describen métodos para reducir o prevenir un fallo del tratamiento para una infección tratable con antibióticos en un paciente que comprende administrar la formulación en un modo de administración adecuado.

20 Antecedentes de la invención

En 1947, se usó el término "antibióticos" para describir agentes que son antagonistas para el crecimiento de microorganismos en alta dilución (1). En la actualidad, el término "antibióticos" tiene un aspecto más amplio ya que abarca fármacos muy potentes que combaten infecciones bacterianas mediante la eliminación de bacterias o impidiendo su reproducción. Normalmente, los antibióticos se identifican como sustancias de bajo peso molecular producidas por bacterias, hongos o plantas superiores. Pueden aislarse a partir de estas fuentes o son compuestos parcial o totalmente sintéticos. Las sustancias que se siguen aislando de organismos vivos pertenecen al grupo de los aminoglucósidos. Otras (por ejemplo, las sulfonamidas, las quinolonas o las oxazolidinonas) son completamente sintéticas. En general, hay dos formas de clasificar los agentes antimicrobianos: Pueden clasificarse basándose en su origen químico o biosintético (naturales, seminaturales, sintéticas) o distinguirse basándose en su efecto biológico en los microorganismos. Esta última clasificación distingue entre agentes bactericidas que eliminan bacterias y compuestos bacteriostáticos que detienen o frenan el crecimiento bacteriano.

El documento WO 96/37228A1 y la Patente de los Estados Unidos n.º 5.633.285 se refieren a una composición bactericida para la curación de heridas y a métodos para preparar y usar la misma.

El documento WO 2013/078554 A1 describe composiciones de tigeciclina y usos de las mismas.

El documento WO 2013/103780 A1 describe composiciones y métodos que comprenden moduladores diana de especies de oxígeno reactivas (ROS) que aumentan el flujo de ROS y la producción de ROS endógenas, potenciando de este modo el ataque oxidativo mediante anticuerpos y biocidas.

Morais et al. (Canadian J. of Biochemistry, National Research Council of Canada, Vol. 60, n.º 3, págs. 290-294 (1982)), Liu et al. (Life Science Journal, página 327, 2012) y Abdou et al. (Zbl. Bakt. Reihe A 1974, Vol. 229, n.º 2, págs. 216-231 (1974)) describen medios de cultivo celular.

Dependiendo de su modo o sitio de acción, los antibióticos pueden dividirse en los siguientes subgrupos:

- 50 • construcción de la pared celular (por ejemplo, β -lactamas)
- estructura y función de la membrana celular (por ejemplo, polimixina B)
- síntesis del ácido fólico (por ejemplo, sulfonamidas)
- síntesis de proteínas (por ejemplo, aminoglucósidos)
- estructura y función del ADN (por ejemplo, quinolonas)
- 55 • otros (por ejemplo, rifampina)

Ya que para su administración a seres humanos o a mamíferos todos los fármacos terapéuticos requieren de pruebas exhaustivas, los compuestos nuevos se exploran respecto de cualquier efecto secundario negativo antes de otorgarles la aprobación para su uso clínico (por ejemplo, por la FDA). Aunque la mayor parte de los antibióticos se consideran seguros y normalmente bien tolerados por los pacientes, algunos antibióticos se han asociado con una serie de efectos adversos (2) que pueden ir desde fiebre y náuseas hasta reacciones alérgicas importantes, incluyendo fotodermatitis y anafilaxia. Los efectos secundarios comunes incluyen diarrea y recrecimiento de especies de bacterias y levaduras patógenas. Se han comunicado efectos secundarios graves, tales como, por ejemplo, variaciones en el hemograma de los pacientes, insuficiencia hepática, daño reversible e irreversible de la médula ósea, así como algunas formas de leucemia (casos raros). Como consecuencia, los compuestos con efectos secundarios graves se emplean con mucha menor frecuencia y se consideran como "defensa de última línea".

Además, en los últimos años se ha complicado el tratamiento por la aparición de microbios resistentes a múltiples fármacos (por ejemplo, MRSA, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina). La resistencia a múltiples fármacos es una afección que permite a los microorganismos causantes de enfermedades escapar de distintos fármacos antibióticos, antifúngicos y antivíricos. En este contexto, incluso los antibióticos previamente clasificados como causantes de efectos secundarios graves han vuelto a cobrar protagonismo (3). Por ejemplo, el fenilpropanoide cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro muy eficaz que funciona muy bien en bacterias anaerobias, bacterias grampositivas, así como en gramnegativas. El compuesto se ha usado para tratar el acné, infecciones oculares y para el tratamiento de pacientes en casos graves de determinados agentes causantes de meningitis, cólera resistente a tetraciclina, fiebres tifoideas, tifus, disentería, difteria y malaria. Sin embargo, se comunicaron efectos secundarios, que incluso pueden causar la muerte, por lo que se degradó este compuesto antibiótico a la clase de "defensa de última línea", por ejemplo:

El *síndrome del bebé gris* es un efecto secundario raro pero grave (4). Se produce cuando se trata a neonatos con cloranfenicol por vía intravenosa. Los síntomas observados varían desde un color gris ceniza de la piel, vómitos, cuerpo flácido, hipotensión, cianosis, hipotermia hasta el colapso cardiovascular. Debido a un mecanismo aún desconocido, se cree que la ausencia de reacciones de glucuronidación que se producen en el bebé ocasionan una acumulación de metabolitos tóxicos (5).

El cloranfenicol también puede inducir daño en el tejido de la médula ósea, que a su vez puede producir formas graves de anemia (ya sean anemias reversibles o aplásicas). Como consecuencia de las mismas, normalmente se observa un mal funcionamiento de la eritropoyesis (6). En casos muy raros, se ha descrito la coincidencia del tratamiento con cloranfenicol y de leucemia en la infancia (7).

Los efectos secundarios de los antibióticos normalmente están causados por la interferencia con el metabolismo de las células o con la síntesis de proteínas en mamíferos. El último es especialmente importante para las mitocondrias, ya que los ribosomas en estos orgánulos están estrechamente vinculados desde el punto de vista evolutivo a los ribosomas bacterianos. En consecuencia, un fármaco dirigido a interferir con la síntesis de proteínas bacterianas impedirá la síntesis de proteínas mitocondriales y por lo tanto, ocasionará efectos graves en el metabolismo general. Se ha identificado que las mitocondrias alojan una serie de vías metabólicas esenciales. Entre estas, la generación de energía a través del sistema de fosforilación oxidativa mitocondrial desempeña un papel crucial para sostener las demandas energéticas de la célula. Sin embargo, para sostener las necesidades de energía durante el tratamiento con fármacos que interceptan la síntesis de proteínas, el metabolismo de la célula cambiará hacia la menos eficaz vía glucolítica, produciendo de este modo lactato. Por lo tanto, la síntesis de energía se convierte en la etapa limitante de la velocidad y está implicada en los efectos secundarios experimentados con los antibióticos (por ejemplo, cloranfenicol, linezolid, tigeciclina, etc.). Además, el cada vez menor número de complejos OXPHOS detienen la vía de biosíntesis de la uridina, de tal forma que puede detenerse el ciclo celular de las células en rápida división.

Objetivo

El objetivo de la presente invención es proporcionar composiciones para aliviar y/o prevenir los efectos secundarios adversos en la terapia con antibióticos.

Breve descripción de la presente invención

Este objetivo se resuelve mediante la materia-objeto de las presentes reivindicaciones independientes 1 y 6. En las reivindicaciones dependientes se mencionan realizaciones preferidas.

La invención proporciona una composición que comprende:

- (i) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antibiótico; y
- (ii) una cantidad terapéutica tanto de un compuesto de uridina como de un compuesto de piruvato

para su uso como medicamento, en donde

el compuesto de uridina es uridina, uracilo, fosfatos de uridina (por ejemplo, uridina-5' monofosfato (UMP), uridina-5' difosfato (UDP), uridina-5' trifosfato (UTP)) o sales de los mismos, UDP-glucosa, citidina-5' monofosfato (CMP), citidina-5' difosfato (CDP), CDP-glucosa, ácido orótico, orotidilato, uridina acilada o citidina-difosfocolina; y el compuesto de piruvato es ácido pirúvico o una sal del mismo (por ejemplo, piruvato de metilo, piruvato de etilo o la sal sódica de piruvato), creatina piruvato, fosfoenolpiruvato, 2-fosfoglicerato, 3-fosfoglicerato, 1,3-bisfosfoglicerato, gliceraldehído 3-fosfato, dihidroxiacetona fosfato, alanina, serina, cisteína, glicina, triptófano, asparagina, aspartato, metionina, malato u oxalacetato.

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende

- (i) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antibiótico; y
- (ii) una cantidad terapéutica tanto de un compuesto de uridina como de un compuesto de piruvato

para su uso en la prevención o minimización de efectos secundarios graves en la terapia antibiótica de infecciones bacterianas en un sujeto, en donde

el compuesto de uridina es uridina, uracilo, fosfatos de uridina (por ejemplo, uridina-5' monofosfato (UMP), uridina-5' difosfato (UDP), uridina-5' trifosfato (UTP)) o sales de los mismos, UDP-glucosa, citidina-5' monofosfato (CMP), citidina-5' difosfato (CDP), CDP-glucosa, ácido orótico, orotidilato, uridina acilada o citidina-difosfocolina; y el compuesto de piruvato es ácido pirúvico o una sal del mismo (por ejemplo, piruvato de metilo, piruvato de etilo o la sal sódica de piruvato), creatina piruvato, fosfoenolpiruvato, 2-fosfoglicerato, 3-fosfoglicerato, 1,3-bisfosfoglicerato, gliceraldehído 3-fosfato, dihidroxiacetona fosfato, alanina, serina, cisteína, glicina, triptófano, asparagina, aspartato, metionina, malato u oxalacetato.

Los inventores han descubierto que los efectos secundarios de los antibióticos que interfieren con la síntesis de proteínas mitocondriales provocan una reducción del sistema de generación de energía (enzimas del sistema de fosforilación oxidativa, OXPHOS). Las células que se dividen rápidamente son las más afectadas, ya que no pueden mantener una cantidad constante de los complejos de OXPHOS en las células hijas. Por lo tanto, se sabe por otros estudios que las enzimas de OXPHOS se diluyen ya que no pueden volver a sintetizarse bajo la influencia del fármaco. Transcurridos 4-5 días, el número de complejos OXPHOS se encuentra por debajo del nivel necesario para sostener la demanda energética de la célula (aproximadamente al 8-12 %), por lo que se producirá un cambio de vía bioquímica hacia la glucólisis. En cambio, las células en estado quiescente se ven menos afectadas, ya que muestran tasas de replicación (semivida) de las proteínas sintetizadas por las mitocondrias de 8-20 días. Por lo tanto, pueden soportar la biosíntesis bloqueada de OXPHOS de tal forma que incluso después de 30 días de tratamiento, no pueden detectarse síntomas en este espacio de tiempo.

Por tanto, los efectos secundarios que se desarrollan en pacientes tratados con fármacos antibióticos están causados de dos maneras distintas:

- En primer lugar, debido a la inhibición de la síntesis de proteínas mitocondriales, estos antibióticos desplazan la vía de generación de energía hacia la glucólisis. Por lo tanto, la glucólisis necesita satisfacer prácticamente toda la demanda energética de las células y necesita funcionar a pleno rendimiento.
- En segundo lugar, debido a la tasa reducida de complejos OXPHOS, se produce un segundo problema, distinto del agotamiento de la energía: los electrones procedentes de la dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH) se desvían exclusivamente a los OXPHOS a través del ciclo mitocondrial de ubiquinol/ubiquinona. En caso de que las enzimas OXPHOS se vuelvan limitantes de la velocidad, se detiene la vía de DHODH, ya que no pueden liberarse los electrones de la reacción redox de DHODH. La enzima (DHODH) está ligada a la vía esencial de biosíntesis de uridina. Por lo tanto, la reducción del suministro de uridina provoca como consecuencia la detención del ciclo celular.

Cuando el metabolismo se desplaza hacia la glucólisis anaerobia durante el tratamiento con antibióticos, las células producen lactato a partir de piruvato, que se libera a la sangre. Como consecuencia de la aparición del cambio metabólico, la relación de NAD^+/NADH se desplaza hacia el NADH, ya que no puede oxidarse por los pocos complejos OXPHOS restantes. Esta situación da lugar a una reducción del NAD^+ y del piruvato en la célula, por lo que se bloquean vías bioquímicas esenciales. Cuando se administra piruvato, se resuelven ambos problemas:

- En primer lugar, la reserva de piruvato intracelular aumenta, por lo que pueden reiniciarse las reacciones bioquímicas detenidas
- En segundo lugar, al reducirse el nivel de NADH mediante la producción de lactato a partir del piruvato administrado, pueden reiniciarse las reacciones previamente detenidas a causa de los elevados niveles de NADH.

El metabolismo celular se ve comprometido además por la reserva reducida de uridina que está provocada por la reacción de DHODH detenida. Se sabe que la reserva de uridina de la célula se rellena por tres vías distintas:

- En primer lugar, la célula se alimenta a partir de la vía silvestre. Es decir: todas las uridinas (pirimidinas) usadas en la célula (por ejemplo, los bloques de construcción de todos los ácidos nucleicos o la liberación de UDP a partir del ácido UDP-glucurónico) se reúnen tras su degradación. El nivel de pirimidina resultante del reciclado es suficiente para satisfacer la demanda en una célula en reposo.
- En segundo lugar, la alta demanda de pirimidina en las células en división puede saturarse mediante los bloques de construcción recién sintetizados por la vía de DHODH.
- En tercer lugar, las pirimidinas pueden captarse por la célula. Por lo tanto, las fuentes extracelulares pueden aportar los bloques de construcción necesarios para las células en mitosis.

Cuando se administra uridina (pirimidina) además del antibiótico, se reponen las reservas de uridina de la célula. Por lo tanto, las reacciones bioquímicas reducidas por el efecto secundario del antibiótico que requiere UDP (por ejemplo, la glucuronidación o la síntesis de ácidos nucleicos) se refuerzan, de tal forma que se reinician o aceleran las reacciones hasta una velocidad normal. Por lo tanto, la administración tanto de piruvato como de uridina alivia y/o previene todos los síntomas observados en pacientes tratados con antibióticos (por ejemplo, síndrome del bebé gris;

sistema de formación de sangre deteriorado causado por la detención de la energía y/o mitótica de las células sanguíneas; fallo de la reacción de glucuronidación).

Breve descripción de las figuras:

Figura 1a: Efectos secundarios del cloranfenicol (o linezolid o tigeciclina) en células humanas en división

El panel muestra el crecimiento celular de una línea celular humana con coloración verde (143B.TK⁻) mediante microscopía de fluorescencia. *Panel izquierdo*: se sembraron células 143B.TK⁻ que contenían un gen que contenía un gen de coloración verde (GFP, color verde) y se cultivaron hasta la densidad original en medio de crecimiento normal (izquierda, 1). En el día 1, se cambió el medio para permitir el crecimiento celular en condiciones sin piruvato ni uridina; el medio se complementó con cloranfenicol (o linezolid o tigeciclina; véase el ejemplo 1). En el día 4 (imagen 2) se retrasa el crecimiento celular y llega a detenerse. En el día 6 (imagen 3), la colonia de la que se obtienen imágenes comienza a dispersarse y se reduce. En el día 8 (imagen 4), se reduce adicionalmente el número de células y las células dejaron de existir (día 10). *Panel derecho*: se sembraron células 143B.TK⁻ que contenían un gen que contenía un gen de coloración verde (GFP, color verde) y se cultivaron hasta la densidad original en medio de crecimiento normal (derecha, 1). En el día 1, se cambió el medio para permitir el crecimiento celular con un suministro controlado de piruvato y uridina; el medio se complementó con cloranfenicol (o linezolid o tigeciclina; véase el ejemplo 1). En este caso, el comportamiento de crecimiento de las células no se vio alterado por los antibióticos, ya que la colonia se expandió normalmente hasta el día 10.

Figuras 1b y 1c: *Influencia del antibiótico en el ciclo celular en ausencia o presencia de piruvato y uridina.*

Los paneles presentan cultivos conjuntos cultivados en placas de Petri que contienen una monocapa de fibroblastos dérmicos humanos (HDF) inoculada con células 143B.TK⁻ coloreadas con GFP, de los que se obtienen imágenes mediante microscopía de fluorescencia y microscopía de contraste de fase. Las células HDF representan un tejido postmitótico quiescente, mientras que las células 143B.TK⁻ coloreadas con GFP imitan a células mitóticas activas.

Figura 1b, panel izquierdo: Sin piruvato y uridina, puede visualizarse el efecto secundario del cloranfenicol (o la linezolid o la tigeciclina) en cultivos conjuntos, de manera similar al efecto observado en la figura 1. Aproximadamente a los 4 días de cultivo, se agranda la colonia mitótica activa y experimenta un retraso en el crecimiento. En el día 6, comienza la dispersión de la colonia y finalmente deja de existir en el día 13. Panel derecho: Mismo área que la observada en el panel izquierdo. No se observan cambios en la viabilidad celular en la monocapa de HDF. Por lo tanto, el efecto secundario se observa principalmente en las células mitóticas activas.

Figura 1c, panel izquierdo: Las células cultivadas conjuntamente en presencia de piruvato y uridina no muestran ningún efecto secundario inducido por el cloranfenicol (o la linezolid o la tigeciclina). Las células mitóticas crecen de manera completamente regular. En el día 8, el área completa presenta un recrecimiento completo por las células 143B.TK⁻ coloreadas con GFP. Panel derecho: Imágenes de contraste de fase de la misma área observada en el panel izquierdo. No se observan cambios en la viabilidad celular en la monocapa de HDF que imita a las células postmitóticas o quiescentes durante más de 30 días.

Figura 1d: *Cultivos conjuntos de fibroblastos dérmicos humanos y de células 143B.TK⁻ coloreadas con GFP y 143B.TK⁻ CAP-res coloreadas con dsRED en presencia de cloranfenicol y en ausencia de uridina y piruvato.*

Los paneles presentan cultivos conjuntos cultivados en placas de Petri que contiene una monocapa de fibroblastos dérmicos humanos (HDF) inoculada con células 143B.TK⁻ coloreadas con GFP y 143B.TK⁻ CAP-res coloreadas con dsRED. Las células 143B.TK⁻ CAP-res coloreadas con dsRED contienen un genotipo mitocondrial que convierte a las células en resistentes al cloranfenicol. Las imágenes se obtuvieron mediante microscopía de contraste de fases (panel izquierdo) y de fluorescencia (panel derecho).

Panel izquierdo: Imagen de contraste de fase de la misma área observada en el panel derecho. No se observan cambios en la viabilidad celular en la monocapa de HDF que imita a las células postmitóticas o quiescentes.

Panel derecho: Se seleccionaron colonias de tamaños aproximadamente iguales (rojas y verdes). Tal como puede observarse en las imágenes tomadas en los días posteriores, las células mitóticas activas (código de color verde) se reducen debido a los efectos secundarios del cloranfenicol cuando no se suministran uridina y piruvato, mientras que la línea celular resistente al cloranfenicol no se ve influenciada por los efectos secundarios del cloranfenicol y crecen con normalidad.

Figura 2a: El efecto antibiótico no se ve alterado por la administración conjunta de piruvato, uridina o piruvato + uridina.

El panel muestra la zona sin crecimiento de bacterias (*B. subtilis* DSM 347 o *E. coli* DH5α) que está causada por la difusión del antibiótico desde las almohadillas de papel a la placa de crecimiento. El tamaño de la zona sin crecimiento es una medida de la actividad antibiótica.

Figura 2b: Análisis cuantitativo del efecto antibiótico no alterado durante la administración conjunta de piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Primer panel: Efecto antibiótico del cloranfenicol (C1: CAP 0,5 mM, C2: CAP 0,77 mM, C3: CAP 1,2 mM) en *B. subtilis* DSM 347. El efecto antibiótico aumenta con la concentración de antibiótico, pero es independiente de la complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Segundo panel: Efecto antibiótico de la linezolid (L1: LIN 0,15 mM, L2: LIN 0,25 mM, L3: LIN 0,4 mM) en *B. subtilis* DSM 347. El efecto antibiótico aumenta con la concentración de antibiótico, pero es independiente de la complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Tercer panel: Efecto antibiótico del cloranfenicol (C1: CAP 0,5 mM, C2: CAP 0,77 mM, C3: CAP 1,2 mM) en *E. coli* DH5 α . El efecto antibiótico aumenta con la concentración de antibiótico, pero es independiente de la complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Cuarto panel: Efecto antibiótico de la tigeciclina (T1: TIG 0,15 mM, T2: TIG 0,25 mM, T3: TIG 0,4 mM) en *E. coli* DH5 α . El efecto antibiótico aumenta con la concentración de antibiótico, pero es independiente de la complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Figura 3a: El efecto antibiótico no se ve alterado por la combinación de antibióticos y la administración conjunta de piruvato, uridina o piruvato + uridina.

El panel muestra la zona sin crecimiento de bacterias (*B. subtilis* DSM 347 o *E. coli* DH5 α) que está causada por la difusión del antibiótico desde las almohadillas de papel a la placa de crecimiento. El tamaño de la zona sin crecimiento es una medida de la actividad antibiótica. Se usaron las siguientes combinaciones de antibióticos: CAP + LIN, CAP + LIN + TIG, CAP + TIG.

Figura 3b: Análisis cuantitativo del efecto de la combinación de antibióticos (CAP+LIN; CAP+LIN+TIG; CAP+TIG) durante la administración conjunta de piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Primer panel: Efecto antibiótico de cloranfenicol + linezolid (C + L 1: CAP 0,5 mM + LIN 0,15 mM, C + L 2: CAP 0,77 mM + LIN 0,25 mM, C + L 3: CAP 1,2 mM + LIN 0,4 mM) en *B. subtilis* DSM 347. El efecto antibiótico aumenta con la concentración de antibiótico, pero es independiente de la complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Segundo panel: Efecto antibiótico de cloranfenicol + linezolid + tigeciclina (C + L + T 1: CAP 0,5 mM + LIN 0,15 mM + TIG 0,15 mM, C + L + T 2: CAP 0,77 mM + LIN 0,25 mM + TIG 0,25 mM, C + L + T 3: CAP 1,2 mM + LIN 0,4 mM + TIG 0,4 mM) en *B. subtilis* DSM 347. El efecto antibiótico aumenta con la concentración de antibiótico, pero es independiente de la complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Tercer panel: Efecto antibiótico de cloranfenicol + tigeciclina (C + T 1: CAP 0,5 mM + TIG 0,15 mM, C + T 2: CAP 0,77 mM + TIG 0,25 mM, C + T 3: CAP 1,2 mM + TIG 0,4 mM) en *E. coli* DH5 α . El efecto antibiótico aumenta con la concentración de antibiótico, pero es independiente de la complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Figura 4: Determinación de los valores de CI_{50} del cloranfenicol en presencia o ausencia de piruvato y/o uridina.

Se comprobó la vitalidad de las células 143B.TK⁻ usando resazurina (véase el ejemplo 4). La imagen presenta una gráfica del número de células/% frente a la concentración de cloranfenicol/ μ M. Puede observarse fácilmente que las células sin complementación con uridina y piruvato experimentaron una grave toxicidad. La CI_{50} pudo determinarse a una concentración de cloranfenicol de aproximadamente 3,2 μ M. Los cultivos complementados con uridina experimentaron un cambio de la CI_{50} hacia una concentración de cloranfenicol de aproximadamente 7,5 μ M, lo que indica una estabilización de la viabilidad celular. Cuando se llevó a cabo la complementación con piruvato o piruvato + uridina, no se pudieron determinar ambos valores de CI_{50} , debido a que se encontraban por debajo de la escala (CI_{50} > cloranfenicol 300 μ M). Por lo tanto, en el intervalo de concentración representado, la complementación con uridina y piruvato neutralizó completamente los efectos secundarios causados por el tratamiento con cloranfenicol sin aditivos. La vitalidad de las células era indistinguible del crecimiento celular sin tratamiento con cloranfenicol.

Figura 5a: Efectos secundarios de la azitromicina y la bencilpenicilina en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de azitromicina. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la azitromicina, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la azitromicina, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de bencilpenicilina. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *bencilpenicilina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *bencilpenicilina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5b: Efectos secundarios del cefaclor y la cefepima en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *cefaclor*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario del *cefaclor*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario del *cefaclor*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *cefepima*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *cefepima*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *cefepima*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5c: Efectos secundarios de la cefotaxima y la ceftazidima en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *cefotaxima*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *cefotaxima*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *cefotaxima*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *ceftazidima*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *ceftazidima*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *ceftazidima*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5d: Efectos secundarios de la cefuroxima y la cefazolina en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *cefuroxima*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *cefuroxima*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *cefuroxima*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *cefazolina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *cefazolina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *cefazolina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5e: Efectos secundarios de la cloroquina y el ciprofloxacino en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *cloroquina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *cloroquina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *cloroquina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *ciprofloxacino*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario del *ciprofloxacino*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario del *ciprofloxacino*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5f: Efectos secundarios de la claritromicina y la clindamicina en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *claritromicina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *claritromicina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *claritromicina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *clindamicina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *clindamicina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *clindamicina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5g: Efectos secundarios de la doxiciclina y la eritromicina en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *doxiciclina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *doxiciclina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *doxiciclina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *eritromicina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *eritromicina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *eritromicina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5h: Efectos secundarios de la hidroxiclороquina y la linezólida en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *hidroxiclороquina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *hidroxiclороquina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *hidroxiclороquina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *linezólida*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *linezólida*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *linezólida*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5i: Efectos secundarios de la minociclina y el norfloxacino en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *minociclina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *minociclina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la minociclina, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *norfloxacin*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario del *norfloxacin*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario del *norfloxacin*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5j: Efectos secundarios del ofloxacin y el proguanil en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *ofloxacin*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario del *ofloxacin*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario del *ofloxacin*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *proguanil*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario del *proguanil*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario del *proguanil*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5k: Efectos secundarios de la espiramicina y la tetraciclina en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *espiramicina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *espiramicina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *espiramicina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *tetraciclina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *tetraciclina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *tetraciclina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 5l: Efectos secundarios de la tigeciclina y la roxitromicina en células humanas en división

Panel superior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *tigeciclina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *tigeciclina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *tigeciclina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Panel inferior: El panel presenta el crecimiento de una línea celular humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de *roxitromicina*. Se sembraron las células en placas de Petri (día 0) y se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 8 de la línea de tiempo.

Fila superior: Sin complementación de piruvato y uridina, se presenta el efecto secundario de la *roxitromicina*, ya que el crecimiento celular se retarda y en última instancia se detiene (día 8).

Fila inferior: Con complementación de piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario de la *roxitromicina*, ya que el crecimiento celular es indistinguible de las células no tratadas (día 8).

Figura 6a: Fuente alternativa de piruvato para mejorar los efectos secundarios en la terapia con antibióticos

El panel presenta el crecimiento de una línea celular HT29 rho cero humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de diferentes complementaciones. Se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 9 de la línea de tiempo.

Fila superior: En presencia de uridina sin fuente alguna de piruvato, se detiene el crecimiento celular y llega a parar completamente (día 9).

Fila media: Cuando la complementación incluye aparte de uridina una fuente de piruvato como por ejemplo, alanina, las células prosperan y crecen prácticamente dentro del mismo intervalo que las células normales, por lo que se minimizan los efectos secundarios de los antibióticos.

Fila inferior: Cuando la complementación incluye piruvato y uridina, se suprime completamente el efecto secundario del crecimiento celular reducido y las células son indistinguibles de las células normales no tratadas.

Figura 6b: Fuente alternativa de uridina para mejorar los efectos secundarios en la terapia con antibióticos

El panel presenta el crecimiento de una línea celular HT29 rho cero humana mediante microscopía de contraste de fases en presencia de diferentes complementaciones. Se monitorizó el crecimiento celular a diario hasta el día 9 de la línea de tiempo.

Fila superior: En presencia de UMP sin fuente alguna de piruvato, se detiene el crecimiento celular y llega a parar completamente (día 9).

Fila media: Cuando la complementación incluye aparte de UMP una fuente de piruvato como por ejemplo, alanina, las células prosperan y crecen prácticamente dentro del mismo intervalo que las células normales, por lo que se minimizan los efectos secundarios de los antibióticos.

Fila inferior: Cuando la complementación incluye UMP y piruvato, se suprime completamente el efecto secundario del crecimiento celular reducido y las células son indistinguibles de las células normales no tratadas.

Abreviaturas:

CAP: Cloranfenicol

LIN: Linezolid

TIG: Tigeciclina

Descripción detallada de la presente invención

La invención proporciona una composición que comprende:

(iii) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antibiótico; y

(iv) una cantidad terapéutica tanto de un compuesto de uridina como de un compuesto de piruvato

para su uso como medicamento, en donde

el compuesto de uridina es uridina, uracilo, fosfatos de uridina (por ejemplo, uridina-5' monofosfato (UMP), uridina-5' difosfato (UDP), uridina-5' trifosfato (UTP)) o sales de los mismos, UDP-glucosa, citidina-5' monofosfato (CMP), citidina-5' difosfato (CDP), CDP-glucosa, ácido orótico, orotidilato, uridina acilada o citidina-difosfocolina; y

el compuesto de piruvato es ácido pirúvico o una sal del mismo (por ejemplo, piruvato de metilo, piruvato de etilo o la sal sódica de piruvato), creatina piruvato, fosfoenolpiruvato, 2-fosfoglicerato, 3-fosfoglicerato, 1,3-bisfosfoglicerato, gliceraldehído 3-fosfato, dihidroxiacetona fosfato, alanina, serina, cisteína, glicina, triptófano, asparagina, aspartato, metionina, malato u oxalacetato.

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende

(iii) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antibiótico; y

(iv) una cantidad terapéutica tanto de un compuesto de uridina como de un compuesto de piruvato

para su uso en la prevención o minimización de efectos secundarios graves en la terapia antibiótica de infecciones bacterianas en un sujeto, en donde

el compuesto de uridina es uridina, uracilo, fosfatos de uridina (por ejemplo, uridina-5' monofosfato (UMP), uridina-5' difosfato (UDP), uridina-5' trifosfato (UTP)) o sales de los mismos, UDP-glucosa, citidina-5' monofosfato (CMP), citidina-5' difosfato (CDP), CDP-glucosa, ácido orótico, orotidilato, uridina acilada o citidina-difosfocolina; y

el compuesto de piruvato es ácido pirúvico o una sal del mismo (por ejemplo, piruvato de metilo, piruvato de etilo o la sal sódica de piruvato), creatina piruvato, fosfoenolpiruvato, 2-fosfoglicerato, 3-fosfoglicerato, 1,3-bisfosfoglicerato, gliceraldehído 3-fosfato, dihidroxiacetona fosfato, alanina, serina, cisteína, glicina, triptófano, asparagina, aspartato, metionina, malato u oxalacetato.

En la presente invención, los términos "formulación" y "composición (farmacéutica)" se usan de manera indistinta.

"Sujeto", tal como se usa en el presente documento, se refiere a seres humanos y a primates no humanos (por ejemplo, gorila, macaco, tití), animales de granja (por ejemplo, oveja, vaca, caballo, burro, cerdo), animales de compañía (por ejemplo, perro, gato), animales de ensayo de laboratorio (por ejemplo, ratón, conejo, rata, cobaya, hámster) y cualquier otro organismo que pudiera beneficiarse de los agentes de la presente divulgación. No existen limitaciones en cuanto al tipo de animal que podría beneficiarse de los agentes descritos en el presente documento.

Independientemente de que un sujeto sea un ser humano o un organismo no humano, también puede citarse como paciente, individuo, animal, hospedador o receptor.

5 El término "aproximadamente", tal como se usa en el presente documento, significa en términos cuantitativos más o menos un 5% o en otra realización, más o menos un 10% o en otra realización, más o menos un 15% o en otra realización, más o menos un 20%.

10 Los presentes inventores han descubierto que es posible mejorar y/o eliminar los efectos secundarios comunicados de los antibióticos si la administración de antibióticos va acompañada por suplementación con un compuesto de uridina y un compuesto de piruvato, como se ha definido anteriormente. La expresión "un compuesto de uridina y piruvato" significa una mezcla de ambos. También abarca dos o más de cada uno o mezclas de dos o más de cada uno.

15 Los efectos secundarios más comunes de la terapia con antibióticos que se desean reducir y/o eliminar son: erupción, diarrea, dolor abdominal, náuseas/vómitos, fiebre medicamentosa, reacciones de hipersensibilidad (alérgicas), enfermedad del suero, candidiasis vaginal, toxicidad renal (en el riñón), ototoxicidad (pérdida auditiva), mareos, nistagmo, cefalea, toxicidad hepática, eosinofilia (glóbulos blancos sanguíneos elevados), anorexia, anemia hemolítica, neuropatía periférica, mareos, fluidos corporales rojizos-naranjas, enrojecimiento, hipotensión, picor, flebitis, sabor, alteraciones del gusto, fotosensibilidad, decoloración de los dientes en niños, letargia, insomnio, 20 fotosensibilidad, colitis pseudomembranosa, ictericia, gusto metálico.

Inesperadamente, se ha descubierto que la combinación de compuestos de uridina y piruvato y de uno o más antibióticos no da como resultado una reducción significativa de la eficacia de los antibióticos o una alteración de la farmacocinética del antibiótico.

25 De acuerdo con la presente invención, puede usarse cualquier antibiótico. Preferentemente, pueden seleccionarse antibióticos que pertenecen al grupo de inhibidores de la síntesis de proteínas o aquellos que presentan efectos secundarios relacionados con la actividad de la síntesis de proteínas celulares. Los antibióticos incluyen los de la clase de los aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefem, cefalosporinas, glucopéptidos, macrólidos, penicilinas, 30 polipéptidos, quinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, glicilinas, oxazolidinonas, anfenicoles, pleuromutilinas, lincosamidas, estreptograminas, antibacterianos esteroideos, ciclopéptidos, lipopéptidos y mezclas de los mismos.

Los antibióticos específicos que pueden usarse (solos o en combinación) incluyen, por ejemplo, amicacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, paromomicina, geldanamycin, 35 herbimicina, loracarbef, ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina, meropenem, cefadroxil, duricef, cefazolina, cefalotina, cefalotina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, ceftobiprol, teicoplanina, vancomicina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina, espectinomicina, aztreonam, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, 40 cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, meticilina, nafcilina, oxacilina, penicilina, piperacilina, ticarcilina, ciprofloxacino, enoxacino, gatifloxacino, levofloxacino, lomefloxacino, fodoximicina, moxifloxacino, norfloxacino, ofloxacino, trovafloxacino, grepafloxacino, esparfloxacino, temafloxacino, mafenida, sulfonamidocrisoidina sulfacetamida, sulfadiazina, ulfametizol, sulfanilamida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprima, trimetoprima-sulfametoxazol (co-trimoxazol) (TMP-SMX), doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, cloranfenicol, 45 tigeciclina, linezolid, clindamicina, lincomicina, etambutol, mambutol, fosfomicina, ácido fusídico, furazolidona, isoniazid, linezolid, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoina, platensimicina, pirazinamida, quinupristina/dalfopristina, rifampicina, tianfenicol, tinidazol, dapsona, clofazimina dihidroestreptomina, frameticina, ribostamicina, arbekacina, bekanamicina, dibekacina tobramicina, higromicina B, sisomicina, isepamicina, verdamicina, astromicina, clortetraciclina clomociclina, desmeclociclina, limeciclina, meclociclina, metaciclina, 50 penimepíciclina, rolitetraciclina, torezolida, eperezolida, posizolida, radezolida, azidamfenicol, florfenicol, retapamulina, tiamulina, valnemulina, fluritromicina, josamicina, midecamicina, miocamicina, oleandomicina, rokitamicina, espiamicina, tilosin, cetolidos, cetromicina, soltromicina, pirlimicina, pristinamicina, virginiamicina, cloroquina, hidroxocloroquina, cefotaxima, polimixina B, colistina, bacitracina, tirotricina, gramicidina, daptomicina, fidaxomicina y mezclas de los mismos.

55 En una realización, la formulación puede incluir una combinación de 2, de 3, de 4, de 5 o de 6 o más antibióticos o agentes. La combinación o los antibióticos individuales seleccionados dependerán necesariamente de la naturaleza y del tipo de infección que se vaya a tratar en cada circunstancia y de las particularidades médicas del paciente concreto. Dicha selección se encuentra dentro de las capacidades de un experto en la materia. En realizaciones 60 preferidas de la presente invención, se selecciona al menos uno de los anticuerpos de entre el subgrupo de los inhibidores de la síntesis de proteínas o de aquellos anticuerpos que muestran efectos secundarios relacionados con la síntesis de proteínas.

65 En otra realización de la presente invención, se selecciona al menos uno de los anticuerpos del subgrupo de cloranfenicol, linezolid o tigeciclina.

Las infecciones tratables mediante antibióticos pueden incluir, por ejemplo, sinusitis bacteriana, diversas enfermedades de transmisión sexual de origen bacteriano, faringitis, otitis, especialmente otitis media, bronquitis bacteriana, neumonía bacteriana, diverticulitis, infecciones del tracto urinario, infecciones de la piel y de las estructuras de la piel, celulitis, abscesos, forúnculos, impétigo, pioderma, infecciones de heridas, acné, infecciones de uñas, prostatitis bacterianas crónicas, pielonefritis aguda y/o infecciones causadas por una o más de *Haemophilus influenza*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Chlamydia pneumonia*, *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumonia*, *Vibrio cholera*, *Bacillus anthracis*, *Eikenella corrodens*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, bacterias del género *Bacteroides*, incluyendo *Bacteroides fragilis*, bacterias del género *Fusobacterium*, y bacterias del género *Peptostreptococcus*, e infecciones por MRSA.

La dosis de la composición de acuerdo con la invención, en particular del componente antibiótico, se determina por el médico basándose en los parámetros específicos del paciente, tales como edad, peso, sexo, gravedad de la enfermedad, etc. El modo de tratamiento y la pauta posológica de cada uno de (i) los antibióticos y (ii) los compuestos de uridina y piruvato estarán principalmente dictados por los antibióticos específicos. En general, la dosis unitaria y la pauta posológica irán en paralelo con las del antibiótico si se administrase solo. Por ejemplo, en caso de que la dosis recomendada de antibiótico sea de 200 mg a intervalos de dos horas, la dosis de antibiótico en la formulación de la presente invención permanecerá sustancialmente igual, así como la frecuencia de administración de la formulación completa. Sin embargo, la dosis terapéuticamente eficaz de cualquier antibiótico o agente específico variará hasta cierto punto de un paciente a otro y dependerá del estado del paciente y de la forma de dosificación.

Las expresiones "pauta posológica" o "modo de tratamiento" se refieren a una administración secuencial o simultánea en el tiempo de los componentes (i) y (ii) de la composición de la presente invención. Esto significa que los componentes (i) y (ii) pueden proporcionarse en una forma de dosis unitaria con contacto físico entre sí (por ejemplo, un solo comprimido o solución) o en forma de entidades separadas (por ejemplo, dos comprimidos o soluciones) que se han de tomar simultáneamente o con una determinada diferencia de tiempo. Esta diferencia de tiempo puede ser de entre 0,5 horas y 1 día, preferentemente entre 1 hora y 5 horas. En una realización, (i) los antibióticos y (ii) la uridina y/o el piruvato están físicamente segregados dentro de la forma de dosificación, por ejemplo, separados por una membrana acrílica o de celulosa en un comprimido o cápsula. En una realización alternativa, ambos ingredientes (i) y (ii) están en contacto físico dentro de la forma de dosificación, tal como, por ejemplo, en forma de polvo o de gránulos mezclados (libres o formados en un comprimido o cápsula) o en un líquido. El modo de administración de (i) y (ii) es preferentemente simultáneo, es decir, sustancialmente al mismo tiempo, a partir de entidades separadas. En una realización preferida, el antibiótico se administra por una vía de administración distinta a la de los compuestos de uridina y piruvato. A este respecto, puede ser ventajoso administrar (i) el antibiótico o (ii) los compuestos de piruvato y uridina por vía intravenosa y el otro por vía oral. En caso de que los compuestos de uridina y piruvato se administren en forma del componente (ii), pueden tomarse juntos o con una determinada diferencia de tiempo. Pueden proporcionarse en una forma de dosis unitaria individual (por ejemplo, un solo comprimido o solución) o en forma de entidades separadas (por ejemplo, dos comprimidos o soluciones) para tomarlas simultáneamente o con una determinada diferencia de tiempo. Esta diferencia de tiempo puede ser la misma que la mencionada anteriormente.

En la presente invención, el compuesto de uridina se administra para aumentar el nivel de uridina en un tejido, plasma o célula de un sujeto.

En la presente invención, el término "uridina" o "compuesto de uridina" significa uridina, fosfatos de uridina o uracilo. Los ejemplos son poli-U, cualquier oligonucleótido que contenga C/U y ARN/ADN, respectivamente. En otras palabras, el término "(compuesto de) uridina", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier fosfato de uridina o una sal del mismo. En una realización, el compuesto de uridina que se administra en la presente invención es un uridina-5' monofosfato (UMP). En otra realización, la uridina es uridina-5'-difosfato (UDP). En otra realización, la uridina es uridina-5'-trifosfato (UTP). En otra realización, la uridina es UDP-glucosa. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

En otra realización, el compuesto de uridina es un citidina-5' monofosfato. En otra realización, el compuesto de uridina que se administra es un citidina-5'-difosfato (CDP). En otra realización, el compuesto de uridina que se administra es un CDP-glucosa. En otra realización, el compuesto de uridina es, por ejemplo, ácido orótico u orotidilato.

En otras realizaciones, el compuesto de uridina es uridina acilada. En otra realización, se administran dosis terapéutica o farmacológicamente eficaces de los derivados de acilo de uridina o mezclas de los mismos, por ejemplo, aquellas divulgadas en la Patente de los Estados Unidos n.º 5.470.838.

En otra realización, el compuesto de uridina es citidina-difosfocolina (CDP-colina; citicolina).

En otra realización, se utiliza en la presente invención una sal del fosfato de uridina, por ejemplo, UMP disódico.

En otra realización, se administra una mezcla de dos o más de los compuestos de uridina anteriormente mencionados.

En una realización, el compuesto de uridina se administra con una dosis de entre aproximadamente 20 miligramos (mg) y 50 gramos (g) al día. En otra realización, el compuesto de uridina se administra en una dosis de aproximadamente 50 mg-30 g al día. En otra realización, la dosis es de aproximadamente 75 mg-20 g; 100 mg-15 g; 100 mg-10 g; 200 mg-8 g; 400 mg-6 g; 600 mg-4 g; 800 mg-3 g; 1-2,5 g; 1,5-2 g o aproximadamente 2 g al día.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto de piruvato es ácido pirúvico, una sal del mismo (por ejemplo, metil o etil piruvato) o piruvato de creatina. Además, pueden utilizarse todos los compuestos que puedan convertirse fácilmente en piruvato dentro de la célula, por ejemplo, fosfoenolpiruvato, 2-fosfoglicerato, 3-fosfoglicerato, 1,3-bisfosfoglicerato, gliceraldehído 3-fosfato, dihidroxiacetona fosfato, alanina, serina, cisteína, glicina, triptófano, asparagina, aspartato, metionina, malato u oxalacetato. En una realización preferida, el compuesto de piruvato es la sal sódica de piruvato.

En una realización, el compuesto de piruvato se administra con una dosis de entre aproximadamente 100 miligramos (mg) y 10 gramos (g) al día. En otra realización, el compuesto de piruvato se administra en una dosis de aproximadamente 200 mg-9 g al día. En otra realización, la dosis es de aproximadamente 500 mg-8 g; 750 mg-7 g; 1-6,5g, 1,5-6 g, 2-5 g o 2,5-3,5 g al día.

La composición farmacéutica de la presente invención puede prepararse y administrarse en cualquier forma de dosificación adecuada para su administración al cuerpo de un paciente. Se formula para que sea compatible con su vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración incluyen administración parenteral (por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea), oral, por inhalación, sistémica (por ejemplo, tópica, transmucosa) y rectal.

En una realización preferida, la formulación puede prepararse en forma de un comprimido, líquido, gel, una suspensión, una emulsión o una solución.

Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril, tal como agua para inyección, solución salina, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos, tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfato sódico; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para ajustar la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringuillas desechables o viales multidosis hechos de vidrio o plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles (en los casos donde sean hidrosolubles) y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen suero salino fisiológico, agua bacteriostática, Cremophor® EL (BASF, Parsippany, N.J.) o suero salino tamponado con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición ha de ser estéril y debe ser fluida hasta el punto de que pueda inyectarse fácilmente. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse de la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos. Puede lograrse la prevención de la acción de microorganismos mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. De acuerdo con las realizaciones, se añaden a la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes, tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio. Puede lograrse la absorción prolongada de las composiciones inyectables incluyendo en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto activo en la cantidad necesaria en un disolvente adecuado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtrado. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, la preparación se prepara mediante secado al vacío o criodesecación, lo que proporciona un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución esterilizada por filtración de los mismos.

En una realización preferida adicional, la formulación de la presente invención es adecuada para administración oral. Las composiciones orales incluyen generalmente un diluyente inerte o un vehículo comestible. Con el objetivo de administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos, trociscos, masticables, cápsulas de gel, geles blandos o cápsulas, por ejemplo, cápsulas de gelatina.

Las composiciones orales también pueden prepararse usando un vehículo fluido para su uso como enjuague bucal. Pueden incluirse como parte de la composición agentes aglutinantes o materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante, tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente, tal como almidón o lactosa, un agente disgregante, tal como ácido algínico. Primogel o almidón de maíz; un lubricante, tal como estearato de magnesio o Sterotes; un emoliente, tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante, tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante, tal como menta, salicilato de metilo o aroma de fresa, cereza, uva, limón o naranja.

Para la administración por inhalación, los compuestos se suministran en forma de una pulverización de aerosol a partir de un recipiente o dispensador a presión que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo, un gas, tal como dióxido de carbono o un nebulizador.

De acuerdo con las realizaciones, la administración intravítrea se logra usando micropartículas o nanopartículas a base de PLGA (liposomas). También pueden usarse fórmulas a base de PEG. Por consiguiente, los otros métodos para composiciones farmacéuticas inyectables se contemplan expresamente para administración intravítrea.

La administración sistémica también puede ser transmucosa o transdérmica. Para administración transmucosa o transdérmica, se usan en la formulación agentes penetrantes adecuados para la barrera que va a permearse. Dichos agentes penetrantes se conocen generalmente en la técnica e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados del ácido fusídico. La administración transmucosa puede lograrse mediante el uso de pulverizaciones nasales o supositorios. Para administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, salvas, geles o cremas, tal como se conoce de manera general en la técnica. Los compuestos también pueden prepararse en forma de supositorios (por ejemplo, con bases para supositorios convencionales, tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para suministro rectal.

Además de las otras formas de administración, los compuestos pueden administrarse mediante gotas oculares o inyección intraocular. Con respecto a las gotas oculares, las composiciones de la invención comprenden opcionalmente uno o más excipientes previstos para aplicación tópica al ojo o a la nariz. Los excipientes normalmente usados en las composiciones farmacéuticas previstas para aplicación tópica a los ojos, tales como soluciones o pulverizadores, incluyen, pero sin limitación, agentes de tonicidad, conservantes, agentes quelantes, agentes tamponadores, tensioactivos y antioxidantes. Los agentes para el ajuste de la tonicidad adecuados incluyen manitol, cloruro sódico, glicerina, sorbitol y similares. Los conservantes adecuados incluyen éster del ácido p-hidroxibenzoico, cloruro de benzalconio, bromuro de benzodecinio, policuaternium-1 y similares. Los agentes quelantes adecuados incluyen edentato sódico y similares. Los agentes tamponadores adecuados incluyen fosfatos, boratos, citratos, acetatos y similares. Los tensioactivos adecuados incluyen tensioactivos iónicos y no iónicos, aunque se prefieren tensioactivos no iónicos, tales como polisorbatos, derivados de aceite de ricino polietoxilados y polímero terciario de octilfenol formaldehído oxietilado (tiloxapol). Los antioxidantes adecuados incluyen sulfitos, ascorbatos, BHA y BHT.

La formulación de la presente invención puede incluir cualquier componente adicional, según se desee, en tanto que dichos componentes no socaven sustancialmente la eficacia del antibiótico o de los compuestos de uridina y piruvato. Dichos componentes pueden incluir, por ejemplo, espesantes, edulcorantes, aromatizantes, fragancias, agentes farmacéuticos adicionales, glicina, manitol, dióxido de silicio, geles de sílice, aglutinantes, vitaminas, vehículos (tales como, por ejemplo, glicerina, almidones, celulosas, quitinas, almidones, agua, alcohol) y minerales.

Estos se describen en la siguiente realización particular preferida de la presente invención. Puede rescatarse la situación potencialmente letal de una célula mitótica tratada con un antibiótico, cuando se administran compuestos de piruvato y uridina simultáneamente con el antibiótico. Tal como se describe en detalle en el ejemplo 1 (figura 1a-d), se alivia y/o previene el efecto secundario adverso de los antibióticos cuando se administra el antibiótico conjuntamente con piruvato y uridina. El ejemplo 1 también muestra que en los cultivos conjuntos de células mitóticas y quiescentes (figura 1b, 1c), las células quiescentes no se ven expuestas al antibiótico, ya que aún contienen una cantidad suficiente de complejos OXPHOS, por lo que las vías bioquímicas no se ven alteradas. En la figura 1d se demuestra que la síntesis de proteínas mitocondriales es la clave para los efectos secundarios de los anticuerpos: Las células que portan una mutación de resistencia a CAP mitocondrial artificial (células rojas) no se ven influenciadas por CAP, ya que también crecen en medio deficiente en uridina y piruvato. Por el contrario, las células verdes (células normales sensibles a CAP) se deterioran cuando se tratan con CAP sin complementación de uridina y piruvato.

En el ejemplo 2 se demuestra que el efecto del antibiótico no se ve afectado por la administración conjunta de piruvato y/o uridina: Se comprobó el efecto antibiótico dependiendo de la complementación de piruvato, uridina o

piruvato + uridina y dependía únicamente de la dosis de antibiótico aplicada. Además, no se observó que la capacidad antibiótica de una combinación de antibióticos ilustrados en el ejemplo 3 estuviese influenciada cuando se produjo complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina.

Para demostrar si se atenúa o reduce el efecto antibiótico cuando se administran conjuntamente piruvato, uridina o piruvato + uridina, se probaron cepas de *B. subtilis* y *E. coli* en presencia y ausencia de los compuestos de complemento. Según se observó (véase el ejemplo 2, figuras 2a y 2b) el efecto antibiótico es independiente de la administración conjunta de piruvato, uridina o piruvato + uridina. Además, incluso las combinaciones de antibióticos en presencia de piruvato, uridina o piruvato + uridina no alteraron el efecto antibiótico del fármaco (véase el ejemplo 3, figuras 3a y 3b).

Para determinar el impacto real del antibiótico + complementación con piruvato, uridina o piruvato + uridina en el funcionamiento de las células, se llevaron a cabo ensayos de vitalidad usando resazurina (véase el ejemplo 4, figura 4). Esta prueba dio como resultado un cambio en los valores de CI_{50} de efectos secundarios hacia una tolerancia mucho mejor del fármaco. Los valores de CI_{50} de efectos secundarios por ejemplo del cloranfenicol cambiaron de 3,2 μ M para células sin complementación a 7,5 μ M para células complementadas con uridina. La complementación con piruvato o piruvato + uridina proporcionó cambios que se encontraban fuera de la escala ($> 300 \mu$ M) y eran prácticamente indistinguibles de la viabilidad celular cuando no se trató a las células con un antibiótico. Por lo tanto, la administración de antibióticos junto con piruvato, uridina o piruvato + uridina da lugar a una pérdida completa o una mejora de los efectos secundarios adversos.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona una formulación donde se administra el antibiótico con un compuesto tanto de uridina como de piruvato ya que se ha descubierto que esta combinación es superior frente al uso de uridina o piruvato solos. El motivo es que individualmente, cada uno de uridina y piruvato reducen diferentes aspectos de los efectos secundarios de los antibióticos. El compuesto de uridina es ventajoso para proporcionar una fuente alternativa de uridina y de los productos metabólicos dependientes, ya que un efecto secundario de los antibióticos es la interrupción de la biosíntesis de uridina, por lo que las células padecen una síntesis de ácidos nucleicos excesivamente ralentizada. El compuesto de piruvato es ventajoso para reponer el nivel de NAD^+ , que permite que la célula vuelva a efectuar la glucólisis, ya que esta es la única fuente de energía restante en caso de que se pierda la cadena respiratoria, que está causada por otro efecto secundario de los antibióticos. En caso de que se compensen ambos aspectos de los efectos secundarios, las células afectadas son capaces de mantener la síntesis de ácidos nucleicos, especialmente para la división celular y para mantener vivo el metabolismo.

Los siguientes ejemplos muestran realizaciones preferidas de la presente invención, pero no pretenden limitar en modo alguno la presente invención.

Ejemplo 1:

Efecto secundario de los anticuerpos y su neutralización

A)

Para comprender los efectos secundarios de los antibióticos, se incubaron células humanas cultivadas con antibióticos que se sabe que impiden el metabolismo celular. Los experimentos se llevaron a cabo con cloranfenicol, tigeciclina o linezolidina en condiciones por lo demás idénticas. En detalle, se sembraron células 143B.TK⁻ en placas de Petri y se cultivaron en DMEM F0435 (sin piruvato), complementado con suero fetal de ternero dializado al 5%. Las células se trataron con cloranfenicol (150 μ g/ml de medio de cultivo, 450 μ M; o linezolidina o tigeciclina) y se intercambiaron el medio a diario. Tras 4 días de crecimiento celular normal en presencia del antibiótico, se retrasó el crecimiento celular y llegó a detenerse tras 6 días. Después de 4 días más, las células dejaron de existir (véase la figura 1a).

Para comprender la influencia del antibiótico en el estado de los ciclos celulares, se estableció un cultivo conjunto que estaba basado en una monocapa de fibroblastos primarios (que imitan a las células en estado de reposo) que se inoculó con células 143B.TK⁻ (que imitan a células en estado mitótico, células en división). En condiciones por lo demás idénticas, se sometió a los cultivos conjuntos a tratamiento con antibióticos (150 μ g/ml de medio de cultivo, 450 μ M; o linezolidina o tigeciclina) en DMEM F0435 (sin piruvato), complementado con suero fetal de ternero dializado al 5%.

Tal como se observa en el experimento anteriormente descrito (figura 1a), el crecimiento de las células 143B.TK⁻ se detuvo a los 4-5 días y dejaron de existir tras 6 días más (véanse las figuras 1b y 1c). Sin embargo, la capa de fibroblastos no se vio en absoluto afectada y permaneció vital para comenzar de nuevo el recrecimiento (lo que se demuestra efectuando araños por toda la monocapa; se inició inmediatamente la "curación de heridas"). Cuando se llevó a cabo el mismo experimento en presencia de uridina y/o piruvato en condiciones por lo demás idénticas, el crecimiento de células 143B.TK⁻ no se vio en absoluto afectado, lo que demuestra que el efecto secundario observado está basado exclusivamente en la deficiencia energética y/o la detención del ciclo celular. Ambos efectos secundarios se pudieron eliminar administrando conjuntamente uridina y/o piruvato o derivados de los mismos.

Para observar si los efectos secundarios de estos antibióticos residen o no en las mitocondrias de las células, se estableció un cultivo conjunto formado por una monocapa de fibroblastos primarios inoculada con células 143B.TK⁻ y 143.TK^{CAP^{res}}. Esta última línea celular es idéntica a la línea celular 143B.TK⁻, salvo por que estas células portan una mutación de resistencia a CAP en el gen de ARNr 16S ubicado en el genoma mitocondrial y tienen una codificación de color diferente. Tras la administración de cloranfenicol, la línea celular 143B.TK⁻ mostró el mismo comportamiento descrito anteriormente: las células dejaron de crecer tras 4-5 días y dejaron de existir tras 6 días más, mientras que las células resistentes a CAP no mostraron limitaciones en el crecimiento celular (véase la figura 1d). Cuando se complementaron estos cultivos conjuntos con piruvato y/o uridina (piruvato: 100 µg/ml de piruvato sódico; uridina: 50 µg/ml de uridina; complementación del medio de crecimiento) ambas líneas celulares 143B.TK⁻ fueron indistinguibles en cuanto a su velocidad de crecimiento, lo que demuestra que el efecto secundario grave del antibiótico se suprimió completamente.

B)

Tal como se ha descrito en la parte A del ejemplo 1, se llevaron a cabo experimentos similares utilizando los antibióticos azitromicina, bencilpenicilina, cefaclor, cefepima, cefotaxima, ceftazidima, cefuroxima, cefazolina, cloroquina, ciprofloxacino, claritromicina, clindamicina, doxiciclina, eritromicina, hidroxiclороquina, linezolida, minociclina, norfloxacino, ofloxacino, proguanil, espiramicina, tetraciclina, tigeciclina, roxitromicina a concentraciones de 0,1 - 1000 µM en condiciones por lo demás idénticas. En detalle, las células 143B.TK⁻, así como las IMR-32 (neuroblastoma), Calu-1 (carcinoma epidermoide de pulmón), MCF-7 (carcinoma ductal de mama invasivo), A375 (melanoma maligno), HT1080 (fibrosarcoma), Panc-1 (carcinoma epitelioide de páncreas), HepG2 (carcinoma hepatocelular), HEK 293 (carcinoma de riñón embrionario), HT-29 (adenocarcinoma colorrectal), HeLa (carcinoma de cuello de útero), PC-3 (carcinoma de próstata) y B-LCL (linfocitos B transformados con EBV) se sembraron en placas de Petri o se mantuvieron en suspensión (B-LCL) y se cultivaron en DMEM F0435 (sin piruvato), complementado con suero fetal de ternero dializado al 5%. Todas las células se trataron independientemente con los antibióticos anteriormente nombrados (0,1 - 1000 µM) y se intercambiaron el medio a diario. Tras 4 desviaciones celulares del crecimiento celular normal, en presencia de antibiótico, se retrasó el crecimiento celular y se detuvo tras 6-8 días (véanse las figuras 5a-5l, línea superior en cada panel). Para ver si este efecto secundario podía aliviarse mediante la adición de piruvato y/o uridina (piruvato: piruvato sódico 1 mM; uridina: uridina 0,2 mM), el crecimiento de las líneas celulares era indistinguible del de las células no tratadas, lo que demuestra que los efectos secundarios graves de los antibióticos se suprimían completamente cuando el medio de crecimiento se complementaba con piruvato y uridina (véanse las figuras 5a-5l, línea inferior en cada panel).

Ejemplo 2:

El efecto del antibiótico es independiente de la administración conjunta de uridina y/o piruvato

Para demostrar si el efecto antibiótico de los fármacos se suprime por la administración conjunta de uridina y/o piruvato sódico, se sembraron la cepa DH5α de *E. coli* o la cepa DSM 347 de *B. subtilis* en placas de LB-agar o en placas de APT que se usaron tal cual o complementadas con uridina (50 µg/ml), piruvato sódico (1 mM) o uridina (50 µg/ml) + piruvato (1 mM).

Las almohadillas de ensayo de papel (Rotilabo, 6mm, Roth, Karlsruhe) se empaparon con 7,5 µl de solución de antibiótico (concentraciones usadas: CAP 0,5 mM; CAP 0,77 mM; CAP 1,2 mM; LIN 0,15 mM; LIN 0,25 mM; LIN 0,4 mM; TIG 0,15 mM; TIG 0,25 mM; TIG 0,4 mM) y se colocaron sobre las placas de agar (soluciones de CAP y LIN sobre las placas de APT/*B. subtilis*, soluciones de TIG sobre placas de LB/*E. coli*). Las placas de Petri se incubaron durante una noche a 37°C y se analizaron midiendo el tamaño de la zona sin crecimiento de las bacterias que rodean a los lechos de papel empapados en antibiótico (véanse las figuras 3a y 3b).

Todas las diluciones de antibiótico aplicadas presentaron un efecto antibiótico independientemente de las sustancias administradas conjuntamente (uridina y/o piruvato). Como control de fondo, se llevaron a cabo experimentos similares sin solución de antibiótico en condiciones por lo demás idénticas. Según se esperaba, cuando se administraron piruvato o uridina solos o en combinación sin antibiótico, las zonas sin crecimiento estaban obsoletas. Por lo tanto, los efectos antibióticos del cloranfenicol, la tigeciclina o la linezolida están basados únicamente en el compuesto antibiótico y no se suprimen mediante los compuestos administrados conjuntamente de uridina y/o piruvato.

Ejemplo 3

Efecto antibiótico observado mediante la combinación de compuestos antibióticos en presencia de uridina, piruvato o uridina + piruvato

Para demostrar si el efecto antibiótico de los fármacos se anula o no combinando antibióticos y administrando conjuntamente uridina y/o piruvato sódico, se sembró la cepa DSM 347 de *B. subtilis* en placas de APT (las de la cepa DH5α de *E. coli* se cultivaron en placas de LB) que se usaron tal cual o complementadas con uridina (50 µg/ml), piruvato sódico (1 mM) o uridina (50 µg/ml) + piruvato (1 mM).

Las almohadillas de ensayo de papel (Rotilabo, 6mm, Roth, Karlsruhe) se empaparon con 7,5 µl de solución de antibiótico (concentraciones usadas: CAP 0,5 mM; CAP 0,77 mM; CAP 1,2 mM; LIN 0,15 mM; LIN 0,25 mM, LIN 0,4 mM; TIG 0,15 mM, TIG 0,25 mM; TIG 0,4 mM; CAP 0,5 mM + LIN 0,15 mM; CAP 0,77 mM + LIN 0,25 mM; CAP 1,2 mM + LIN 0,4 mM; CAP 0,5 mM + LIN 0,15 mM + TIG 0,15 mM; CAP 0,77 mM + LIN 0,25 mM + TIG 0,25 mM; CAP 1,2 mM + LIN 0,4 mM + TIG 0,4 mM; CAP 0,5 mM + TIG 0,15 mM; CAP 0,77 mM + TIG 0,25 mM; CAP 1,2 mM + TIG 0,4 mM) y se colocaron sobre las placas de agar (soluciones de CAP y LIN sobre las placas de ATP/*B. subtilis*, soluciones de TIG sobre placas de LB/*E. coli*). Las placas de Petri se incubaron durante una noche a 37°C y se analizaron midiendo el tamaño de la zona sin crecimiento de las bacterias que rodean a los lechos de papel empapados en antibiótico (véanse las figuras 2a y 2b).

Todas las diluciones de antibiótico aplicadas presentaron un efecto antibiótico independientemente de las sustancias administradas conjuntamente (uridina y/o piruvato). Como control de fondo, se llevaron a cabo experimentos similares sin solución de antibiótico en condiciones por lo demás idénticas. Según se esperaba, cuando se administraron piruvato o uridina solos o en combinación sin antibiótico, las zonas sin crecimiento estaban obsoletas. Por lo tanto, los efectos antibióticos del cloranfenicol, la tigeciclina o la linezolid están basados únicamente en el compuesto antibiótico y no se suprimen mediante los compuestos administrados conjuntamente de uridina y/o piruvato.

Ejemplo 4

Determinación de los valores de CI_{50} de los antibióticos en presencia de uridina y/o piruvato

La concentración inhibidora semimáxima (CI_{50}) es una medida de la eficacia de un compuesto para inhibir una función biológica o bioquímica. Esta medida cuantitativa indica qué cantidad de un fármaco concreto es necesaria para inhibir a la mitad un proceso biológico concreto. En este caso, se determinó el valor de CI_{50} para el efecto secundario del antibiótico en células humanas en presencia o ausencia de piruvato y/o uridina. Los valores de CI_{50} se determinaron usando resazurina (kit de ensayo de viabilidad celular Cell-Quanti-Blue, Biotrend Chemikalien GmbH, Colonia), un colorante fluorescente que indica células vivas vitales o muertas. Para el experimento, se sembraron placas de cultivo de 24 pocillos con una dilución de células 143B.TK⁺ (10^3 células cada uno). El medio de cultivo estaba compuesto por DMEM FG0445 (que contenía piruvato sódico, alto contenido de glucosa, glutamina; a discreción del fabricante) complementado con FCS al 5% y uridina al 0,5 %. Después de un crecimiento inicial de dos días, las células se lavaron en PBS. A partir de ese momento, las células se cultivaron en DMEM F0435 (que tenía alto contenido de glucosa, sin piruvato, sin glutamina; a discreción del fabricante) complementado con glutamina al 2 % y FCS al 5%. Dependiendo de los experimentos posteriores, el medio de crecimiento celular se complementó adicionalmente con:

1. sin cloranfenicol, sin piruvato, sin uridina
2. con cloranfenicol (50 nM - 300 µM), sin piruvato, sin uridina
3. con cloranfenicol (50 nM - 300 µM), sin piruvato, con uridina (50 µg/ml)
4. con cloranfenicol (50 nM - 300 µM), con piruvato (100 µg/ml), sin uridina
5. con cloranfenicol (50 nM - 300 µM), con piruvato (100 µg/ml), con uridina (50 µg/ml)

El medio de crecimiento se cambió cada 12 horas. El experimento se llevó a cabo durante 10 días.

Para el análisis presentado en la figura 4, se midió la vitalidad celular (número de células) usando resazurina. Las medidas de los grupos 2-5 se normalizaron mediante la medición 1. Por lo tanto, cuando la vitalidad celular con tratamiento de cloranfenicol es similar al crecimiento celular normal (medición 1), la proporción de (medida 2, 3, 4, 5) / (medida 1) expresada en % debe ser próxima a 1. Tal como puede observarse en la figura 4, la CI_{50} del tratamiento con CAP sin complementación con uridina o piruvato era de aproximadamente 3,2 µM. Cuando se complementaron las células con uridina en condiciones por lo demás idénticas, la CI_{50} de CAP se desplazó a 7,5 µM. Cuando se añadieron piruvato o piruvato + uridina al medio de crecimiento, la CI_{50} de CAP estaba fuera del intervalo (> 300 µM).

A partir de los datos presentados, puede observarse fácilmente que una complementación completa (piruvato + uridina) da lugar a una vitalidad indistinguible a la de las células cultivadas en CAP (relación ~ 1) en comparación con las células cultivadas en CAP sin complementación.

Ejemplo 5:

Alivio de los efectos secundarios de los antibióticos aplicando fuentes de piruvato o uridina alternativas

Los efectos antibióticos de los antibióticos pueden aliviarse mediante la administración de piruvato y uridina. Esta observación se ve sustentada adicionalmente aplicando fuentes alternativas de piruvato o uridina, tales como, por ejemplo, alanina y uridina monofosfato (UMP).

Fuente de piruvato alternativa: Para contrastar esta hipótesis, las células desprovistas de ADN mitocondrial (células rho cero) que se asemejan a células tratadas con los antibióticos y que han perdido sus proteínas codificadas por mitocondrias, se cultivaron en presencia de uridina, alanina y uridina o piruvato y uridina. En detalle, se sembraron células HT29 rho cero (desprovistas de ADN mitocondrial y por lo tanto de las proteínas codificadas por mitocondrias) en placas de Petri y se cultivaron en DMEM F0435 (sin piruvato), complementado con suero fetal de ternero dializado al 5%. El medio de crecimiento celular se complementó con uridina (uridina 0,2 mM) o alanina (alanina 1-10 mM) y uridina (uridina 0,2 mM) o piruvato (piruvato sódico 1 mM) y uridina (uridina 0,2 mM) (véase la figura 6a). Mientras que las células cultivadas sin piruvato o alanina (fila superior) no mostraron crecimiento celular, las células complementadas con alanina (fila intermedia) o piruvato (fila inferior) mostraron un crecimiento celular regular con el medio complementado con uridina. Por lo tanto, el piruvato puede sustituirse por fuentes de piruvato alternativas para aliviar los efectos secundarios de los antibióticos.

Fuente de uridina alternativa: Para contrastar esta hipótesis, las células desprovistas de ADN mitocondrial (células rho cero) que se asemejan a células tratadas con los antibióticos y que han perdido sus proteínas codificadas por mitocondrias, se cultivaron en presencia de UMP, alanina y UMP o piruvato y UMP. En detalle, se sembraron células HT29 rho cero (desprovistas de ADN mitocondrial y por lo tanto de las proteínas codificadas por mitocondrias) en placas de Petri y se cultivaron en DMEM F0435 (sin piruvato), complementado con suero fetal de ternero dializado al 5%. El medio de crecimiento celular se complementó con UMP (UMP 0,2 mM) o alanina (alanina 1-10 mM) y UMP (UMP 0,2 mM) o piruvato (piruvato sódico 1 mM) y UMP (UMP 0,2 mM) (véase la figura 6b). Mientras que las células cultivadas sin piruvato o alanina en medio de crecimiento complementado con UMP (fila superior) no mostraron crecimiento celular, las células complementadas con alanina (fila intermedia) o piruvato (fila inferior) en medio complementado con UMP presentaron un crecimiento celular regular. Por lo tanto, el UMP puede sustituirse por una fuente de pirimidina alternativa para aliviar los efectos secundarios de los antibióticos.

Habiéndose descrito las realizaciones preferidas de la invención, debe entenderse que la invención no está limitada a las realizaciones específicas.

Lista de referencias

- (1) Waksman, S. A. "What is an antibiotic or an antibiotic substance?" *Mycotogia*. 39.5 (1947): 565-69.
- (2) Slama, T. G., et al. "A clinician's guide to the appropriate and accurate use of antibiotics: the Council for Appropriate and Rational Antibiotic Therapy (CARAT) criteria." *Am.J.Med.* 118 Supl. 7A (2005): 1S-6S.
- (3) Falagas, M. E., A. P. Grammatikos y A. Michalopoulos. "Potential of old-generation antibiotics to address current need for new antibiotics." *Expert. Rev.Anti. Infect.Ther.* 6.5 (2008): 593-600.
- (4) McIntyre, J. y I. Choonara. "Drug toxicity in the neonate." *Biol.Neonate* 86.4 (2004): 218-21.
- (5) Brunton, L. L. Capítulo 46. Protein Synthesis Inhibitors and Miscellaneous Antibacterial Agents. Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (11^a ed.). 2006. McGraw-Hill.
- (6) Yunis, A. A. "Chloramphenicol toxicity: 25 years of research." *Am.J.Med.* 87.3N (1989): 44N-8N.
- (7) Shu, X. O., et al. "Chloramphenicol use and childhood leukaemia in Shanghai." *Lancet* 2.8565 (1987): 934-37.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:

- 5 (i) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antibiótico; y
(ii) una cantidad terapéutica tanto de un compuesto de uridina como de un compuesto de piruvato

para su uso como medicamento, en donde

10 el compuesto de uridina es uridina, uracilo, fosfatos de uridina o sales de los mismos, UDP-glucosa, citidina-5'-monofosfato (CMP), citidina-5'-difosfato (CDP), CDP-glucosa, ácido orótico, orotidilato, uridina acilada o citidina-difosfocolina; y

el compuesto de piruvato es ácido pirúvico o una sal del mismo, creatina piruvato, fosfoenolpiruvato, 2-fosfoglicerato, 3-fosfoglicerato, 1,3-bifosfoglicerato, gliceraldehído 3-fosfato, dihidroxiacetona fosfato, alanina, serina, cisteína, glicina, triptófano, asparagina, aspartato, metionina, malato u oxalacetato.

15 2. La composición para el uso de la reivindicación 1, en donde el antibiótico se selecciona entre las clases de antibióticos de los aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefem, cefalosporinas, glucopéptidos, macrólidos, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, glicilinas, oxazolidinonas, anfenicoles, pleuromutilinas, lincosamidas, estreptograminas, antibacterianos esteroideos, ciclopéptidos, lipopéptidos y mezclas de los mismos.

3. La composición para el uso de la reivindicación 2, en donde el antibiótico se selecciona entre el grupo que consiste en ampicacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, paromomicina, geldanamycin, herbimicina, loracarbef, ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina, meropenem, cefadroxil, duricef, 25 cefazolina, cefalotina, cefalotina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, ceftobiprol, teicoplanina, vancomicina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina, espectinomicina, aztreonam, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, metilicina, nafcilina, oxacilina, penicilina, piperacilina, ticarcilina, ciprofloxacino, enoxacino, gatifloxacino, levofloxacino, lomefloxacino, fodaximicina, moxifloxacino, norfloxacino, ofloxacino, trovafloxacino, grepafloxacino, esparfloxacino, temafloxacino, mafenida, sulfonamidocrisoidina sulfacetamida, sulfadiazina, ulfametilol, sulfanilamida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprima, trimetoprima-sulfametoxazol (co-trimoxazol) (TMP-SMX), doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, cloranfenicol, tigeciclina, linezolida, clindamicina, lincomicina, etambutol, mambutol, fosfomicina, ácido fusídico, furazolidona, 35 isoniazid, linezolida, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoina, platensimicina, pirazinamida, quinupristina/dalfopristina, rifampicina, tianfenicol, tinidazol, dapsona, clofazimina dihidroestreptomina, frameticina, ribostamicina, arbekacina, bekanamicina, dibekacina tobramicina, higromicina B, sisomicina, isepamicina, verdamicina, astromicina, clortetraciclina clomociclina, desmeclociclina, limeciclina, meclociclina, metaciclina, penimepiciquina, rolitetraciclina, torezolida, eperezolida, posizolida, radezolida, azidamfenicol, florfenicol, 40 retapamulina, tiamulina, valnemulina, fluritromicina, josamicina, midecamicina, miocamicina, oleandomicina, rokitamicina, espiamicina, tilosin, cetolidos, cetromicina, soltromicina, pirlimicina, pristinamicina, virginiamicina, cloroquina, hidroxocloroquina, cefotaxima, polimixina B, colistina, bacitracina, tirotricina, gramidicina, daptomicina, fidaxomicina y mezclas de los mismos.

45 4. La composición para el uso de la reivindicación 3, en donde el antibiótico es cloranfenicol, linezolida o tigeciclina.

5. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el compuesto de piruvato es piruvato de metilo, piruvato de etilo o sal sódica de piruvato.

50 6. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el fosfato de uridina es uridina-5' monofosfato (UMP), uridina-5' difosfato (UDP) o uridina-5' trifosfato (UTP).

7. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde (i) el antibiótico y (ii) los compuestos de uridina y piruvato se proporcionan en forma de entidades separadas.

55 8. Una composición farmacéutica que comprende

- (i) una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antibiótico; y
(ii) una cantidad terapéutica tanto de un compuesto de uridina como de un compuesto de piruvato

60 para su uso en la prevención o minimización de efectos secundarios graves en la terapia antibiótica de infecciones bacterianas en un sujeto, en donde
el compuesto de uridina es uridina, uracilo, fosfatos de uridina o sales de los mismos, UDP-glucosa, citidina-5' monofosfato (CMP), citidina-5' difosfato (CDP), CDP-glucosa, ácido orótico, orotidilato, uridina acilada o citidina-difosfocolina; y

65

el compuesto de piruvato es ácido pirúvico o una sal del mismo, creatina piruvato, fosfoenolpiruvato, 2-fosfoglicerato, 3-fosfoglicerato, 1,3-bifosfoglicerato, gliceraldehído 3-fosfato, dihidroxiacetona fosfato, alanina, serina, cisteína, glicina, triptófano, asparagina, aspartato, metionina, malato u oxalacetato.

- 5 9. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 8, en donde los efectos secundarios adversos de la terapia con antibióticos que se van a prevenir o minimizar son erupciones, diarrea, dolor abdominal, náuseas/vómitos, fiebre medicamentosa, reacciones de hipersensibilidad (alérgicas), enfermedad del suero, candidiasis vaginal, toxicidad renal (en el riñón), ototoxicidad (pérdida auditiva), mareos, nistagmo, cefalea, toxicidad hepática, eosinofilia (glóbulos blancos sanguíneos elevados), anorexia, anemia hemolítica, neuropatía periférica,
- 10 mareos, fluidos corporales rojizos-naranjas, enrojecimiento, hipotensión, picor, flebitis, sabor, alteraciones del gusto, fotosensibilidad, decoloración de los dientes en niños, letargia, insomnio, fotosensibilidad, colitis pseudomembranosa, ictericia y/o sabor metálico.
- 15 10. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 8 o 9, en donde (i) el antibiótico y (ii) los compuestos de uridina y piruvato se encuentran en una forma de dosificación unitaria para su administración simultánea.
- 20 11. La composición farmacéutica para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en donde el compuesto de piruvato es piruvato de metilo, piruvato de etilo o sal sódica de piruvato.
12. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en donde el fosfato de uridina es uridina-5' monofosfato (UMP) o una sal del mismo, uridina-5' difosfato (UDP) o uridina-5' trifosfato (UTP).

Figura 1a

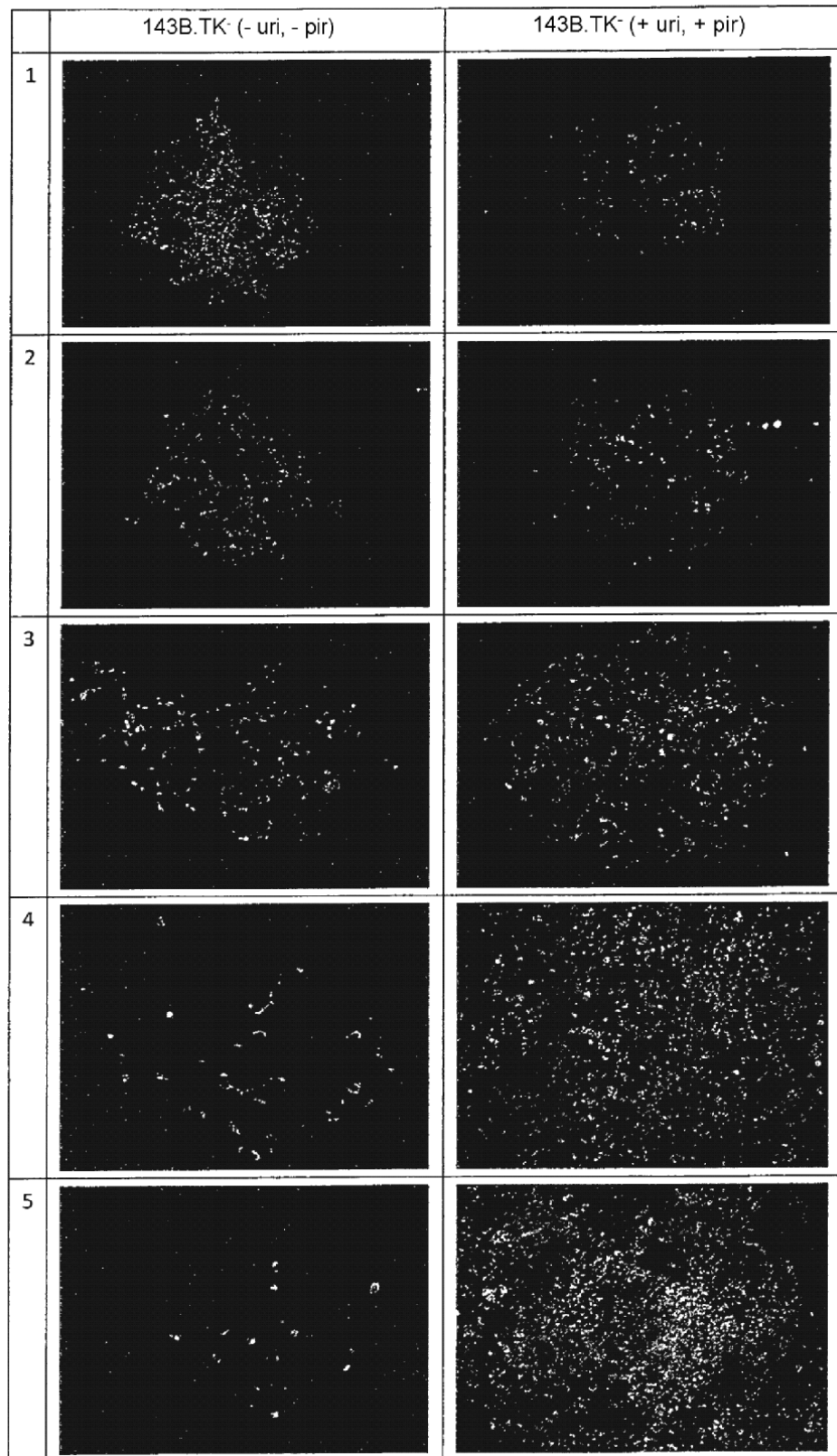
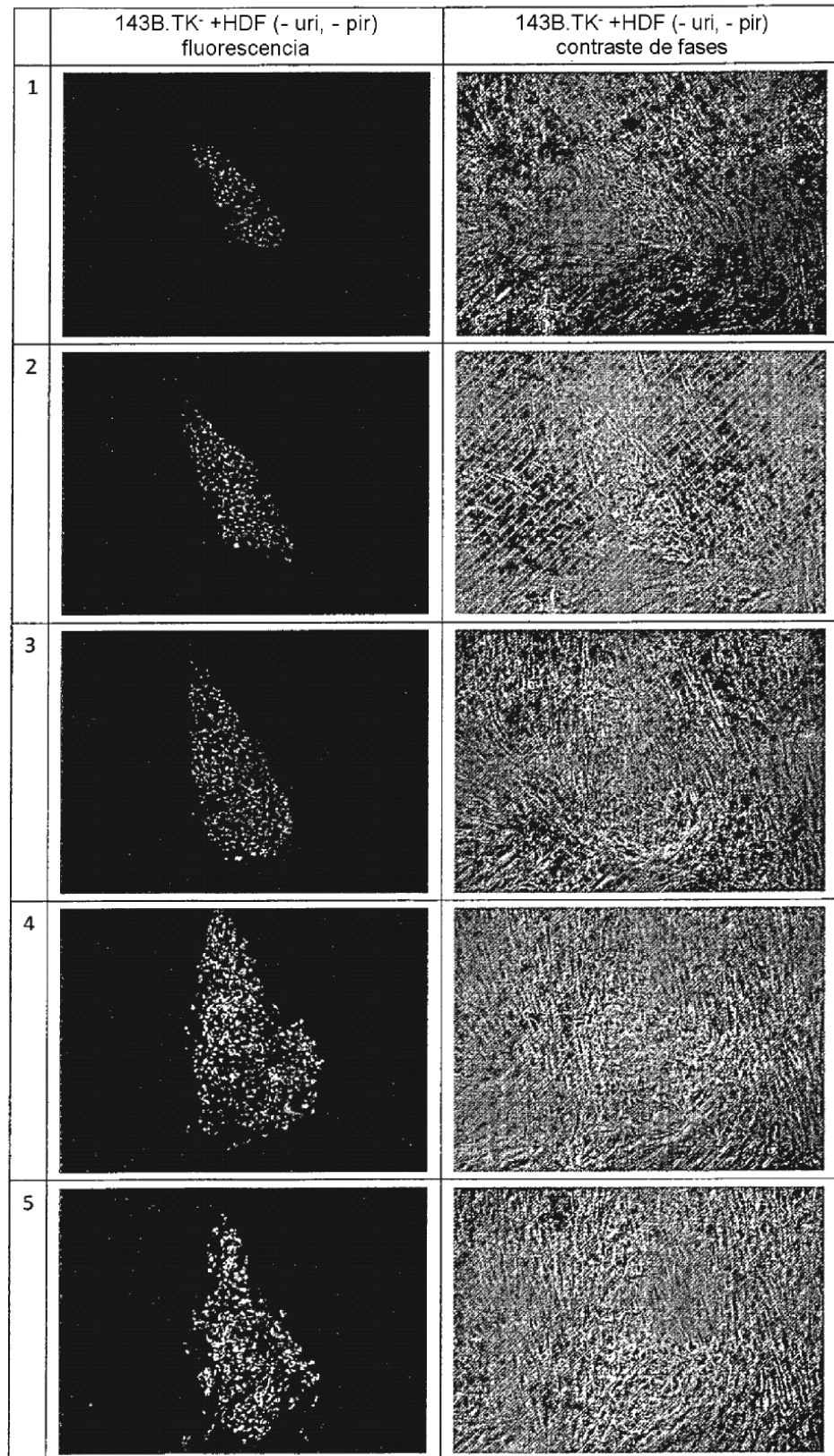
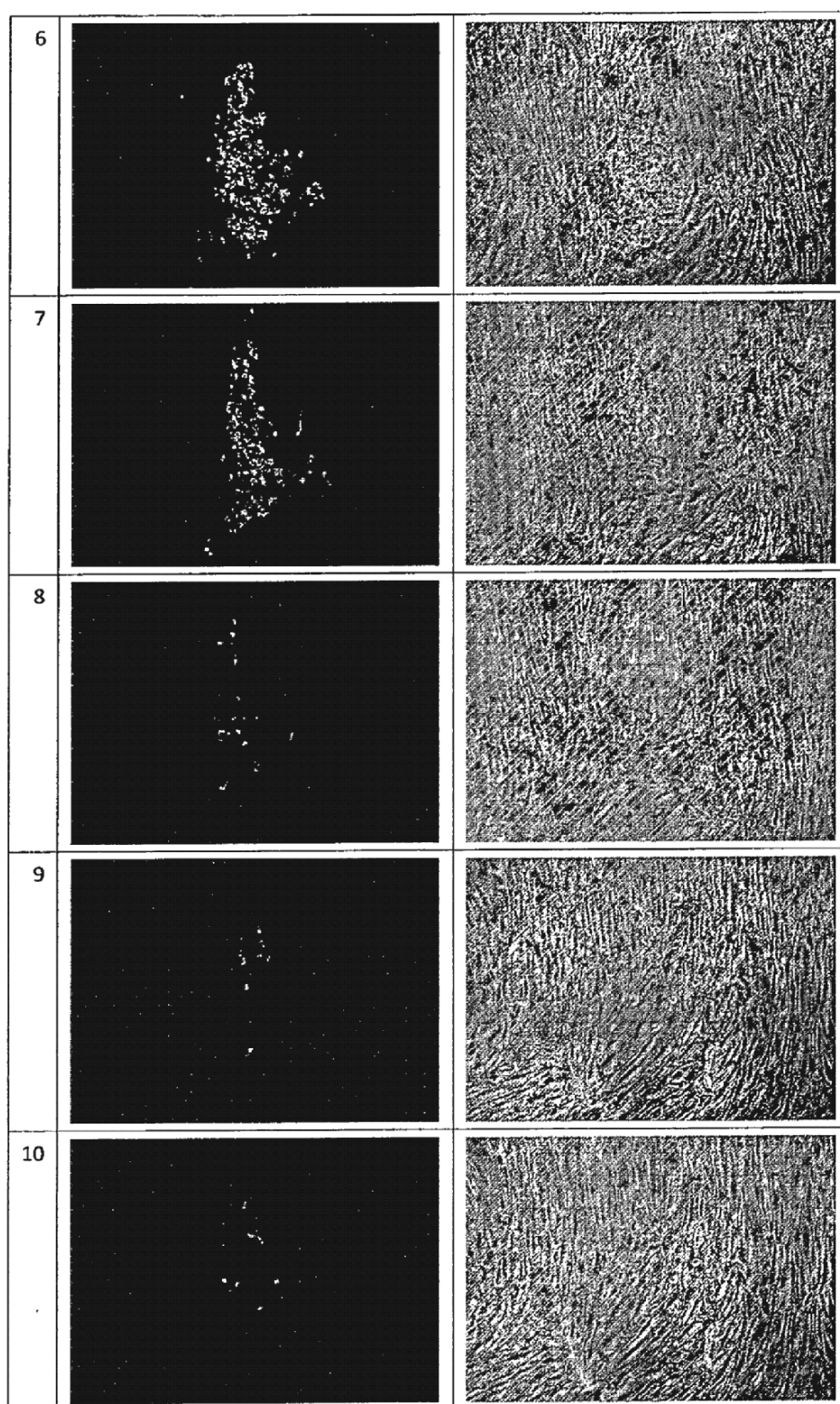


Figura 1b





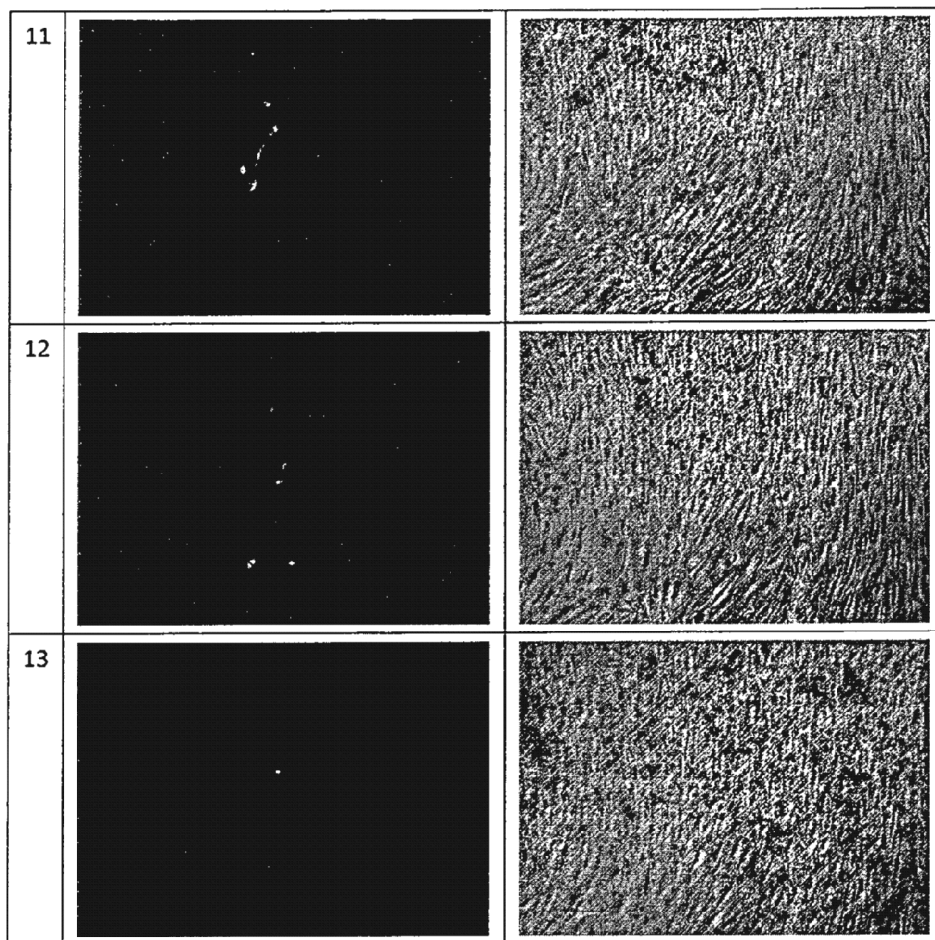
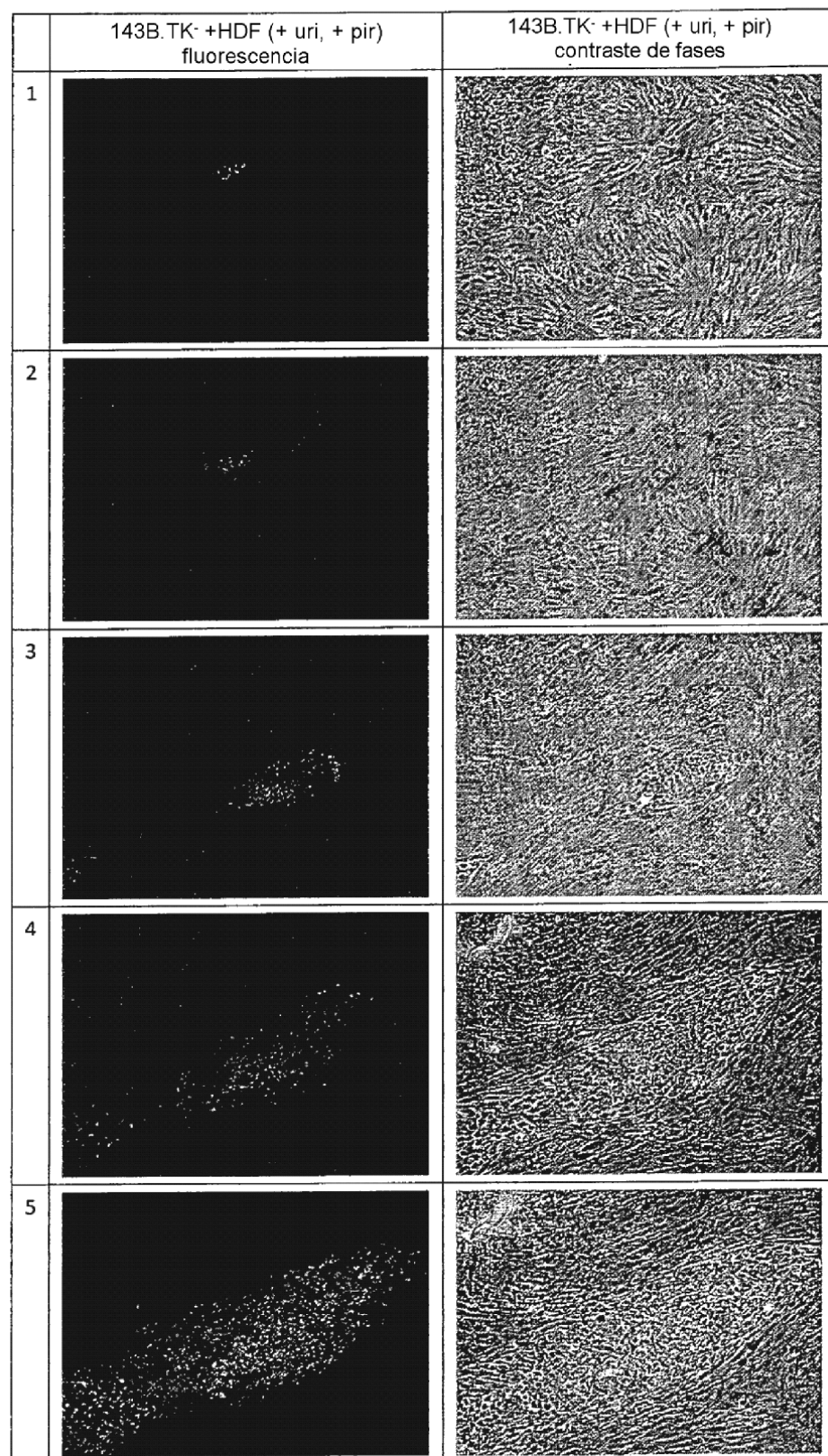


Figura 1c



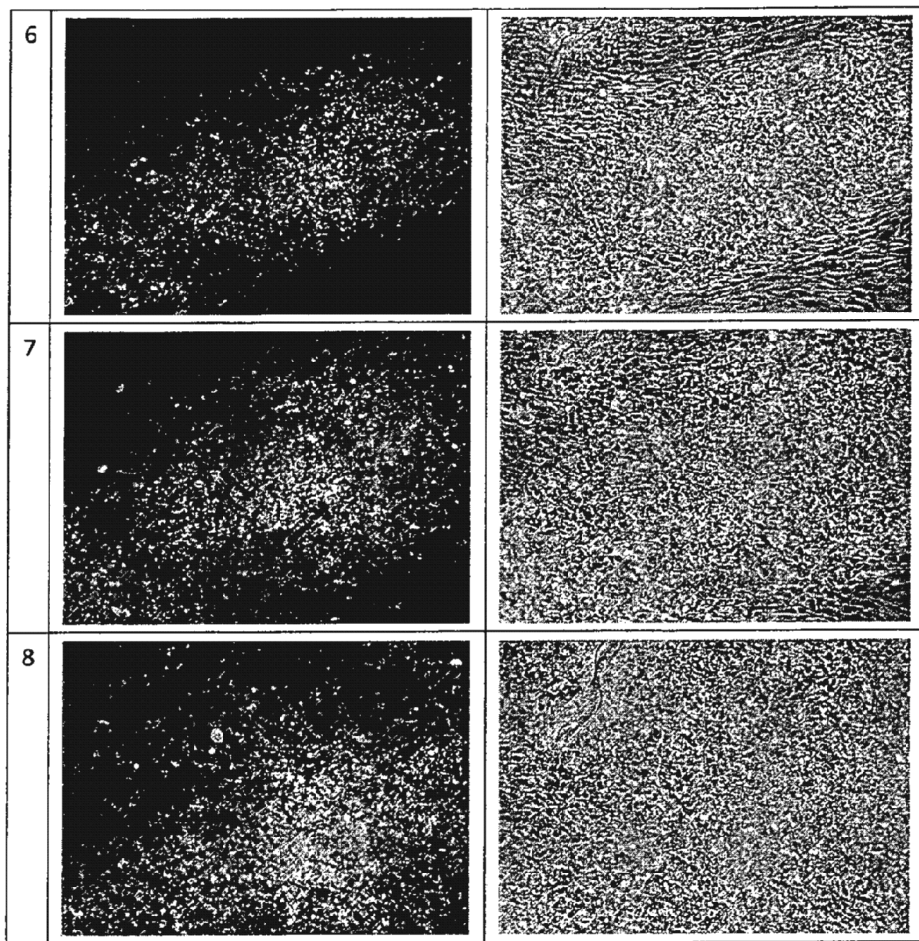


Figura 1d

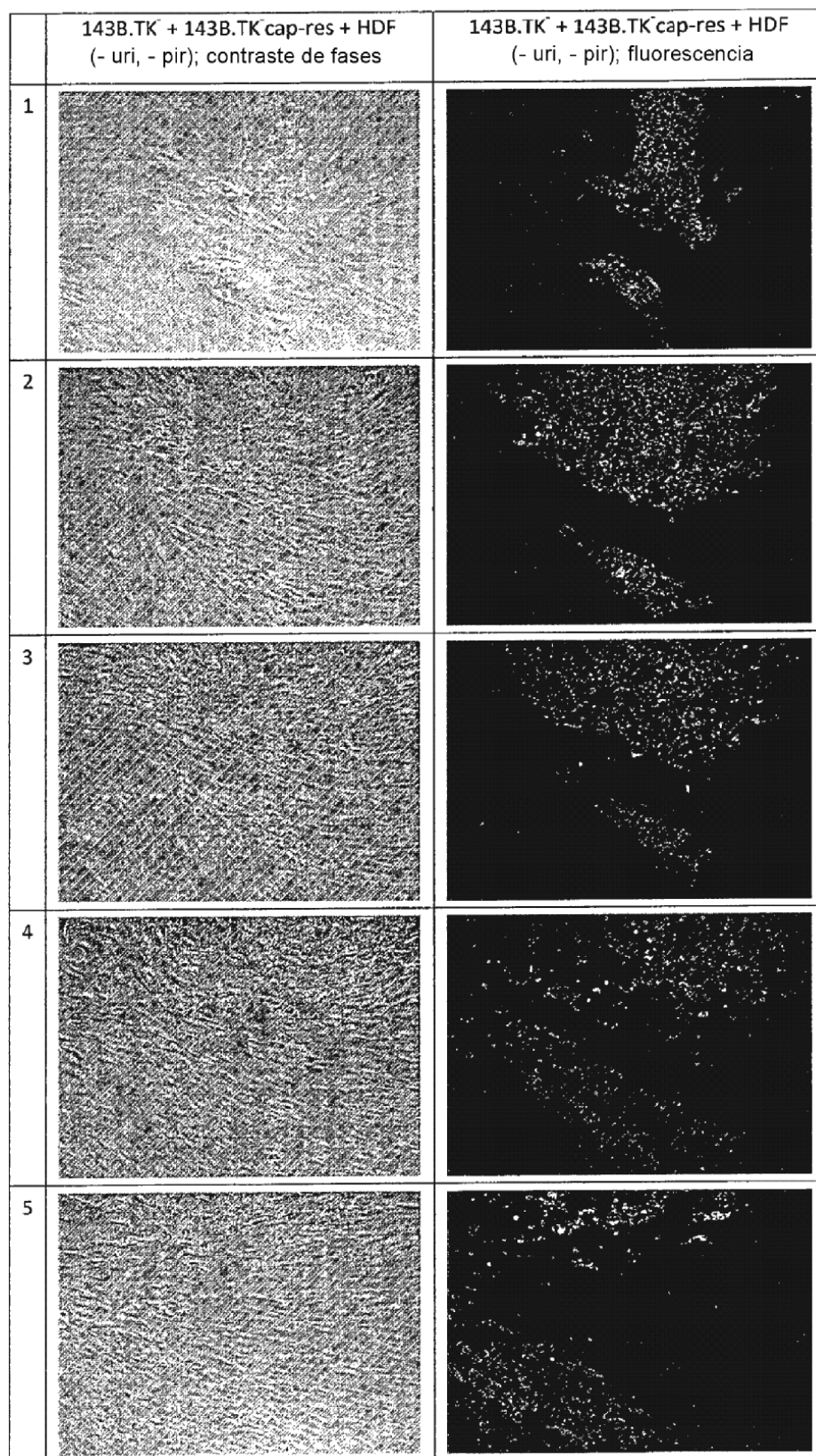
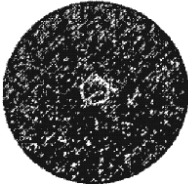
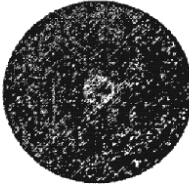
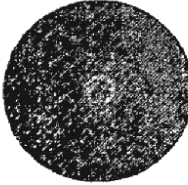
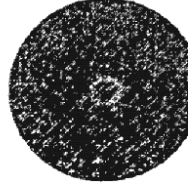
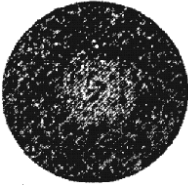
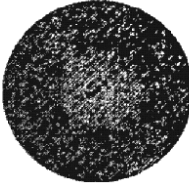
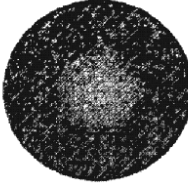
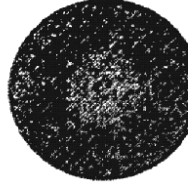
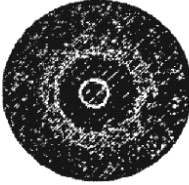
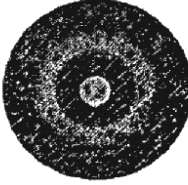
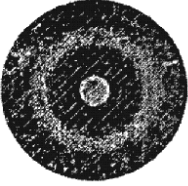
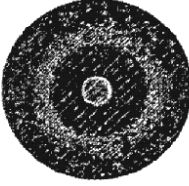
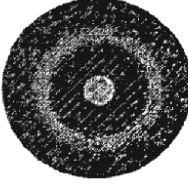
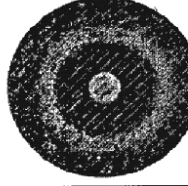
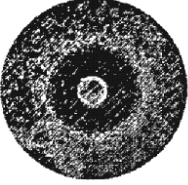
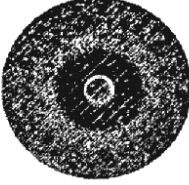
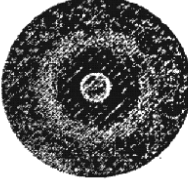
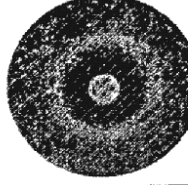
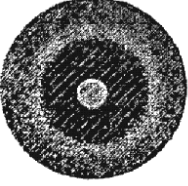
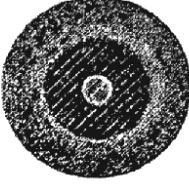
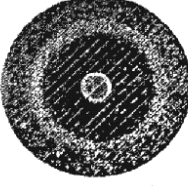
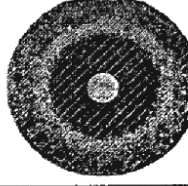
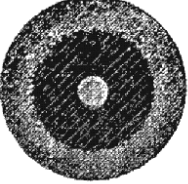
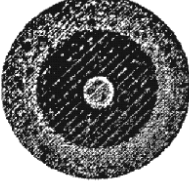
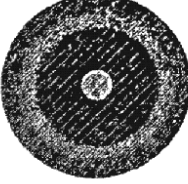
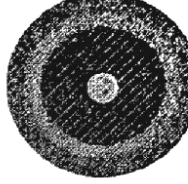


Figura 2a

Antibiótico	sin complementación	+piruvato	+uridina	+piruvato +uridina
sin antibiótico <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP 7,5 µl (0,5 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP 7,5 µl (0,77 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP 7,5 µl (1,2 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
LIN 7,5 µl (0,15 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
LIN 7,5 µl (0,25 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
LIN 7,5 µl (0,4 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				

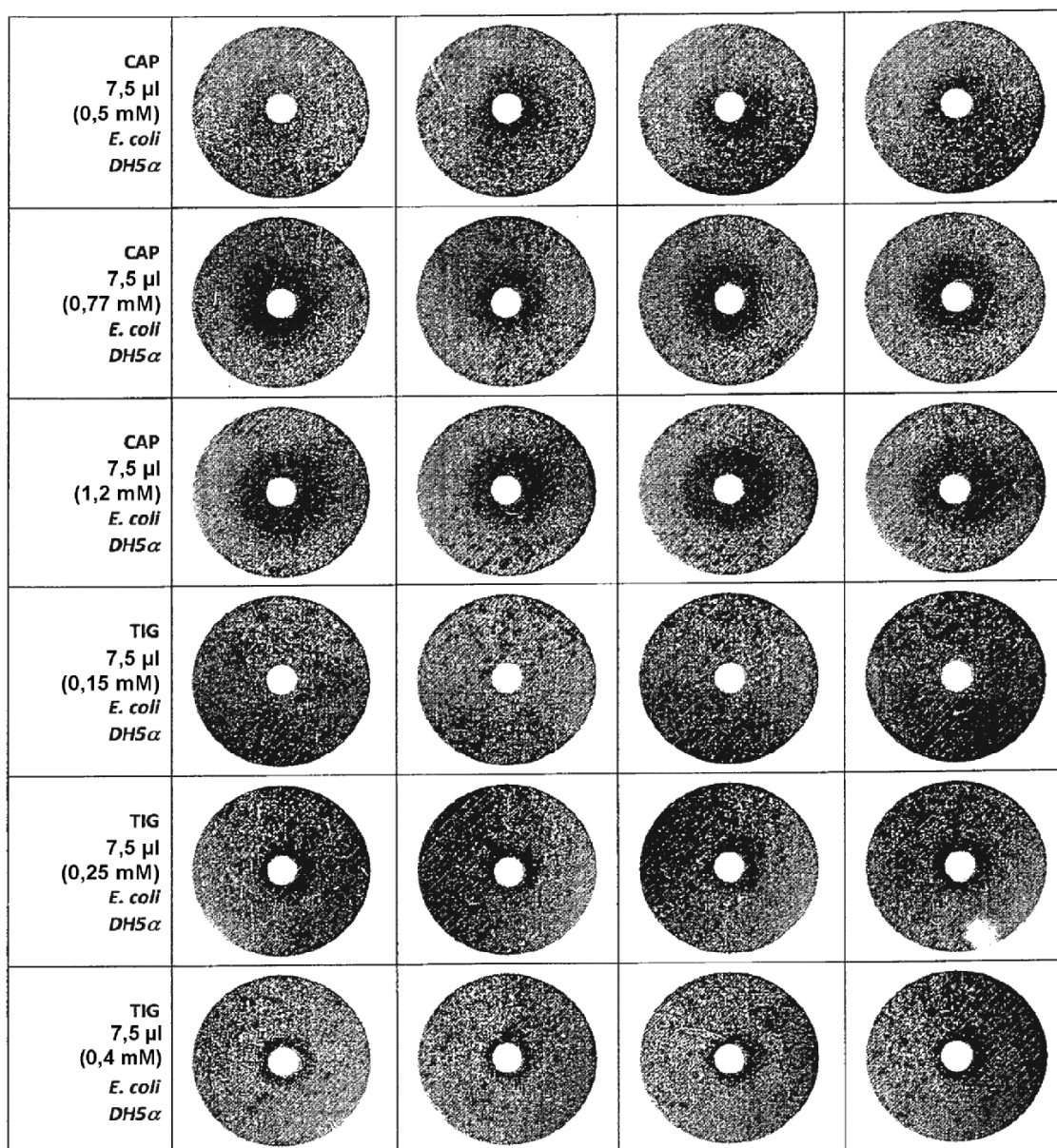


Figura 2b

1.

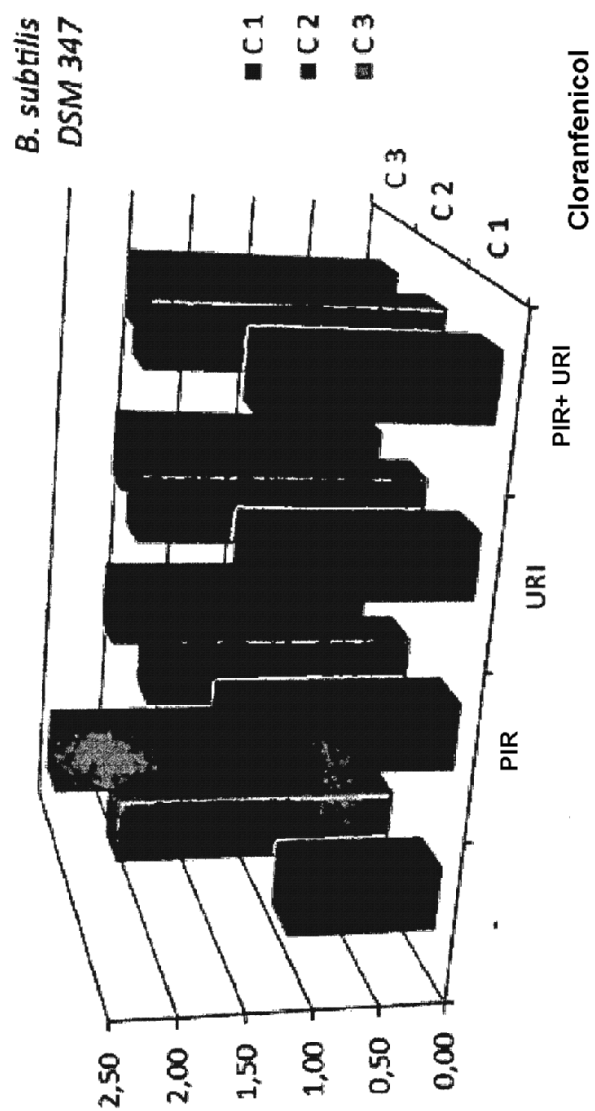


Figura 2b

2.

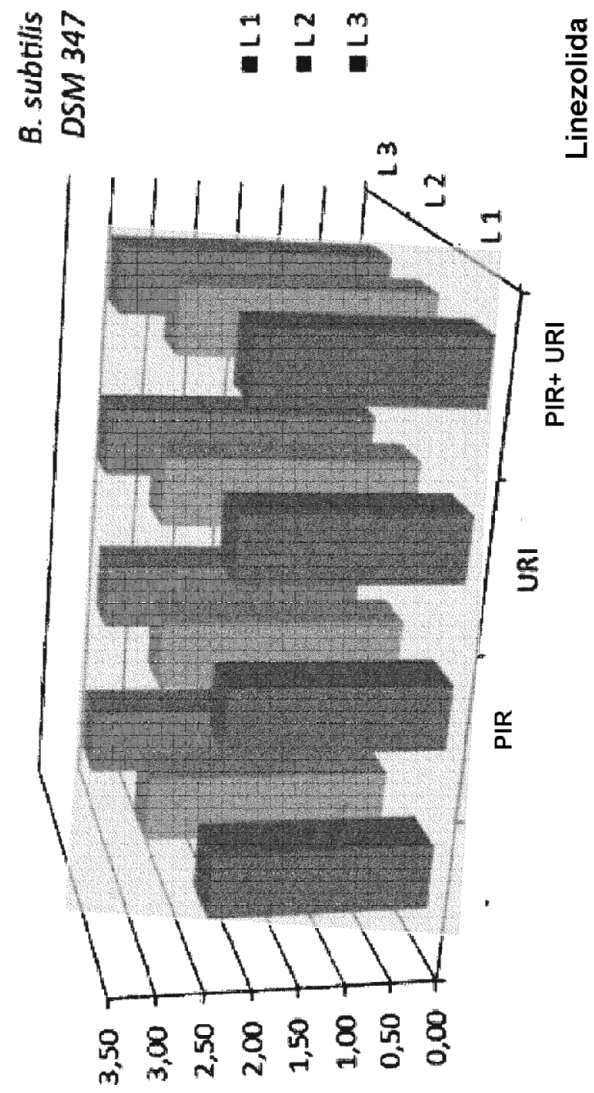


Figura 2b

3.

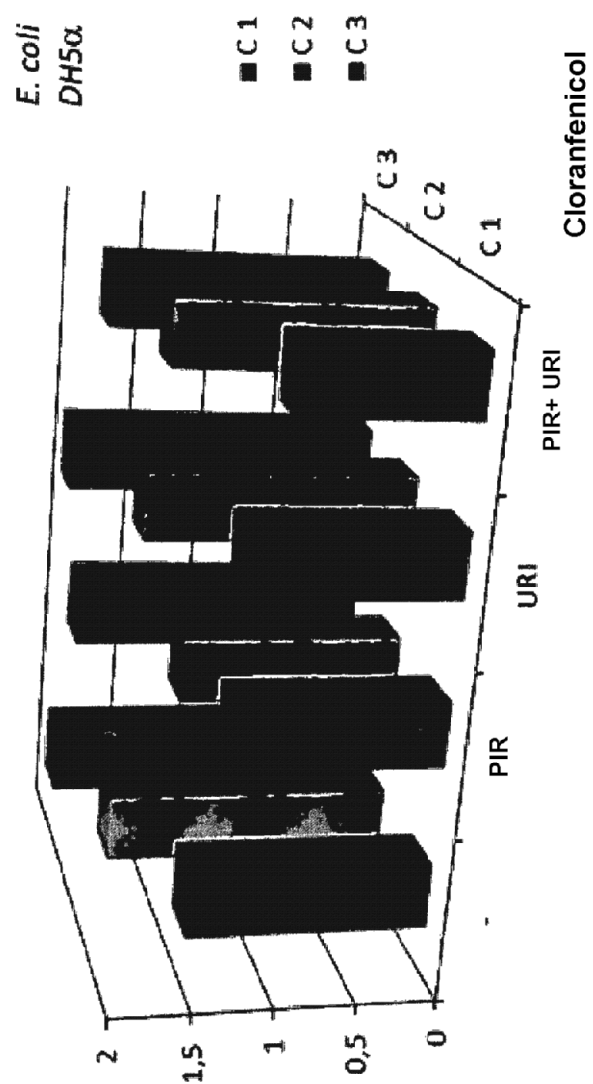


Figura 2b

4.

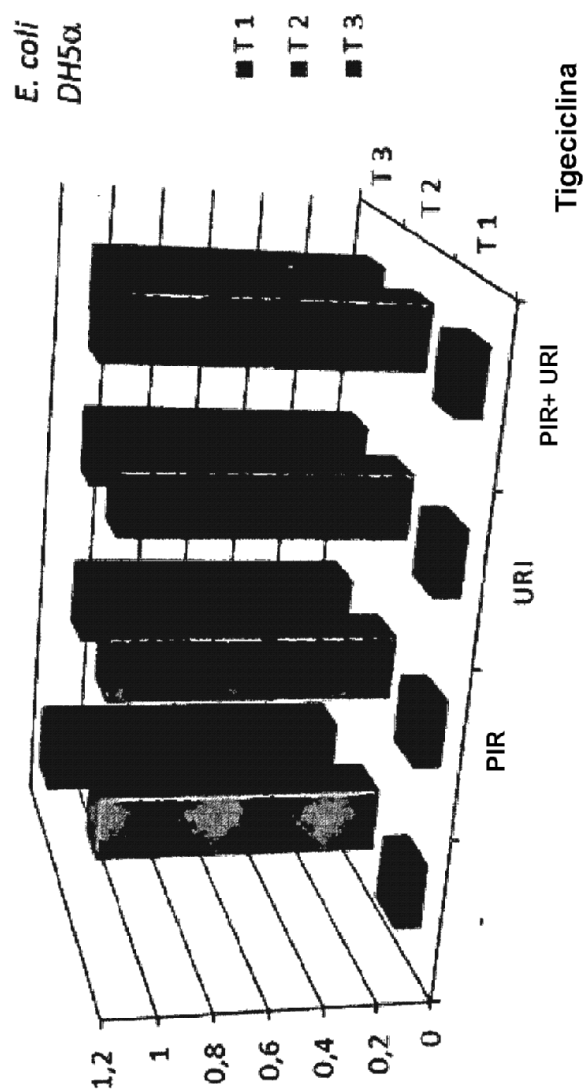
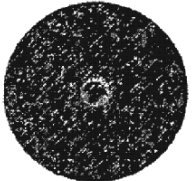
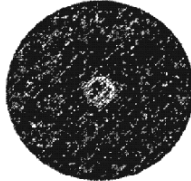
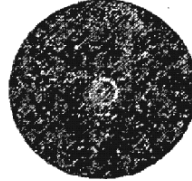
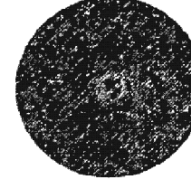
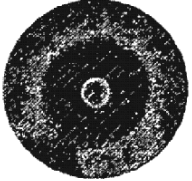
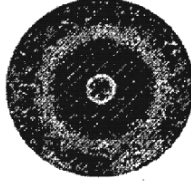
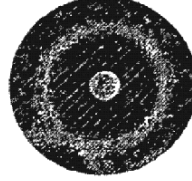
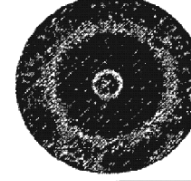
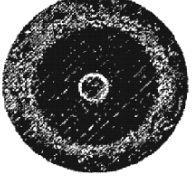
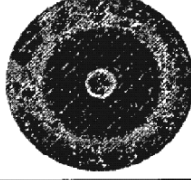
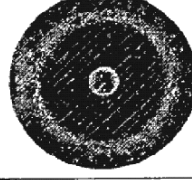
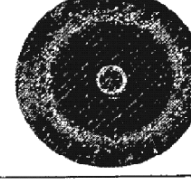
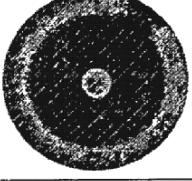
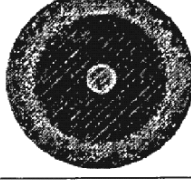
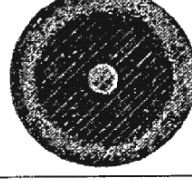
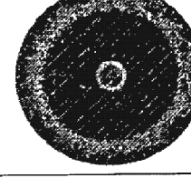
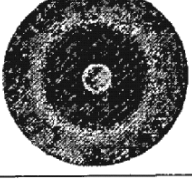
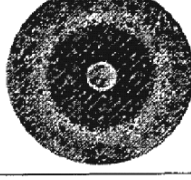
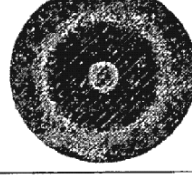
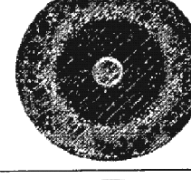
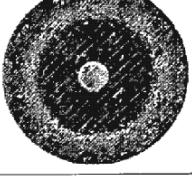
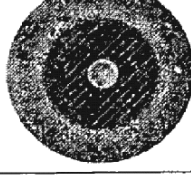
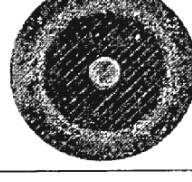
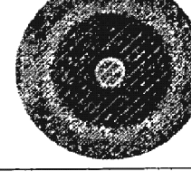


Figura 3a

Antibiótico	sin complementación	+piruvato	+uridina	+piruvato +uridina
sin antibiótico <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP+LIN 7,5 µl (0,5 mM + 0,15 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP+LIN 7,5 µl (0,77 mM + 0,25 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP+LIN 7,5 µl (1,2 mM + 0,4 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP+LIN+TIG 7,5 µl (0,5 mM + 0,15 mM + 0,15 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP+LIN+TIG 7,5 µl (0,77 mM + 0,25 mM + 0,25 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				

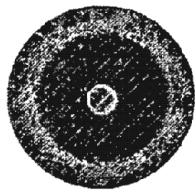
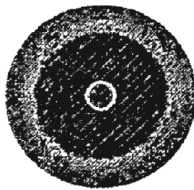
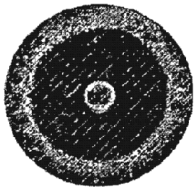
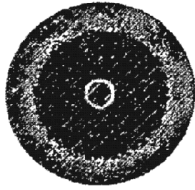
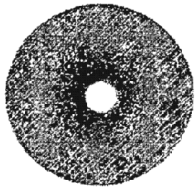
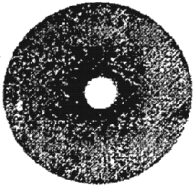
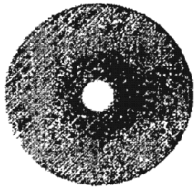
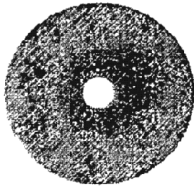
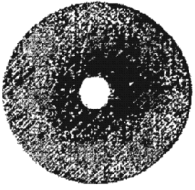
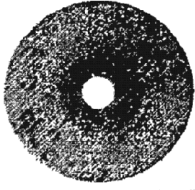
CAP+LIN+TIG 7,5 µl (1,2 mM + 0,4 mM + 0,4 mM) <i>B. subtilis</i> DSM 347				
CAP+TIG 7,5 µl (0,5 mM + 0,15 mM) <i>E. coli</i> DH5α				
CAP+TIG 7,5 µl (0,77 mM + 0,25 mM) <i>E. coli</i> DH5α				
CAP+TIG 7,5 µl (1,2 mM + 0,4 mM) <i>E. coli</i> DH5α				

Figura 3b

1.

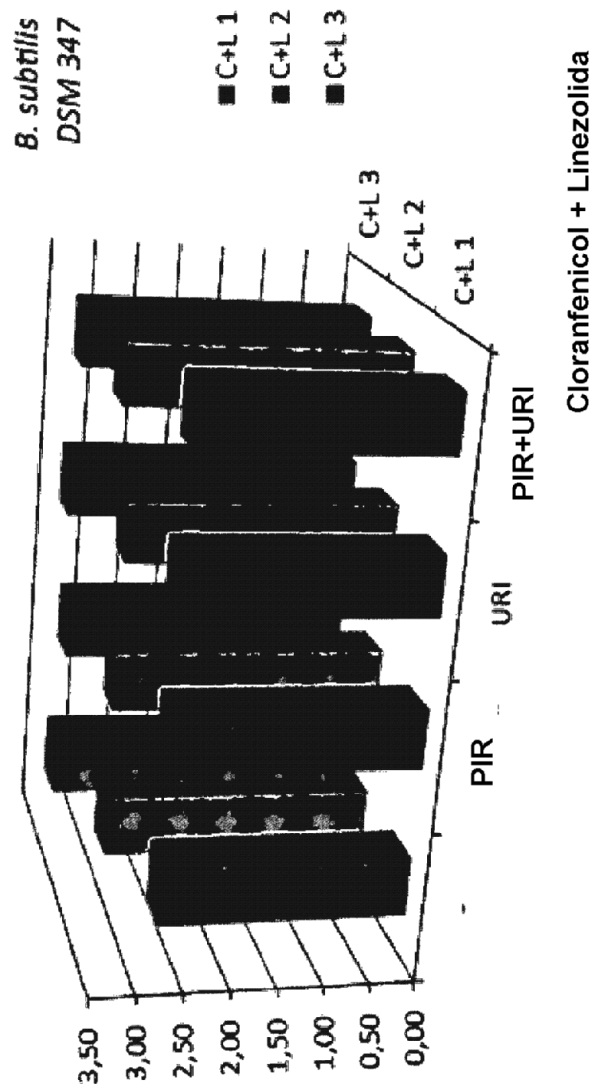


Figura 3b

2.

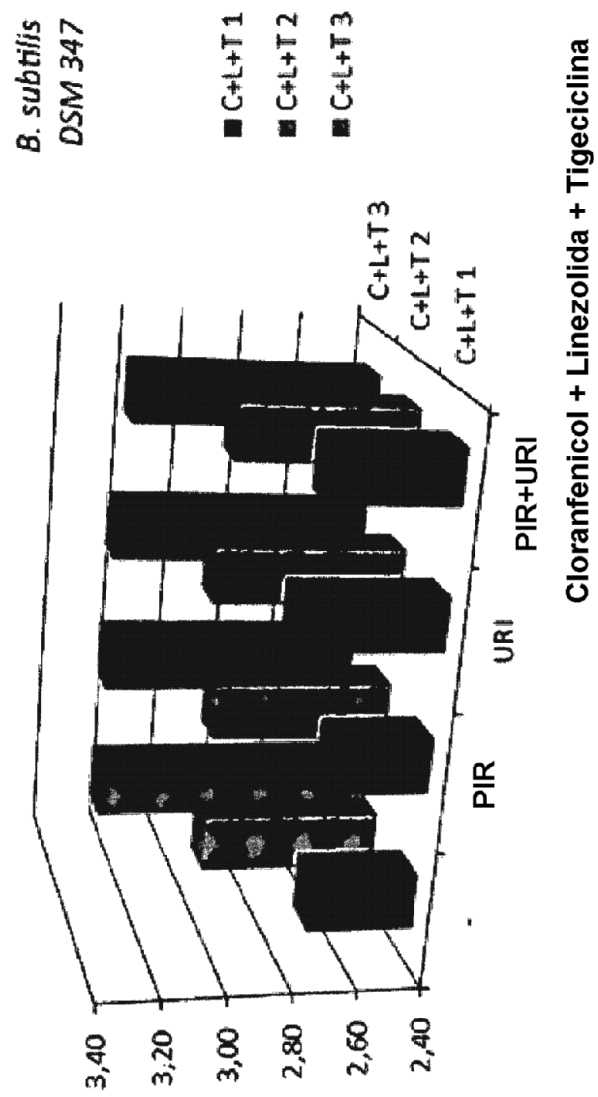


Figura 3b

3.

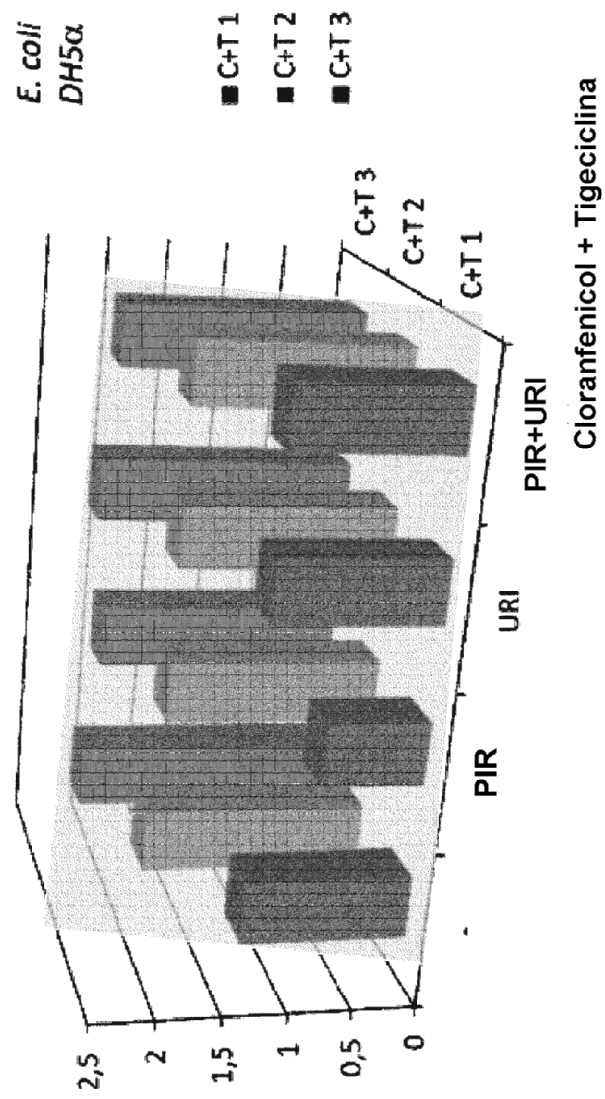


Figura 4

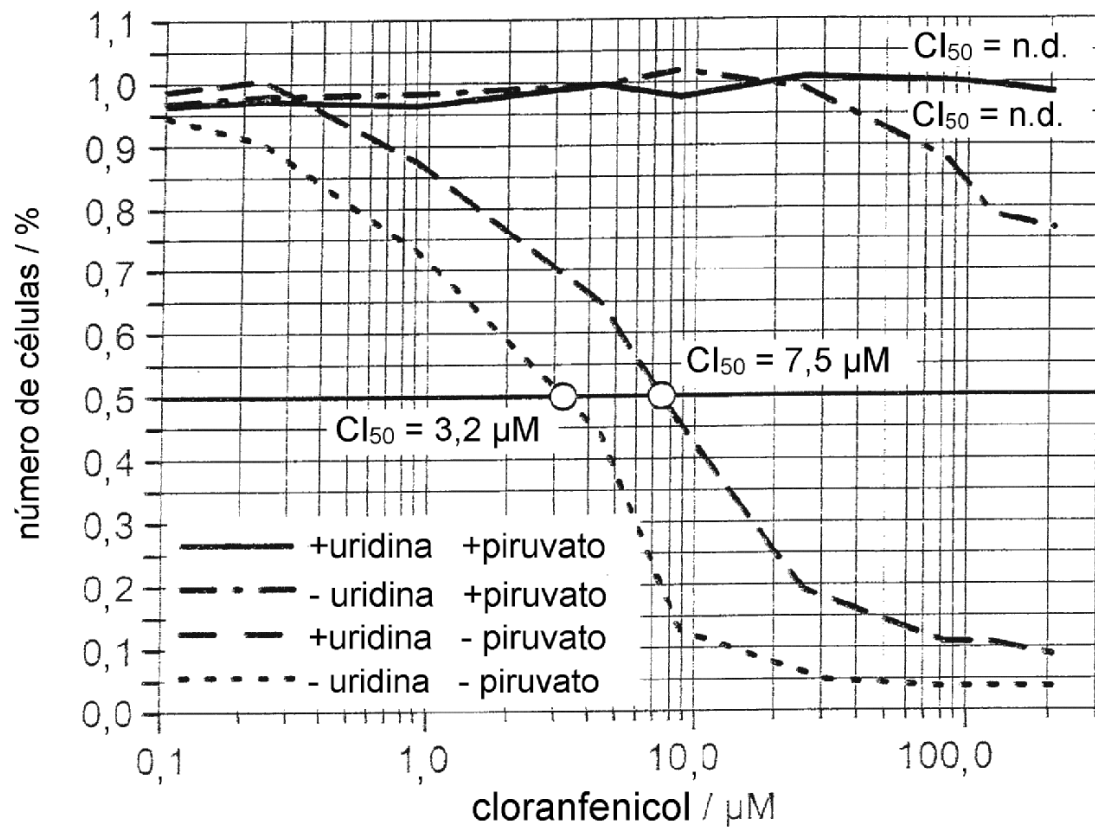


Figura 5a

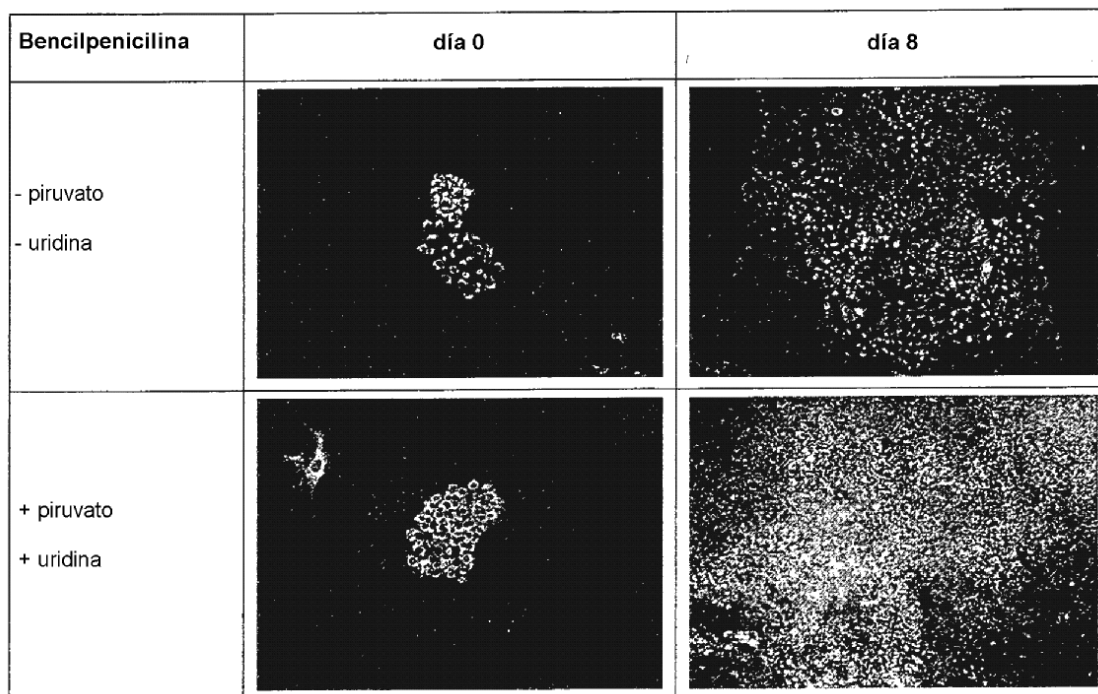
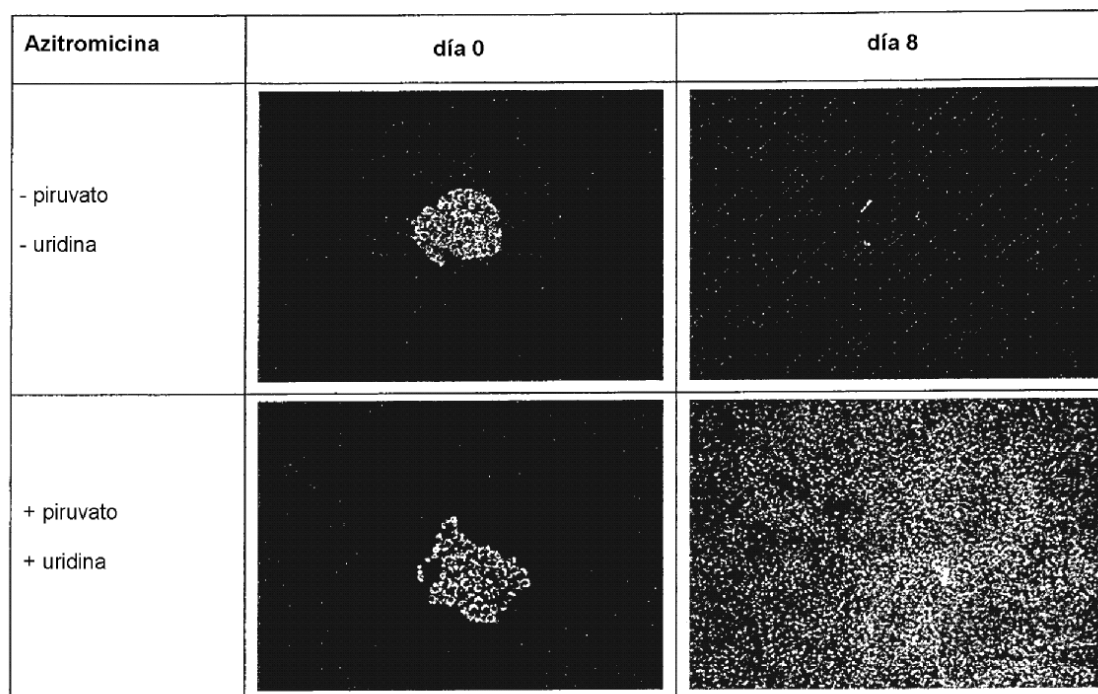


Figura 5b

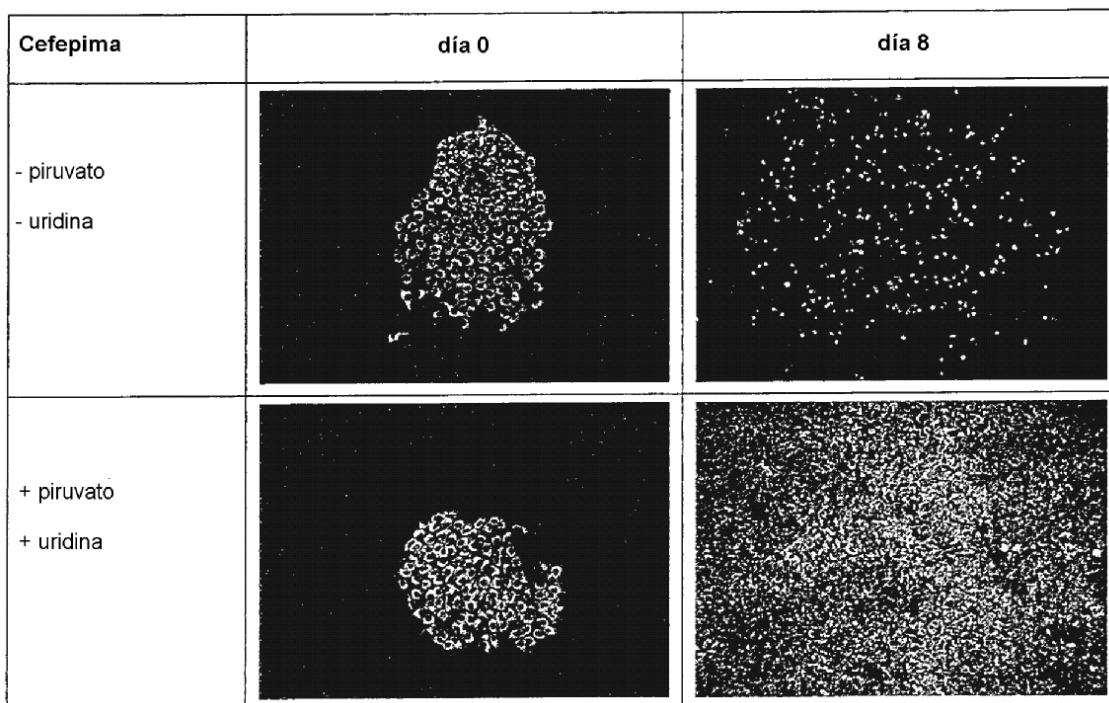
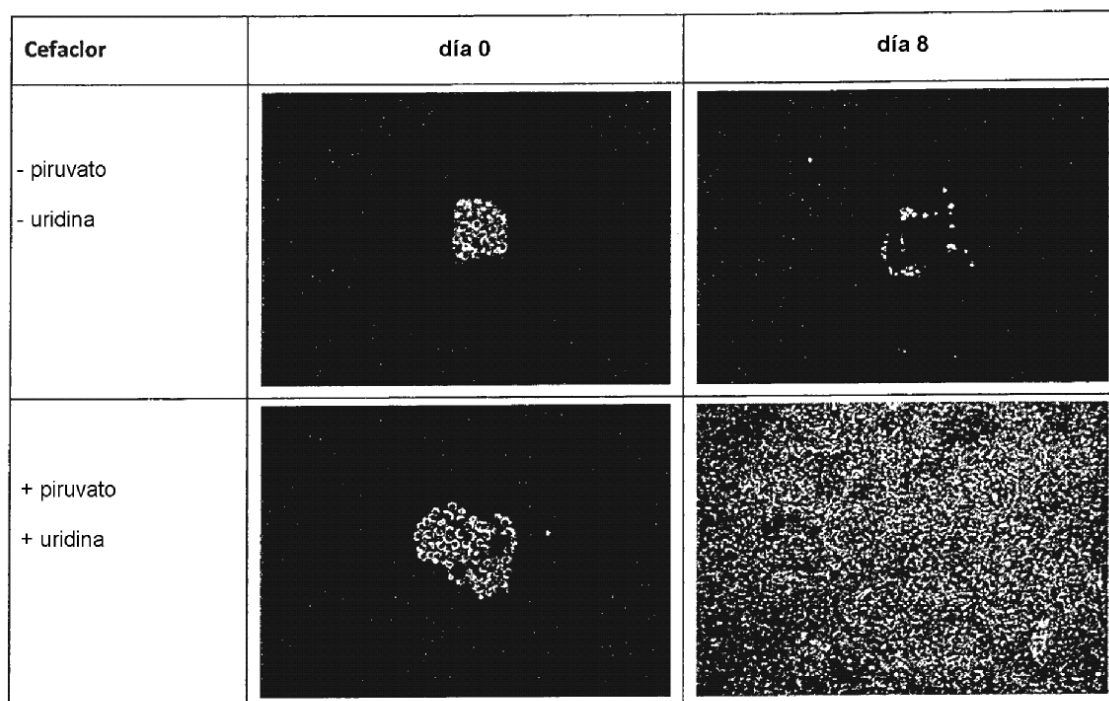


Figura 5c

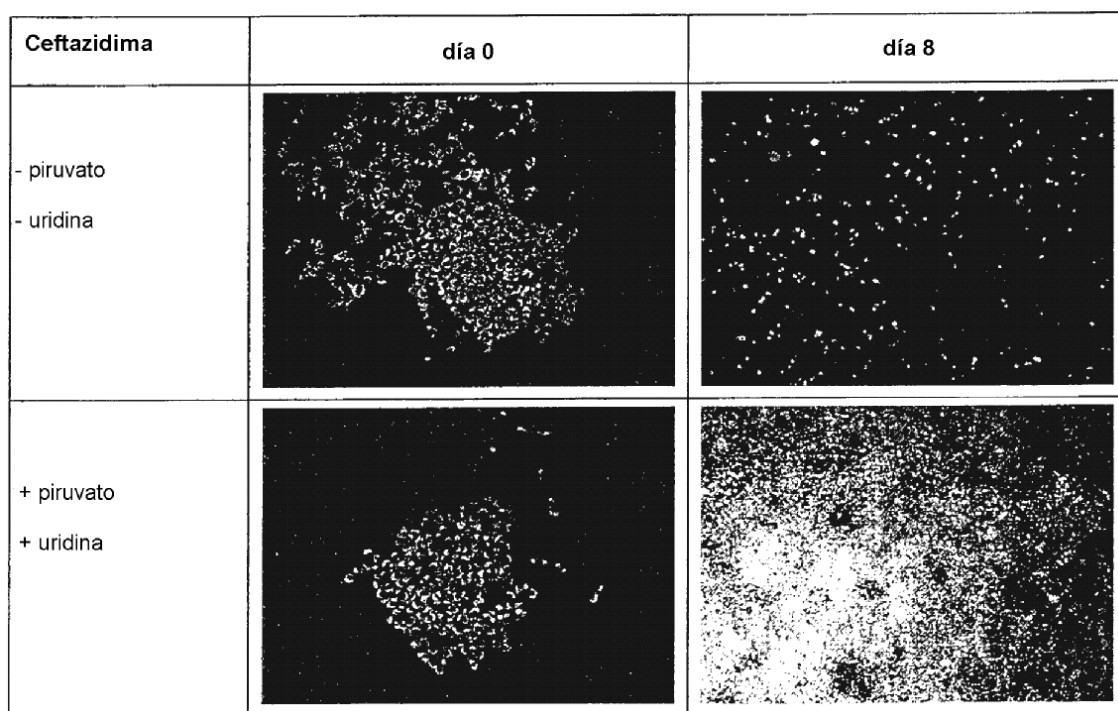
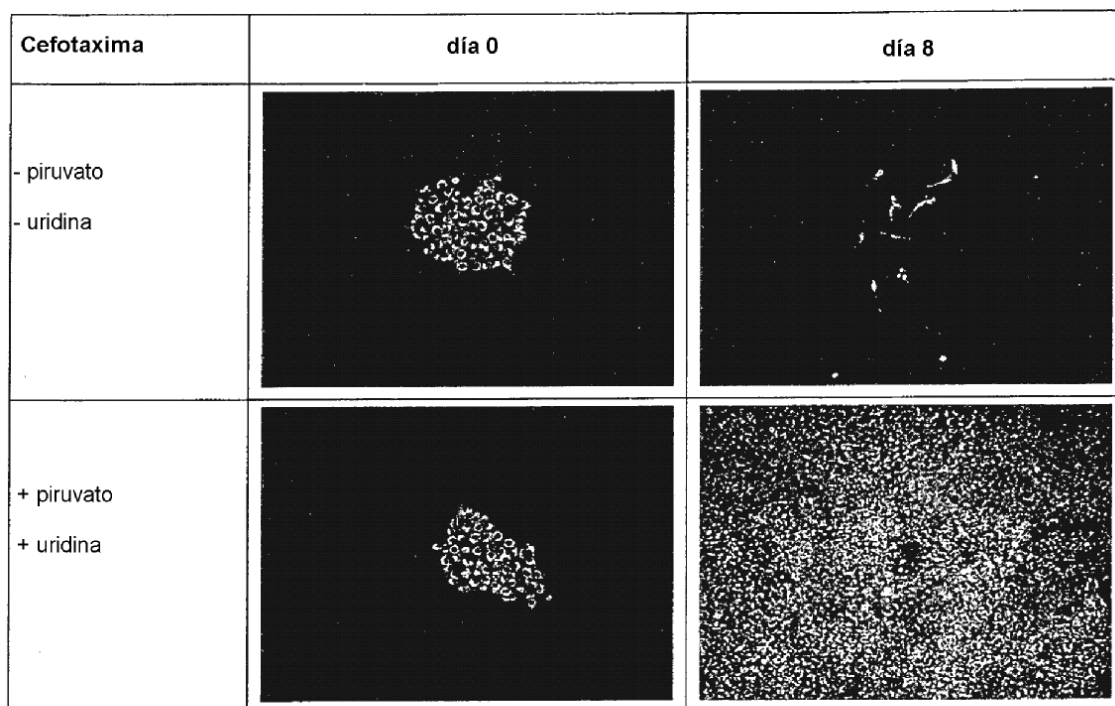


Figura 5d

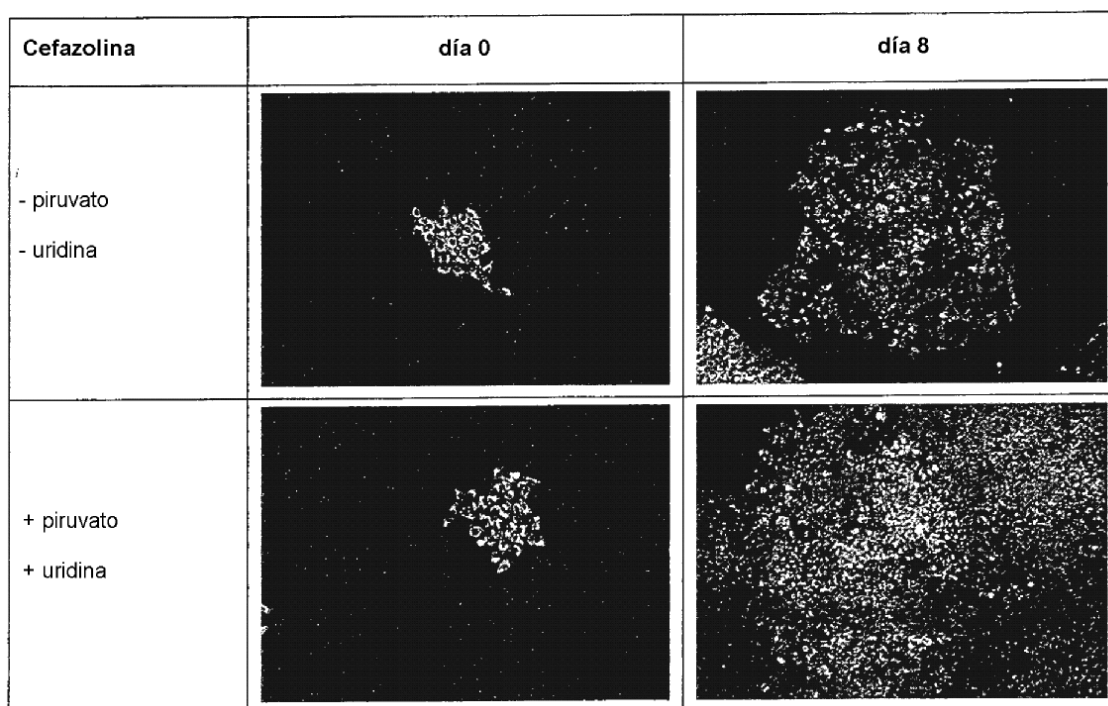
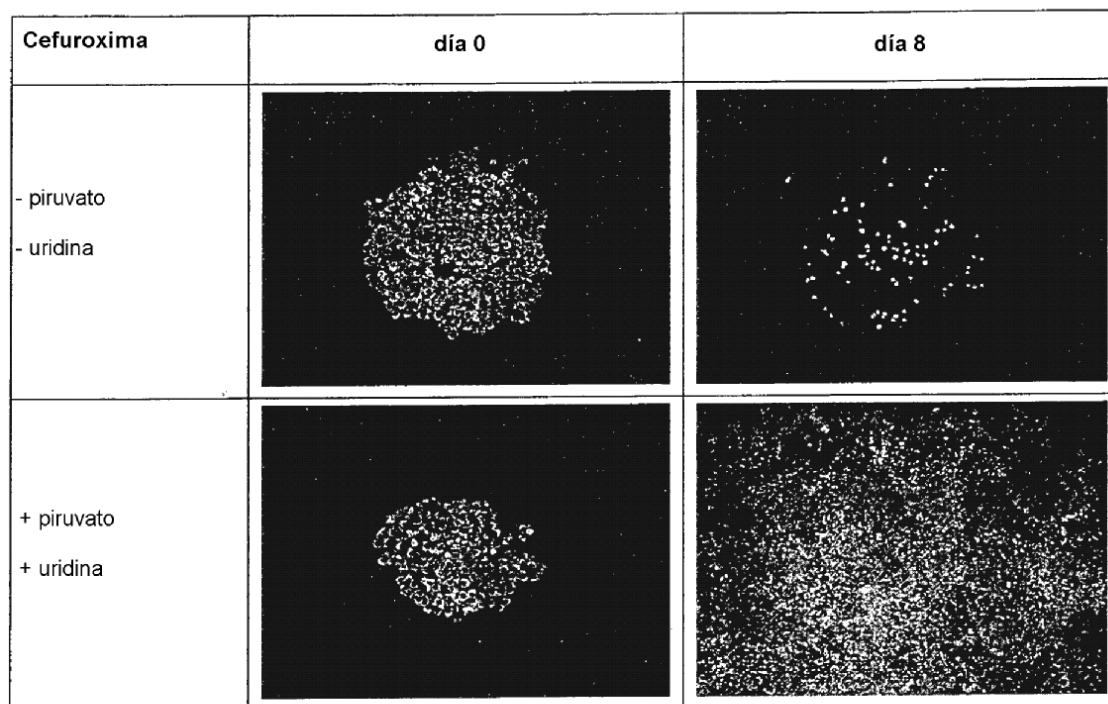


Figura 5e

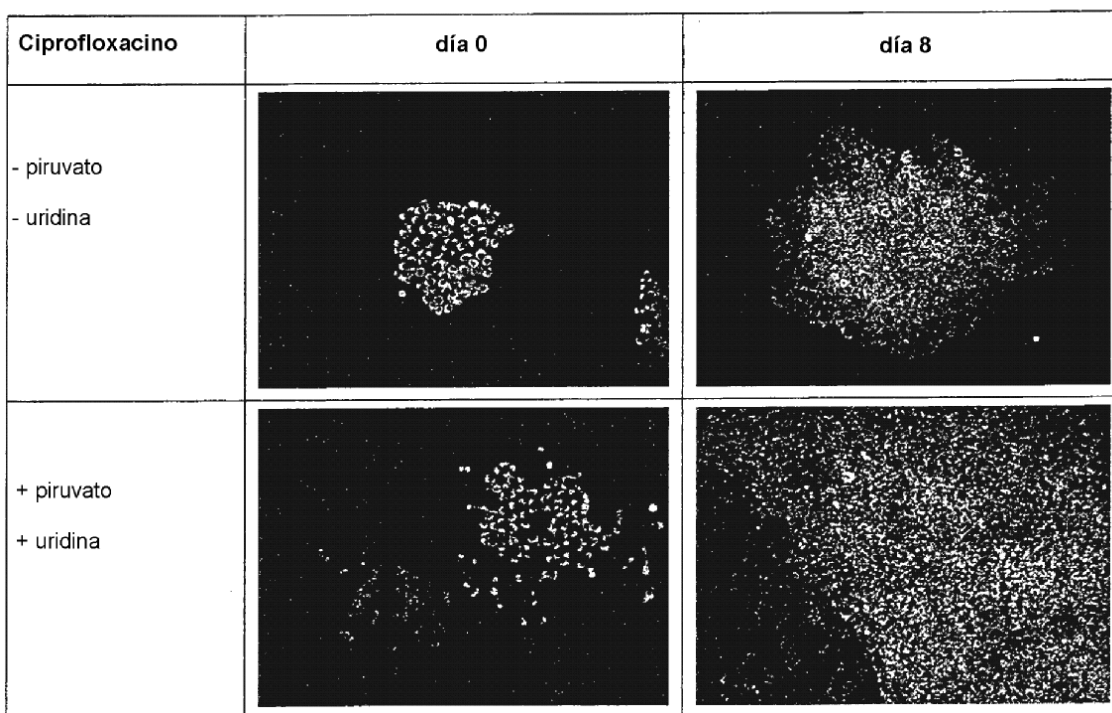
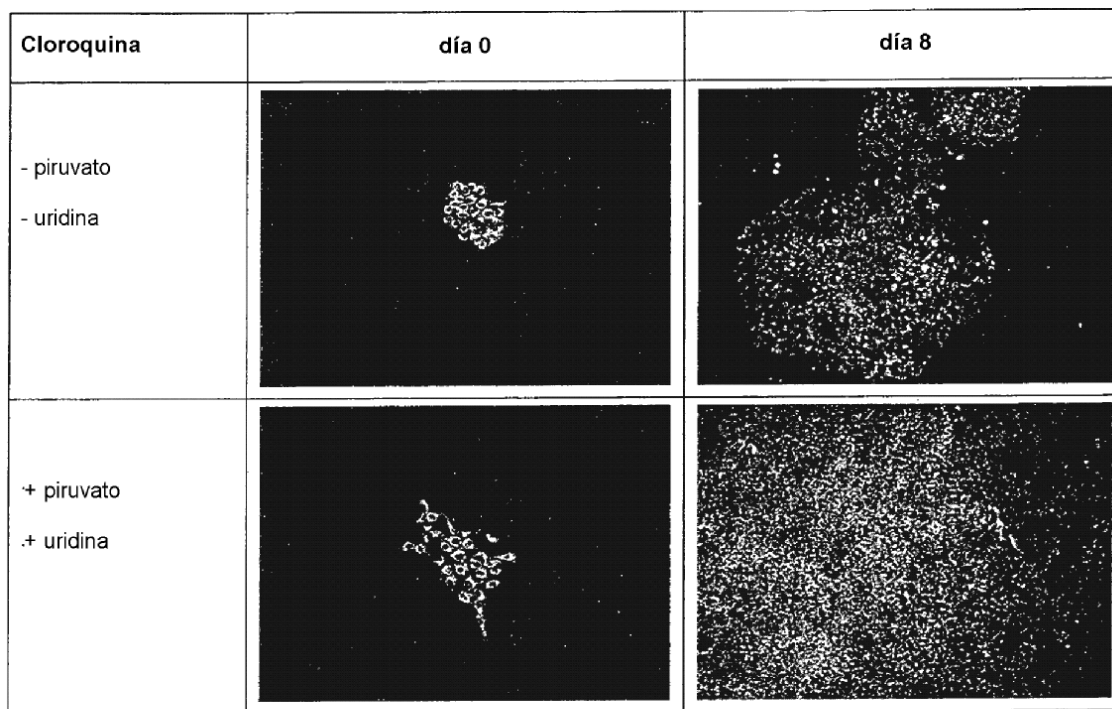


Figura 5f

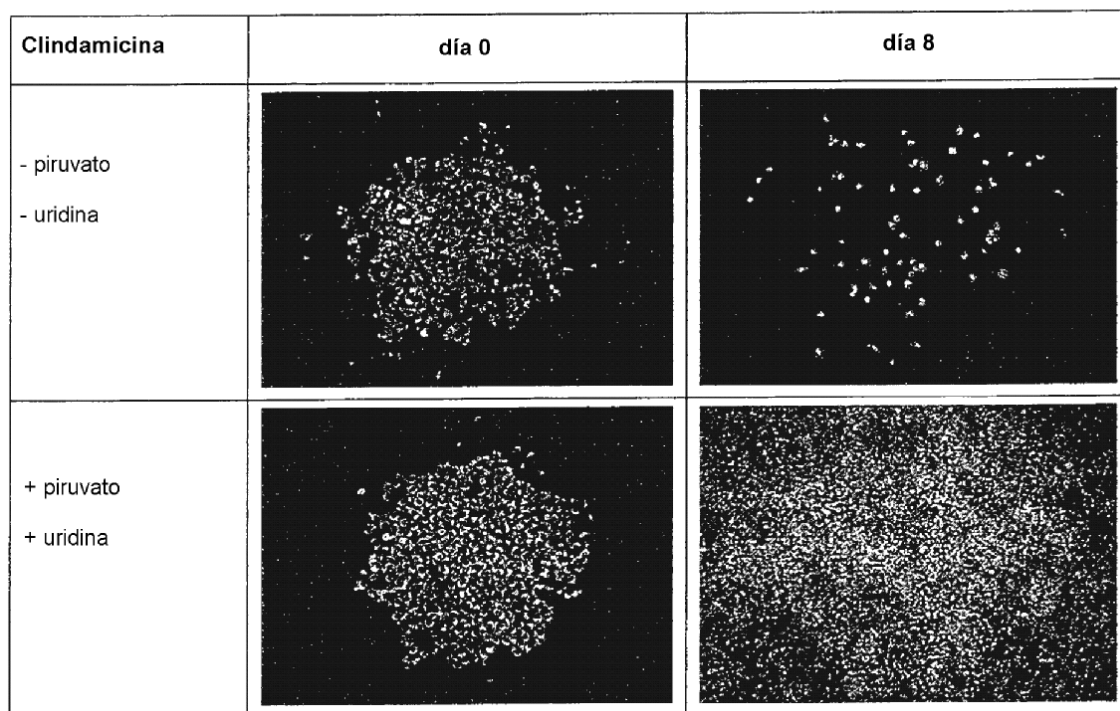
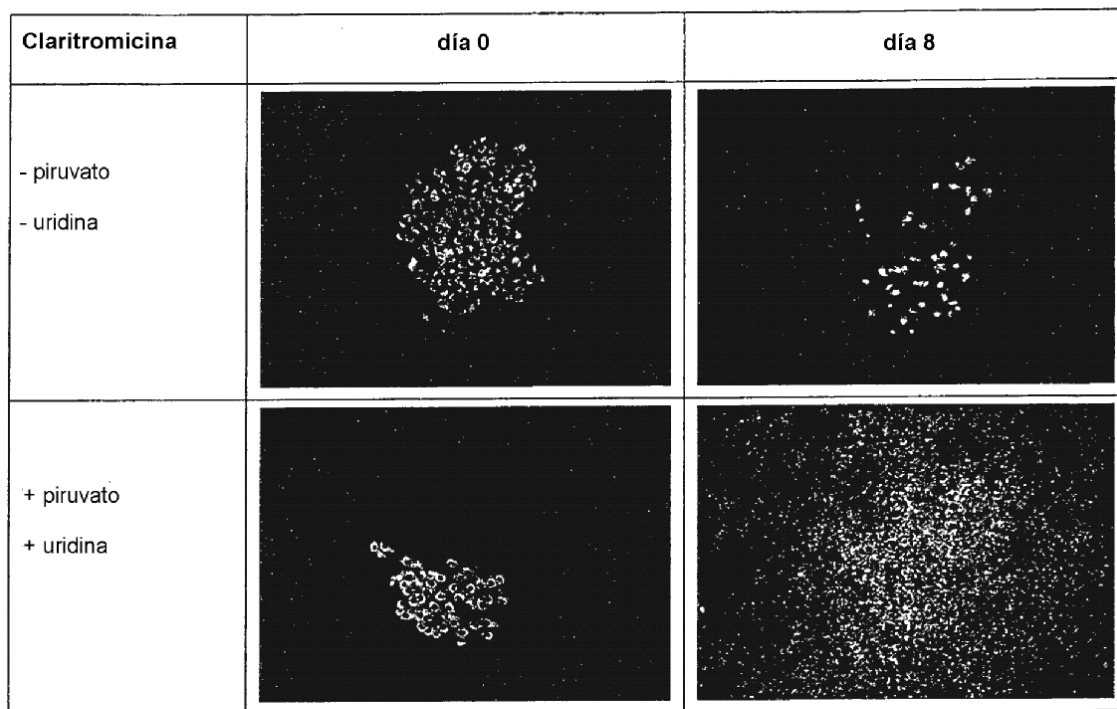


Figura 5g

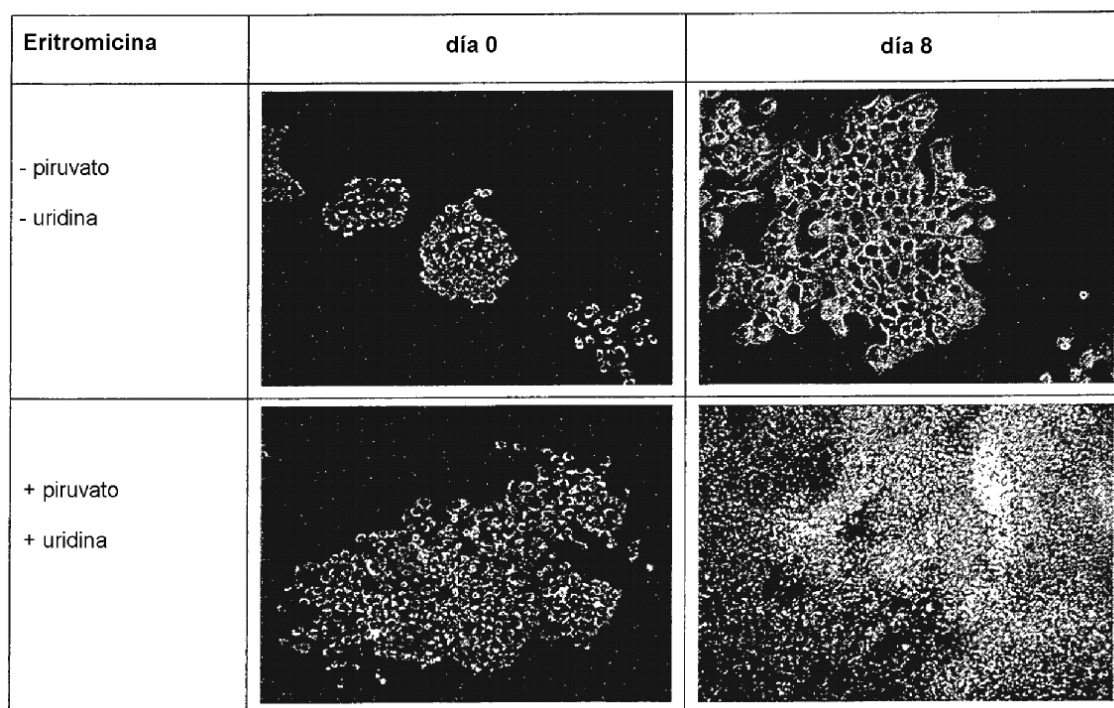
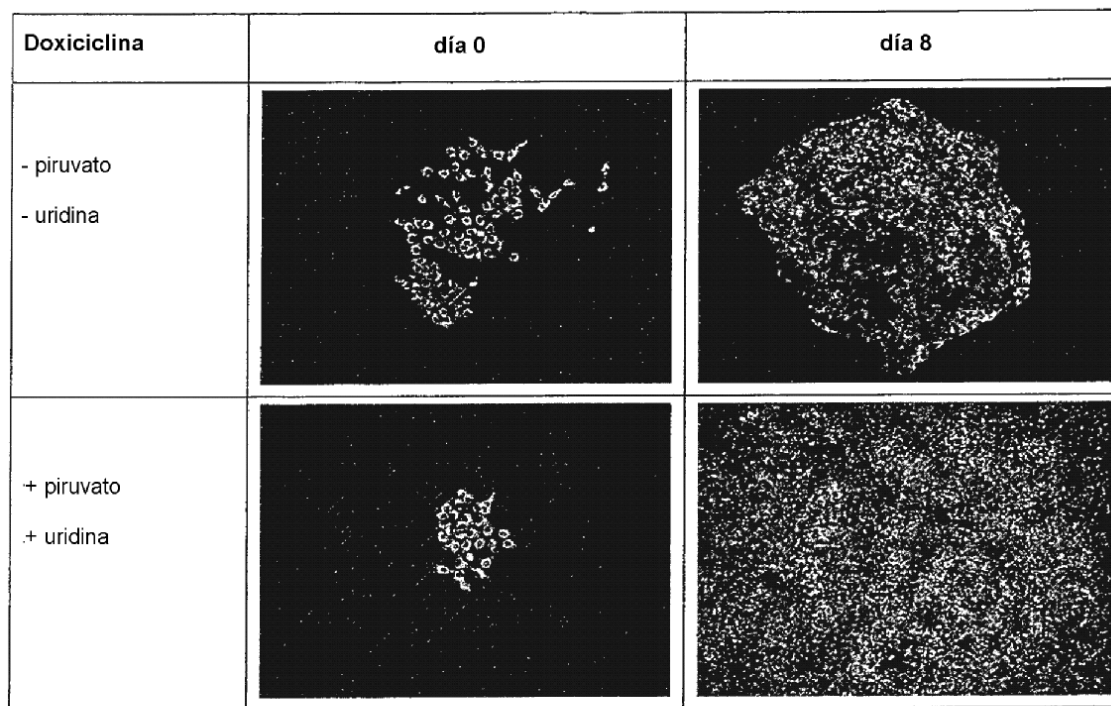


Figura 5h

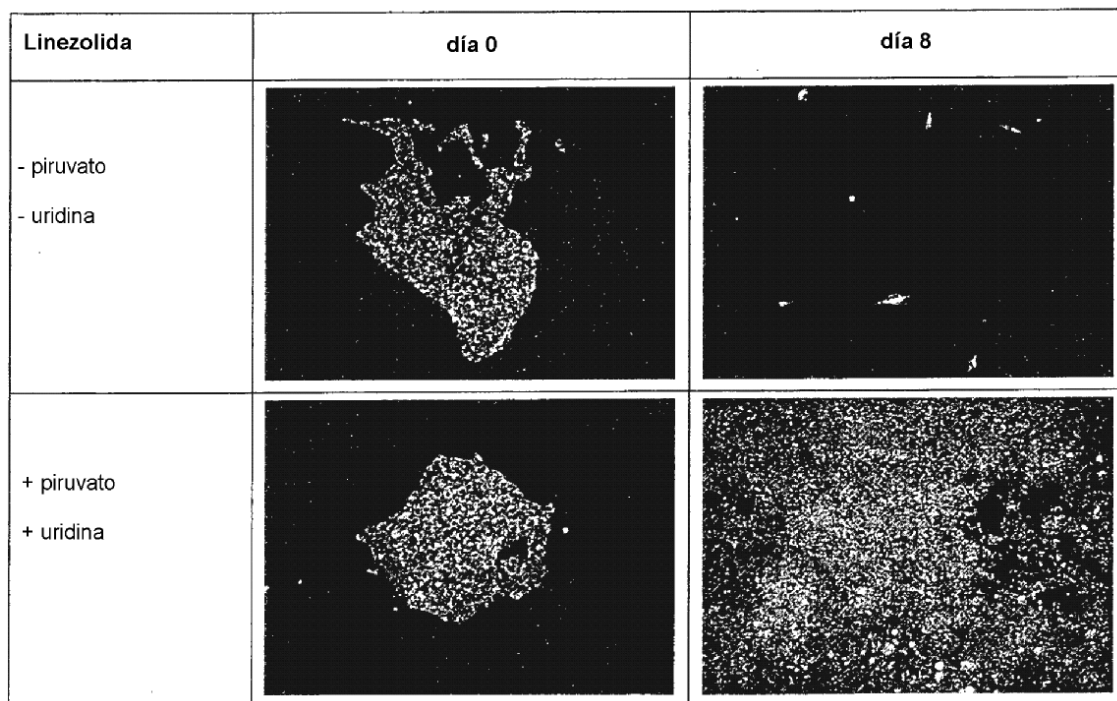
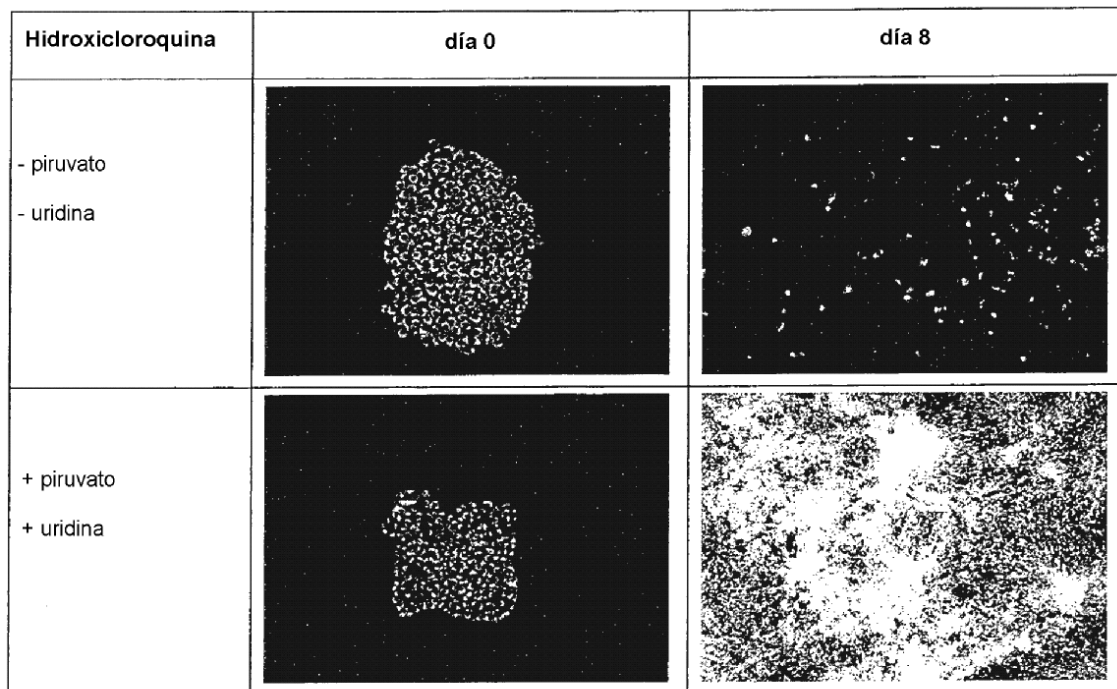


Figura 5i

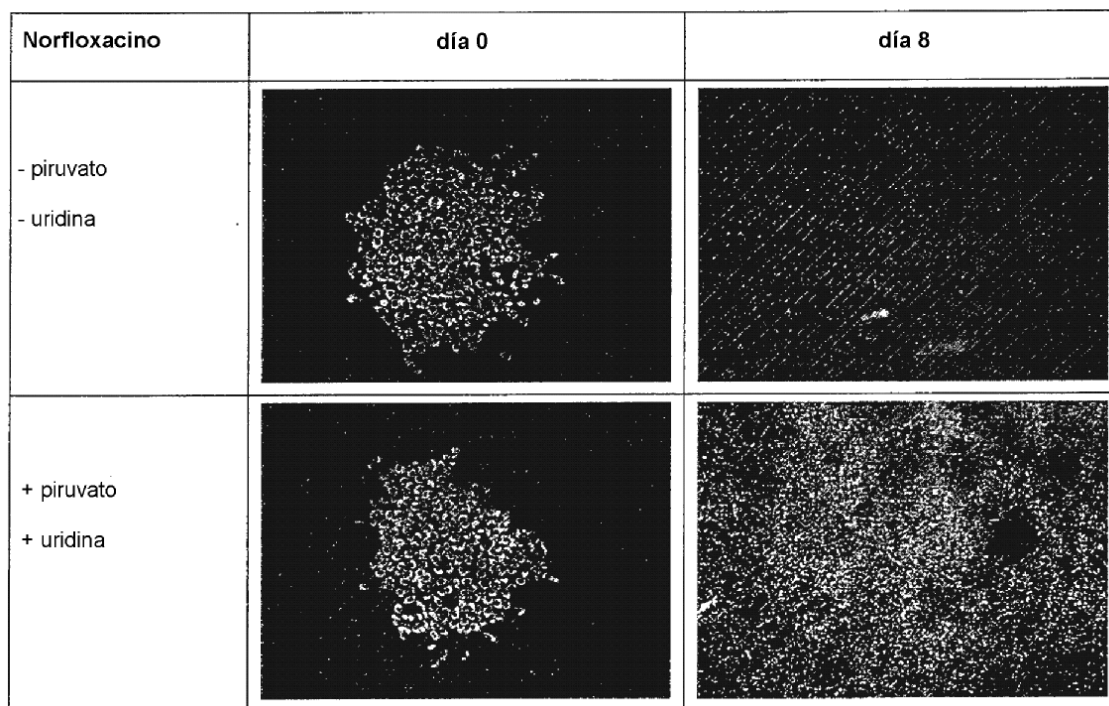
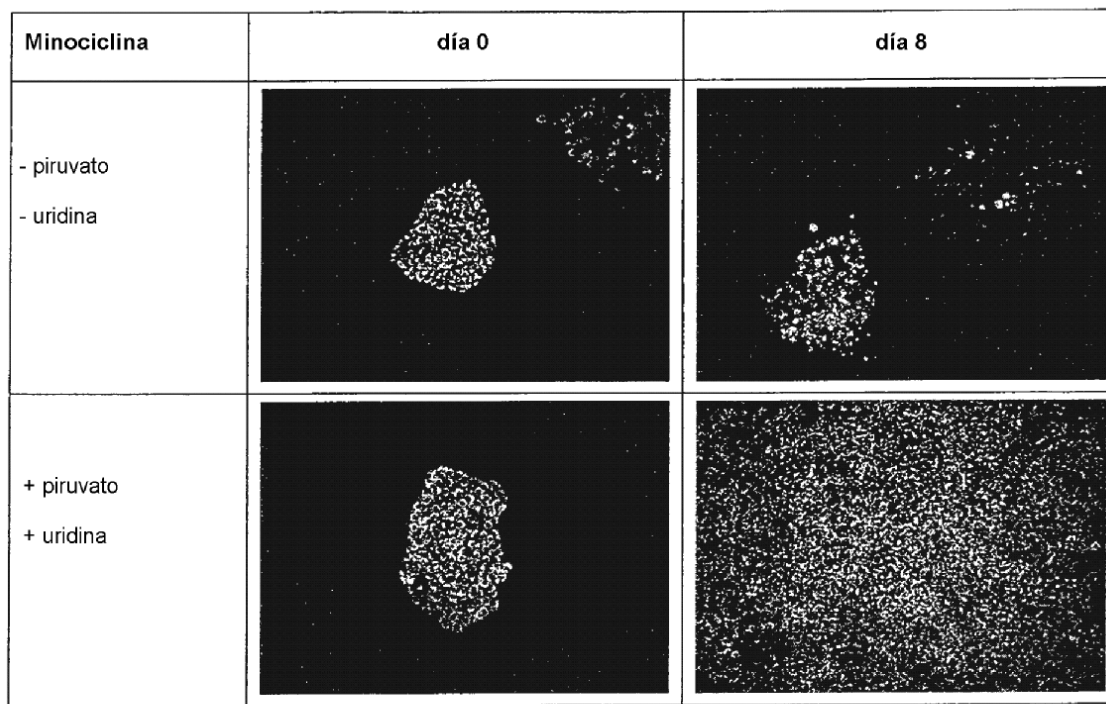


Figura 5j

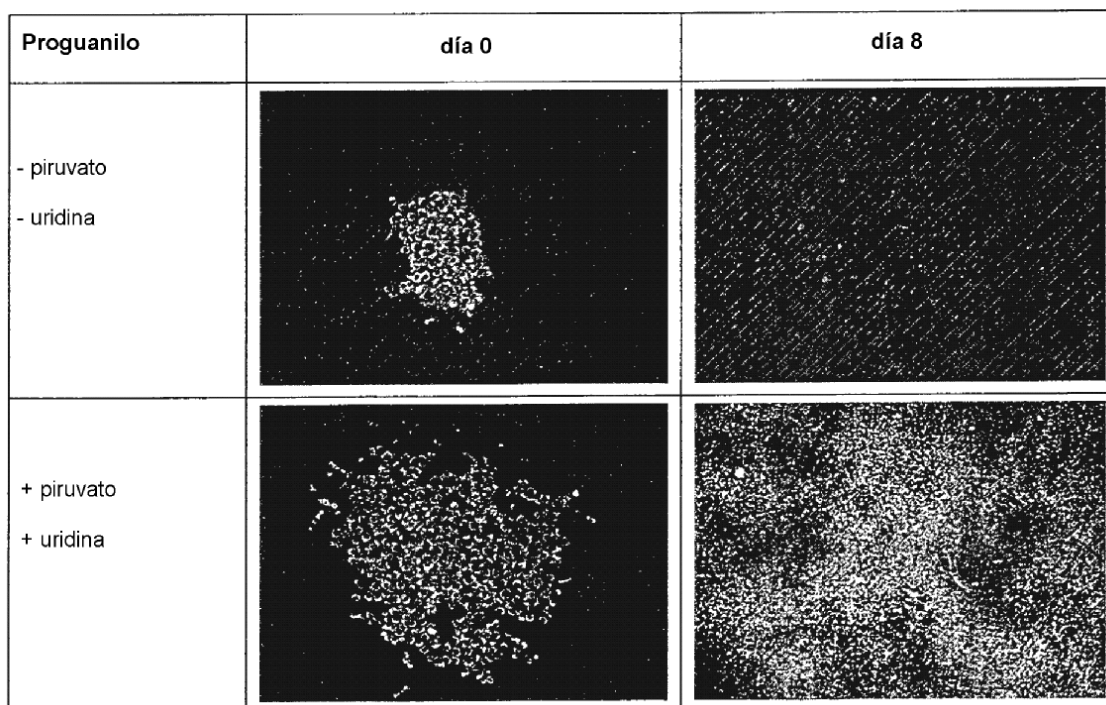
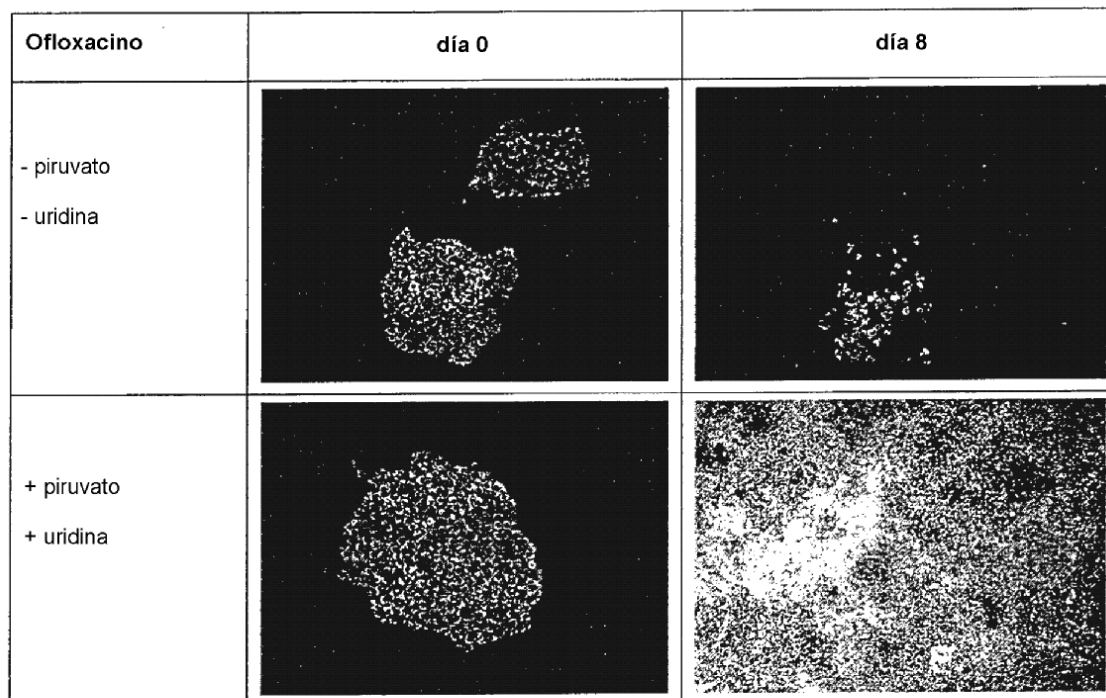


Figura 5k

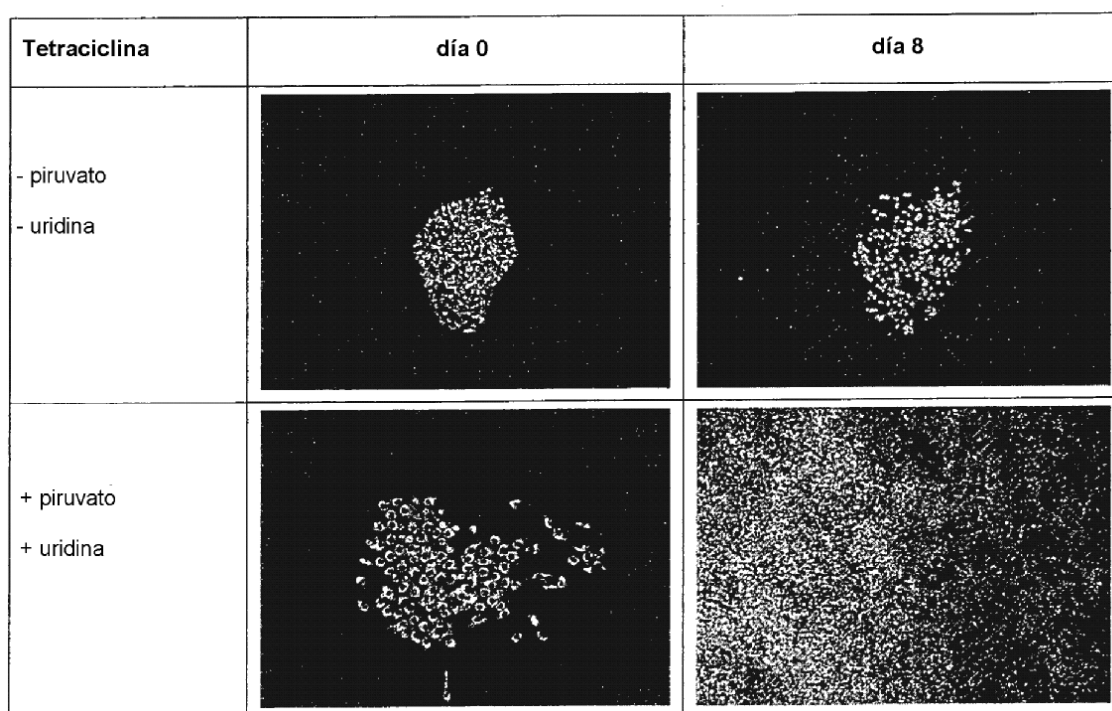
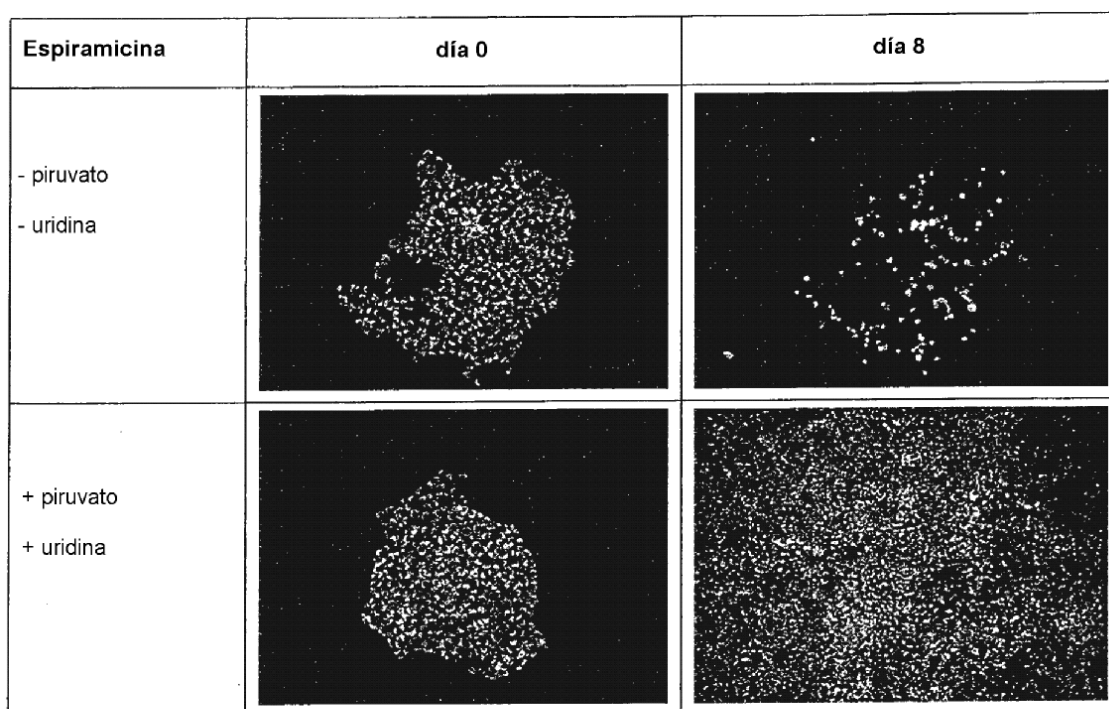


Figura 5I

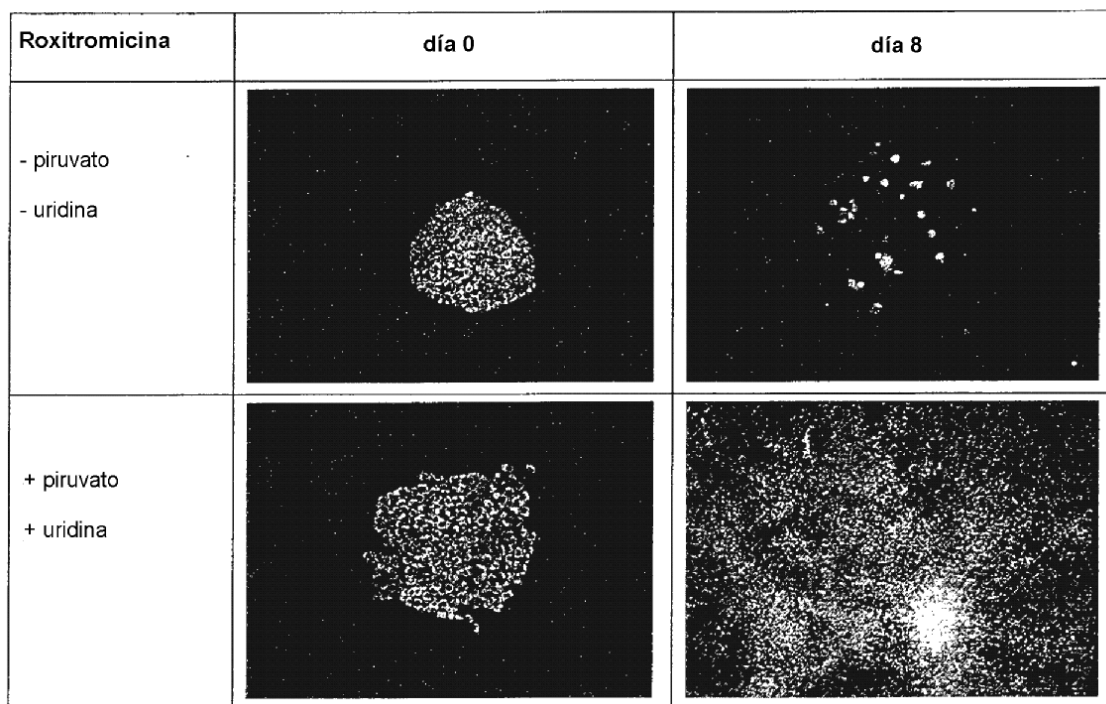
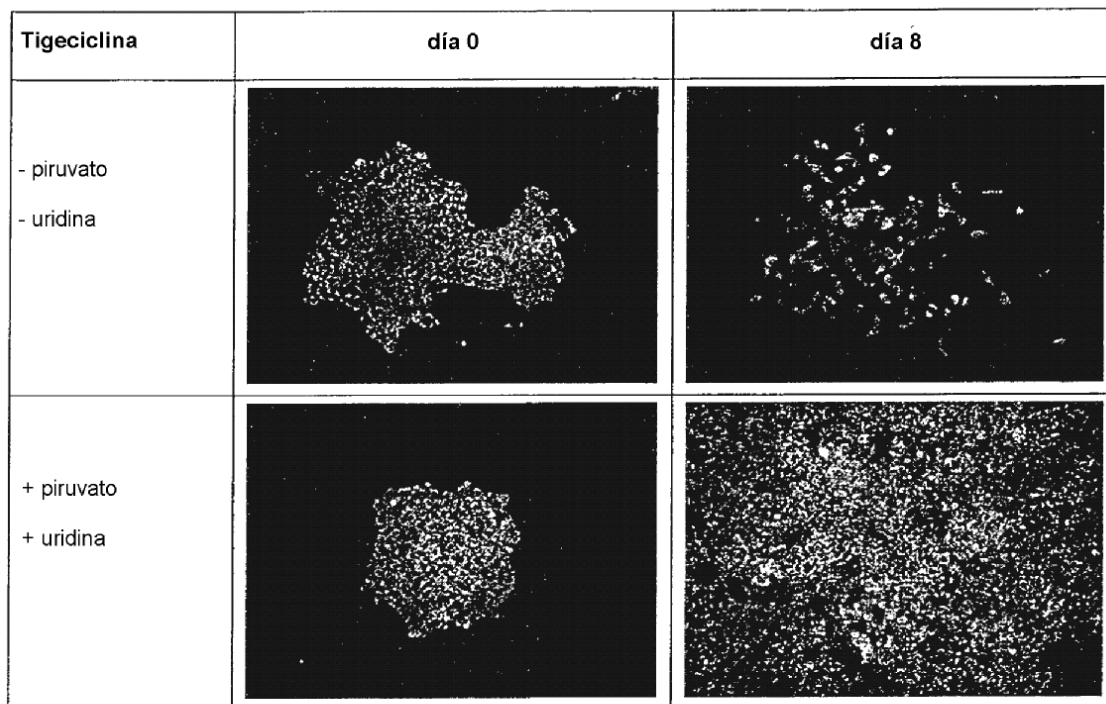


Figura 6a

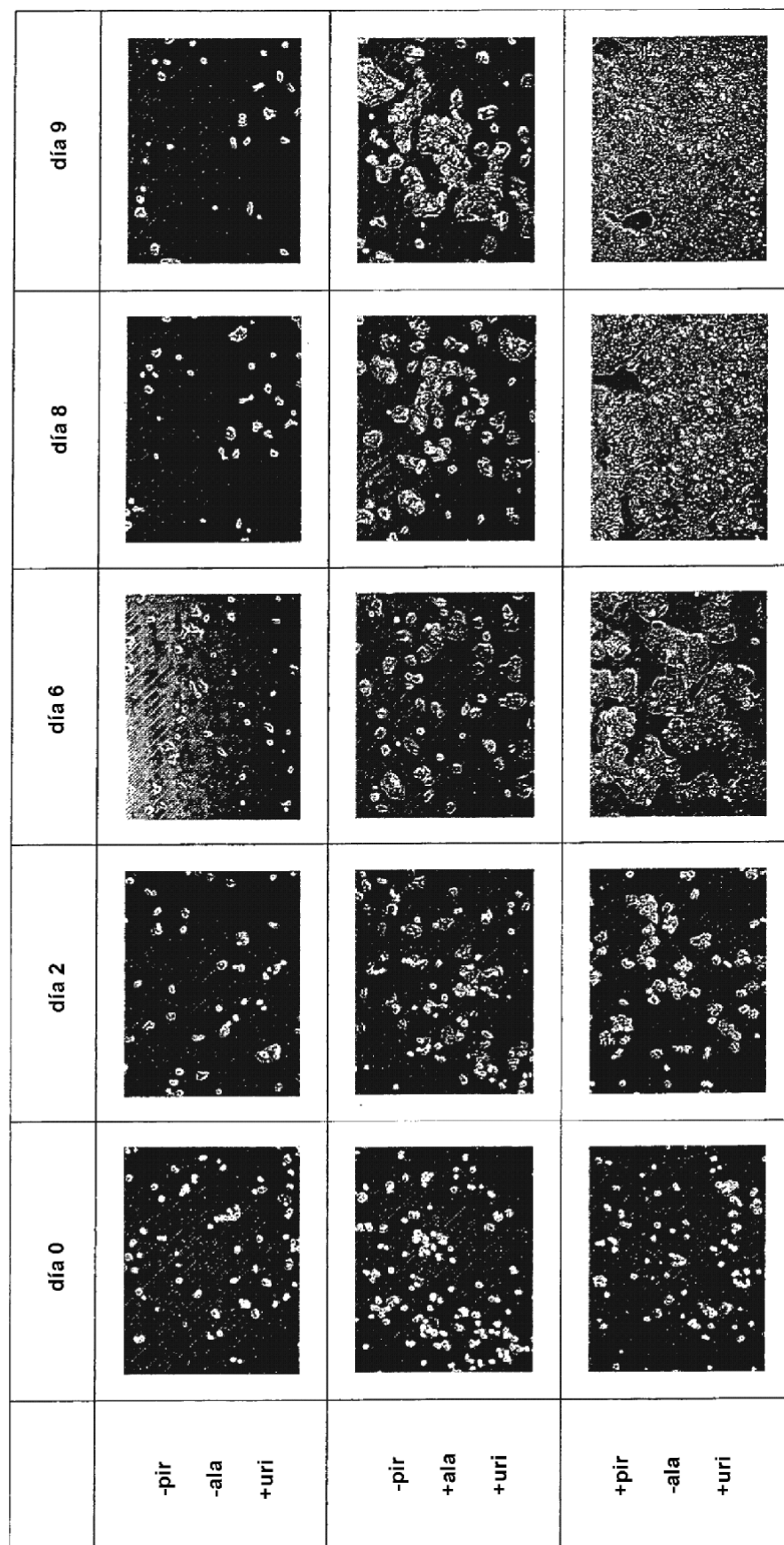


Figura 6b

