

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 254**

51 Int. Cl.:

A61K 31/728 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 13/00 (2006.01)
A61P 15/02 (2006.01)
A61P 27/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2011** **E 11173628 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.02.2018** **EP 2545925**

54 Título: **Composiciones que comprenden ácido hialurónico para tratamiento y prevención de enfermedades relacionadas con las mucosas**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.04.2018

73 Titular/es:

HOLY STONE HEALTHCARE CO., LTD. (100.0%)
1FL., No. 56, Section 2 Huan Shan Road Neihu
District
Taipei City, TW

72 Inventor/es:

LIN, SHYH-SHYAN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 665 254 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 que comprenden ácido hialurónico para tratamiento y prevención de enfermedades relacionadas con las mucosas.

5 La presente invención proporciona una composición de ácidos hialurónicos para su uso en tratamiento y prevención de un trastorno o enfermedad relacionada con las mucosas, en donde la enfermedad o trastorno relacionado con las mucosas es rinitis alérgica o bronquitis.

10 El ácido hialurónico, también conocido como hialuronano, hialuronato e hialuronato de sodio, generalmente se refiere como HA (del inglés "Hyaluronic Acid"), el cual es una macromolécula de glucosaminoglicano natural que incluye disacáridos compuestos de la N-acetil-D-glucosamina alternativa y ácido D-glucurónico unidos por los enlaces glucosídicos alternativos β -1,3 y β -1,4. El HA encontrado en la naturaleza con un peso molecular (PM) entre 50.000 Dalton (Da) y unos pocos millones de Dalton normalmente tiene alta viscosidad.

15 El HA encontrado en la naturaleza es el fluido con elasticidad, que rellena entre las células y las fibras de colágeno y que cubre algunos tejidos epidérmicos, principalmente para la protección y la lubricación de células, para proporcionar una plataforma para transportar el linfocito T regulador, y también para estabilizar la red de colágeno y proteger la red de colágeno del daño mecánico. El HA también es un lubricante principal en el tendón y el recubrimiento del tendón y sobre la superficie de la membrana sinovial debido a su característica lubricante y que es un absorbente de choque, y el HA es útil para los mecanismos reológicos del tejido, el movimiento y la proliferación celular (en referencia a Delpech, B. et al., 1997, "Hyaluronan: fundamental principles and applications in cancer". *J. Intern. Med.* 242, 41-48), y participa en la interacción del receptor sobre la superficie de algunas células, particularmente es el receptor principal de CD44. CD44 se acepta mucho como marcador del linfocito activado (en referencia a Teder P., et al., 2002, "Resolution of lung inflammation by CD44" *Science*, 296:155-158).

25 Recientemente, el HA se aplica en el tratamiento clínico en la forma de sal de sodio principalmente en ojo, piel, ortopedia, cirugía, artritis, tratamiento de arteria y en campos cosméticos. El HA con el ión de metal alcalino, ión de metal alcalinotérreo (por ejemplo, el ión de magnesio), ión de aluminio, ión de amonio, y la forma de sal de la sustitución del ión de amonio puede ser el vehículo para ayudar a la absorción del fármaco (en referencia a la Patente de Bélgica 904.547). La sal de plata se usa como el micocida y la sal de oro se usa para tratar la artritis reumatoide entre la sal de metal pesado del HA (en referencia al documento WO 87/05517).

30 El documento de Patente americana 5.888.986 describe un método y la estructura relacionada para usar HA a una concentración eficaz para tratar cistitis, en donde el PM promedio del HA es más de 200.000 Da. Solamente hay una especie de HA con un cierto PM que se aplica en su realización. Por ejemplo, el HA con el peso molecular promedio de 650 kDa o 1.900 kDa se usa para tratar la cistitis; sin embargo, la especie única de HA con el cierto peso molecular promedio no se pueden usar para tanto el tratamiento rápido como el efecto sostenido. La solicitud de patente americana 2005/0080037 describe el uso de HA para tratar esguince grave y de sobrecarga y su reacción, en donde el PM del HA está solamente entre 900 kDa y 1.200 kDa, y la especie única de HA con el cierto PM 35 promedio no pueden realizar tanto la rápida curación como la acción prolongada.

40 La Patente americana 7.354.910 describe que el ácido hialurónico y el hialuronato con PM entre 600 kDa y 1.200 kDa se pueden emplear para tratar la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Sin embargo, el ácido hialurónico y el hialuronato con simplemente un peso molecular promedio no podrían cubrir tanto las funciones inmediatas como sostenidas en el efecto del tratamiento después de ser inyectado en el paciente, por lo tanto, es muy inconveniente clínicamente para los pacientes.

La patente europea 1369119 describe el uso de HA para tratar enfermedad autoinmune con HA con PM de 0,6 MDa a 3 MDa. Sin embargo, la patente de referencia solamente usa una especie de HA con un cierto peso molecular promedio, careciendo tanto de efectos rápidos como de a largo plazo simultáneamente.

45 Una mezcla de ácidos hialurónicos para tratar y prevenir enfermedad inflamatoria intestinal se describe en el documento EP 2 292 243 A1. Además, el documento EP 2 289 522 A1 describe una mezcla de ácidos hialurónicos para tratar y prevenir úlcera péptica y úlcera duodenal.

El documento EP 2 543 357 A1, el cual ha sido publicado después de la fecha de presentación de la presente invención, describe composiciones que comprenden una mezcla de ácido hialurónico y un fármaco entre otros para su uso en el tratamiento de rinitis aguda o bronquitis.

50 El documento WO 97/03699 hace referencia al uso de un ácido hialurónico y un AINE en el tratamiento de enfermedades de la mucosa aparte de rinitis alérgica o bronquitis. También no enseña una mezcla de ácidos hialurónicos.

El documento EP1 407 776 A1 describe una preparación farmacéutica que comprende como principio activo una mezcla coloidal de ácidos hialurónicos de diferente peso molecular.

55 Las membranas mucosas (o mucosas; singular mucosa) son revestimientos en su mayoría de origen endodérmico,

recubiertas en epitelio, e implicadas en la absorción (tracto gastrointestinal) y la secreción (tracto gastrointestinal y respiratorio).

5 Las cavidades en línea que se exponen al ambiente externo y órganos internos y contiguas con la piel en diversas áreas del cuerpo: en las fosas nasales, la boca, los labios, los párpados, los oídos, el área genital, y el ano. El fluido espeso y pegajoso secretado por las membranas mucosas y las glándulas se califican moco. El término membrana mucosa se refiere en donde se encuentran en el cuerpo y no toda membrana mucosa secreta moco.

Ojo

10 Conjuntivitis se refiere a la inflamación de la conjuntiva (la capa más externa del ojo y la superficie interna de las pestañas). Es lo más comúnmente debido a una infección o una reacción alérgica (en referencia a Richards A., mayo de 2010. "Conjunctivitis". *Pediatr. Rev.* 31(5):196-208).

Oído

Otitis es un término general para la inflamación o infección del oído, en seres humanos como otros animales. Se subdivide en: Otitis externa que implica el oído externo y el canal auditivo; otitis media que implica el oído medio; otitis interna que implica el oído interno.

15 Rinitis alérgica

La rinitis se define como la inflamación de las membranas nasales y se caracteriza por un complejo de síntomas que consiste en cualquier combinación de lo siguiente: estornudos, congestión nasal, picor nasal y rinorrea. Los ojos, oídos, senos y garganta también pueden estar implicados. La rinitis alérgica es la causa más común de rinitis y afecta aproximadamente al 20 % de la población. Aunque la rinitis alérgica no es una afección que ponga en peligro la vida, se pueden dar complicaciones y la afección puede alterar significativamente la calidad de vida, lo cual conduce a un número de costes indirectos (en referencia a Bousquet J. et al., "Allergic rhinitis management pocket reference 2008". *Allergy*, agosto de 2008; 63(8):990-996). La solicitud de patente americana 20050107330 describe una composición farmacéutica para el tratamiento tópico curativo de rinitis que comprende al menos un glucosaminoglicano ácido. Sin embargo, esta invención también contiene al menos un simpatomimético adecuado para la aplicación tópica y que tiene acción vasoconstrictora o acción detumesciente sobre la membrana mucosa o sus sales o derivados fisiológicamente aceptables. Por lo tanto, no se describió o enseñó combinación de HA con dos pesos moleculares promedios diferentes.

Boca

30 La mucosa oral es el epitelio de la membrana mucosa de la boca. Una úlcera oral es una llaga abierta dentro de la boca, o, en casos raros, una rotura en la membrana mucosa o el epitelio en los labios o alrededor de la boca. Los tipos de úlceras son diversos, con una multitud de causas asociadas incluyendo: abrasión física, fruta ácida, infección, otras enfermedades, medicamentos, y procesos cancerosos y no específicos. Una vez formada, la úlcera se puede mantener por inflamación y/o infección secundaria. Dos tipos comunes son las úlceras aftosas ("aftas") y las calenturas (herpes labiales, herpes orales). Las calenturas alrededor del labio están causadas por virus (en referencia a J.M. Casiglia, et al., octubre de 2006. "Aphthous stomatitis". *Emedecine* (página web).

Bronquitis

40 Bronquitis es la inflamación de las membranas mucosas de los bronquios, las vías respiratorias que llevan el flujo de aire desde la tráquea a dentro de los pulmones. La bronquitis se puede dividir en dos categorías, aguda y crónica, cada una de la cual tiene etiologías, patologías y terapias únicas. La bronquitis aguda con frecuencia se da durante el transcurso de una enfermedad viral aguda tal como el resfriado común o la gripe. La bronquitis crónica se desarrolla con mayor frecuencia debido a la lesión recurrente a las vías respiratorias causada por irritantes inhalados. Fumar cigarrillo es la causa más común, seguido de la contaminación aérea y la exposición laboral a irritantes (Cohen, Jonathan y William Powderly. "Infectious Diseases". 2º ed. Mosby (Elsevier), 2004. "Capítulo 33: Bronchitis, Bronchiectasis, and Cystic Fibrosis"). La solicitud de patente americana 20030171332 describe un método de tratamiento de afecciones respiratorias por un polisacárido capaz de unir CD44. Sin embargo, solamente una única especie de HA puede estar implicada.

Mucosa gastrointestinal

50 La mucosa es la capa más interna de la pared gastrointestinal que está alrededor del lumen, o espacio abierto dentro del conducto. Esta capa entra en directo contacto con el bolo alimenticio, y es responsable de la absorción, digestión y secreción que son los procesos importantes en la digestión.

Las mucosas están altamente especializadas en cada órgano del tracto gastrointestinal, enfrentándose a un bajo pH en el estómago, absorbiendo una multitud de diferentes sustancias en el intestino delgado, y también absorbiendo cantidades específicas de agua en el intestino grueso. Reflejando las necesidades variantes de estos órganos, la estructura de la mucosa puede consistir en invaginaciones de glándulas secretoras (por ejemplo, fositas gástricas), o

se puede plegar para incrementar el área superficial.

La mucosa gastrointestinal forma una barrera entre el cuerpo y un ambiente luminal que no solamente contiene nutrientes, sino está cargado con microorganismos potencialmente hostiles y toxinas. El reto es permitir el transporte eficaz de nutrientes a través del epitelio mientras se excluye rigurosamente el paso de moléculas y organismos dañinos dentro del animal. Las propiedades exclusivistas de la mucosa gástrica e intestinal se refieren como la "barrera gastrointestinal". En general, las toxinas y los microorganismos que son capaces de infiltrar la capa sencilla de células epiteliales tienen acceso sin obstáculos a la circulación sistémica.

La enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE) es síntoma crónico o daño mucoso causado por el ácido gástrico que surge del estómago a dentro del esófago. Un síntoma típico es la acidez. La ERGE normalmente está causada por cambios en la barrera entre el estómago y el esófago, incluyendo relajación anormal del esfínter esofágico inferior, el cual normalmente mantiene la parte superior del estómago cerrada; expulsión alterada del reflujo gástrico desde el esófago, o una hernia de hiato. Estos cambios pueden ser permanentes o temporales ("transitorios") (en referencia a DeVault K.R., 1999. "Updated guidelines for the diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology". *Am. J. Gastroenterol* 94 (6):1.434-42).

Úlcera péptica

Como generalmente se conoce una úlcera péptica y también conocida como EUP o enfermedad de úlcera péptica, la úlcera péptica es una úlcera (definida como erosiones de la mucosa iguales a o mayores que 0,5 cm) de un área del tracto gastrointestinal que normalmente es ácido y, por tanto, causa dolor extremo. Casi el 70 al 90 % de las úlceras están asociadas a *Helicobacter pylori*, una bacteria con forma espiral que vive en el ambiente ácido del estómago. Las úlceras también pueden estar causadas o empeoradas por fármacos tales como aspirina, Plavix (clopidogrel), ibuprofeno, y otros AINE (fármacos antiinflamatorios no esteroides).

En contra de la creencia general, las úlceras pépticas surgen más en el duodeno (la primera parte del intestino delgado, justo después del estómago) en vez de en el estómago. Aproximadamente el 4 % de las úlceras de estómago están causadas por un tumor maligno, por tanto, son necesarias biopsias múltiples para excluir cáncer. Las úlceras duodenales generalmente son benignas. La clasificación de la úlcera péptica por región o localización incluye: Estómago (denominada úlcera gástrica); Duodeno (denominada úlcera duodenal); Esófago (denominada úlcera esofágica); Divertículo de Meckel (denominada úlcera de divertículo de Meckel).

Todas las anteriores realizaciones se presentan para trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa pero no se limitan a las anteriormente mencionadas. Hasta ahora los trastornos o enfermedades descritas se pueden tratar por diferentes fármacos o terapias. Sin embargo, tales tratamientos se consiguen mayormente por fármaco con composición complicada a través de procesos de preparación altamente especializados y no por un tratamiento simple y seguro. No hay técnica anterior excepto que el inventor de la presente invención enseñó o predijo la combinación de dos especies de HA con dos pesos moleculares promedios diferentes (LMWHA y HMWHA) separados por 1,5 millones de Da, lo cual significa que un experto en la técnica no puede inducir el concepto de la utilidad de la mezcla mediante la combinación de cualesquiera otras técnicas anteriores.

Para superar los defectos, en la presente memoria se describe un método de tratamiento de trastorno relacionado con la mucosa mediante la administración a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de una mezcla de ácido hialurónico que comprende dos composiciones de ácido hialurónico para mitigar o evitar los problemas anteriormente mencionados.

Un objeto de la presente invención es usar la actividad biológica de dos especies de ácidos hialurónicos con diferentes pesos moleculares promedios o su sal farmacéuticamente aceptable para tratar el trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa. El ácido hialurónico de bajo peso molecular promedio (LMWHA del inglés "low average molecular weight hyaluronic acid") y el ácido hialurónico de alto peso molecular promedio (HMWHA del inglés "high average molecular weight hyaluronic acid") tienen diferente viscosidad, función de aislamiento y tasas de degradación. El ácido hialurónico con un PM promedio menor que 1,5 millones de Da se clasifica como LMWHA, y el ácido hialurónico con un PM promedio mayor que 1,5 millones de Da se clasifica como HMWHA. Por tanto, la mezcla de LMWHA y HMWHA puede formar una composición deseada, en donde el LMWHA puede cubrir rápidamente la superficie inflamatoria para tratar y prevenir el trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa, que es según la presente invención rinitis alérgica o bronquitis, y el HMWHA puede prolongar la degradación para conseguir un periodo eficaz más largo. Así, se puede conseguir un tratamiento más rápido y un efecto de liberación sostenida.

Por consiguiente, la presente invención proporciona una composición para su uso sobre un mamífero o un ser humano en el tratamiento o la prevención de un trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa según la reivindicación 1.

Las realizaciones preferidas se enumeran en las reivindicaciones dependientes.

Otros objetivos, ventajas y características novedosas de la invención llegarán a estar más claras a partir de la

siguiente descripción detallada cuando se toman junto con los dibujos acompañantes.

En los dibujos

La Figura 1 muestra la estructura química general del ácido hialurónico;

5 La Figura 2 muestra el tiempo de retención de los HA por el diagrama de GPC, en donde el eje vertical representa el tiempo de retención en GPC, y el eje horizontal representa el tiempo de degradación de HA en una solución que contiene HAasa;

La Figura 3 muestra el tiempo de retención de los HA por el diagrama de GPC, en donde el eje vertical representa el tiempo de retención en GPC, y el eje horizontal representa el tiempo de degradación de HA en jugo gástrico artificial;

La Figura 4 muestra la afinidad de los HA mediante el índice fluorescente en tejidos de colon normales y lesionados;

10 La Figura 5A muestra los efectos de dos categorías de HA sobre el tratamiento de colitis (dicho tratamiento no es según la presente invención) indicados por el peso corporal promedio de ratas durante los días de ensayo 1 a 9;

La Figura 5B muestra los efectos de dos categorías de HA sobre el tratamiento de colitis (dicho tratamiento no es según la presente invención) indicados por el peso corporal promedio de ratas durante los días de ensayo 1 a 14; y

15 La Figura 6 muestra el efecto de la muestra de HA sobre el frotamiento nasal inducido por ovoalbúmina (10 μ /10 μ /fosa nasal) en ratas, demostrando que se observó diferencia significativa entre el grupo HA y el grupo control el día 28 (D28) (* $p < 0,05$).

20 El supuesto de la presente invención está introducido en el prólogo de la degradación del ácido hialurónico (HA) por hialuronidasa (HAasa). El HA lineal (LMWHA) o globular (HMWHA) se degrada en pequeños fragmentos considerando que el HA globular puede compensar el lineal para contribuir al efecto de tratamiento para prolongar el tiempo de acción. Se ha sabido bien que la actividad de la HAasa se puede usar como un marcador de la inflamación como se informa a continuación. Por consiguiente, la combinación de HA de peso molecular (PM) promedio bajo y promedio alto se utiliza para proceder con el efecto de tratamiento acompañado por acción a largo plazo. Por lo tanto, la pérdida de HA más corto puede dar como resultado proporcionado sostenido curación de herida continua o proporcionar una barrera suave para aislar un tejido protegido del daño. Más adelante en la presente memoria

25 estará la descripción detallada del supuesto.

La composición para su uso de acuerdo con la presente invención comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una mezcla de HA que incluye un ácido hialurónico de bajo peso molecular promedio (LMWHA) y un ácido hialurónico de alto peso molecular promedio (HMWHA). El HA de bajo PM promedio se basa en sus unidades de disacáridos repetidas para formar una estructura lineal (Fig. 1); sin embargo, en el HA de alto PM promedio, por la

30 reacción de ácido hialurónico con una amina, se cree que los grupos carboxílicos de la macromolécula de ácido hialurónico lineal reaccionan con las di/tri/poli aminas para formar un enlace amida y formar un puente inter- o intramolecular. Debido a esta reacción, la estructura del ácido hialurónico enfriado de partida se transforma en una nanopartícula esférica globular (documento de Patente americana N.º 7.879.818). Diferentes pesos moleculares tienen diferente reología, adhesión, funciones de andamiaje de tejido y degradación en la solución y, por lo tanto, la

35 mezcla de ácido hialurónico puede equilibrar el efecto del fármaco y la tasa de degradación para tratar y prevenir el trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa, así como para conseguir un efecto de tratamiento apropiado y prolongado.

Tranchepain F. et al. describe que HA tiene diferentes funciones biológicas según su masa molar. Físicoquímicamente, los estudios de hidrólisis de HA nativo catalizada por HAasa testicular bovina han sugerido que los parámetros cinéticos dependen de la larga cadena de HA. La hidrólisis de HA catalizada por HAasa se usó en un nuevo procedimiento para obtener fragmentos de HA de diferentes masas molares (Tranchepain F. et al., "A complete set of hyaluronan fragments obtained from hydrolysis catalyzed by hyaluronidase: Application to studies of hyaluronan mass distribution by simple HPLC devices". *Anal Biochem.* 15 de enero de 2006; 348(2):232-42). Igualmente, el mismo grupo de investigación también describe que HA tiene diversas funciones biológicas que son fuertemente dependientes de su longitud de cadena. La hidrólisis de HA catalizada por HAasa se cree que está implicada en el control del equilibrio entre las cadenas de HA más largas y las más cortas. Las cadenas de HA más cortas parecen ser demasiado cortas para formar un complejo estable y las cadenas de HA más largas también encuentran dificultades en la formación de un complejo, probablemente debido al obstáculo estérico.

Diversos informes describen que la HAasa está implicada en la inflamación. La actividad de la HAasa del líquido sinovial (LS) se podría usar como marcador de la inflamación sinovial (Nagaya H. et al., "Examination of synovial fluid and serum HAase activity as a joint marker in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients". *Ann. Rheum Dis.*, 1999, 58(3):186-8). HA es un componente principal de la matriz extracelular del ligamento periodontal (LPD) que contribuye a la integridad estructural y funcional. HA contribuye al efecto tampón del LPD durante la masticación, y también son importantes en la curación de inflamación y de herida. El estudio sugiere que el fibroblasto de LPD expresa HAasa y genera actividad de HAasa esencial para el metabolismo de HA extracelular bajo condiciones fisiológicas e inflamatorias (Ohno S. et al., "Expression and activity of hyaluronidase in human periodontal ligament

fibroblasts". *J. Periodontol*, 2002, 73(11):1.331-7). Los fragmentos de HA cortos catalizados por HAasa están implicados en los procesos de inflamación y angiogénesis, mientras que el HA nativo no lo está (Tranchepain F. et al., *Supra*).

5 De acuerdo con la presente descripción HA con un peso molecular promedio menor que 1,5 millones de Da se clasifica como LMWHA, el intervalo preferido del peso molecular promedio está entre 50 kilo Da y 1,5 millones de Da, intervalo más preferido del peso molecular promedio está entre 0,1 millones y 1,5 millones de Da y el intervalo más preferido del peso molecular promedio está entre 0,1 millones y 0,5 millones de Da. El HA con un peso molecular promedio mayor que 1,5 millones de Da se clasifica como HMWHA, el intervalo preferido del peso molecular promedio está entre 1,5 millones y 5 millones de Da, y el intervalo más preferido del peso molecular promedio está entre 1,5 millones y 2,5 millones de Da. Cuando la composición que contiene una mezcla de LMWHA y HMWHA se administra a un sujeto en necesidad de la misma, el LMWHA cubre rápidamente la parte inflamatoria para tratar y prevenir el trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa, mientras tanto el HMWHA prolonga el efecto de tratamiento del LMWHA. Así, el tratamiento se consigue rápidamente y el efecto de liberación se mantiene. La estructura química general del HA se puede ilustrar como en la Fig. 1.

15 Las especies de HA no solamente se están mostrando como PM sino también como viscosidad intrínseca (η) que está directamente relacionada con el PM de un polímero a través de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (MHS): $[\eta]=K M^{\alpha}$. Para el ácido hialurónico, K es 0,00057 y el α exponente es 0,75 en las siguientes condiciones: NaCl 0,15 M en tampón fosfato, pH 7,5, 20°C ("Standard Guide for Characterization and Testing of Hyaluronan as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue Engineered Medical Product Applications", Designación ASTM: F 2347-03).

25 En la presente memoria se proporciona resultados que muestran que el HA de alto PM promedio puede compensar el HA de bajo PM promedio incluso bajo la acción de la HAasa (Fig. 2) o jugo gástrico artificial (Fig. 3). Los resultados indican que el HA se puede reponer en la situación en donde HAasa existe o en el ambiente gastrointestinal para mantener un efecto a largo plazo. El tiempo de retención obviamente se incrementó con la degradación incrementada de todos los tres HA bajo HAasa (Fig. 2). El tiempo de retención se incrementó lentamente con la degradación incrementada de todos los tres HA bajo ambiente ácido (Fig. 3). Las situaciones fisiológicas simuladas se usaron para proceder en los parámetros experimentales, pero los ambientes fisiológicos verdaderos son más complicados que pueden causar resultado ligeramente diferente. Sin embargo, la tendencia de la degradación de HA no se cambiará debido a su característica molecular natural que el HA de alto PM promedio puede compensar el HA de bajo PM promedio.

35 Otra realización preferida de la composición para su uso de acuerdo con la presente invención incluye, pero no se limita a, una mezcla 1:1 (p/p) de LMWHA y HMWHA en peso en una forma de sal de HA, y se puede ajustar una realización más preferida de la relación de LMWHA y HMWHA dependiendo del propósito clínico para estar entre 20:80 y 80:20 en peso. La mezcla de HA con una relación superior de LMWHA y HMWHA puede ser más útil en la aceleración del tratamiento; por el contrario, una relación superior de HMWHA y LMWHA puede proporcionar un tiempo de degradación más largo para prolongar el efecto del tratamiento global.

40 El término mucosa usado en la presente memoria en general incluye, pero no se limita a, la mucosa de un ojo, la mucosa de un oído, la mucosa de una nariz, la mucosa de una boca, la mucosa de un tracto respiratorio, la mucosa de un tracto gastrointestinal, la mucosa de un tracto urinario y la mucosa de un tracto genital, mientras que un trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa comprende síntomas de ulceración, reacción inflamatoria, alérgica o sangrado. Un trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa incluye, pero no se limita a, conjuntivitis, otitis, rinitis alérgica, gingivitis, úlcera oral, bronquitis, enfermedad del reflujo gastroesofágico (ERGE), esofagitis, gastritis, enteritis, úlcera péptica, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), síndrome del intestino irritable (SII), uretritis, cistitis y vaginitis, en donde la presente invención como se reivindica en la presente memoria hace referencia a una composición para su uso en el tratamiento o la prevención de rinitis alérgica o bronquitis.

55 El resultado descrito en la presente memoria muestra que los HA con el mismo PM promedio se absorbieron en los tejidos de colon lesionados obviamente más que en los tejidos de colon normales ($P<0,01$, Fig. 4). Comparando las diferencias entre los HA de los tres pesos moleculares promedios absorbidos en los tejidos de colon lesionados, el índice fluorescente de absorción de HA de 350 kDa por los tejidos de colon lesionados era obviamente mayor que los HA de los otros dos pesos moleculares promedios (2.000 kDa y 1.000 kDa). Además, el índice fluorescente de absorción de HA de 1 MDa por tejidos de colon lesionados o incluso normales era mayor que el HA de 2.000 kDa. Este resultado explica el efecto dispersado y cubierto rápido del HA de bajo PM que proporciona curación de herida instantánea y protección del tejido de ser lesionado más. Combinando los datos anteriormente mencionados, la presente invención proporciona un método de tratamiento o prevención rápida y constante del trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa.

60 La composición para su uso de acuerdo con la presente invención incluye además un excipiente para formular una forma farmacéutica de administración para ojo, oído, oral, nariz, tracto respiratorio o uso tópico. La realización preferida de la forma farmacéutica de administración para el uso oral se selecciona del grupo que consiste en forma farmacéutica sólida, solución que incluye, pero no se limita a suspensión, comprimido que incluye, pero no se limita a comprimido de liberación controlada, y cápsula que incluye, pero no se limita a cápsula revestida entérica. La

realización más preferida de la forma farmacéutica sólida se administra oralmente a una dosis de entre 50 mg y 1.000 mg por día. Una forma farmacéutica de administración para el uso en tracto gastrointestinal se selecciona del grupo que consiste en forma farmacéutica sólida, perfusión, enema, supositorio, y solución que incluye, pero no se limita a suspensión. La realización preferida de la forma farmacéutica de administración para el uso tópico se selecciona del grupo que consiste en pulverización, inhalación y gotas.

El tratamiento de rinitis alérgica o bronquitis se puede llevar a cabo administrando la composición de la presente invención como adyuvante usado de forma conjuntiva con un fármaco de antihistamina, antialérgicos, anticongestivos, esteroide o antiasma a un sujeto en necesidad del mismo.

En la presente memoria se describe EII tratada por HA de diferentes relaciones de mezcla en peso, los cuales están indicados por cambios en el peso promedio. En las Figuras 5A y 5B, el grupo A representa una mezcla de HMWHA y LMWHA en una relación de mezcla de 8:2 en peso, mientras que el grupo B representa una mezcla de HMWHA y LMWHA en una relación de mezcla de 1:1 en peso. El grupo C representa un grupo control en que los HA se reemplazaron por tampón PBS. Aunque la significancia estadística solamente se presenta en los días 5 y 6, la importancia de la figura está en la tendencia de cada grupo durante el día 1 al día 14. Con el transcurso de los días, la tendencia muestra que los grupos A y B ambos tenían efecto de alivio sobre colitis, que también pertenece a EII. En los cambios en el peso promedio entre el control (grupo C) y los HA (grupos A y B), el efecto de tratamiento de colitis causa que los pesos corporales promedios del grupo por los HA administrados siguieran siendo mayores que el grupo control durante el periodo experimental global incluso hasta el día de ensayo 14 (Fig. 5A). Curiosamente, la tendencia también indica que el grupo B generalmente tiene un mejor efecto de tratamiento que el del grupo A, lo cual significa que mayor proporción de LMWHA tiene efecto de tratamiento más eficaz. Esto puede apoyar la característica técnica de la presente invención que usa HMWHA para compensar el LMWHA para prolongar el efecto.

La presente invención toma ventaja del frotamiento de nariz como un índice fácil para indicar el síntoma alérgico y el resultado de mejora cuando desciende el número de frotamiento de nariz. El resultado muestra diferencia significativa el día 28 (D28) entre el grupo control (solamente PBS administrado) y el grupo HA, lo cual significa que el síntoma alérgico se ha inducido con éxito (Fig. 6). Aunque el resultado en el día 30 (D30) no tiene diferencia estadísticamente significativa, el síntoma alérgico aún tiene obviamente reducción entre el grupo control y el grupo HA. Por lo tanto, la tendencia de alivio del síntoma alérgico ha sido altamente probado por el resultado de la administración de la mezcla de HA según la presente invención (Fig. 6).

El resultado puede ser ligeramente diferente en diversos experimentos; sin embargo, la tendencia bajo la visión de conjunto de la presente invención se puede deducir a que la composición para su uso según la presente invención tiene la capacidad de mejorar la enfermedad o trastorno relacionado con la mucosa. Para mostrar apropiadamente los resultados, la presente invención se prueba por diversos experimentos relacionados con tiempo de ensayo más corto; sin embargo, en la aplicación real del objetivo de la presente invención en mamíferos sería un plazo más largo que en los experimentos. Por lo tanto, basándose en las teorías y los resultados de la presente invención, el HMWHA de la presente invención será suficiente para sostener un largo plazo que fomenta y/o compensa el efecto de tratamiento instantáneo del LMWHA dentro del cuerpo.

Realización más preferida del sujeto a tratar por la mezcla usada en la presente memoria es mamífero. La realización más preferida del sujeto es el ser humano.

Según la anterior descripción, dos especies de la sal farmacéuticamente aceptable de los ácidos hialurónicos con diferentes pesos moleculares se mezclan para cubrir rápidamente la herida o la superficie inflamatoria y acortar el periodo de tratamiento y prolongar la degradación para prolongar el periodo de cobertura. Así, se consigue un tratamiento más rápido y un efecto de liberación sostenida. La presente invención proporciona un modo más fácil y seguro de tratar los trastornos o enfermedades anteriormente mencionadas y también un modo menos costoso de ayudar a pacientes relacionados proporcionándolos una mejor opción.

Ejemplos

Ejemplo 1: La degradación de HA en 1U/ml de HAasa

Procedimiento:

1. Se añadieron 0,25 g de polvo de hialuronato de sodio de alto peso molecular (HHA; PM: 2 MDa; Freda) y 0,25 g de polvo de hialuronato de sodio de bajo peso molecular (LHA; PM: 0,35 MDa; Freda) en 50 ml de tampón PBS (del inglés "Phosphate buffered saline"; solución salina tamponada con fosfato) respectivamente para formar solución al 0,5 % y, a continuación, se agitó durante 6 horas hasta que se disolvió totalmente el polvo.

2. Se añadieron 0,05 g de polvo de LHA (de sus siglas en inglés) y 0,2 g de polvo de HHA (de sus siglas en inglés) (relación 2:8; polvo de hialuronato de sodio de peso molecular medio, MHA (de sus siglas en inglés)) en 50 ml de tampón PBS y, a continuación, se agitó durante 6 horas hasta que se disolvió totalmente el polvo.

3. Se preparó la solución de la fase móvil del sistema de GPC (del inglés "Gel Permeation Chromatography";

cromatografía de permeación en gel): (1) añadiendo 35,49 g de polvo de Na_2HPO_4 en 450 ml de agua destilada desionizada (agua dd) y agitado durante 30 minutos a temperatura ambiente para formar solución de Na_2HPO_4 0,5 M; y (2) añadiendo 18 g de polvo de NaH_2PO_4 en 250 ml de agua dd y agitado durante 30 minutos a temperatura ambiente para formar solución de NaH_2PO_4 0,5 M.

5 4. Se preparó 1U/ml de HAasa disolviendo polvo de HAasa en tampón PBS a 4 °C.

5. Se mezclaron 2 ml de muestra de HA, 1 ml de 10U/ml de HAasa y 7 ml de tampón PBS durante 3 minutos por vórtex en tubo de vidrio de 15 ml.

10 6. El tubo se agitó por 50 rpm en baño de agua. Se tomó 1 ml de solución después de los 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 minutos y, a continuación, se suministró 1 ml de HAasa en cada momento. Cada 1 ml de solución se filtró a través de filtro de 0,45 μm . Se inyectó 20 μl de solución en el sistema de GPC y, a continuación, se grabó el diagrama.

7. La situación del sistema de GPC era (1) columna: 2x GMPWx1 (TSK-gel); (2) caudal de la fase móvil: 1 ml/min; (3) temperatura: 30 °C.

15 8. Todos los valores en la tabla se expresaron como media de n observaciones. El índice histológico se analizó por la prueba t de Student.

Resultado:

20 La Figura 2 muestra el tiempo de retención de HA mediante el diagrama de GPC. El eje vertical representa el tiempo de retención en GPC, el eje horizontal representa el tiempo de degradación de HA en la solución que contiene HAasa. Las líneas de puntos horizontales de arriba a abajo representan el tiempo de retención de los HA de 2 MDa, 1 MDa, 350 KDa y 17 KDa, respectivamente. El tiempo de retención se incrementó obviamente seguido de la degradación incrementada de todos los tres HA. Después de 15 minutos de degradación, los PM promedios de HHA y MHA se degradaron a aproximadamente 1 MDa. Después de 37 minutos de degradación, los PM promedios de HHA y MHA se degradaron a aproximadamente 350 KDa. Después de 90 minutos de degradación, los pesos moleculares promedios de HHA, MHA y LHA se degradaron de manera que no existía diferencia obvia entre los pesos moleculares promedios, los cuales eran todos mayores que 17 KDa.

Ejemplo 2: La degradación de HA en HCl 0,1 N

Procedimiento:

1. Se prepararon LHA, MHA y HHA igual que en el Ejemplo 1.

2. Se preparó la solución de la fase móvil del sistema de GPC igual que en el Ejemplo 1.

30 3. Se preparó jugo gástrico artificial (HCl 0,1 N) mezclando 5,72 ml de HCl 17,5 N y 90 ml de agua dd y se agitó durante 10 minutos como una solución de reserva.

4. Se mezclaron 2 ml de HHA, MHA y LHA con 8 ml de jugo gástrico artificial, respectivamente en un tubo de vidrio de 15 ml y por vórtex durante 3 minutos.

35 5. El tubo se agitó por 50 rpm en baño de agua a 37 °C. Se tomó 1 ml de solución después de las 6, 12, 24, 48 horas y, a continuación, se administró 1 ml de jugo gástrico artificial en cada momento. Cada 1 ml de solución se filtró a través de filtro de 0,45 μm . Se inyectaron 20 μl de solución en el sistema de GPC y, a continuación, se grabó el diagrama.

6. Todos los valores en la tabla se expresaron como media de n observaciones. El índice histológico se analizó por la prueba t de Student.

40 Resultado:

45 La Figura 3 muestra el tiempo de retención de los HA en el diagrama de GPC. El eje vertical representa el tiempo de retención en GPC, el eje horizontal representa el tiempo de degradación de HA en el jugo gástrico artificial. Las líneas de puntos horizontales de arriba a abajo representan el tiempo de retención de los HA de 2 MDa, 1 MDa, 350 KDa y 17 KDa, respectivamente. El tiempo de retención se incrementó lentamente seguido de la degradación incrementada de todos los tres HA. Después de 7 horas de degradación, los pesos moleculares promedios de HHA y MHA se degradaron a aproximadamente 1 MDa. Después de 31 horas de degradación, los PM promedios de MHA se degradaron a aproximadamente 350 KDa. Después de 35 horas de degradación, los PM promedios de HHA se degradaron a aproximadamente 350 KDa. Los datos anteriormente mencionados todos indican que HA se degradaba lentamente en el jugo gástrico artificial considerando que los pesos moleculares promedios de HHA y MHA eran mayores que 1 MDa después de 6 horas de degradación, y los pesos moleculares promedios de HHA y MHA eran mayores que 350 KDa después de 24 horas de degradación.

Ejemplo 3: La adhesión de HA en el tejido de colon (sistema de imagen IVIS-visión 3)

Procedimiento:

- 5 1. Se prepararon LHA y HHA igual que en el Ejemplo 1. MHA (MHA; PM: 1 MDa; Freda) se añadieron en 50 ml de tampón PBS, y a continuación se agitó durante 6 horas hasta que el polvo se disolvió totalmente y estaba listo para su uso en las siguientes etapas.
 - 10 2. Se preparó HA fluorescente (HA-f) por (1) 0,39 g de ácido libre MES (ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico, Calbiochem) y se disolvió en 100 ml de agua dd. (2) Solución A: se disolvieron 65 mg de polvo de fluoresceinamina, (isómero I, Fluka) en 9 ml de solución de EtOH al 95 % y, a continuación, se agitó durante 10 minutos bajo una condición en la que la luz estaba prohibida. (3) Solución B: se disolvieron 359 mg de polvo de EDC (clorhidrato de N-(3-dimetilamino propil)-N-etil carbodiimida, Sigma) en 9 ml de tampón MES y, a continuación, se agitó durante 10 minutos. (4) Solución C: se disolvió 216 mg de polvo de NHS (N-hidroxisuccinimida, Sigma) en 9 ml de tampón MES y, a continuación, se agitó durante 10 minutos. (5) Se echaron lentamente gota a gota 3 ml de solución A en 50 ml de solución de HA al 0,5 % y, a continuación, se agitó durante 10 minutos bajo una condición en la que la luz estaba prohibida. (6) Se echaron gota a gota de forma separada 3 ml de solución B y 5 ml de solución C en la solución de la etapa (5) y, a continuación, se agitó durante 10 minutos bajo una condición en la que la luz estaba prohibida. (7) Se añadió lentamente tampón MES 0,02 M en la solución de la etapa (6) hasta que el volumen llegó a 100 ml y, a continuación, se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente bajo una condición en la que la luz estaba prohibida. (8) El producto después de la reacción se vertió en un tubo de diálisis (PM: 12.000 a aproximadamente 14.000) en 5 l de agua dd como solución de diálisis y, a continuación, se agitó durante 5 días a 4 °C bajo una condición en la que la luz estaba prohibida con solución de diálisis que se cambiada cada 12 horas hasta que la solución de diálisis no tenía fluorescencia. (9) El líquido después de la diálisis se distribuyó en tubos de centrífuga de plástico de 50 c.c. y, a continuación, se reservaron en nevera a -20 °C durante la noche seguido de secado en una máquina de liofilización bajo una condición en la que la luz estaba prohibida. (10) El polvo de HA-f seco se reservó en nevera a -20 °C. (11) Se añadió lentamente 50 mg de polvo de HA-f en 10 ml de tampón PBS y, a continuación, se agitó durante 6 horas hasta que el polvo se disolvió totalmente.
 - 25 3. Se cortó mediante escalpelo tejido de colon de rata SD (Rata Sprague-Dawley) de 7 a 8 años de vida y, a continuación, se lavó mediante tampón PBS seguido de corte a 3 a 4 cm de longitud con al final remojo en tampón PBS.
 - 30 4. Se preparó tejido de colon lesionado cepillando con cepillo de dientes durante 20 veces longitudinalmente y, a continuación, remojo en tampón PBS.
 5. Los tejidos de colon normales y lesionados se pusieron en una placa de 12 pocillos y, a continuación, se añadió 1 ml de solución de HA-f al 0,5 % en cada pocillo y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. 2 horas después la solución de HA-f excedente se succionó por puntas y, a continuación, se puso en remojo en tampón PBS durante 10 minutos seguido de eliminación de tampón PBS repetidamente durante 3 veces.
 - 35 6. El tejido de colon limpiado se colocó en una placa de 12 pocillos con tejido de revestimiento hacia arriba y, a continuación, se colocó sobre el puerto ("dock") del IVIS (del inglés "*In vivo* Image System"; sistema de imagen *in vivo*, XENOGEN). El parámetro por defecto se estableció como GFP (del inglés "Green Fluorescent Protein"; proteína verde fluorescente) mientras que la excitación era 465 nm y la emisión era 500 nm y, a continuación, se capturó la imagen por el programa informático.
 - 40 7. Todos los valores en la tabla se expresan como media de n observaciones. El índice histológico se analizó por la prueba t de Student.
- Resultado: El índice fluorescente se cuantificó y se colocó como en la Fig. 4. El índice fluorescente del tejido de colon normal se definió como 1. Los otros ensayos de tejidos de colon se calibraron por el valor definido. El resultado mostró que los HA con el mismo PM promedio fueron absorbidos en los tejidos de colon lesionados obviamente más que en los tejidos de colon normales ($P < 0,01$). En comparación la diferencia entre los HA de tres pesos moleculares promedios diferentes absorbidos en los tejidos de colon lesionados, el índice fluorescente de absorción de HA de 350 KDa mediante los tejidos de colon lesionados era obviamente mayor que los HA de los otros dos pesos moleculares promedios (2 MDa y 1 MDa). Además, el índice fluorescente de absorción de HA de 1 MDa mediante tejidos de colon lesionados o incluso normales era mayor que el HA de 2 MDa.
- 50 Ejemplo 4: El cambio en el peso corporal de rata con o sin administración de HA dirigido a colitis (en donde el tratamiento de colitis no es según la presente invención)

Procedimiento:

1. Propósito del ensayo: inducir la colitis en las ratas SD (Sprague-Dawley) de grado SPF con TNBS para evaluar el efecto para tratar o prevenir la colitis por dos tipos de HA en mezcla que difieren en la proporción de peso.
- 55 2. Objetivo del ensayo: IBD98, que comprende LMWHA y HMWHA, considerando que el HMWHA era de 2 millones

de Da y el LMWHA era de 350 Kilo Da, mezclados en la relación de 8:2 y 1:1 en peso que se clasificó en grupo A y grupo B, respectivamente, y disueltos en solución de PBS para producir una concentración de 0,125 % (p/v).

3. Método: (1) Objetivo del ensayo: Se seleccionaron ratas de 8 semanas de vida, y se clasificaron en tres grupos: el grupo A representaba la relación de mezcla de 8:2; el grupo B representaba la relación de mezcla de 1:1; el grupo C fue tratado por PBS en lugar de HA. (2) Ensayo animal: todas las ratas del grupo de tratamiento se dejaron en ayunas durante 2 días; en el día de ensayo 1, las ratas se anestesiaron por la administración de 1 ml de TNBS (50 mg/ml) por el recto; durante los días de ensayo 4 a 14, la administración de 1 ml de dos categorías de IBD98 por el recto en los grupos A y B; en el día de ensayo 9, se observaron cambios en el peso corporal de la mitad de las ratas en los grupos A y B. Y los cambios en el peso corporal de la otra mitad de ratas se observaron en el día 14. Todas las ratas del grupo control se dejaron en ayunas durante 2 días; en el día de ensayo 1, las ratas se anestesiaron por la administración de 1 ml de TNBS (50 mg/ml) por el recto; en los días de ensayo 4 a 14, la administración de 1 ml de PBS por el recto; en el día de ensayo 9, se observaron cambios en el peso corporal de la mitad de las ratas en el grupo C. Y los cambios en el peso corporal de la otra mitad de las ratas se observaron en el día 14.

Resultado:

1. Índice inflamatorio: la presente invención usó cambios del peso corporal promedio como índice para la visión de la mejora de la colitis (EII). El cambio del peso corporal es un índice conveniente y directo para comprobar el resultado del tratamiento.

2. La tendencia mostró que ambos grupos A y B tenían efectos de alivio sobre la colitis que también representó EII durante el día 1 al día 14 (Figs. 5A y 5B). En los cambios en el peso promedio entre control y los HA, el efecto del tratamiento de la colitis causó que los pesos corporales promedio del grupo por los HA administrados se mantuvieran mayores que los del grupo control durante el periodo experimental global incluso hasta el día de ensayo 14 (Fig. 5B).

Ejemplo 5: Efecto de HA sobre la enfermedad alérgica

Procedimiento:

1. Propósito del ensayo: inducir la enfermedad alérgica, en la presente memoria rinitis, en las ratas SD (Sprague-Dawley) de grado SPF.

2. Objetivo del ensayo: IBD98, que comprende LMWHA y HMWHA, considerando que el peso molecular promedio de HMWHA es de 2 millones de Da y el peso molecular promedio de LMWHA es de 350 Kilo Da, mezclados en la relación de 1:1 en peso disuelto en solución de solución salina tamponada con fosfato (PBS) para producir una solución de HA a una concentración de 0,125 % (p/v).

3. Método: (1) Objetivo del ensayo: Se seleccionaron nueve ratas de 8 semanas de vida, y se clasificaron en dos grupos aleatorios: el grupo control (PBS) consistía en 4 ratas y el grupo de ensayo (HA) consistía en 5 ratas. (2) Ensayo animal: durante el día de ensayo 1 al día 7, las ratas se inyectaron intraperitonealmente (IP) con solución salina fisiológica que contenía ovoalbúmina (1 mg) y alumbre (10 mg) en cada día; solo observación durante el día de ensayo 8 al día 13; durante el día de ensayo 14 al día 27, goteo de ovoalbúmina en solución salina (10 µg/10 µl/fosa nasal) en las cavidades nasales bilaterales por micropipeta. El efecto de HA sobre los síntomas nasales después de la exposición a antígeno se evaluó con ratas el día 28 (D28) y el día 30 (D30) después de la sensibilización general. Antes de 1 hora de la instilación de la ovoalbúmina, a los animales se les añadió gota a gota la solución de HA o PBS (25 µl/fosa nasal). Después de la instilación nasal de la ovoalbúmina en solución salina (10 µg/10 µl/fosa nasal) en las cavidades nasales bilaterales, los animales se colocaron en la jaula de observación (1 animal/jaula), y se contó el frotamiento nasal durante 30 minutos. La frecuencia de frotamiento nasal se calculó como las veces de frotamiento nasal por 30 minutos.

Resultado:

1. Índice de mejora alérgica: la presente invención usó la frecuencia de frotamiento de nariz como índice de mejora alérgica.

2. El efecto de la muestra de HA sobre los síntomas nasales inducidos por antígeno se mostraron en la Fig. 6. La frecuencia de frotamiento nasal promedio inducida por ovoalbúmina era de $56,25 \pm 16,1$ veces/30 minutos el día 28 (D28) y $70,0 \pm 41,3$ veces/30 minutos el día 30 (D30). En comparación con el grupo control, el frotamiento nasal se redujo significativamente por la solución de HA el día 28 y obviamente se redujo el día 30.

50

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en tratamiento o prevención de un trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa respiratoria que consiste en:
- 5 una cantidad terapéuticamente eficaz de una mezcla de ácido hialurónico que consiste en un ácido hialurónico de bajo peso molecular promedio (LMWHA) y un ácido hialurónico de alto peso molecular promedio (HMWHA), en donde un peso molecular (PM) promedio del LMWHA está entre 50 kilo Da y 0,5 millones de Da, y un PM promedio de HMWHA está entre más de 1,5 millones de Da y 5 millones de Da, en donde el PM promedio del LMWHA está separado del PM promedio del HMWHA por al menos 0,5 millones de Da, y una relación de mezcla del LMWHA y el HMWHA está en un intervalo de 20:80 a 80:20 en peso, y
- 10 un excipiente para formular la composición en una forma farmacéutica de administración para ojo, oído, oral, nariz, tracto respiratorio o uso tópico,
- en donde el trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa es rinitis alérgica o bronquitis.
2. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde el PM promedio del LMWHA está entre 0,1 millones de Da y 0,5 millones de Da.
- 15 3. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde el PM promedio del MHWHA está entre más de 1,5 millones de Da y 3,5 millones de Da.
4. La composición para su uso según la reivindicación 3, en donde el PM promedio del HMWHA está entre más de 1,5 millones de Da y 2,5 millones de Da.
- 20 5. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde la relación de mezcla del LMWHA y HMWHA es de 1:1 en peso.
6. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde la cantidad terapéuticamente eficaz está en un intervalo de 0,05 mg/ml a 50 mg/ml.
7. La composición para su uso según la reivindicación 6, en donde la cantidad terapéuticamente eficaz está en un intervalo de 0,05 mg/ml a 5 mg/ml.
- 25 8. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde el trastorno o enfermedad relacionada con la mucosa comprende síntomas de inflamación, reacción alérgica o sangrado.
9. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde la forma farmacéutica de administración para uso tópico es un pulverizador, o por inhalación.

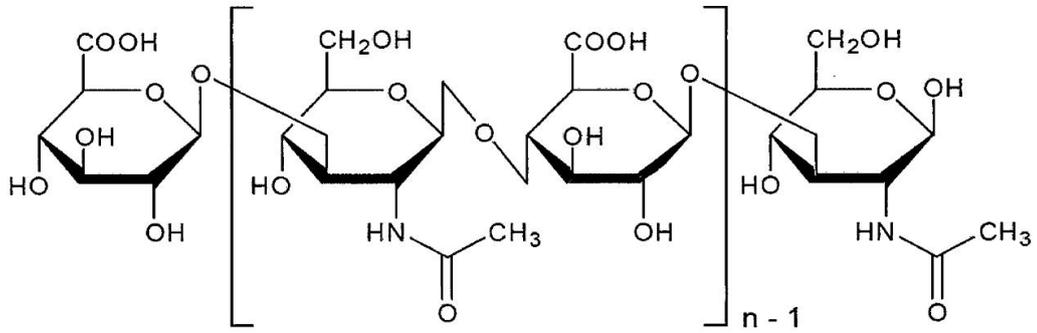


FIG. 1

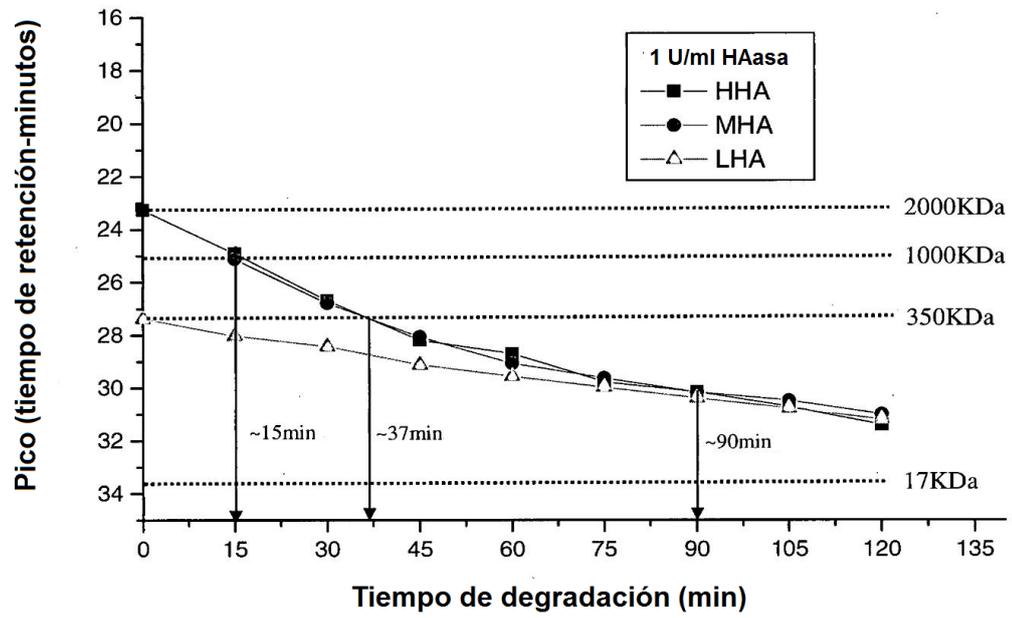


FIG. 2

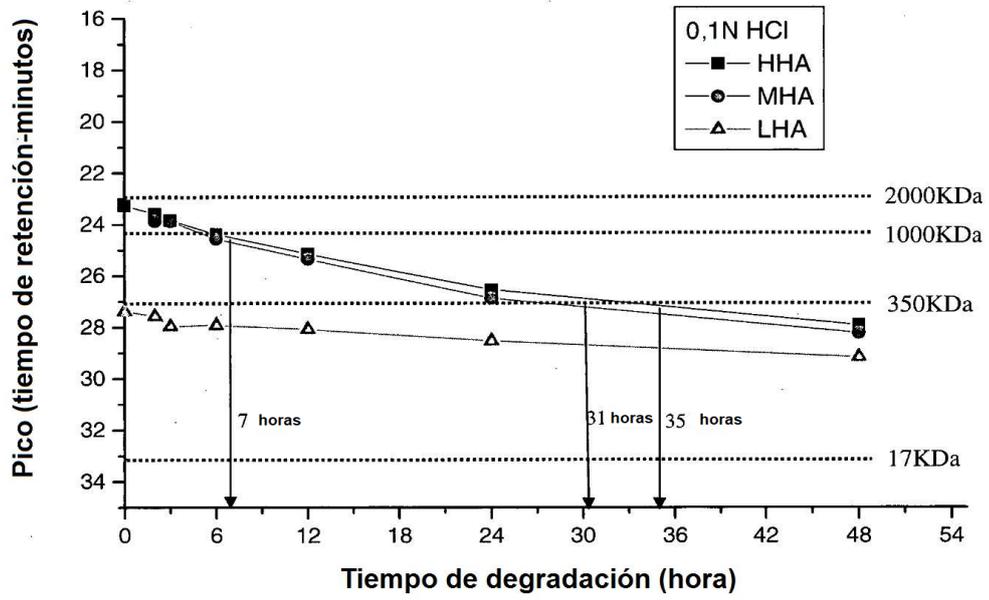


FIG. 3

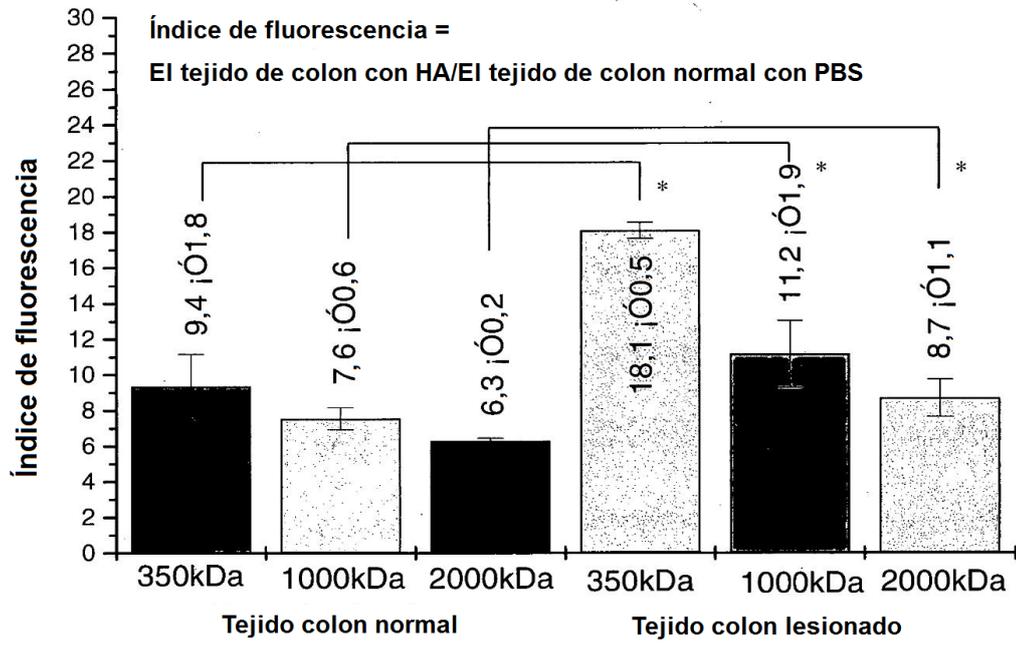


FIG. 4

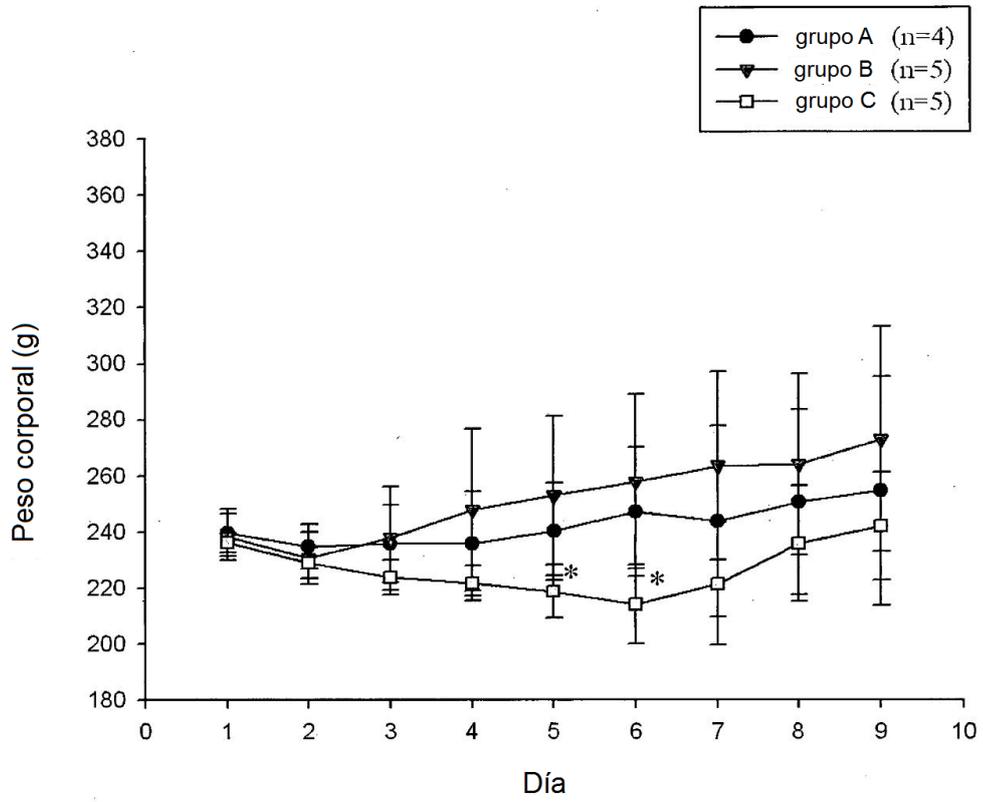


FIG. 5A

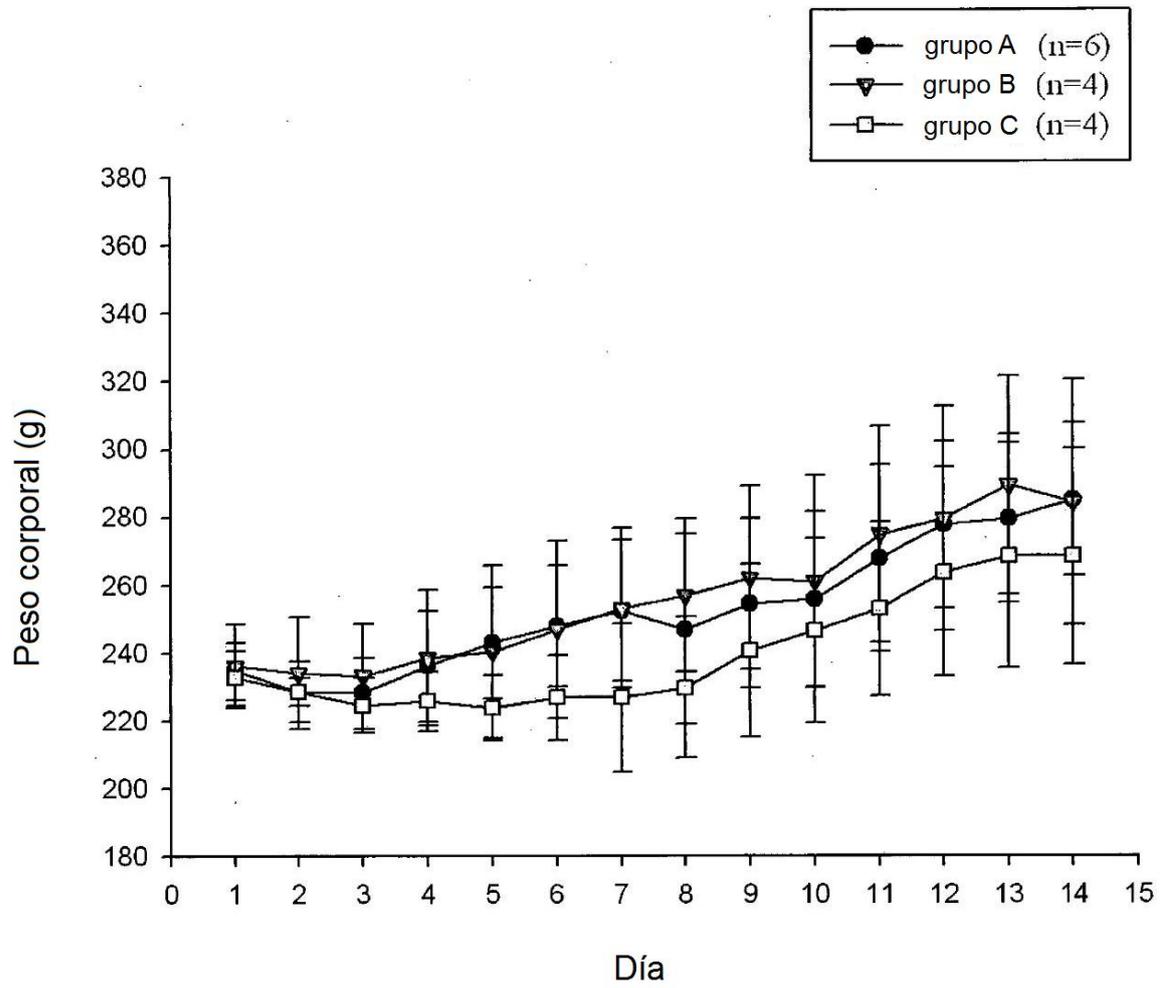


FIG. 5B

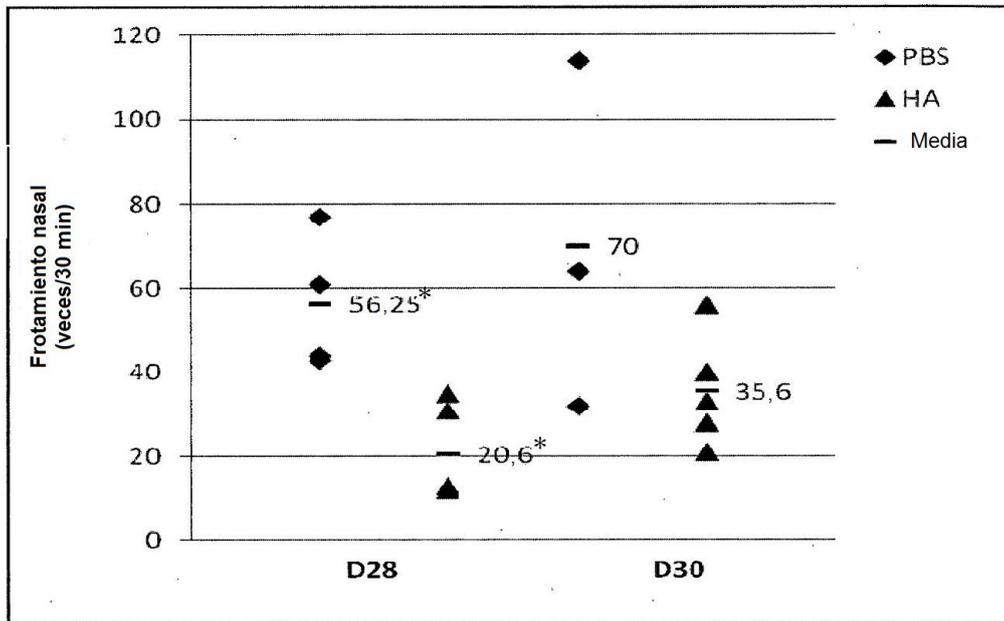


FIG. 6