

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 676 885**

51 Int. Cl.:

A61K 31/737 (2006.01)
A61K 31/715 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 31/726 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2012 PCT/US2012/047248**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2013 WO13012954**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2012 E 12814292 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 2734213**

54 Título: **Potenciadores de la resorción como aditivos para mejorar la formulación oral de polisacáridos sulfatados no anticoagulantes**

30 Prioridad:

19.07.2011 US 201161509514 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.07.2018

73 Titular/es:

**BAXALTA GMBH (50.0%)
Zählerweg 4
6300 Zug, CH y
BAXALTA INCORPORATED (50.0%)**

72 Inventor/es:

**TURECEK, PETER y
VEJDA, SUSANNE**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 676 885 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).

Potenciadores de la resorción como aditivos para mejorar la formulación oral de polisacáridos sulfatados no anticoagulantes**Descripción**

5

INTRODUCCIÓN

La hemorragia es una de las manifestaciones más graves y significativas de la enfermedad, y puede tener lugar en un sitio local o ser sistémico. La hemorragia localizada puede estar asociada con lesiones y puede complicarse aún más por un mecanismo hemostático defectuoso. La coagulación sanguínea es inadecuada en los trastornos hemorrágicos, que pueden estar provocados por trastornos de la coagulación congénita, trastornos de la coagulación adquiridos, o afecciones hemorrágicas inducidas por traumatismos. Las deficiencias congénitas o adquiridas de cualquiera de los factores de la coagulación pueden estar asociadas con una tendencia hemorrágica. Algunos trastornos de la coagulación congénitos incluyen hemofilia, un trastorno recesivo ligado a X que implica una deficiencia de factor VIII de coagulación (hemofilia A) o factor IX (hemofilia B) y enfermedad de von Willebrands, un trastorno hemorrágico raro que implica una deficiencia grave del factor de von Willebrands. Los trastornos de coagulación adquiridos pueden surgir en individuos sin un historial anterior de hemorragia como resultado de un proceso de enfermedad. Por ejemplo, los trastornos de coagulación adquiridos pueden estar provocados por inhibidores o autoinmunidad contra factores de coagulación sanguínea, como el factor VIII, factor de von Willebrands, factores IX, V, XI, XII y XIII; o por trastornos hemostáticos como los provocados por enfermedades hepáticas, que pueden estar asociados con una síntesis disminuida de factores de coagulación.

SUMARIO

La presente invención está definida por las reivindicaciones. Los aspectos de la invención incluyen composiciones para su uso en métodos para mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto. En la puesta en práctica de los métodos de acuerdo con ciertas realizaciones, una cantidad de un polisacárido sulfatado no anticoagulante (NASP) en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de acuerdo con la reivindicación 1 se administra oralmente a un sujeto de una manera suficiente para mejorar la coagulación sanguínea en el sujeto. También se describen composiciones y kits para poner en práctica los métodos de la invención.

En realizaciones de la invención, una cantidad de NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se administra por vía oral a un sujeto de una manera suficiente para mejorar la coagulación sanguínea. En ciertos casos, el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal es un modulador de unión estrecha. Por ejemplo, los moduladores de unión estrecha proporcionados por la invención pueden incluir, pero sin limitación, proteasas, ácidos biliares, polisacáridos, ácidos grasos y sales de los mismos y cualquier combinación de los mismos. Por ejemplo, el modulador de unión estrecha puede ser un ácido biliar como, por ejemplo, desoxicolato. En otros casos, el modulador de unión estrecha puede ser una proteasa, como bromelaina o un componente enzimático de bromelaina. En otros casos más, el modulador de unión estrecha puede ser un polisacárido, como quitosano. En otros casos más, el modulador de unión estrecha puede ser un ácido graso o una sal de ácido graso, como caprato de sodio. En ciertos casos, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de la invención son una combinación de moduladores de unión estrecha. Por ejemplo, en ciertos casos, se administra oralmente una combinación de bromelaina y quitosano con un NASP a un sujeto de una manera suficiente para mejorar la coagulación sanguínea en el sujeto.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones para su uso en un método para mejorar la coagulación sanguínea administrando oralmente una composición que tiene una cantidad de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal a un sujeto, donde el NASP es un NASP natural. En algunos casos, el NASP natural es N-acetil-heparina (NAH), N-acetil-de-O-sulfatada-heparina (NA-de-o-SH), heparina de-N-sulfatada heparina (De-NSH), de-N-sulfatada-acetilada heparina (De-NSAH), peryodato-oxidada heparina (POH), laminarina químicamente sulfatada (CSL), ácido algínico químicamente sulfatado (CSAA), pectina químicamente sulfatada (CSP), sulfato de dextrano (DXS)), oligosacáridos derivados de heparina (HDO) o polisulfato de pentosano (PPS). En ciertos casos, el NASP natural es un fucoïdan. Por ejemplo, en estos casos, el fucoïdan puede ser Fucoïdan GFS 5508005, *Undaria pinnatifida*, depyrogenated; Fucoïdan GFS 5508004, *Undaria pinnatifida*; Fucoïdan GFS 5508003, *Undaria pinnatifida*; Fucoïdan 5307002, *Fucus vesiculosus*, pico MW máx. 126,7 kD; Fucoïdan VG49, *Fucus vesiculosus*, muestra hidrolizada de 5307002 o MW menor, pico MW máx. 22,5 kD; Fucoïdan 5308004, *Fucus vesiculosus*; Fucoïdan 5308005, *Fucus vesiculosus*; Fucoïdan L/FVF1091, *Fucus vesiculosus*; Fucoïdan VG201096A, *Fucus vesiculosus*; Fucoïdan VG201096B, *Fucus vesiculosus*; Fucoïdan VG57, *Undaria pinnatifida*, carga alta (sulfatación alta, desacetilada); Fucoïdan VG50, *Ascophyllum nodosum*, Pico MW máx. 149,7 kD; y combinaciones de los mismos.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona composiciones para su uso en un método para mejorar la coagulación sanguínea administrando oralmente una composición que tiene una cantidad de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal a un sujeto, donde el NASP

es un NASP sintético. Por ejemplo, el NASP sintético puede ser un oligómero sulfatado, como un oligosacárido sulfatado o un alifático sulfatado. En ciertos casos, los NASP sintéticos son pentosas sulfatadas, hexosas sulfatadas o ciclodextrinas sulfatadas. Por ejemplo, los NASP sintéticos pueden incluir, pero sin limitación, maltopentosas sulfatadas, beta-ciclodextrinas sulfatadas, 6-carboxiicodextrina sulfatada y derivados de los mismos.

5 En ciertos casos, la presente invención incluye además administrar oralmente un factor de coagulación sanguínea al sujeto junto con la composición que contiene una cantidad de procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En estos casos, el factor de coagulación sanguínea puede incluir, pero no está limitado a, factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa, VIIIa, precalcureína, y cininógeno de alto peso molecular, factor tisular, factor VIIa, factor Va, factor Xa, factor II, factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XI, factor XII, factor XIII, factor de von Willebrands y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los métodos de la invención incluyen administrar oralmente a un sujeto una cantidad de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y el factor VIII. En otro caso, los métodos incluyen administrar oralmente a un sujeto una cantidad de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y factor IX.

10 En otras realizaciones, la composición reivindicada inhibe la actividad de TFPI en un sujeto. Por ejemplo, se incluye la inhibición de la actividad de TFPI en un sujeto administrando oralmente una cantidad de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de una manera suficiente para inhibir la actividad de TFPI en el sujeto. En ciertos casos, se combinan una cantidad de procoagulante de un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con una muestra biológica (por ejemplo, plasma) que incluye TFPI y midiendo la actividad de TFPI de la muestra biológica. En otros casos, se incluye combinar una cantidad de procoagulante de un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con una muestra biológica, añadiendo TFPI a la composición y midiendo la actividad TFPI de la muestra biológica.

25 En ciertos casos, las composiciones de interés demostraron una permeación mejorada, por ejemplo, cuando se determina mediante estudios de resorción en modelos de células CaCo-2 en comparación con composiciones en ausencia de potenciadores de la permeación epitelial gastrointestinal. Se divulga:

- 30 1. Un método para mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto, el método comprendiendo: administrar oralmente al sujeto una cantidad procoagulante de un polisacárido sulfatado no anticoagulante (NASP) en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de una manera suficiente para mejorar la coagulación sanguínea en el sujeto.
- 35 2. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que la cantidad de NASP administrada al sujeto varía de 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg.
3. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que NASP es un NASP de origen natural o sintético.
4. El método de acuerdo con la Reivindicación 3, en el que NASP es un NASP de origen natural.
- 40 5. El método de acuerdo con la Reivindicación 4, en el que el NASP de origen natural se selecciona del grupo que consiste de N-acetil-heparina (NAH), N-acetil-de-O-sulfatada-heparina (NA-de-o-SH), de-N-sulfatada-heparina (De-NSH), de-N-sulfatada-acetilada-heparina (De-NSAH), heparina oxidada con peryodato (POH), laminarina químicamente sulfatada (CSL), ácido algínico químicamente sulfatado (CSAA), pectina químicamente sulfatada (CSP), sulfato de dextrano (DXS), oligosacáridos derivados de heparina (HDO), polisulfato de pentosano (PPS) y fucoidanos, y combinaciones de los mismos.
- 45 6. El método de acuerdo con la Reivindicación 5, en el que el NASP de origen natural es un fucoidan.
7. El método de acuerdo con la Reivindicación 3, en el que el NASP es un NASP sintético.
8. El método de acuerdo con la Reivindicación 7, en el que el NASP sintético es un oligómero sulfatado.
9. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal es un modulador de unión estrecha.
- 50 10. El método de acuerdo con la Reivindicación 9, en el que el modulador de unión estrecha se selecciona del grupo que consiste de proteasas, ácidos biliares, polisacáridos, ácidos grasos y sales de los mismos, y combinaciones de los mismos.
11. El método de acuerdo con la Reivindicación 10, en el que el moldeador de unión estrecha comprende una proteasa.
- 55 12. El método de acuerdo con la Reivindicación 11, en el que el modulador de unión estrecha es bromelaína o un componente enzimático de la misma.
13. El método de acuerdo con la Reivindicación 10, en el que el modulador de unión estrecha es un ácido biliar.
14. El método de acuerdo con la Reivindicación 13, en el que el ácido biliar es desoxicolato.
- 60 15. El método de acuerdo con la Reivindicación 10, en el que el modulador de unión estrecha es un polisacárido.
16. El método de acuerdo con la Reivindicación 15, en el que el polisacárido es quitosano.
17. El método de acuerdo con la Reivindicación 10, en el que el modulador de unión estrecha es un ácido graso o una sal del mismo.
- 65 18. El método de acuerdo con la Reivindicación 17, en el que el modulador de unión estrecha es caprato de

sodio.

19. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal comprende un quitosano y una bromelaína.

5 20. El método de acuerdo con la Reivindicación 19, en el que el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal comprende de aproximadamente el 0,3% a aproximadamente el 3% de quitosano y de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml de bromelaína.

21. El método de acuerdo con la Reivindicación 20, en el que el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal comprende aproximadamente un 3% de quitosano y aproximadamente 0,5 mg/ml de bromelaína.

10 22. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el método comprende además administrar al sujeto uno o más factores seleccionados del grupo que consiste de factor XI, factor XII, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMWK), factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XIII, factor II, factor de von Willebrands, factor tisular, factor VIIa, factor Va y factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa y VIIIa.

15 23. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el sujeto tiene un trastorno hemorrágico seleccionado del grupo que consiste de un trastorno hemorrágico crónico o agudo, un trastorno de coagulación congénito provocado por una deficiencia del factor sanguíneo y un trastorno de coagulación adquirido.

20 24. El método de la Reivindicación 23, en el que el trastorno hemorrágico es una deficiencia del factor sanguíneo de uno o más factores seleccionados del grupo que consiste de factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XI, factor XII, factor XIII y factor de von Willebrand; un trastorno de fibrinógeno; un trastorno de protrombina; o una disfunción plaquetaria.

25 25. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el sujeto necesita una coagulación sanguínea mejorada debido a la administración previa de un anticoagulante.

25 26. El método de acuerdo con la Reivindicación 25, en el que el anticoagulante se selecciona del grupo que consiste de heparina, un derivado de cumarina, inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), antitrombina III, anticoagulante lúpico, péptido anticoagulante de nematodo (NAPc2), factor VIIa bloqueado de sitio activo (factor VIIai), inhibidores del factor IXa, inhibidor del factor Xa, inhibidor del factor Va, inhibidor del factor VIIIa, inhibidor de la trombina y un anticuerpo que se une a un factor de coagulación.

30 27. El método de acuerdo con la Reivindicación 26, en el que el anticoagulante es un anticuerpo que se une a un factor de coagulación seleccionado del grupo que consiste de Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XIII, Factor II, Factor XI, Factor XII, factor de von Willebrands, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular (HMWK).

35 28. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el sujeto necesita una coagulación sanguínea mejorada debido a un procedimiento quirúrgico u otro procedimiento invasivo.

29. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el método es un método para inhibir la actividad de TFPI en el sujeto.

30. Una composición de dosificación oral que comprende:

- 40 (a) una cantidad de procoagulante de un polisacárido sulfatado no anticoagulante (NASP);
(b) un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal; y
(c) un vehículo de administración de dosificación oral;

en donde la composición de dosificación oral está en forma de dosificación unitaria.

45 31. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 30, en la que la cantidad de NASP presente en la composición proporciona una dosis en el intervalo de 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg.

32. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 30, en la que el NASP es un NASP de origen natural o sintético.

50 33. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 32, en la que el NASP es un NASP de origen natural.

34. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 33, en la que el NASP de origen natural se selecciona del grupo que consiste de N-acetil-heparina (NAH), N-acetil-de-O-sulfatada-heparina (NA-de-o- SH), de-N-sulfatada-heparina (De-NSH), de-N-sulfatada-acetilada-heparina (De-NSAH), heparina oxidada con peryodato (POH), laminarina químicamente sulfatada (CSL), ácido algínico químicamente sulfatado (CSAA), pectina químicamente sulfatada (CSP), sulfato de dextrano (DXS), oligosacáridos derivados de heparina (HDO), polisulfato de pentosano (PPS) y fucoidanos, y combinaciones de los mismos.

35. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 34, en la que el NASP de origen natural es un fucoidan.

60 36. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 32, en la que el NASP es un NASP sintético.

37. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 36, en la que el NASP sintético es un oligómero sulfatado.

65 38. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 30, en la que el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal es un modulador de unión estrecha.

39. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 38, en la que el modulador de unión estrecha se selecciona del grupo que consiste de proteasas, ácidos biliares, polisacáridos, ácidos grasos y sales de los mismos, y combinaciones de los mismos.
- 5 40. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 39, en la que el modulador de unión estrecha comprende una proteasa.
41. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 40, en la que el modulador de unión estrecha es bromelaína o un componente enzimático de la misma.
42. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 39, en la que el modulador de unión estrecha es un ácido biliar.
- 10 43. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 42, en la que el ácido biliar es desoxicolato.
44. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 39, en la que el modulador de unión estrecha es un polisacárido.
- 15 45. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 44, en la que el polisacárido es quitosano.
46. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 39, en la que el modulador de unión estrecha es un ácido graso o una sal del mismo.
47. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 46, en la que el modulador de unión estrecha es caprato de sodio.
- 20 48. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 30, en la que el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal comprende un quitosano y una bromelaína.
49. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 48, en la que el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal comprende de aproximadamente un 0,3% a aproximadamente un 3% de quitosano y de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml de bromelaína.
- 25 50. La composición de dosificación oral, de acuerdo con la Reivindicación 49, en la que el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal comprende aproximadamente un 3% de quitosano y aproximadamente 0,5 mg/ml de bromelaína.
- 30 51. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 30, que comprende además uno o más factores seleccionados del grupo que consiste de factor XI, factor XII, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMWK), factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XIII, factor II, factor de von Willebrands, factor tisular, factor VIIa, factor Va y factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa y VIIIa.
52. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 30, en la que la composición es un líquido.
- 35 53. La composición de dosificación oral de acuerdo con la Reivindicación 30, en la que la composición es un sólido.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 40 La Figura 1 muestra la configuración experimental para el examen de biodisponibilidad de CaCo₂ para determinar el% de resorción de fucoidanos.
- La Figura 2 muestra un ejemplo de la cantidad de NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal resorbido en el examen de biodisponibilidad de CaCo₂ para el fucoidan *Fucus vesiculosus* L/FVF-1091.
- 45 La Figura 3 muestra la condición de la capa celular en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para fucoidan *Fucus vesiculosus* L/FVF-1091 en combinación con el potenciador de permeación de la barrera epitelial gastrointestinal bromelaína medido mediante resistencia eléctrica transepitelial.
- Las Figuras 4a-b muestran un ejemplo de los datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para fucoidan BAX513 en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.
- 50 Las Figuras 5a-c muestran un ejemplo de los datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para fucoidan F.v. L/FVF-1091 en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.
- Las Figuras 6a-b muestran un ejemplo de los datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para el fucoidan U.p. 5508005 en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.
- 55 Las Figuras 7a-b muestran un ejemplo de los datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para fucoidan FvF DS1001108B en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.
- 60 Las Figuras 8a-b muestran un ejemplo de los datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para fucoidan FvF SK110144B en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.
- La Figura 9 muestra un ejemplo de datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para el NASP sintético β-ciclodextrina sulfatada en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.
- 65

La Figura 10 muestra un ejemplo de datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para el NASP sintético maltopentaosa sulfatada en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.

Las Figuras 11a-b muestran un ejemplo de los datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para fucoidanos F.v. L/FVF-1091 y F.v.F DS1001108B en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal a concentraciones variables.

Las Figuras 12a-b muestran la condición de la capa celular en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para el NASP sintético β -ciclodextrina sulfatada en ausencia y en combinación con el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de bromelaína medida mediante resistencia eléctrica transepitelial.

Las Figuras 13a-c muestra la condición de la capa celular en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para el NASP sintético maltopentaosa sulfatada en ausencia y en combinación con los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal desoxicolato y quitosano, medida por resistencia eléctrica transepitelial.

Las Figuras 14a-b muestran un ejemplo de los datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para el fucoidan β -ciclodextrina en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.

Las Figuras 15a-b muestran un ejemplo de los datos de resorción adquiridos en el examen de biodisponibilidad de CaCo-2 para el fucoidan maltopentaosa sulfatada en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.

DEFINICIONES RELEVANTES

Al describir la presente invención, se emplearán los siguientes términos, y se pretende que se definan como se indica a continuación.

Debe observarse que, como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referencias plurales a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a un "NASP" puede incluir una mezcla de dos o más NASP, según se desee.

Un "NASP" como se usa en la presente se refiere a polisacáridos sulfatados (SP) que muestran actividad no anticoagulante y anticoagulante en cualquiera de los varios ensayos de coagulación descritos en la presente. Los NASP pueden ser polisacáridos sulfatados naturales, como los extraídos de una fuente biológica o polisacáridos sulfatados sintéticos, donde el polisacárido sulfatado se produce parcial o completamente mediante métodos sintéticos (por ejemplo, síntesis química). Una medida de la actividad es comparar el tiempo de coagulación demostrado por un NASP con la actividad anticoagulante mostrada por la heparina. Por ejemplo, los NASP de interés muestran actividad anticoagulante en el tiempo de protrombina diluido (dPT) o el tiempo de tromboplastina parcial activado (aPTT), ensayo de coagulación que no es más de un tercio, como menos de una décima parte, la actividad anticoagulante molar de la heparina no fraccionada (intervalo MW de 8.000 a 30.000, media de 18.000 daltons). Como tal, los NASP de interés demuestran una actividad anticoagulante 2 veces o más baja en comparación con la heparina, como una actividad anticoagulante 5 veces o más baja en comparación con la heparina, como una actividad anticoagulante 10 veces o más baja en comparación con la heparina, como una actividad anticoagulante 25 veces o más baja en comparación con la heparina, como una actividad anticoagulante 50 veces o más baja en comparación con la heparina, incluyendo una actividad anticoagulante 100 veces o más baja en comparación con la heparina, empleando métodos y composiciones como se proporcionan en la presente.

Los NASP de interés pueden variar en peso molecular de 10 daltons a 1.000.000 daltons, como por ejemplo, de 100 daltons a 900.000 daltons, como de 500 daltons a 500.000 daltons, como de 1000 daltons a 250.000 daltons, incluyendo de 5000 daltons a 150.000 daltons. Los NASP pueden variar en un peso molecular medio de aproximadamente 10 daltons a aproximadamente 500.000 daltons, como de aproximadamente 100 daltons a aproximadamente 300.000 daltons, como de 1000 daltons a 250.000 daltons, incluyendo de 1000 daltons a 150.000 daltons.

En algunos casos, los NASP de interés pueden incluir, pero no están limitados a, N-acetil-heparina (NAH), N-acetil-de-O-sulfatada-heparina (NA-de-o-SH), de-N-sulfatada-heparina (De-NSH), de-N-sulfatada-acetilada-heparina (De-NSAH), heparina oxidada con peryodato (POH), laminarina químicamente sulfatada (CSL), ácido alginico químicamente sulfatado (CSAA), pectina químicamente sulfatada (CSP), sulfato de dextrano (DXS), oligosacáridos derivados de heparina (HDO), polisulfato de pentosano (PPS), maltopentosas sulfatadas, beta-ciclodextrinas sulfatadas, 6-carboxiidextrina sulfatada y derivados de los mismos. En ciertos casos, el NASP es un fucoidan. Por ejemplo, el fucoidan puede ser Fucoïdan 5307002, *Fucus vesiculosus*, pico MW máx. 126,7 kD; Fucoïdan VG49, *Fucus vesiculosus*, muestra hidrolizada de 5307002 de menor MW, pico WM máx. 22,5 kD; Fucoïdan VG57, *Undaria pinnatifida*, carga alta (sulfatación alta, desacetilada); Fucoïdan GFS (5508005), *Undaria pinnatifida*, despirogenizado; Fucoïdan GFS (L/FVF-01091), *Fucus vesiculosus*, despirogenizado, pico WM máx. de 125 kD; Fucoïdan GFS (L/FVF-01092), *Fucus vesiculosus*, despirogenizado, pico WM máx. 260 kD; Fucoïdan GFS

(L/FVF-01093), *Fucus vesiculosus*, hidrolizado despirogenizado, pico WM máx. 36 kD; Extracto de Maritech® *Ecklonia radiata*; Extracto de Maritech® *Ecklonia maxima*; extracto de Maritech® *Macrocystis pyrifera*; Mezcla de Fucoidan de prueba inmune Maritech®; y combinaciones de los mismos.

5 Los NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden usarse en los métodos para mejorar la hemostasia, en el tratamiento de trastornos hemorrágicos, como los asociados con deficiencias de factores de coagulación o para revertir los efectos de los anticoagulantes, en particular cuando es necesaria o deseada la resorción mejorada por el sistema gastrointestinal. La capacidad de los NASP para promover la coagulación y reducir la hemorragia puede determinarse usando varios ensayos de coagulación *in vitro* (por ejemplo, ensayos TFPI-dPT, generación de trombina y tromboelastografía (TEG)) y modelos de hemorragia *in vivo* (por ejemplo, corte de cola, corte transversal, tiempo de coagulación de sangre completa, o determinación del tiempo de hemorragia de la cutícula en ratones o perros hemofílicos). Ver, por ejemplo PDR Staff. Physicians' Desk Reference. 2004, Anderson et al. (1976) *Thromb. Res.* 9:575-580; Nordfang et al. (1991) *Thromb Haemost.* 66:464-467; Welsch et al. (1991) *Thrombosis Research* 64:213-222; Broze et al. (2001) *Thromb Haemost* 85:747-748; Scallan et al. (2003) *Blood.* 102:2031-2037; Pijnappels et al. (1986) *Thromb. Haemost.* 55:70-73; y Giles et al. (1982) *Blood* 60:727-730, y los ejemplos en la presente.

Un "procoagulante" se usa en la presente en su sentido convencional para referirse a cualquier factor o reactivo capaz de iniciar o acelerar la formación de coágulos. Un procoagulante de la invención incluye, pero no está limitado a, cualquier activador de las vías de coagulación intrínsecas o extrínsecas, como un factor de coagulación seleccionado del grupo que consiste de factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa y VIIIa, precalcicreína, cininógeno de alto peso molecular, factor tisular, factor VIIa y factor Va, así como otros reactivos que promueven la coagulación incluyendo calicreína, iniciador APTT (es decir, un reactivo que contiene un fosfolípido y un activador de contacto), veneno de víbora de Russel (tiempo RVV) y tromboplastina (para dPT). En algunas realizaciones, pueden emplearse activadores de contacto como reactivos procoagulantes. Por ejemplo, los activadores de contacto pueden incluir partículas de sílice micronizadas, ácido elálgico, sulfátidos, caolín o similares. Los procoagulantes pueden ser de un extracto natural bruto, una muestra de sangre o plasma, aislados y sustancialmente purificados, sintéticos o recombinantes. Los procoagulantes pueden incluir factores o fragmentos de coagulación de origen natural, variantes o derivados covalentemente modificados de los mismos que retienen la actividad biológica (es decir, promueven la coagulación).

El término "polisacárido", como se usa en la presente, se refiere a un polímero que contiene dos o más residuos de sacáridos covalentemente enlazados. Los residuos de sacáridos pueden estar enlazados, por ejemplo, mediante fracciones de enlace glicosídicas, de éster, amida u oxima. El peso molecular medio de los polisacáridos puede variar ampliamente, como por ejemplo variar de 100 a 1.000.000 daltons y más, como de 100 a 500.000 daltons y más, como de 1000 a 250.000 daltons y más, como de 1000 a 100.000 daltons y más, como de 10.000 a 50.000 daltons y más. Los polisacáridos pueden ser de cadena lineal (es decir, lineales) o ramificados o pueden contener regiones discretas de porciones lineales y ramificadas. Los polisacáridos también pueden ser fragmentos de polisacáridos generados por degradación (por ejemplo, hidrólisis) de polisacáridos más grandes. La degradación se puede lograr mediante cualquier protocolo conveniente incluyendo el tratamiento de polisacáridos con ácido, base, calor, oxidantes o enzimas para producir polisacáridos fragmentados. Los polisacáridos pueden estar alterados químicamente y pueden modificarse, incluyendo, pero no limitado a, sulfatación, polisulfatación, esterificación y metilación.

El peso molecular, como se trata en la presente, puede expresarse o como un peso molecular medio numérico o como un peso molecular medio en peso. A menos que se indique lo contrario, todas las referencias al peso molecular en la presente se refieren al peso molecular medio en peso. Ambas determinaciones de peso molecular, medio numérico y medio en peso, pueden medirse usando, por ejemplo, cromatografía de permeación en gel u otras técnicas de cromatografía líquida.

El término "derivado de" se usa en la presente para identificar la fuente original de una molécula, pero no se pretende que limite el método mediante el cual se elabora la molécula, que puede ser, por ejemplo, mediante síntesis química o metodologías recombinantes.

Los términos "variante", "análogo" y "muteína" se refieren a derivados biológicamente activos de una molécula de referencia, que retienen la actividad deseada, como la actividad de coagulación en el tratamiento de un trastorno hemorrágico. Los términos "variante" y "análogo" en referencia a un polipéptido (por ejemplo, factor de coagulación) se refieren a compuestos que tienen una secuencia y estructura de polipéptido nativo con una o más adiciones de aminoácidos, sustituciones (generalmente de naturaleza conservadora) y/o deleciones, en relación con la molécula nativa, siempre que las modificaciones no destruyan la actividad biológica y que sean "sustancialmente homólogos" a la molécula de referencia como se define a continuación. Las secuencias de aminoácidos de dichos análogos tendrán un alto grado de homología de secuencia con la secuencia de referencia, por ejemplo, homología de secuencia de aminoácidos del 50% o más, como 60% o más, como 70% o más, como 80% o más, como 90% o más, como 95% o más, incluyendo el 99% o más cuando las dos secuencias están alineadas. En algunos casos, los análogos incluirán la misma cantidad de aminoácidos, pero incluirán sustituciones. El término "muteína" incluye

además polipéptidos que tienen una o más moléculas de tipo aminoácido incluyendo, pero no limitado a, compuestos que contienen solo moléculas de amino y/o imino, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos de origen no natural sintético, etc.), polipéptidos con enlaces sustituidos, así como otras modificaciones conocidas en la técnica, tanto de origen natural como no natural (por ejemplo, sintéticas), cicladas, moléculas ramificadas y similares. El término también incluye moléculas que comprenden uno o más residuos de glicina N-sustituidos (un "peptide") y otros aminoácidos o péptidos sintéticos. (Ver, por ejemplo, Patentes U.S. Nº. 5.831.005; 5.877.278; y 5.977.301; Nguyen et al., Chem Biol. (2000) 7:463-473; y Simon et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1992) 89:9367-9371 para descripciones de peptoides). En algunos casos, los análogos y las muteínas tienen por lo menos la misma actividad de coagulación que la molécula nativa.

Como se ha tratado anteriormente, los análogos pueden incluir sustituciones que son conservadoras, es decir, aquellas sustituciones que tienen lugar dentro de una familia de aminoácidos que están relacionados en sus cadenas laterales. Específicamente, los aminoácidos se dividen generalmente en cuatro familias: (1) ácido -- aspartato y glutamato; (2) básico -- lisina, arginina, histidina; (3) no polar -- alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano; y (4) polar no cargado -- glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina. En algunos casos, la fenilalanina, el triptófano y la tirosina se clasifican como aminoácidos aromáticos. Por ejemplo, un reemplazo aislado de leucina con isoleucina o valina, un aspartato con un glutamato, una treonina con una serina, o un reemplazo conservador similar de un aminoácido con un aminoácido estructuralmente relacionado, no tendrá un efecto importante sobre la actividad biológica. Por ejemplo, el polipéptido de interés puede incluir hasta aproximadamente 5-10 sustituciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras, o incluso hasta aproximadamente 15-25 sustituciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras, o cualquier número entero entre 5 y 25, siempre que la función deseada de la molécula permanezca intacta.

Por "derivado" se entiende cualquier modificación adecuada de la molécula de referencia de interés o de un análogo de la misma, como sulfatación, acetilación, glicosilación, fosforilación, conjugación de polímeros (como con polietilenglicol), u otra adición de fracciones extrañas, siempre que se retenga la actividad biológica deseada (por ejemplo, actividad de coagulación, inhibición de la actividad de TFPI) de la molécula de referencia. Por ejemplo, los polisacáridos pueden derivatizarse con uno o más grupos orgánicos o inorgánicos. Los ejemplos incluyen, pero no están limitados a, polisacáridos sustituidos en por lo menos un grupo hidroxilo con otra fracción (por ejemplo, un grupo sulfato, carboxilo, fosfato, amino, nitrilo, halo, sililo, amido, acilo, alifático, aromático o sacárido), o cuando un anillo de oxígeno se ha reemplazado por azufre, nitrógeno, un grupo metileno, etc. Los polisacáridos pueden estar químicamente alterados, por ejemplo, para mejorar la función procoagulante. Tales modificaciones pueden incluir, pero no están limitadas a, sulfatación, polisulfatación, esterificación y metilación.

Por "fragmento" se entiende una molécula que contiene una parte de la secuencia y estructura de longitud completa intactas. En algunos casos, un fragmento de un polisacárido puede generarse mediante degradación (por ejemplo, hidrólisis) de un polisacárido más grande. Los fragmentos activos de un polisacárido de la invención pueden incluir aproximadamente 2-20 unidades de sacárido del polisacárido de longitud completa, como aproximadamente 5-10 unidades de sacárido de la molécula de longitud completa, e incluyendo cualquier número entero entre 2 unidades de sacárido y la molécula de longitud completa, siempre que el fragmento conserve la actividad biológica como, por ejemplo, la actividad de coagulación o la capacidad de inhibir la actividad de TFPI. Un fragmento de un polipéptido puede incluir una delección C-terminal, una delección N-terminal o una delección interna del polipéptido nativo. Los fragmentos activos de una proteína particular pueden incluir, en algunas realizaciones, aproximadamente 5-10 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa o más, como aproximadamente 15-25 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa o más, como aproximadamente 20-50 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa o más, e incluyendo cualquier número entero entre 5 aminoácidos y la secuencia de longitud completa, siempre que el fragmento en cuestión retenga la actividad biológica, como por ejemplo, actividad de coagulación

Por "sustancialmente purificado" se entiende el aislamiento de una sustancia (por ejemplo polisacárido sulfatado no anticoagulante) de tal manera que la sustancia incluya la mayoría de la muestra en la que reside. Por ejemplo, una muestra que está sustancialmente purificada contiene un 50% o más de la sustancia de interés, como un 60% o más de la sustancia de interés, como un 75% o más de la sustancia de interés, como un 90% o más de la sustancia de interés, como un 95% o más de la sustancia de interés, incluyendo el 99% o más de la sustancia de interés. Puede emplearse cualquier protocolo conveniente para purificar polisacáridos, polinucleótidos y polipéptidos de interés e incluyen, pero no están limitados a, ultrafiltración, precipitación selectiva, cristalización, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad y sedimentación de acuerdo con la densidad.

Por "aislado" se entiende, cuando se hace referencia a un polisacárido o polipéptido, que la molécula indicada está separada y discreta del organismo completo con el que se encuentra la molécula en la naturaleza o está presente en la ausencia sustancial de otras macro-moléculas biológicas del mismo tipo.

Por "homología" se entiende el porcentaje de identidad entre dos fracciones de polipéptidos. Como se hace referencia en la presente, dos secuencias de polipéptidos son "sustancialmente homólogas" entre sí cuando las

5 secuencias muestran aproximadamente un 50% o más de identidad de secuencia, como un 60% o más de identidad de secuencia, como un 75% o más de identidad de secuencia, como un 85% o más identidad de secuencia, como un 90% o más de identidad de secuencia, como un 95% o más de identidad de secuencia, incluyendo un 99% o más de identidad de secuencia. En algunas realizaciones, los polipéptidos sustancialmente homólogos incluyen secuencias que tienen identidad completa con una secuencia especificada.

10 Por "identidad" se entiende una subunidad exacta para la correspondencia de la subunidad de dos secuencias poliméricas. Por ejemplo, un polipéptido idéntico es uno que tiene una correspondencia de aminoácido a aminoácido exacta con otro polipéptido o un polinucleótido idéntico es uno que tiene una correspondencia de nucleótido a nucleótido exacta con respecto a otro polinucleótido. El porcentaje de identidad puede determinarse mediante una comparación directa de la información de secuencia entre dos moléculas (la secuencia de referencia y una secuencia con % de identidad desconocido con la secuencia de referencia) alineando las secuencias, contando el número exacto de coincidencias entre dos secuencias alineadas, dividiendo por la longitud de la secuencia de referencia, y multiplicando el resultado por 100. Puede emplearse cualquier protocolo conveniente para determinar el porcentaje de identidad entre dos secuencias poliméricas, como, por ejemplo ALIGN, Dayhoff, M.O. en Atlas of Protein Sequence and Structure M.O. Dayhoff ed., 5 Suppl. 3:353-358, National biomedical Research Foundation, Washington, DC., que adapta el algoritmo de homología local de Smith y Waterman Advances in Appl. Math. 2:482-489, 1981 para el análisis de péptidos.

20 Por "sujeto" se entiende cualquier miembro del subphylum chordata, que incluye, sin limitación, humanos y otros primates, incluyendo primates no humanos como chimpancés y otros simios y especies de monos; animales de granja como ganado, ovejas, cerdos, cabras y caballos; mamíferos domésticos como perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores como ratones, ratas y conejillos de Indias; aves, incluyendo aves domésticas, salvajes y de caza como pollos, pavos y otras aves gallináceas, patos, gansos y similares. El término no denota una edad particular. Por lo tanto, son de interés tanto los adultos como los recién nacidos.

30 El término "paciente" se usa en su sentido convencional para referirse a un organismo vivo que padece o es propenso a una afección que puede prevenirse o tratarse mediante la administración de un NASP de la invención, e incluye tanto humanos como animales no humanos.

35 Por "muestra biológica" se entiende una muestra de tejido o fluido aislado de un sujeto, incluyendo, pero no limitado a, por ejemplo, sangre, plasma, suero, materia fecal, orina, médula ósea, bilis, fluido espinal, fluido linfático, muestras de la piel, secreciones externas de la piel, tractos respiratorio, intestinal y genitourinario, lágrimas, saliva, leche, células sanguíneas, órganos, biopsias y también muestras de constituyentes de cultivos celulares in vitro incluyendo, pero no limitado a, medios condicionados resultantes del crecimiento de células y tejidos en medio de cultivo, por ejemplo, células recombinantes y componentes celulares.

40 Por "dosis o cantidad terapéuticamente eficaz" se entiende una cantidad que, cuando se administra como se describe en la presente, produce la respuesta terapéutica deseada como, por ejemplo, hemorragia reducida o tiempos de coagulación más cortos.

45 Por "trastorno hemorrágico" se entiende cualquier trastorno asociado con hemorragia excesiva, como un trastorno de la coagulación congénito, un trastorno de la coagulación adquirido, administración de un anticoagulante o una afección hemorrágica inducida por un traumatismo. Como se trata a continuación, los trastornos hemorrágicos pueden incluir, pero no están limitados a, hemofilia A, hemofilia B, enfermedad de von Willebrand, trombocitopenia idiopática, una deficiencia de uno o más factores de contacto, como Factor XI, Factor XII, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular (HMWK), una deficiencia de uno o más factores asociados con hemorragia clínicamente significativa, como Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XIII, Factor II (hipoprotrombinemia) y factor de von Willebrands, una deficiencia de vitamina K, un trastorno del fibrinógeno, incluyendo afibrinogenemia, hipofibrinogenemia, y disfibrinogenemia, deficiencia de alfa2-antiplasmina, y hemorragia excesivo como la provocada por enfermedad hepática, enfermedad renal, trombocitopenia, disfunción plaquetaria, hematomas, hemorragia interna, hemartrosis, cirugía, trauma, hipotermia, menstruación y embarazo.

55 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los aspectos de la invención incluyen composiciones para su uso en mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto.

60 En la puesta en práctica de los métodos de acuerdo con ciertas realizaciones, se administra oralmente una cantidad de un polisacárido sulfatado no anticoagulante (NASP) en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal a un sujeto de una manera suficiente para mejorar la coagulación sanguínea en el sujeto. También se describen las composiciones y kits para poner en práctica los métodos de la invención.

65 El alcance de la invención estará limitado sólo por las reivindicaciones adjuntas. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado entendido comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto

indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor enunciado o intermedio en ese intervalo indicado, está abarcado dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños y también están abarcados dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo mencionado. Donde el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen uno o ambos de esos límites incluidos también se incluyen en la invención. Ciertos intervalos se presentan en la presente con valores numéricos precedidos por el término "aproximadamente". El término "aproximadamente" se usa en la presente para proporcionar soporte literal para el número exacto que precede, así como a un número que está cerca o aproximadamente del número que precede al término. Al determinar si un número está cerca de o aproximadamente de un número específicamente recitado, el número no recitado cercano o aproximado puede ser un número que, en el contexto en el que se presenta, proporciona el equivalente sustancial del número específicamente mencionado.

Se observa que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta exposición tiene la intención de servir como base previa para el uso de tal terminología exclusiva como "solamente", "sólo", y similares en relación con la enumeración de los elementos reivindicados, o el uso de una limitación "negativa".

Al describir adicionalmente la presente invención, las composiciones para su uso en métodos para mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto mediante la administración oral de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se describen primero con mayor detalle. A continuación, también se describen las composiciones y kits para poner en práctica los métodos de la presente invención.

MÉTODOS PARA MEJORAR LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA EN UN SUJETO

Como se ha resumido anteriormente, los aspectos de la invención incluyen composiciones para su uso en mejorar la coagulación sanguínea administrando oralmente a un sujeto una composición que tiene una cantidad de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación epitelial gastrointestinal. El término "mejora de la coagulación sanguínea" se usa en su sentido convencional para referirse a acelerar el inicio (es decir, reducir la cantidad de tiempo para que comience la coagulación) de la coagulación sanguínea así como la tasa general de coagulación sanguínea del sujeto (es decir, reducir la cantidad de tiempo para completar la coagulación sanguínea). En algunos casos, los métodos de la invención aceleran el inicio de la coagulación sanguínea. Por ejemplo, los métodos de la invención pueden reducir la cantidad de tiempo requerido para que la sangre comience a coagularse en un 5% o más, como en un 10% o más, como en un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 90% o más, como un 95% o más, en comparación con un control adecuado. En otros casos, los métodos de la invención aumentan la velocidad de coagulación sanguínea. Por ejemplo, los métodos de la invención pueden aumentar la tasa de coagulación sanguínea en un 2% o más, como en un 5% o más, como en un 10% o más, como en un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 100% o más, como en un 200% o más, incluyendo un 500% o más, en comparación con un control adecuado.

En realizaciones de la presente divulgación, una cantidad procoagulante de un NASP se administra oralmente en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Dependiendo de la fisiología del sujeto, la frase "epitelio gastrointestinal", como se usa en la presente, se refiere al tejido epitelial del tracto digestivo, como el estómago y el tracto intestinal (por ejemplo, duodeno, yeyuno, íleon), y puede incluir además otras estructuras que participan en las funciones gastrointestinales del cuerpo incluyendo la parte inferior del esófago, el recto y el ano. Por potenciador de la permeación gastrointestinal se entiende un compuesto que, cuando se administra oralmente, aumenta la cantidad de NASP que se resorbe por el sistema gastrointestinal. Además, los potenciadores de la permeación gastrointestinal también pueden acelerar el inicio (es decir, reducir la cantidad de tiempo para que comience la resorción) de la resorción del NASP a través del epitelio gastrointestinal así como acelerar la velocidad total de transporte del NASP a través del epitelio gastrointestinal del sujeto (es decir, reducir la cantidad de tiempo para que se complete la resorción del NASP por el sistema gastrointestinal).

En algunos casos, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal aumentan la cantidad de NASP resorbida por el sistema gastrointestinal. Por ejemplo, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden aumentar la cantidad de NASP resorbido por el sistema gastrointestinal en un 5% o más, como en un 10% o más, como en un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 90% o más, como un 95% o más, en comparación con un control adecuado. En otros casos, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal aceleran el inicio de la resorción de NASP a través del epitelio gastrointestinal. Por ejemplo, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de la invención pueden reducir la cantidad de tiempo requerido para iniciar la resorción del NASP en un 5% o más, como en un 10% o más, como en un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 90% o más, como un 95% o más, en comparación con un control adecuado. En otros casos más, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de la invención aumentan la velocidad de resorción del NASP por el sistema gastrointestinal. Por ejemplo, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden aumentar la tasa de resorción de NASP en un 2% o más, como en un 5% o más,

como en un 10% o más, como un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 100% o más, como en un 200% o más, incluyendo un 500% o más, en comparación con un control adecuado. En algunos casos, los potenciadores de la penetración del epitelio gastrointestinal de la invención pueden aumentar la resorción de los NASP como se determina por modelos de células Caco-2, como se describe con mayor detalle a continuación. Por ejemplo, potenciadores de permeación de barrera epitelial gastrointestinal de la invención pueden aumentar la resorción como se determina por modelos de células Caco-2 en un 2% o más, como en un 5% o más, como en un 10% o más, como en un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 100% o más, como en un 200% o más, incluyendo un 500% o más, en comparación con un control adecuado.

En casos de la divulgación, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden variar, dependiendo del trastorno de la coagulación sanguínea particular, la fisiología del sujeto y la mejora deseada de la resorción por el sistema gastrointestinal. En algunos casos, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal son moduladores de unión estrecha. El término "unión estrecha" se emplea en su sentido convencional para referirse a las áreas celulares estrechamente asociadas en las que las membranas de las células adyacentes están unidas entre sí. Como tal, en ciertos casos, los métodos incluyen administrar oralmente una composición que tiene una cantidad de procoagulante de un NASP en combinación con un compuesto que modula la permeación del NASP a través de las uniones estrechas del epitelio gastrointestinal. Por "modula" se entiende modificar o aumentar la permeación del NASP a través de las uniones estrechas del epitelio gastrointestinal. Como tal, los moduladores de unión estrecha modifican o aumentan la resorción de los NASP por el sistema gastrointestinal. En algunos casos, los moduladores de unión estrecha pueden incluir, pero no están limitados a, enzimas, ácidos biliares, polisacáridos, ácidos grasos y sales de los mismos y cualquier combinación de los mismos.

En algunos casos, los moduladores de unión estrecha son polisacáridos. Por ejemplo, el modulador de unión estrecha de polisacáridos puede ser quitosano. El quitosano, como se usa en la presente, se refiere al copolímero lineal de 2-acetamida-2-desoxi-β-D-glucopiranososa y 2-amino-β-D-glucopiranososa producida por la N-deacetilación de quitina. Los moduladores de unión estrecha polisacáridos también pueden incluir derivados de quitosano como N-alquil quitosano, quitosano acilado, quitosano tiolado, quitosano fosforilado, quitosano ciclodextrina, N-(aminoalquil) quitosano, succinil quitosano y octanoil quitosano, entre otros.

En otros casos, los moduladores de unión estrecha son ácidos biliares. El término "ácido biliar" se usa en su sentido convencional para referirse a los ácidos esteroideos y sales de los mismos comúnmente encontrados en la bilis de los mamíferos. Los ácidos biliares adecuados pueden incluir, pero no están limitados a, ácido cólico (colato), ácido desoxicólico (desoxicolato), ácido quenodesoxicólico (quenodesoxicolato), ácido ursodesoxicólico (ursodesoxicolato), ácido glicocólico (glicocolato), ácido taurocólico (taurocolato) y ácido litocólico (litocolato), entre otros.

En otros casos, los moduladores de unión estrecha son enzimas. Por ejemplo, los moduladores de unión estrecha de enzimas pueden ser una proteasa, como bromelaína o un fragmento enzimático de la bromelaína. La bromelaína, como se usa en la presente, se refiere al grupo de enzimas comúnmente derivados de la fruta, el tallo y las hojas de *Ananas comosus* y también puede incluir elementos como cisteína proteasas, amilasa, fosfatasa de ácidos, peroxidasas y celulasas.

En otros casos más, los moduladores de unión estrecha son ácidos grasos y sales de ácidos grasos de los mismos. Los moduladores de unión estrecha de ácidos grasos de la invención pueden variar, y pueden incluir uno cualquiera o una combinación de ácidos grasos de cadena media como, por ejemplo, ácidos grasos C8 (caprilato), C10 (caprato) y C12 (laurato) y sales de ácidos grasos de los mismos. En ciertos casos, por ejemplo, el modulador de unión estrecha de ácido graso es caprato de sodio.

La concentración de potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal que se administra en combinación con el NASP puede variar dependiendo de los efectos como se desee. Dependiendo del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, la concentración puede ser del 0,01% o más de la masa total de la composición, como el 0,1% o más, como el 1% o más, como el 2% o más, como el 5% o más, como el 10% o más, como el 15% o más, como el 20% o más, como el 25% o más e incluyendo el 50% o más de la masa total de la composición. En otras realizaciones, la concentración del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal que se administra en combinación con el NASP es de 0,01 mg/ml o más, como 0,05 mg/ml o más, como 0,1 mg/ml o más, como 1 mg/ml o más incluyendo 5 mg/ml o más. En otros casos más, la concentración del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal que se administra en combinación con el NASP es de 0,1 mM o más, como 0,5 mM o más, como 1 mM o más, como 5 mM o más, como 10 mM o más, como 25 mM o más e incluyendo 50 mM o más. En ciertos casos, se emplean concurrentemente dos o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Por ejemplo, se pueden emplear dos o más moduladores de unión estrecha en combinación con un NASP, como tres o más moduladores de unión estrecha, incluyendo cuatro o más moduladores de unión estrecha. Se puede emplear cualquier combinación de moduladores de unión estrecha, como, por ejemplo, un polisacárido y una proteasa, un ácido graso y un polisacárido, un polisacárido y un ácido biliar, un polisacárido, un ácido graso y un ácido biliar, dos polisacáridos diferentes o dos ácidos biliares diferentes, entre otras

combinaciones. Cuando se emplea más de un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, el porcentaje de masa de cada potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar, desde 1% o más de la masa total de la composición, como 2% o más, como 5% o más, como 10% o más, como 25% o más e incluyendo 50% o más de la masa total de la composición. Por ejemplo, cuando se emplean dos potenciadores de permeación de barrera epitelial gastrointestinal, la proporción de masa del primer potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con el segundo potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar, variando entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del primer potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con el segundo potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. En algunos casos, la proporción de masa del segundo potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con el primer potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal varía entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del segundo potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con el primer potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. En ciertos casos, el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal incluye un quitosano y una bromelaína. Cuando se emplea un quitosano y una bromelaína, la proporción de masa del quitosano y la bromelaína puede variar, variando entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del quitosano con la bromelaína puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. En algunas realizaciones, la proporción de masa de la bromelaína con el quitosano varía entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa de bromelaína con el quitosano puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000.

Quando se emplea una combinación de quitosano y bromelaína, en ciertos casos, la concentración de quitosano puede variar, variando de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 5%, como de aproximadamente el 0,15% a aproximadamente el 4,5%, como del 0,2% a aproximadamente el 4%, como de aproximadamente el 0,25% a aproximadamente el 3,5%, como del 0,3% a aproximadamente el 3%, como del 0,5% a aproximadamente el 2,5%, incluyendo aproximadamente del 0,5% al 1,5%. Asimismo, cuando se emplea una combinación de quitosano y bromelaína, en ciertas realizaciones, la concentración de bromelaína puede variar, variando de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 1,0 mg/ml, como aproximadamente 0,2 mg/ml a aproximadamente 0,9 mg/ml, como de 0,25 mg/ml a aproximadamente 0,75 mg/ml, como de aproximadamente 0,3 mg/ml a aproximadamente 0,6 mg/ml, incluyendo de aproximadamente 0,4 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml. Como tal, en estos casos, los métodos incluyen administrar un NASP en combinación con quitosano y bromelaína. Por ejemplo, el NASP puede ser un NASP natural o sintético, como los descritos anteriormente, incluyendo N-acetil-heparina (NAH), N-acetil-de-O-sulfatada-heparina (NA-de-o-SH), de-N-sulfatada-heparina (De-NSH), de-N-sulfatada-acetilada-heparina (De-NSAH), heparina oxidada con peryodato (POH), laminarina químicamente sulfatada (CSL), ácido algínico químicamente sulfatado (CSAA), pectina químicamente sulfatada (CSP), sulfato de dextrano (DXS), oligosacáridos derivados de heparina (HDO), polisulfato de pentosano (PPS), maltopentosas sulfatadas, beta-ciclodextrinas sulfatadas, 6-carboxiidextrina sulfatada y derivados de los mismos. Por ejemplo, el NASP puede ser un fucoidan, como Fucoidan 5307002, *Fucus vesiculosus*, pico MW máx. 126,7 kD; Fucoidan VG49, *Fucus vesiculosus*, muestra hidrolizada de 5307002 de menor MW, pico MW máx. 22,5 kD; Fucoidan VG57, *Undaria pinnatifida*, carga alta (sulfatación alta, desacetilada); Fucoidan GFS (5508005), *Undaria pinnatifida*, despirogenizado; Fucoidan GFS (L/FVF-01091), *Fucus vesiculosus*, despirogenizado, pico WM máx. 125 kD; Fucoidan GFS (L/FVF-01092), *Fucus vesiculosus*, despirogenizado, pico MW máx. 260 kD; Fucoidan GFS (L/FVF-01093), *Fucus vesiculosus*, hidrolizado despirogenizado, pico MW máx. 36 kD; Extracto de Maritech® *Ecklonia radiata*; Extracto de Maritech® *Ecklonia maxima*; Extracto de Maritech® *Macrocystis pyrifera*; Mezcla de Fucoidan de prueba Inmune Maritech®; y combinaciones de los mismos. Como se ha indicado anteriormente, en ciertos casos la concentración de quitosano varía de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 5%, como aproximadamente el 3% y la concentración de bromelaína varía de 0,1 mg/ml a aproximadamente 1 mg/ml, como aproximadamente 0,5 mg/ml.

Quando se emplean dos o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, en algunos casos, la combinación es una combinación sinérgicamente eficaz de potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. El término "sinérgicamente eficaz" significa que la combinación de potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal produce un efecto (es decir, mejora la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal) que es mayor que el que se conseguiría con la suma de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal individuales. Por ejemplo, la combinación de más de un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal produce un efecto que es 2 veces mayor que el que se lograría mediante la suma de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal individuales, como 3 veces o más, como 4 veces o más, como 5 veces o más, como 10 veces o más e incluyendo 25 veces o más de lo que el que se lograría con la suma de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal

individuales. Como tal, cuando se combinan dos potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, las combinaciones sinérgicamente eficaces de la presente invención producen un efecto que es 2 veces o más, como 5 veces o más, como 10 veces o más e incluyendo 25 veces o más de lo que se lograría mediante la suma de los dos potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal individuales. De igual manera, cuando se combinan tres potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, las combinaciones sinérgicamente eficaces de la presente invención producen un efecto que es 2 veces o más, como 5 veces o más, como 10 veces o más e incluyendo 25 veces o más de lo que se lograría mediante la suma de los tres potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal individuales. En ciertas realizaciones, las combinaciones sinérgicamente eficaces de la presente invención incluyen una combinación de quitosano y bromelaína. En estas realizaciones, la combinación de quitosano y bromelaína tiene un efecto mayor sobre la mejora de la permeación a través de la barrera epitelial gastrointestinal que la que se logra mediante la suma de quitosano y bromelaína individualmente. Por ejemplo, en algunos casos, la combinación de quitosano y bromelaína mejora la permeación a través de la barrera epitelial gastrointestinal en 2 veces o más, como 5 veces o más, como 10 veces o más e incluyendo 25 veces o más de lo que se logra mediante la suma de quitosano y bromelaína individualmente. En ciertos casos, las combinaciones sinérgicamente eficaces incluyen una combinación de bromelaína que tiene una concentración que varía de 0,1 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml, como de 0,15 mg/ml a aproximadamente 0,4 mg/ml, incluyendo 0,25 mg/ml y quitosano que tiene una concentración que varía de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 5% p/v, como del 1,5% a aproximadamente el 4,5% p/v, como del 2% a aproximadamente el 4% p/v e incluyendo aproximadamente el 3% p/v. En ciertas realizaciones, las combinaciones sinérgicamente eficaces de bromelaína y quitosano incluyen una combinación de 0,5 mg/ml de bromelaína y 3% p/v de quitosano. En otras realizaciones, las combinaciones sinérgicamente eficaces de bromelaína y quitosano incluyen 0,25 mg/ml de bromelaína y 1,5% p/v de quitosano. En otros casos más, las combinaciones sinérgicamente eficaces de bromelaína y quitosano incluyen 0,12 mg/ml de bromelaína y 0,75% p/v de quitosano.

En realizaciones de la invención, se proporcionan métodos para potenciar la coagulación sanguínea administrando oralmente un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal a un sujeto. Por "sujeto" se entiende la persona u organismo que recibe la mejora de la coagulación sanguínea. Como tales, los sujetos de la invención pueden incluir, pero no están limitados a, humanos y otros primates, como chimpancés y otras especies de simios y monos; animales de granja como ganado, ovejas, cerdos, cabras y caballos; mamíferos domésticos como perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores como ratones, ratas y conejillos de Indias; aves, incluyendo aves domésticas, salvajes y de caza como pollos, pavos y otras aves gallináceas, patos, gansos y similares.

En algunos casos, los métodos objeto pueden emplearse para tratar trastornos hemorrágicos, como un trastorno hemorrágico agudo o crónico, un trastorno de la coagulación congénito provocado por una deficiencia del Factor sanguíneo, un trastorno de la coagulación adquirido y la administración de un anticoagulante. Por ejemplo, los trastornos hemorrágicos pueden incluir, pero no están limitados a, hemofilia A, hemofilia B, enfermedad de von Willebrand, trombocitopenia idiopática, deficiencia de uno o más Factores de contacto, como Factor XI, Factor XII, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular (HMWK), una deficiencia de uno o más Factores asociados con hemorragia clínicamente significativa, como Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XIII, Factor II (hipoprotrombinemia) y Factor de von Willebrands, una deficiencia de vitamina K, un trastorno del fibrinógeno, incluyendo afibrinogenemia, hipofibrinogenemia y disfibrinogenemia, deficiencia de alfa₂-antiplasmina, y hemorragia excesiva como la provocada por enfermedad hepática, enfermedad renal, trombocitopenia, disfunción plaquetaria, hematomas, hemorragia interna, hemartrosis, cirugía, trauma, hipotermia, menstruación y embarazo.

En otros casos, los métodos objeto pueden emplearse para mejorar la coagulación sanguínea para revertir los efectos de un anticoagulante en un sujeto. Por ejemplo, el sujeto puede haber sido tratado con un anticoagulante incluyendo, pero no o limitado a, heparina, un derivado de cumarina, como warfarina o dicumarol, TFPI, AT III, anticoagulante lúpico, péptido anticoagulante de nematodos (NAPc2), factor VIIa bloqueado de sitio activo (factor VIIai), inhibidores del factor IXa, inhibidores del factor Xa, incluyendo fondaparinux, idraparinux, DX-9065a y razaxaban (DPC906), inhibidores de los factores Va y VIIIa, incluyendo la proteína C activada (APC) y la trombosmodulina soluble, inhibidores de trombina, incluyendo hirudina, bivalirudina, argatroban y ximelagatran. En ciertos casos, el anticoagulante en el sujeto puede ser un anticuerpo que se une a un factor de coagulación, incluyendo pero no limitado a, un anticuerpo que se une al Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XIII, Factor II, Factor XI, Factor XII, factor de von Willebrands, precalicreína, o cininógeno de alto peso molecular (HMWK).

Los aspectos de la invención incluyen administrar oralmente a un sujeto una composición que tiene una cantidad de procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal para mejorar la coagulación sanguínea. Como se ha descrito anteriormente, los NASP de la invención pueden ser NASP naturales o NASP sintéticos. En algunas realizaciones, los NASP son NASP naturales. Por "natural" se entiende que el NASP se encuentra o se deriva de una fuente de origen natural, como de una fuente animal o vegetal, y abarca una amplia gama de subclases que incluyen heparinas, glicosaminoglicanos, fucoidanos, carragenanos, polisulfatos de pentosano, dermatán sulfatos y dextrano sulfatos. En algunas realizaciones, los NASP naturales pueden extraerse de una fuente biológica. Por "fuente biológica" se entiende un organismo o parte de un

organismo de origen natural. Por ejemplo, Los NASP de interés pueden extraerse de plantas, animales, hongos o bacterias. En particular, los NASP de interés pueden extraerse de algas comestibles, algas marrones, equinodermos (por ejemplo, erizos de mar, pepinos de mar) y similares. Puede emplearse cualquier protocolo conveniente para extraer el NASP de la fuente biológica. Por ejemplo, el NASP puede extraerse de la fuente biológica mediante extracción ácido-base, degradación enzimática, precipitación selectiva, filtración, entre otros procedimientos. Los métodos para extraer y aislar NASP de fuentes biológicas como algas marinas comestibles y algas marrones se describen en detalle en la Solicitud de Patente U.S. pendiente N° de Serie 12/449.712, presentada el 25 de febrero del 2010, la divulgación de la cual se incorpora en la presente por referencia en su totalidad.

En ciertas realizaciones, los NASP naturales de la invención incluyen, pero no están limitados a, incluyendo N-acetil-heparina (NAH), N-acetil-de-O-sulfatada-heparina (NA-de-o-SH), de-N-sulfatada-heparina (De-NSH), de-N-sulfatada-acetilada-heparina (De-NSAH), heparina oxidada con peryodato (POH), laminarina químicamente sulfatada (CSL), ácido alginico químicamente sulfatado (CSAA), pectina químicamente sulfatada (CSP), sulfato de dextrano (DXS), oligosacáridos derivados de heparina (HDO), polisulfato de pentosano (PPS) y combinaciones de los mismos. En algunos casos, el NASP puede ser un fragmento de bajo peso molecular de un NASP de origen natural. En otros casos, los NASP naturales también pueden incluir derivados bioquímicos o químicos de NASP de origen natural. En ciertos casos, los NASP naturales son fucoidanos. Como se describe con mayor detalle a continuación, los fucoidanos son compuestos de polisacáridos sulfatados complejos de origen natural que pueden extraerse de ciertas algas marinas comestibles, algas marrones y equinodermos (por ejemplo, erizos de mar, pepinos de mar). Como se usa en la presente el término "fucoidano" se refiere a un grupo diverso de fracciones extraídas de una fuente biológica de polímeros de bajo contenido en sulfato en lugar de una única entidad química. En ciertos casos, los fucoidanos de la invención incluyen, pero no están limitados a, Fucoïdan GFS 5508005, Undaria pinnatifida, despirogenado; Fucoïdan GFS 5508004, Undaria pinnatifida; Fucoïdan GFS 5508003, Undaria pinnatifida; Fucoïdan 5307002, Fucus vesiculosus, pico MW máx. 126,7 kD; Fucoïdan VG49, Fucus vesiculosus, muestra hidrolizada de 5307002 de menor MW, pico MW máx. 22,5 kD; Fucoïdan 5308004, Fucus vesiculosus; Fucoïdan 5308005, Fucus vesiculosus; Fucoïdan L/FVF1091, Fucus vesiculosus; Fucoïdan VG201096A, Fucus vesiculosus; Fucoïdan VG201096B, Fucus vesiculosus; Fucoïdan VG57, Undaria pinnatifida, carga alta (sulfatación alta, desacetilada); Fucoïdan VG50, Ascophyllum nodosum, pico MW máx. 149,7 kD; y combinaciones de los mismos.

Ejemplos de NASP adecuados se describen con mayor detalle en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° de Serie 11/140,504, presentada el 27 de mayo de 2005, ahora Patente de Estados Unidos No. 7,767,654 y Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° de Serie 13/006.396, presentada el 13 de enero de 2011, cuyas divulgaciones se incorporan en la presente por referencia en su totalidad.

En otras realizaciones, los NASP son NASP sintéticos. Por "sintético" se entiende que el polisacárido sulfatado se produce parcial o totalmente por métodos artificiales (por ejemplo, síntesis química). Por ejemplo, el NASP sintético puede ser un oligómero sulfatado, como un oligosacárido sulfatado o un alifático sulfatado. En ciertos casos, los NASP sintéticos son pentosas sulfatadas, hexosas sulfatadas o ciclodextrinas sulfatadas. Por ejemplo, los NASP sintéticos pueden incluir, pero no están limitados a, maltopentosas sulfatadas, beta-ciclodextrinas sulfatadas, 6-carboxiicodextrina sulfatada y derivados de los mismos.

Los ejemplos de otros NASP sintéticos adecuados se describen con mayor detalle en la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos N° de Serie 61/592,554, presentada el 30 de enero de 2012 y la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos N° de Serie 61/592,549, presentada el 30 de enero de 2012. Dependiendo de los efectos deseados y la potencia de los NASP, pueden emplearse juntos uno o más NASP. Por ejemplo, pueden emplearse juntos dos o más NASP, como tres o más NASP e incluyendo cuatro o más NASP. Cuando se emplea más de un NASP, todos los NASP pueden ser NASP naturales, todos los NASP pueden ser NASP sintéticos o cualquier combinación de los mismos. Cuando se emplea más de un NASP, el porcentaje de masa de cada NASP en la composición puede variar, del 1% o más de la masa total de la composición, como el 2% o más, como el 5% o más, como el 10% o más, como el 25% o más e incluyendo como el 50% o más de la masa total de la composición.

En casos de la invención, la proporción de masa del NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar, variando entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. En algunas realizaciones, la proporción de masa del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y el NASP varía entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y el NASP puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000.

El NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden administrarse al sujeto en cualquier orden. En algunos casos, el NASP se administra oralmente antes de administrar oralmente el

potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En otros casos, el NASP se administra oralmente después de administrar oralmente el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En otros casos más, el NASP se administra por oralmente junto con la administración oral del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Si tanto el NASP como el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se proporcionan al mismo tiempo, cada uno puede proporcionarse en la misma composición o en una composición diferente. Cuando el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se administran al mismo tiempo, el NASP se puede mezclar con el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal el factor de coagulación sanguíneo antes de administrar la composición al sujeto. Puede usarse cualquier protocolo de mezclado conveniente, como mediante agitación en seco, mezcla en solución o suspensión, protocolos de mezcla industrial y similares. Por tanto, los NASP y los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden presentarse al individuo por medio de una terapia concurrente. Por "terapia concurrente" se entiende la administración a un sujeto de tal manera que se provoque el efecto terapéutico de la combinación del NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en el sujeto sometido a terapia. De manera similar, uno o más NASP y uno o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden administrarse oralmente en por lo menos una dosis terapéutica.

Puede administrarse cualquier combinación adecuada de NASP y potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En ciertas realizaciones, los métodos incluyen administrar un NASP natural (como se ha descrito anteriormente) con uno o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En estos casos, los métodos pueden incluir administrar una combinación de un NASP natural con uno o más de caprato de sodio, desoxicolato, bromelaína y quitosano. En ciertos casos, los métodos incluyen administrar un NASP natural con caprato de sodio. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más de *Undaria pinnatifida* U.p.5508005 y *Fucus vesiculosus* F.v. L/FVF 1091 con caprato de sodio. En otros casos, los métodos incluyen administrar un NASP natural con desoxicolato. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más de *Undaria pinnatifida* U.p. 5508005, *Fucus vesiculosus* F.v. L/FVF 1091, *Fucus vesiculosus* F.v. DS1001108, *Fucus vesiculosus* F.v. SK110144B con desoxicolato. En otros casos más, los métodos incluyen administrar un NASP natural con bromelaína. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más de *Undaria pinnatifida* Up5508005, *Fucus vesiculosus* F.v. L/FVF 1091, *Fucus vesiculosus* F.v. DS1001108, *Fucus vesiculosus* F.v. SK110144B con bromelaína. En otros casos, los métodos incluyen administrar un NASP natural con quitosano. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más de *Undaria pinnatifida* Up5508005, *Fucus vesiculosus* F.v. L/FVF 1091, *Fucus vesiculosus* F.v. DS1001108, *Fucus vesiculosus* F.v. SK110144B en combinación con quitosano. En otras realizaciones más, los métodos incluyen administrar un NASP natural con una combinación de bromelaína y quitosano (como se ha descrito anteriormente). Por ejemplo, pueden administrarse uno o más de *Undaria pinnatifida* U.p. 5508005, *Fucus vesiculosus* F.v. L/FVF 1091, *Fucus vesiculosus* F.v. DS1001108, *Fucus vesiculosus* F.v. SK110144B con una combinación de bromelaína y quitosano.

En ciertos casos, los métodos incluyen administrar un NASP sintético (como se ha descrito anteriormente) con uno o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En estos casos, los métodos pueden incluir administrar una combinación de un NASP sintético con uno o más de caprato de sodio, desoxicolato, bromelaína y quitosano. En ciertos casos, los métodos incluyen administrar un NASP sintético con caprato de sodio. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más de una β -ciclodextrina sulfatada y una maltopentosa sulfatada con caprato de sodio. En otra realización, los métodos incluyen administrar un NASP sintético con desoxicolato. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más de una 6-carboxicodextrina sulfatada de 24 kD, una 6-carboxicodextrina de 14 kD, una β -ciclodextrina sulfatada y una maltopentosa sulfatada con desoxicolato. En otros casos más, los métodos incluyen administrar un NASP sintético con bromelaína. Por ejemplo pueden administrarse, uno o más de una 6-carboxicodextrina sulfatada de 24 kD, una 6-carboxicodextrina de 14 kD, una β -ciclodextrina sulfatada y una maltopentosa sulfatada con bromelaína. En otros casos, los métodos incluyen administrar un NASP sintético con quitosano. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más de una 6-carboxicodextrina sulfatada de 24 kD, una 6-carboxicodextrina de 14 kD, una β -ciclodextrina sulfatada y una maltopentosa sulfatada en combinación con quitosano. En otros casos más, los métodos incluyen administrar un NASP sintético con una combinación de bromelaína y quitosano (como se ha descrito anteriormente). Por ejemplo, pueden administrarse, uno o más de una 6-carboxicodextrina sulfatada de 24 kD, una 6-carboxicodextrina de 14 kD, una β -ciclodextrina sulfatada y una maltopentosa sulfatada con una combinación de bromelaína y quitosano.

En ciertas realizaciones, los aspectos de la invención incluyen mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto administrando oralmente al sujeto una composición que contiene una cantidad procoagulante de un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en combinación con un factor de coagulación sanguínea seleccionado de factor XI, factor XII, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMWK), factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XIII, factor II, factor VIIa y factor de von Willebrands, factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa y VIIIa, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular, factor tisular, factor VIIa, factor Va y factor Xa.

Cuando una composición que contiene un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se administra oralmente con un factor de coagulación sanguínea al sujeto, la proporción de masa de la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede

5 variar, variando entre 1:1 y 1:2.5; 1:2.5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa de la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal al factor de coagulación sanguínea puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. En algunas realizaciones, la proporción de masa del factor de coagulación sanguínea con la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal varía entre 1:1 y 1:2.5; 1:2.5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del factor de coagulación sanguínea con la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. 50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del factor de coagulación sanguínea con la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del factor de coagulación sanguínea a la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000.

20 El factor de coagulación sanguínea y la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden administrarse al sujeto en cualquier orden. En algunos casos, la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se administra oralmente antes de administrar el factor de coagulación sanguínea. En otros casos, la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se administra oralmente
25 oralmente I junto con la administración del factor de coagulación sanguínea. En otros casos más, la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se administra oralmente después de administrar el factor de coagulación sanguínea. Cuando la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se administra oralmente junto con el factor de coagulación sanguínea, la composición que contiene el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden mezclarse con el factor de coagulación sanguínea antes de administrar oralmente la
30 composición al sujeto. Puede usarse cualquier protocolo de mezclado conveniente, como agitación en seco, mezcla de solución o suspensión, protocolos de mezcla industrial y similares.

35 Los aspectos de la invención incluyen composiciones para tratar trastornos hemorrágicos administrando oralmente una cantidad procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Los NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal como se describe en la presente pueden administrarse solos (es decir, como agentes individuales), o en combinación con otros agentes hemostáticos. Como se desea, puede emplearse una cantidad procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial
40 gastrointestinal en el tratamiento de un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hemorrágico, incluyendo trastornos congénitos de la coagulación, trastornos de la coagulación adquiridos, administración de un anticoagulante, y condiciones hemorrágicas inducidas por trauma.

45 En algunos casos, un sujeto puede haber sido diagnosticado con trastornos de la coagulación sanguínea que incluyen, pero no están limitados a, hemofilia A, hemofilia B, enfermedad de von Willebrand, trombocitopenia idiopática, una deficiencia de uno o más factores de contacto, como Factor XI, Factor XII, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular (HMWK), una deficiencia de uno o más factores asociados con hemorragia clínicamente significativa, como Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XIII, Factor II (hipoprotrombinemia) y factor de von Willebrands, una deficiencia de vitamina K, un trastorno del fibrinógeno, incluyendo afibrinogenemia, hipofibrinogenemia y disfibrinogenemia, una deficiencia de alfa₂-antiplasmina y hemorragia excesiva, como la provocada por enfermedad hepática, enfermedad renal, trombocitopenia, disfunción plaquetaria, hematomas, hemorragia interna, hemartrosis, cirugía, trauma, hipotermia, menstruación y embarazo.

55 En otros casos, un sujeto puede haber sido diagnosticado con un trastorno de la coagulación sanguínea que incluye un trastorno de la coagulación congénita o un trastorno de la coagulación adquirido provocado por una deficiencia del factor sanguíneo. Por ejemplo, la deficiencia del factor sanguíneo puede estar provocada por deficiencias de uno o más factores, incluyendo, pero no limitados a, factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor XI, factor XII, factor XIII y factor de von Willebrand.

60 En otros casos más, puede diagnosticarse a un sujeto que tiene un trastorno de coagulación sanguínea que es resultado de la administración de un anticoagulante al sujeto. Por ejemplo, el anticoagulante puede incluir, pero no está limitado a, heparina, un derivado de cumarina, como warfarina o dicumarol, inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), antitrombina III, anticoagulante lúpico, péptido anticoagulante del nematodo (NAPc2), factor VIIa bloqueado de sitio activo (factor VIIai), inhibidores del factor IXa, inhibidores del factor Xa, incluidos fondaparinux, idraparinux, DX-9065a y razaxaban (DPC906), inhibidores de los factores Va y VIIIa, incluyendo proteína C activada
65

(APC) y la trombomodulina soluble, inhibidores de trombina , incluyendo hirudina, bivalirudina, argatroban y ximelagatran. En ciertas realizaciones, el anticoagulante puede ser un anticuerpo que se une a un factor de coagulación, incluyendo, pero no limitado a, un anticuerpo que se une al Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XIII, Factor II, Factor XI , Factor XII, factor von Willebrands, precalicreína o cininógeno de alto peso molecular (HMWK).

En otros casos más, los métodos de la invención incluyen un método para inhibir la actividad de TFPI en un sujeto. Por ejemplo, los métodos pueden incluir además administrar oralmente a un sujeto, una cantidad de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de una manera suficiente para inhibir la actividad de TFPI en el sujeto. En ciertos casos, una cantidad de procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se combina con una muestra biológica (por ejemplo, plasma sanguíneo) que incluye TFPI y medir la actividad de TFPI de la muestra biológica. En otros casos, los métodos incluyen combinar una cantidad procoagulante de un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con una muestra biológica, agregar TFPI a la composición y medir la actividad TFPI de la muestra biológica. En ciertos casos, la muestra biológica es una muestra de plasma, como por ejemplo, plasma sanguíneo normal o plasma sanguíneo inhibido por Factor VIII.

En la puesta en práctica de los métodos de la invención, los protocolos para potenciar la coagulación sanguínea en un sujeto pueden variar, como por ejemplo, por edad, peso, gravedad del trastorno de la coagulación sanguínea, la salud general del sujeto, así como la composición y concentración particular de los NASP y los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal que se administran. En casos de la invención, la concentración de NASP alcanzada en un sujeto después de la administración oral y la resorción por el sistema gastrointestinal pueden variar, en algunos casos, variando de 0,01 nM a 500 nM. Los NASP de interés son procoagulantes en su concentración óptima. Por "concentración óptima" se entiende la concentración en la que los NASP exhiben la cantidad más alta de actividad procoagulante. Como muchos de los NASP también demostraron actividad anticoagulante a concentraciones mucho más altas que la concentración óptima, los NASP de la invención muestran un comportamiento no anticoagulante en el intervalo de su concentración óptima. Como tal, dependiendo de la potencia del NASP así como del efecto deseado, la concentración óptima de los NASP proporcionados por los métodos de la invención puede variar de 0,01 nM a 500 nM, como de 0,1 nM a 250 nM, como de 0,1 nM a 100 nM, como de 0,1 nM a 75 nM, como de 0,1 nM a 50 nM, como de 0,1 nM a 25 nM, como de 0,1 nM a 10 nM, e incluyendo de 0,1 nM a 1 nM. Las concentraciones óptimas y el nivel de actividad como se determina mediante el ensayo de trombosis automatizada calibrada (CAT) de los NASP de interés se describen con mayor detalle en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° de Serie 11/140.504, presentada el 27 de mayo del 2005, ahora la Patente de Estados Unidos N° 7.767.654, y la Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° de Serie 13/006.396, presentada el 13 de enero del 2011, las divulgaciones de las cuales se incorporan en la presente por referencia en su totalidad. De igual manera, la concentración de potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal lograda en un sujeto después de la administración oral y la resorción por el sistema gastrointestinal pueden variar, en algunos casos, en el intervalo de 0,01 nM a 500 nM. Por ejemplo, dependiendo de la capacidad de absorción inherente del NASP así como del efecto deseado, la concentración de potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal proporcionados por los métodos de la invención puede variar de 0,01 nM a 500 nM, como de 0,1 nM a 250 nM, como de 0,1 nM a 100 nM, como de 0,1 nM a 75 nM, como de 0,1 nM a 50 nM, como de 0,1 nM a 25 nM, como de 0,1 nM a 10 nM, e incluyendo de 0,1 nM a 1 nM.

Por lo tanto, la dosificación oral de las composiciones que contienen NASP en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de interés puede variar, variando de aproximadamente 0,01 mg/kg a 500 mg/kg por día, como de 0,01 mg/kg a 400 mg/kg por día, como de 0,01 mg/kg a 200 mg/kg por día, como de 0,1 mg/kg a 100 mg/kg por día, como de 0,01 mg/kg a 10 mg/kg por día, como de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg por día, incluyendo de 0,02 mg/kg a 2 mg/kg por día. En otras realizaciones, la dosificación oral puede variar de 0,01 a 100 mg/kg cuatro veces por día (QID), como de 0,01 a 50 mg/kg QID, como de 0,01 mg/kg a 10 mg/kg QID, como de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg QID, como de 0,01 a 0,2 mg/kg QID. En otros casos, la dosificación oral puede variar de 0,01 mg/kg a 50 mg/kg tres veces por día (TID), como de 0,01 mg/kg a 10 mg/kg TID, como de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg TID, e incluyendo como de 0,01 mg/kg a 0,2 mg/kg TID. En otros casos más, la dosificación oral puede variar de 0,01 mg/kg a 100 mg/kg dos veces por día (BID), como de 0,01 mg/kg a 10 mg/kg BID, como de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg BID, incluyendo de 0,01 mg/kg a 0,2 mg/kg BID. La cantidad de compuesto administrado dependerá de la potencia y concentración del NASP específico, la magnitud o el efecto procoagulante deseado, la absorción inherente del NASP, así como la mejora deseada de la resorción gastrointestinal.

Como se ha tratado anteriormente, las composiciones que contienen un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal como se proporcionan por los métodos de la invención pueden administrarse oralmente en combinación con otros NASP, potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal u otros agentes terapéuticos, como agentes hemostáticos, factores sanguíneos u otros medicamentos de acuerdo con un programa de dosificación que depende del juicio del practicante clínico y las necesidades del sujeto. Como tal, los programas de dosificación pueden incluir, pero no están limitados a, administración cinco veces al día, cuatro veces al día, tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, dos veces al mes, una vez al mes, y cualquier

combinación de los mismos.

En algunos casos, el trastorno hemorrágico puede ser una afección crónica (por ejemplo, una deficiencia del factor de coagulación congénita o adquirida) que requiere los métodos y composiciones objeto en múltiples dosis durante un período prolongado. Alternativamente, los métodos y composiciones de la invención pueden administrarse para tratar una afección aguda (por ejemplo, hemorragia provocada por cirugía o trauma, o episodios inhibidores de factores/autoinmunes en sujetos que reciben terapia de reemplazo de coagulación) en dosis individuales o múltiples durante un período relativamente corto, por ejemplo, una o dos semanas.

En casos de puesta práctica de la invención, se administrarán a un sujeto uno o más ciclos de tratamiento terapéuticamente eficaces. Por "ciclo de tratamiento terapéuticamente eficaz" se entiende un ciclo de tratamiento que, cuando se administra, produce la respuesta terapéutica deseada con respecto al tratamiento. Por ejemplo, uno o más ciclos de tratamiento terapéuticamente eficaces pueden aumentar la tasa de coagulación sanguínea como se determina mediante ensayos de coagulación sanguínea (por ejemplo, CAT, aPTT, descritos en detalle a continuación) en un 1% o más, como un 5% o más, como un 10% o más, como un 15% o más, como un 20% o más, como un 30% o más, como un 40% o más, como un 50% o más, como un 75% o más, como un 90% o más, como un 95% o más, incluyendo el aumento de la tasa de formación de coágulos sanguíneos en un 99% o más. En otros casos, uno o más ciclos de tratamiento terapéuticamente eficaces pueden aumentar la tasa de formación de coágulos sanguíneos en 1,5 veces o más, como 2 veces o más, como 5 veces o más, como 10 veces o más, como 50 veces o más, incluyendo el aumento de la tasa de formación de coágulos sanguíneos en 100 veces o más. En algunos casos, los sujetos tratados por los métodos de la invención muestran una respuesta terapéutica positiva. Por "respuesta terapéutica positiva" se entiende que el sujeto muestra una mejora en uno o más síntomas de un trastorno hemorrágico. Por ejemplo, un sujeto que muestra una respuesta terapéutica positiva a los métodos proporcionados por la invención puede incluir, pero no está limitado a, respuestas como tiempos de coagulación sanguínea acortados, hemorragia reducida, necesidad reducida de terapia de reemplazo de factor o una combinación de los mismos. En ciertos casos, se administra más de un ciclo terapéuticamente eficaz de tratamiento.

Como se ha revisado anteriormente, en la puesta práctica de los métodos de acuerdo con ciertas realizaciones, se administra a un sujeto una composición que tiene una cantidad de procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal para mejorar la coagulación sanguínea en el sujeto. Puede emplearse cualquier modo conveniente de administración siempre que la composición se resorba a través del epitelio gastrointestinal. Como tal, los modos de administración pueden incluir la administración oral o por sonda nasogástrica (por ejemplo, sonda de alimentación o sonda NG). Como se trata con mayor detalle a continuación, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en forma de una solución o suspensión líquida, jarabe, comprimido, cápsula, polvo, gel o cualquier combinación de los mismos. Cuando una composición que tiene una cantidad procoagulante de un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se administra oralmente en combinación con un factor de coagulación sanguínea, como se ha tratado con detalle anteriormente, el modo de administración para NASP y el componente potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede ser igual o diferente que para el factor de coagulación sanguínea. Por ejemplo, en algunos casos, la composición que tiene una cantidad procoagulante de un NASP y potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede administrarse oralmente, mientras que el factor de coagulación sanguínea puede aplicarse localmente (por ejemplo, como una crema). En otros casos, tanto la composición que tiene una cantidad procoagulante de un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal como el factor de coagulación sanguínea se administran oralmente.

En ciertos casos, los métodos de la invención proporcionan la administración oral de una composición que tiene una cantidad procoagulante de un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, como por ejemplo antes de cirugía planificada. La composición puede administrarse profilácticamente como se desee, como una hora o más antes de un procedimiento planificado, como 10 horas antes de un procedimiento planificado, como 24 horas antes de un procedimiento planificado, e incluyendo una semana antes de un procedimiento planificado. En algunos casos, la composición administrada antes de o durante un procedimiento planificado puede ser una formulación de liberación sostenida (por ejemplo, comprimidos oblongos o comprimidos de liberación sostenida), como se describe con mayor detalle a continuación.

En ciertos casos, las composiciones de la invención pueden administrarse oralmente antes de, concurrentemente con o posteriormente a otros agentes para tratar afecciones relacionadas o no relacionadas. Si se proporcionan al mismo tiempo que otros agentes, las composiciones de la invención pueden proporcionarse en la misma composición o en una composición diferente. Por tanto, los NASP y los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de interés y otros agentes pueden presentarse en una forma de dosificación oral al individuo por medio de una terapia concurrente. Por ejemplo, la terapia concurrente puede lograrse administrando composiciones de la invención y una composición farmacéutica que tiene por lo menos otro agente, como un agente hemostático o factor de coagulación (por ejemplo, FVIII o FIX), que en combinación comprende una dosis terapéuticamente eficaz, de acuerdo con un régimen de dosificación oral particular. De manera similar, uno o más NASP en combinación con uno o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y agentes terapéuticos pueden administrarse en por lo menos una dosis terapéutica. La administración de las

composiciones farmacéuticas separadas puede realizarse simultáneamente o en momentos diferentes (es decir, secuencialmente, en cualquier orden, en el mismo día o en diferentes días), siempre que se produzca el efecto terapéutico de la combinación de estas sustancias en el sujeto sometido a terapia.

5 COMPOSICIONES

Los aspectos de la invención también incluyen composiciones de dosificación oral para mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto. En realizaciones de la invención, las composiciones incluyen una cantidad procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Las composiciones también incluyen una combinación de una cantidad procoagulante de un NASP con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y un factor de coagulación sanguínea. Como se ha descrito en detalle anteriormente, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal incluyen compuestos que cuando se administran oralmente, aumentan la cantidad de NASP que se resorbe por el sistema gastrointestinal. Además, los potenciadores de la permeación gastrointestinal también pueden acelerar el inicio (es decir, reducir la cantidad de tiempo para que comience la resorción) de la resorción del NASP a través del epitelio gastrointestinal así como acelerar la velocidad total de transporte del NASP a través del epitelio gastrointestinal del sujeto (es decir, reducir la cantidad de tiempo para que se complete la resorción del NASP por el sistema gastrointestinal).

Como se ha indicado anteriormente, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden aumentar la cantidad de NASP resorbida por el sistema gastrointestinal. Por ejemplo, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden aumentar la cantidad de NASP resorbido por el sistema gastrointestinal en un 5% o más, como en un 10% o más, como en un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 90% o más, como un 95% o más, en comparación con un control adecuado. En otras realizaciones, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en las composiciones orales de la invención aceleran el inicio de la resorción del NASP a través del epitelio gastrointestinal. Por ejemplo, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de la invención pueden reducir la cantidad de tiempo requerido para iniciar la resorción del NASP en un 5% o más, como un 10% o más, como un 25% o más, como un 50% o más, como un 75% o más, como un 90% o más, como un 95% o más, en comparación con un control adecuado. En otras realizaciones más, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en las composiciones orales de la invención aumentan la velocidad de resorción del NASP. Por ejemplo, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden aumentar la tasa de resorción del NASP en un 2% o más, como en un 5% o más, como en un 10% o más, como un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 100% o más, como en un 200% o más, incluyendo en un 500% o más, en comparación con un control adecuado.

En ciertos casos, los potenciadores de la permeación epitelial gastrointestinal en las composiciones orales de la invención pueden aumentar la resorción de los NASP como se determina por modelos de células Caco-2. Por ejemplo, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de la invención pueden aumentar la resorción como se determina por modelos de células Caco-2 en un 2% o más, como en un 5% o más, como en un 10% o más, como en un 25% o más, como en un 50% o más, como en un 75% o más, como en un 100% o más, como en un 200% o más, incluyendo un 500% o más, en comparación con un control adecuado.

Como se ha tratado con detalle anteriormente, las composiciones de dosificación oral de la invención incluyen uno o más NASP en combinación con uno o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en las composiciones de interés pueden variar. En algunos casos de la divulgación, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal son moduladores de unión estrecha. Por ejemplo, los moduladores de unión estrecha en las composiciones de dosificación oral de la invención pueden incluir, pero no están limitados a, enzimas, ácidos biliares, polisacáridos, ácidos grasos y sus sales y cualquier combinación de los mismos.

En algunos casos, los moduladores de unión estrecha son polisacáridos. Por ejemplo, el modulador de unión estrecha de polisacáridos en ciertos casos puede ser quitosano. El quitosano, como se ha tratado anteriormente, se refiere al copolímero lineal de 2-acetamida-2-desoxi- β -D-glucopiranososa y 2-amino- β -D-glucopiranososa producido por N-deacetilación de quitina. Los moduladores de unión estrecha de polisacáridos también pueden incluir derivados de quitosano como N-alquil quitosano, quitosano acilado, quitosano tiolado, quitosano fosforilado, ciclodextrina de quitosano, N-(aminoalquil) quitosano, succinil quitosano y octanoilquitosano, entre otros.

En otros casos, los moduladores de unión estrecha son ácidos biliares. Los moduladores de unión estrecha de ácidos biliares adecuados pueden incluir, pero no están limitados a ácido cólico (colato), ácido desoxicólico (desoxicolato), ácido quenodesoxicólico (quenodesoxicolato), ácido ursodesoxicólico (ursodesoxicolato), ácido glicocólico (glicocolato), ácido taurocólico (taurocolato) y litocólico ácido (litocolato), entre otros.

En otros casos, los moduladores de unión estrecha son enzimas. Por ejemplo, en ciertas composiciones, los moduladores de unión estrecha de enzimas son una proteasa, como la bromelaina.

En otros casos más, los moduladores de unión estrecha son ácidos grasos y sales de ácidos grasos de los mismos. Los moduladores de unión estrecha de ácidos grasos en las composiciones pueden variar, y pueden incluir uno o una combinación de ácidos grasos de cadena media como, por ejemplo, ácidos grasos C8 (caprilato), C10 (caprato) y C12 (laurato) y sales de ácidos grasos de los mismos. En ciertos casos, por ejemplo, el modulador de unión estrecha de ácido graso es caprato de sodio.

En ciertos casos, las composiciones de dosificación oral de la invención incluyen dos o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Por ejemplo, las composiciones pueden incluir dos o más moduladores de unión estrecha, como tres o más moduladores de unión estrecha, incluyendo cuatro o más moduladores de unión estrecha. Las composiciones pueden incluir cualquier combinación de moduladores de unión estrecha como, por ejemplo, un polisacárido y una proteasa, un ácido graso y un polisacárido, un polisacárido y un ácido biliar, un polisacárido, un ácido graso y un ácido biliar, dos polisacáridos diferentes o dos ácidos biliares diferentes, entre otras combinaciones. Cuando las composiciones incluyen más de un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar, variando de un 1% o más de la masa total de la composición, como un 2% o más, como un 5% o más, como un 10% o más, como un 25% o más e incluyendo un 50% o más de la masa total de la composición. Las composiciones de la invención incluyen quitosano y bromelaína. Cuando la composición incluye una combinación de quitosano y bromelaína, la proporción de masa de quitosano y bromelaína puede variar, variando entre 1:1 y 1:2, 5; 1:2, 5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa de quitosano a bromelaína puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. En algunos casos, la proporción de masa de bromelaína a quitosano varía entre 1:1 y 1:2.5; 1:2.5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa de bromelaína a quitosano puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000.

Cuando las composiciones de la invención incluyen una combinación de quitosano y bromelaína, la concentración de quitosano también puede variar, variando de aproximadamente un 0,1% a aproximadamente un 5%, como de aproximadamente un 0,15% a aproximadamente un 4,5%, como de un 0,2% a aproximadamente un 4%, como de aproximadamente un 0,25% a aproximadamente un 3,5%, como de un 0,3% a aproximadamente un 3%, como de un 0,5% a aproximadamente un 2,5%, incluyendo de aproximadamente un 0,5% a un 1,5%. De igual manera, cuando se emplea una combinación de quitosano y bromelaína, en ciertos casos, la concentración de bromelaína también puede variar, variando de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 1,0 mg/ml, como de aproximadamente 0,2 mg/ml a aproximadamente 0,9 mg/ml, como de 0,25 mg/ml a aproximadamente 0,75 mg/ml, como de aproximadamente 0,3 mg/ml a aproximadamente 0,6 mg/ml, incluyendo de aproximadamente 0,4 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml. En ciertos casos, la concentración de quitosano es de aproximadamente un 3% y la concentración de bromelaína es de aproximadamente 0,5 mg/ml.

Como se ha descrito anteriormente, los NASP en las composiciones de dosificación oral de la invención son polisacáridos sulfatados que demuestran actividad procoagulante. Las propiedades no anticoagulantes de los NASP pueden determinarse usando ensayos de coagulación, incluyendo trombografía automatizada calibrada (CAT) en plasma deficiente en factor VIII y/o factor IX, tiempo de protrombina diluido (dPT) o tiempo de tromboplastina activada parcial (aPTT). Una medida de la actividad no coagulante es comparar el NASP en cuestión con el anticoagulante conocido heparina. Por ejemplo, el NASP puede mostrar un tercio o menos, como una décima parte o menos de la actividad anticoagulante (medida por aumento estadísticamente significativo en el tiempo de coagulación) de heparina no fraccionada (intervalo MW de 8.000 a 30.000, media 18.000 Daltons). Por tanto, un NASP puede demostrar una actividad anticoagulante por lo menos dos veces menor en comparación con la heparina, como de dos a cinco veces o menos actividad anticoagulante en comparación con la heparina, e incluyendo una actividad anticoagulante de dos a 10 veces o menos en comparación con la heparina, usando cualquiera de los varios ensayos de coagulación descritos en la presente.

En algunas realizaciones, las composiciones de dosificación oral de la invención incluyen un NASP natural en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Como se ha tratado anteriormente, los NASP naturales pueden ser NASP encontrados o derivados de una fuente de origen natural, como de origen animal o vegetal y pueden abarcar una amplia gama de subclases incluyendo derivados de heparinas, glicosaminoglicanos, fucoidanos, carragenanos, polisulfatos de pentosano, sulfatos de dermatán y sulfatos de dextrano. En algunos casos, los NASP naturales de la invención se extraen de una fuente biológica. Por "fuente biológica" se entiende un organismo o parte de un organismo de origen natural. Por ejemplo, los NASP de interés pueden extraerse de plantas, animales, hongos o bacterias. En particular, los NASP de interés pueden extraerse de algas comestibles, algas marrones, equinodermos (por ejemplo, erizos de mar, pepinos de mar) y similares. Por ejemplo, los NASP pueden extraerse de la fuente biológica mediante extracción ácido-base, degradación enzimática, precipitación selectiva, filtración, entre otros procedimientos. Los NASP naturales, como los extraídos de fuentes biológicas, incluyendo pero no limitado a, algas marinas comestibles y algas marrones que se describen con detalle en la Solicitud de Patente U.S. pendiente N° de Serie 12/449.712, presentada el 25 de febrero

de 2010. En ciertas realizaciones, los NASP naturales de la invención incluyen N-acetil-heparina (NAH), N-acetil-de-O-sulfatada-heparina (NA-de-o-SH), de-N-sulfatada-heparina (De-NSH), de-N-sulfatada-acetilada-heparina (De-NSAH), heparina oxidada con peryodato (POH), laminarina químicamente sulfatada (CSL), ácido algínico químicamente sulfatado (CSAA), pectina químicamente sulfatada (CSP), sulfato de dextrano (DXS), oligosacáridos derivados de heparina (HDO), polisulfato de pentosano (PPS) y combinaciones de los mismos. En algunos casos, el NASP puede ser un fragmento de bajo peso molecular de un NASP de origen natural. En otros casos, los NASP naturales pueden incluir también derivados bioquímicos o químicos de NASP de origen natural. En ciertos casos, los NASP naturales son fucoidanos. Como se ha descrito anteriormente, Los fucoidanos son compuestos de polisacáridos sulfatados complejos de origen natural que pueden extraerse de ciertas algas marinas comestibles, algas marrones y equinodermos (por ejemplo, erizos de mar, pepinos de mar). Los ejemplos de NASP adecuados también se describen con mayor detalle en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° de Serie 11/140.504, presentada el 27 de mayo de 2005, ahora Patente de Estados Unidos N° 7.767.654 y en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° de Serie 13/006.396 presentada el 13 de enero de 2011. Los NASP de interés pueden variar en peso molecular medio de aproximadamente 10 daltons a aproximadamente 500.000 daltons, como de aproximadamente 100 daltons a aproximadamente 300.000 daltons, como de 1000 daltons a 250.000 daltons, incluyendo de 1000 daltons a 150.000 daltons. El peso molecular de los NASP puede determinarse mediante cualquier protocolo conveniente, como por ejemplo, cromatografía de permeación en gel o cromatografía de exclusión por tamaño de alto rendimiento (HPSEC), electroforesis capilar, PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida), electroforesis en gel de agarosa, entre otros.

En algunos casos, los NASP de interés pueden ser mezclas heterogéneas de polisacáridos sulfatados que tienen pesos moleculares variables. Por ejemplo, en algunos casos, el 5% o más de la composición de NASP tiene un peso molecular que varía de 10 a 30.000 daltons, como el 10% o más, como el 25% o más, como el 50% o más, como el 75% o más, como el 90% o más, incluyendo el 95% o más de la composición de NASP tiene un peso molecular que varía entre 10 y 30.000 daltons. En otros casos, el 5% o más de la composición de NASP tiene un peso molecular que varía entre 30.000 daltons y 75.000 daltons, como el 10% o más, como el 25% o más, como el 50% o más, como el 75% o más, como el 90% o más, incluyendo el 95% o más de la composición de NASP tiene un peso molecular que varía entre 30.000 y 75.000 daltons. En otros casos más, el 5% o más de la composición de NASP tiene un peso molecular que es mayor de 75.000 daltons, como el 10% o más, como el 25% o más, como el 50% o más, como el 75% o más, como el 90% o más, incluyendo el 95% o más de la composición de NASP tiene un peso molecular que es mayor de 75.000 daltons.

En ciertos casos, pueden emplearse NASP de bajo peso molecular para mejorar la coagulación sanguínea como se proporciona por los métodos y composiciones de la invención. Por "NASP de bajo peso molecular" se entiende un NASP que tiene un peso molecular medio en peso que varía de aproximadamente 10 a 30.000 daltons, como por ejemplo de 100 a 30.000 daltons, como de 500 a 25.000 daltons, como de 1000 a 15.000 daltons e incluyendo de 5000 a 10.000 daltons. Los ejemplos de NASP de bajo peso molecular pueden incluir, pero no están limitados a NASP de origen natural o sintéticos que tienen un peso molecular que varía de 10 a 30.000 daltons, como de 5000 a 10.000 daltons, fragmentos de NASP de mayor peso molecular producidos por hidrólisis de ácidos o enzimas del NASP de mayor peso molecular, o pueden ser fracciones aisladas que tienen pesos moleculares que varían de 10 a 30.000 daltons, como de 5000 a 10.000 daltons de una muestra de NASP fraccionada.

En ciertos casos, las composiciones incluyen un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal (por ejemplo, caprato de sodio, desoxicolato, bromelaína o quitosano) y un NASP natural de bajo peso molecular. Por ejemplo, las composiciones de interés pueden incluir un fucoidano *Fucus vesiculosus* que tiene un peso molecular de 20.000 daltons o menos en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Por ejemplo, las composiciones de interés pueden incluir uno o más de *Fucus vesiculosus* F.v. DS1001108, *Fucus vesiculosus* F.v. SK110144B en combinación con uno o más de desoxicolato, bromelaína y quitosano. En otro ejemplo, las composiciones de interés pueden incluir uno o más de *Fucus vesiculosus* F.v. DS1001108, *Fucus vesiculosus* F.v. SK110144B en combinación con una mezcla de quitosano y bromelaína. En algunos otros casos, las composiciones incluyen un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal (por ejemplo, caprato de sodio, desoxicolato, bromelaína o quitosano) y NASP sintético de bajo peso molecular. Por ejemplo, ciertas composiciones pueden incluir uno o más de una 6-carboxicodextrina sulfatada, una β -ciclodextrina sulfatada y una maltopentosa sulfatada que tiene un peso molecular de 25.000 daltons o menos en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Por ejemplo, las composiciones de interés pueden incluir uno o más de una 6-carboxicodextrina sulfatada de 24.000 dalton, una 6-carboxicodextrina sulfatada de 14.000 dalton, una β -ciclodextrina sulfatada y una maltopentosa sulfatada en combinación con uno o más de desoxicolato, bromelaína y quitosano. En otro ejemplo, las composiciones de interés pueden incluir uno o más de una 6-carboxicodextrina sulfatada de 24.000 dalton, una 6-carboxicodextrina sulfatada de 14.000 dalton, una β -ciclodextrina sulfatada y una maltopentosa sulfatada en combinación con una mezcla de quitosano y bromelaína.

En algunos casos, los NASP se extraen de una fuente biológica y pueden fraccionarse para aislar NASP de bajo peso molecular (es decir, fracciones que contienen NASP que tienen un peso molecular que varía de 10-30.000 daltons). Puede usarse cualquier protocolo conveniente para fraccionar los NASP de interés, incluyendo, pero no

limitados a, cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía de permeación en gel, electroforesis capilar, entre otros.

5 En ciertos casos, pueden emplearse NASP de bajo peso molecular obtenidos mediante fraccionamiento de una muestra de NASP para mejorar la coagulación sanguínea como se proporciona por los métodos y composiciones de la invención. Por ejemplo, los NASP extraídos de una fuente biológica pueden fraccionarse para aislar NASP que tienen pesos moleculares que varían de 10 a 30.000 daltons, como de 10 a 5000 daltons, como de 5000 a 10.000 daltons, como de 10.000 a 15.000 daltons, e incluyendo de 15.000 a 30.000 daltons. En ciertas realizaciones, una o más de estas fracciones pueden administrarse oralmente en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal para mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto, como mediante los métodos descritos anteriormente.

15 En ciertos casos, pueden prepararse fracciones de pesos moleculares diferentes mediante hidrólisis de ácido o despolimerización radical de NASP de alto peso molecular. Los intervalos de peso molecular de los productos resultantes pueden ajustarse en base a la rigurosidad de las condiciones de hidrólisis o despolimerización empleadas. Las fracciones pueden purificarse luego adicionalmente usando cromatografía de intercambio iónico. Por ejemplo, para obtener fracciones de NASP de peso molecular medio y bajo, el NASP de peso molecular alto puede hidrolizarse usando un ácido como HCl (o cualquier otro ácido adecuado) en concentraciones que varían de 0,02 a 1,5 M y a temperaturas que varían de 25° C a 80° C. Los tiempos de reacción de la hidrólisis variarán típicamente de 20 15 minutos a varias horas. La mezcla de reacción hidrolizada resultante se neutraliza luego mediante la adición de una base (por ejemplo, hidróxido de sodio). Las sales se eliminan posteriormente, por ejemplo, mediante electrodiálisis, y los productos de hidrólisis se analizan para determinar el peso molecular medio ponderado, el contenido de sacáridos y el contenido de azufre, usando técnicas analíticas convencionales para el análisis de carbohidratos. Alternativamente, pueden emplearse métodos enzimáticos para degradar los NASP usando, por ejemplo, glicosidasas. Los NASP para su uso en la invención pueden ser heterogéneos u homogéneos, dependiendo del grado de separación empleado.

30 En ciertos casos, las composiciones de dosificación oral incluyen un factor de coagulación sanguínea en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y un fucoidano, como, por ejemplo, Fucoïdan 5307002, *Fucus vesiculosus*, pico MW máx. 126,7 kD; Fucoïdan VG49, *Fucus vesiculosus*, muestra hidrolizada de 5307002 de menor MW, pico MW máx. 22,5 kD; Fucoïdan VG57, *Undaria pinnatifida*, carga alta (sulfatación alta, desacetilado); Fucoïdan GFS (5508005), *Undaria pinnatifida*, despirogenizado; Fucoïdan GFS (L/FVF-01091), *Fucus vesiculosus*, despirogenizado, pico MW máx. 125 kD; Fucoïdan GFS (L/FVF-01092), *Fucus vesiculosus*, despirogenizado, pico MW máx. 260 kD; Fucoïdan GFS (L/FVF-01093), *Fucus vesiculosus*, hidrolizado despirogenizado, pico MW máx. 36 kD; Extracto de Maritech® *Ecklonia radiata*; Extracto de Maritech® *Ecklonia maxima*; Extracto de Maritech® *Macrocystis pyrifera*; Muestra de Fucoïdan de prueba Inmune Maritech®; y cualquier combinación de los mismos.

40 En otras realizaciones, las composiciones de dosificación oral de la invención pueden incluir un NASP sintético en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Los NASP sintéticos son polisacáridos sulfatados que se producen parcial o totalmente mediante métodos artificiales (por ejemplo, síntesis química). Por ejemplo, el NASP sintético puede ser un oligómero sulfatado, como un oligosacárido sulfatado o un alifático sulfatado. En ciertos casos, los NASP sintéticos son pentosas sulfatadas, hexosas sulfatadas o ciclodextrinas sulfatadas. Por ejemplo, los NASP sintéticos pueden incluir, pero no están limitados a, maltopentosas sulfatadas, beta-ciclodextrinas sulfatadas, 6-carboxiicodextrina sulfatada y derivados de los mismos.

50 Las composiciones de dosificación oral de la invención pueden incluir uno o más NASP, como se desee. Por ejemplo, pueden combinarse dos o más NASP, como tres o más NASP e incluyendo cuatro o más NASP. Cuando se combina más de un NASP juntos, todos los NASP pueden ser NASP naturales, todos los NASP pueden ser NASP sintéticos o cualquier combinación de los mismos. Cuando las composiciones orales incluyen más de un NASP, el porcentaje de masa de cada NASP en la composición puede variar, variando del 1% o más de la masa total de la composición, como el 2% o más, como el 5% o más, como el 10% o más, como el 25% o más e incluyendo como el 50% o más de la masa total de la composición.

55 En casos de la invención, la proporción de masa de uno o más NASP y uno o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en las composiciones de dosificación oral puede variar, variando entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del NASP con el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 60 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. En algunos casos, la proporción de masa del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con el NASP varía entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del potenciador de permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con el NASP puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000.

Además, las composiciones de dosificación oral de la invención también pueden incluir uno o más factores de coagulación sanguínea. Por ejemplo, las composiciones pueden incluir una cantidad de uno o más NASP y uno o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en combinación con uno o más factores de coagulación sanguínea. Los factores de coagulación sanguínea de interés incluyen, pero no están limitados a factor XI, factor XII, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMWK), factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XIII, factor II, factor VIIa, y factor de von Willebrands, factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa y VIIIa, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular, factor tisular, factor VIIa, factor Va y factor Xa.

La cantidad (es decir, masa) de cada NASP, el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y el factor de coagulación sanguínea en las composiciones de dosificación oral de interés puede variar, de 0,001 mg a 1000 mg, como de 0,01 mg a 500 mg, como de 0,1 mg a 250 mg, como de 0,5 mg a 100 mg, como de 1 mg a 50 mg, incluyendo de 1 mg a 10 mg. Como tal, en las composiciones objeto, la proporción de masa del NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con el factor de coagulación sanguínea puede variar, y en algunos casos puede variar entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal con el factor de coagulación sanguínea puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000. En algunos casos, la proporción de masa entre el factor de coagulación sanguínea con el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal varía entre 1:1 y 1:2,5; 1:2,5 y 1:5; 1:5 y 1:10; 1:10 y 1:25; 1:25 y 1:50; 1:50 y 1:100; 1:100 y 1:150; 1:150 y 1:200; 1:200 y 1:250; 1:250 y 1:500; 1:500 y 1:1000, o un intervalo de los mismos. Por ejemplo, la proporción de masa del factor de coagulación sanguínea con la composición que contiene un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal puede variar entre 1:1 y 1:10; 1:5 y 1:25; 1:10 y 1:50; 1:25 y 1:100; 1:50 y 1:500; o 1:100 y 1:1000.

Las composiciones de dosificación oral pueden ser homogéneas, conteniendo solo un tipo único de NASP y un único tipo de potenciador de la barrera de permeación del epitelio gastrointestinal. En otras realizaciones, las composiciones de interés son mezclas heterogéneas de dos o más NASP o dos o más potenciadores de la barrera de permeación epitelial gastrointestinal. Por ejemplo, las mezclas heterogéneas pueden contener dos o más NASP y dos o más potenciadores de la barrera de permeación epitelial gastrointestinal. En otros casos, las mezclas heterogéneas pueden contener un NASP y dos o más potenciadores de la barrera de permeación epitelial gastrointestinal. En otros casos más, las mezclas heterogéneas pueden contener dos o más NASP y un potenciador de la barrera de permeación epitelial gastrointestinal.

En ciertos casos, las composiciones de dosificación oral de la invención pueden incluir además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables o vehículo de administración de dosificación oral como parte de una composición farmacéutica. Los excipientes pueden incluir, pero no están limitados a, carbohidratos, sales inorgánicas, agentes antimicrobianos, antioxidantes, surfactantes, agua, alcoholes, polioles, glicerina, aceites vegetales, fosfolípidos, tampones, ácidos, bases y cualquier combinación de los mismos. También puede emplearse un carbohidrato como un azúcar, un azúcar derivatizado como un alditol, ácido aldónico, un azúcar esterificado y/o un polímero de azúcar. Algunos excipientes de carbohidratos de interés incluyen, por ejemplo, monosacáridos, como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa y similares; disacáridos, como lactosa, sacarosa, trehalosa, celobiosa, y similares; polisacáridos, como rafinosa, melecitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones y similares; y alditoles, como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glucitol), piranosil sorbitol, mioinositol y similares. Las sales inorgánicas pueden incluir, pero no están limitadas a, ácido cítrico, cloruro de sodio, cloruro de potasio, sulfato de sodio, nitrato de potasio, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico y cualquier combinación de los mismos.

En ciertos casos, las composiciones de dosificación oral de la invención también pueden incluir un agente antimicrobiano para prevenir o impedir el crecimiento microbiano, como por ejemplo cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, alcohol bencílico, cloruro de cetilpiridinio, clorobutanol, fenol, alcohol feniletílico, nitrato fenilmercúrico, thimersol y cualquier combinación de los mismos.

También pueden emplearse uno o más antioxidantes. Los antioxidantes, que pueden reducir o prevenir la oxidación y por tanto el deterioro de la composición, pueden incluir, por ejemplo, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido hipofosforoso, monotioglicerol, galato de propilo, bisulfito de sodio, sulfoxilato de formaldehído sódico, metabisulfito de sodio y cualquier combinación de los mismos.

También pueden incluirse uno o más surfactantes en las composiciones de la invención. Por ejemplo, los surfactantes adecuados pueden incluir, pero no están limitados a, polisorbatos, como "Tween 20" y "Tween 80", y plurónicos como F68 y F88 (BASF, Mount Olive, New Jersey); ésteres de sorbitán; lípidos, como fosfolípidos como lecitina y otras fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas (aunque preferiblemente no en forma liposomal), ácidos grasos y ésteres grasos; esteroides, como colesterol; agentes quelantes, como EDTA; y zinc y otros cationes.

También puede haber ácidos o bases en las composiciones de dosificación oral de la invención. Por ejemplo, los ácidos pueden incluir, pero no están limitados a, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico, ácido fórmico, ácido tricloroacético, ácido nítrico, ácido perclórico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, y cualquier combinación de los mismos. Los ejemplos de bases incluyen, pero no están limitados a hidróxido de sodio, acetato de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, acetato de amonio, acetato de potasio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, citrato de sodio, formiato de sodio, sulfato de sodio, sulfato de potasio, fumerato de potasio, y cualquier combinación de los mismos.

La cantidad de cualquier excipiente individual en la composición de dosificación oral variará dependiendo de la naturaleza y la función del excipiente, el vehículo de administración de la dosificación oral y las necesidades particulares de la composición. Típicamente, la cantidad óptima de cualquier excipiente individual se determina mediante experimentación rutinaria, es decir, preparando composiciones que contienen cantidades variables del excipiente (que varían de bajas a altas), examinando la estabilidad y otros parámetros, y determinando luego el intervalo en el que se logra un rendimiento óptimo sin efectos adversos significativos. Generalmente, sin embargo, el excipiente(s) estará presente en la composición de dosificación oral en una cantidad de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 99% en peso, como de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 98% en peso, como de aproximadamente el 15 a aproximadamente el 95% en peso del excipiente, incluyendo menos del 30% en peso. Los excipientes farmacéuticos junto con otros excipientes que pueden emplearse en composiciones de interés se describen en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19ª ed., Williams & Williams, (1995), the "Physician's Desk Reference", 52ª ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), y Kibbe, A.H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3ª Edición, American Pharmaceutical Association, Washington, D.C., 2000, la divulgación de los cuales se incorpora en la presente por referencia.

Como se ha descrito anteriormente, las composiciones de la invención pueden administrarse mediante cualquier modo conveniente de administración siempre que la composición se resorba a través del epitelio gastrointestinal (por ejemplo, por vía oral o por sonda nasogástrica). Como tal, la formulación puede variar. Por ejemplo, las composiciones de la invención pueden ser polvos o liofilizados que pueden reconstituirse con un solvente antes del uso, composiciones insolubles secas para combinarlas con un vehículo antes de su uso, y emulsiones y concentrados líquidos para dilución antes de la administración. Los diluyentes para reconstituir composiciones sólidas pueden incluir, pero no están limitados a, agua bacteriostática para inyección, dextrosa al 5% en agua, solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer, solución salina, agua estéril, agua desionizada y cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en forma de una solución o suspensión líquida, jarabe, comprimido, cápsula, polvo, gel o cualquier combinación de los mismos para su ingestión o aplicación mediante una sonda nasogástrica. Por ejemplo, las composiciones de dosificación oral de la invención se pueden precargar en un comprimido, una cápsula, un dispositivo de comprimidos oblongos, o similares, dependiendo del uso pretendido. En ciertas realizaciones, las composiciones están en forma de dosificación unitaria, de tal manera que una cantidad de la composición está lista en una dosis oral individual, en una forma premedida o pre-ensasada.

UTILIDAD

Los métodos y composiciones objeto encuentran uso en cualquier situación en la que existe un deseo de mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto, un deseo de mejorar la resorción de NASP a través del sistema gastrointestinal y el sujeto es sensible al tratamiento con un NASP y un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En ciertas realizaciones, los métodos y composiciones objeto pueden emplearse para tratar trastornos hemorrágicos, como un trastorno hemorrágico crónico o agudo, un trastorno de coagulación congénito provocado por una deficiencia de factor sanguíneo, un trastorno de coagulación adquirido y la administración de un anticoagulante. Por ejemplo, los trastornos hemorrágicos pueden incluir, pero no están limitados a, hemofilia A, hemofilia B, enfermedad de von Willebrand, trombocitopenia idiopática, una deficiencia de uno o más factores de contacto, como factor XI, factor XII, precalicreína, deficiencia de alfa₂-antiplasmina, y hemorragia excesiva como la provocada por enfermedad hepática, enfermedad renal, trombocitopenia, disfunción plaquetaria, hematomas, hemorragia interna, hemartrosis, cirugía, trauma, hipotermia, menstruación y embarazo.

Los métodos y composiciones objeto también encuentran uso en mejorar la coagulación sanguínea para tratar un trastorno de la coagulación congénito o un trastorno de la coagulación adquirido provocado por una deficiencia del factor sanguíneo. La deficiencia del factor sanguíneo puede estar provocada por deficiencias de uno o más factores, incluyendo, pero no limitados a, factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor XI, factor XII, factor XIII y factor de von Willebrand.

Los métodos y composiciones objeto también encuentran uso en la mejora de la coagulación sanguínea para mejorar la hemostasia en el tratamiento de trastornos hemorrágicos, como los asociados con deficiencias de factores de coagulación o para revertir los efectos de anticoagulantes en un sujeto. Por ejemplo, la mejora de la coagulación sanguínea mediante métodos y composiciones de la invención puede emplearse para tratar trastornos hemorrágicos como trastornos de la coagulación congénita, trastornos de la coagulación adquiridos y afecciones hemorrágicas inducidas por traumatismos. Los ejemplos de trastornos hemorrágicos que pueden tratarse con NASP

y potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal incluyen, pero no están limitados a, hemofilia A, hemofilia B, enfermedad de von Willebrand, trombocitopenia idiopática, una deficiencia de uno o más factores de contacto, como Factor XI, Factor XII, precalicreína, y cininógeno de alto peso molecular (HMWK), una deficiencia de uno o más factores asociados con hemorragia clínicamente significativa, como Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XIII, Factor II (hipoprotrombinemia) y Factor de von Willebrands, una deficiencia de vitamina K, un trastorno del fibrinógeno, incluyendo afibrinogenemia, hipofibrinogenemia y disfibrinogenemia, una deficiencia de alfa₂-antiplasmina, y hemorragia excesiva como la provocada por enfermedad hepática, enfermedad renal, trombocitopenia, disfunción plaquetaria, hematomas, hemorragia interna, hemartrosis, cirugía, trauma, hipotermia, menstruación y embarazo. En ciertos casos, las composiciones pueden usarse para tratar trastornos de la coagulación congénita, incluyendo hemofilia A, hemofilia B y enfermedad de von Willebrands. En otros casos, los NASP se usan para tratar trastornos de coagulación adquiridos, incluyendo deficiencias de factor VIII, factor de von Willebrand, factor IX, factor V, factor XI, factor XII y factor XIII, particularmente trastornos provocados por inhibidores o autoinmunidad contra factores de coagulación sanguínea, o trastornos hemostáticos provocados por una enfermedad o afección que da como resultado una síntesis reducida de factores de coagulación.

En algunos casos, el trastorno hemorrágico puede ser una afección crónica (por ejemplo, una deficiencia del factor de coagulación congénita o adquirida) que requiere los métodos y composiciones objeto en múltiples dosis durante un período prolongado. Alternativamente, los métodos y composiciones de la invención pueden administrarse oralmente para tratar una afección aguda (por ejemplo, hemorragia provocada por cirugía o trauma, o episodios inhibidores de factores/autoinmunes en sujetos que reciben terapia de reemplazo de coagulación) en dosis individuales o múltiples durante un período relativamente corto período, por ejemplo, una a dos semanas.

Los métodos y composiciones objeto también encuentran uso para mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto sometido a un procedimiento quirúrgico o invasivo.

Los métodos y composiciones objeto también encuentran uso en mejorar la coagulación sanguínea para revertir los efectos de un anticoagulante en un sujeto, el método comprendiendo administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cantidad procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal al sujeto. En ciertos casos, el sujeto puede haber sido tratado con un anticoagulante incluyendo, pero no limitado a, heparina, un derivado de cumarina, como warfarina o dicumarol, TFPI, AT III, anticoagulante lúpico, péptido anticoagulante de nematodos (NAPc2), factor VIIa bloqueado de sitio activo (factor VIIai), inhibidores del factor IXa, inhibidores del factor Xa, incluyendo fondaparinux, idraparinux, DX-9065a y razaxaban (DPC906), inhibidores de los factores Va y VIIIa, incluyendo proteína C activada (APC) y trombosmodulina soluble, inhibidores de trombina, incluyendo hirudina, bivalirudina, argatroban y ximelagatrán. En ciertos casos, el anticoagulante en el sujeto puede ser un anticuerpo que se une a un factor de coagulación, incluyendo, pero no limitado a, un anticuerpo que se une al Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XIII, Factor II, Factor XI, Factor XII, factor de von Willebrands, precalicreína o cininógeno de alto peso molecular (HMWK).

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para tratar a un sujeto sometido a un procedimiento quirúrgico o invasivo en el que sería deseable una coagulación sanguínea mejorada, que comprende administrar oralmente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cantidad procoagulante de un NASP en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal como se detalla en la presente al sujeto. En ciertos casos, el NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal pueden coadministrarse con uno o más NASP diferentes y uno o más potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal diferentes, y/o en combinación con uno o más agentes terapéuticos diferentes al sujeto sometido a cirugía o procedimiento invasivo. Por ejemplo, al sujeto se le puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más factores seleccionados del grupo que consiste de factor XI, factor XII, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMWK), factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XIII, factor II, factor VIIa y factor de von Willebrands. El tratamiento puede comprender además administrar un procoagulante, como un activador de la vía de coagulación intrínseca, incluyendo factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa y VIIIa, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular; o un activador de la vía de coagulación extrínseca, incluyendo factor tisular, factor VIIa, factor Va y factor Xa. Los agentes terapéuticos usados para tratar a un sujeto que se somete a un procedimiento quirúrgico o invasivo pueden administrarse en la misma composición o en composiciones diferentes y concurrentemente, antes, o después de la administración del NASP y el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.

Como se ha divulgado anteriormente, también pueden emplearse agentes hemostáticos, factores sanguíneos y medicamentos. Por ejemplo, al sujeto se le pueden administrar uno o más factores de coagulación sanguínea como factor XI, factor XII, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMWK), factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XIII, factor II, factor VIIa, factor de von Willebrands, factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa y VIIIa, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular, factor tisular, factor VIIa, factor Va y factor Xa.

KITS

También se proporcionan kits para su uso en la puesta práctica de los métodos objeto, donde los kits pueden incluir una o más de las composiciones anteriores, por ejemplo, una composición de NASP, una composición potenciadora de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y/o factor de coagulación sanguínea, como se ha descrito anteriormente. El kit puede incluir además otros componentes, por ejemplo, dispositivos de administración, fuentes de fluido, etc., que pueden encontrar uso en la puesta en práctica de los métodos objeto. Se pueden envasar varios componentes como se desee, por ejemplo, juntos o por separado.

Además de los componentes mencionados anteriormente, los kits objeto pueden incluir además instrucciones para usar los componentes del kit para poner en práctica los métodos objeto. Las instrucciones para poner en práctica los métodos objeto generalmente se registran en un medio de registro adecuado. Por ejemplo, las instrucciones pueden estar impresas, como en papel o plástico, etc. Como tal, las instrucciones pueden estar presentes en los kits como un prospecto, en el etiquetado del envase del kit o componentes del mismo (es decir, asociados con el envase o subenvase) etc. En otros casos, las instrucciones están presentes como un archivo de datos de almacenamiento electrónico presente en un medio de almacenamiento legible por ordenador adecuado, por ejemplo, CD-ROM, disquete, etc. En otros casos más, las instrucciones reales no están presentes en el kit, pero se proporcionan medios para obtener las instrucciones de una fuente remota, por ejemplo a través de internet. Un ejemplo de esta realización es un kit que incluye una dirección web donde pueden verse las instrucciones y/o desde la que se pueden descargar las instrucciones. Al igual que con las instrucciones, este medio para obtener las instrucciones se registra en un sustrato adecuado.

EXPERIMENTAL

Los siguientes ejemplos se ofrecen solo con propósitos ilustrativos, y no pretenden limitar el alcance de la presente invención de ninguna manera.

Estudios de biodisponibilidad y resorción de NASP en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal

Se estudió la biodisponibilidad de los NASP en combinación con potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de interés mediante el examen del modelo de células CaCo-2. Este método utiliza una línea celular de carcinoma de colon humano que expresa una amplia gama de proteínas transportadoras en sus membranas celulares. Las capas celulares se cultivan en una superficie de la membrana que separa dos compartimentos (placa de 24 pocillos). Un ejemplo de la configuración experimental de estos experimentos se ilustra en la Figura 1. Se disolvieron muestras de NASP y potenciador de la permeación de barrera epitelial gastrointestinal seleccionados en medio celular RPMI a una concentración de 1 mg/ml y se aplicaron sobre las células en el compartimento apical. Las células se incubaron a 37° C en 5% de CO₂. Las muestras del medio se eliminaron del compartimento basolateral y apical en diferentes puntos temporales. La condición de la capa celular se monitorizó mediante la medición de la resistencia eléctrica transepitelial (TEER). Las muestras se analizaron mediante ensayo de generación de trombina (CAT). La concentración de NASP se calculó en base a la actividad del ensayo CAT. Los detalles experimentales de los ensayos de generación de trombina y otros ensayos de coagulación sanguínea se describen en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° de Serie 11/140,504, presentada el 27 de mayo de 2005, ahora la Patente de Estados Unidos N° 7.767.654 y Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° de Serie 13/006.396, presentada el 13 de enero de 2011, las divulgaciones de las cuales se incorporan en la presente por referencia.

Todas las muestras de NASP y potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal se diluyeron de tal manera que la concentración de la muestra estaba en el intervalo de actividad procoagulante creciente. En base a los valores de concentración de carga inicial, las concentraciones apical y basolateral se determinaron en incrementos de 2 horas (por ejemplo, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, incluyendo 24 horas). En base a las concentraciones basolaterales determinadas, se determinó el porcentaje de resorción para cada combinación de compuestos (es decir, NASP y potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal).

□ [0120]

Un ejemplo de los estudios de resorción descritos en la presente se ilustra en las Tablas 1-3 que resumen las concentraciones apical y basolateral de NASP, Fucoidan F.v. 1091 en combinación con el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, Bromelaina (0,5 mg/ml) en el modelo de células Caco-2. La Tabla 1 ilustra que la concentración apical inicial de F.v. L/FVF1091 en combinación con Bromelaina es de aproximadamente 840 µg/ml. Después de aproximadamente 8 horas, la concentración apical de F.v. L/FVF 1091 se reduce en aproximadamente un 25% a una media de aproximadamente 627 µg/ml.

Tabla 1:

Muestra	Inicio (mg/ml)	8 horas (mg/ml)
F.v. L/FVF 1091 -Conjunto 1	840	670
F.v. L/FVF 1091 -Conjunto 2		650
F.v. L/FVF 1091 -Conjunto 3		560

La Tabla 2 ilustra las concentraciones basolaterales de F.v. L/FVF 1091 en combinación con Bromelaína en varios puntos temporales. La Figura 2 muestra las concentraciones basolaterales de F.v. L/FVF 1091 en presencia de Bromelaína (0,5 mg/m) en el sistema Caco-2. La Figura 3 muestra la condición de la capa celular como se mide mediante las curvas de resistencia eléctrica transepitelial correspondientes de cada ensayo.

Tabla 2:

Concentración de muestra (µg/ml)	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
Factor de dilución	1	0.9	0.82	0.74
F.v. L/FVF 1091 - Conjunto 1	0.8	5.3	14.5	29.2
F.v. L/FVF 1091 - Conjunto 2	0	0.5	2.1	6.5
F.v. L/FVF 1091 - Conjunto 3	0.8	4.2	12.3	22.2
Máximo Teórico	190	171	156	141

La Tabla 3 ilustra el porcentaje (%) de resorción de F.v. L/FVF 1091 en presencia de Bromelaína en varios puntos temporales.

Tabla 3:

Porcentaje de reabsorción	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
Factor de dilución	1	0.9	0.82	0.74
F.v. L/FVF 1091 - Conjunto 1	0.4	3.1	9.3	20.7
F.v. L/FVF 1091 - Conjunto 2	0	0.3	1.3	4.6
F.v. L/FVF 1091 - Conjunto 3	0.4	2.5	7.9	15.7

En base a las Tablas 2 y 3, la resorción media es de 19 mg/ml de F.v. L/FVF 1091 en combinación con Bromelaína a las 8 horas y demuestra que la concentración basolateral de F.v. L/FVF 1091 aumenta con el tiempo en presencia del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, Bromelaína.

La Tabla 4 es un resumen del porcentaje de resorción de NASP naturales en el modelo de células Caco-2 en presencia de una serie de potenciadores de la permeación epitelial gastrointestinal a varias concentraciones. Como se muestra en la Tabla 4, todos los NASP naturales demostraron una resorción aumentada en presencia del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de interés.

Tabla 4:

Porcentaje de resorción medio a las 8 horas	U.p..5508005	F.v. L/FVF 1091	F.v. DS1001108	F.v. SK110144B
Peso molecular	380 kD	143 kD	18 kD	12 kD
Sin potenciador	0.1	0.7	0.4	4.0
Caprato de sodio 12 mM	3.5	3.7	n/a	n/a
Desoxicolato - 0.06%	n/a	n/a	1.4	10.7
Desoxicolato - 0.08%	4.7	10.9	10.4	22.6
Bromelaína - 0.5 mg/ml	6.2	8.6	4.0	28.9
Quitosano - 3%	2.5	2.5	1.6	9.0
Bromelaína/Quitosano 0.5 mg/ml: 3%	19.6	36.9	28.8	55.0
Bromelaína/Quitosano 0.05 mg/m: 3%	n/a	3.1	6.7	n/a
Bromelaína/Quitosano 0.25 mg/ml: 1.5%	n/a	4.4	7.3	n/a
Bromelaína/Quitosano 0.5 mg/ml: 0.3%	n/a	2.6	8.7	n/a

La Tabla 5 es un resumen del porcentaje de resorción de NASP sintéticos en el modelo de células Caco-2 en presencia de varios potenciadores de la permeación epitelial gastrointestinal a varias concentraciones. Como se muestra en la Tabla 5, todos los NASP sintéticos demostraron una resorción aumentada en presencia de potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal de interés.

Tabla 5:

Resorción media porcentual a las 8 horas	6-Carboxiicodextrina sulfatada	6-Carboxiicodextrina sulfatada	β -ciclodextrina sulfatada	Maltopentosa sulfatada
Peso molecular	24 kD	14 kD	3 kD	3 kD
Sin potenciador	1.6	3.8	0	0
Caprato de sodio 12 mM	n/a	n/a	19.3	13.1
Desoxicolato - 0.06%	4.9	n/a	20.6	67.4
Desoxicolato - 0.08%	14.7	27.2	36.1	113.2
Bromelaína - 0.5 mg/ml	10.0	17.7	24.7	48.6
Quitosano - 3%	2.6	5.4	15.6	35.7
Bromelaína/Quitosano 0.5 mg/ml: 3%	36.8	44.5	59.8	158.8

Las Figuras 4-8 ilustran la resorción de algunos NASP naturales de interés en los modelos de células Caco-2 como se determina por TGA y cromatografía líquida/espectrometría de masas en combinación con diferentes potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. Las Figuras 9 y 10 ilustran la resorción de algunos NASP sintéticos de interés en los modelos de células Caco-2 como se determina por TGA y cromatografía líquida/espectrometría de masas en combinación con diferentes potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.

Las Figuras 4a-b ilustran la resorción de NASP, BAX513 en modelos de células Caco-2 en ausencia de cualquier potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, así como en presencia de bromelaína, quitosano y en presencia de una combinación de bromelaína y quitosano. Como se ilustra en las Figuras 4a-b, las concentraciones basolaterales de BAX513 aumentan en presencia del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, indicando que la resorción de BAX513 aumenta cuando se administra en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.

Las Figuras 5a-c ilustran la resorción del NASP, Fucoidan F.v. L/FVF 1091 en modelos de células Caco-2

5 en ausencia de cualquier potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, así como en presencia de varios potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal diferentes caprato de sodio, desoxicolato, bromelaína, quitosano y en presencia de una combinación de bromelaína y quitosano. Las Figuras 5a-c demuestran que las concentraciones basolaterales de Fucoïdan F.v. L/FVF 1091 aumentaron en presencia del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, indicando que la resorción de Fucoïdan F.v. L/FVF 1091 aumenta cuando se administra en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En particular, la resorción de Fucoïdan F.v. L/FVF 1091 aumenta sustancialmente cuando se administra en presencia de una combinación de quitosano y bromelaína.

10 Las Figuras 6a-b muestran la resorción del NASP, Fucoïdan U.p. 5508005 en modelos de células Caco-2 en ausencia de cualquier potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, así como en presencia de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal caprato de sodio, desoxicolato, bromelaína, quitosano y en presencia de un combinación de bromelaína y quitosano. Las Figuras 6a-b demuestran que las concentraciones basolaterales de Fucoïdan U.p. 5508005 aumentaron en presencia de un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, indicando que la resorción de Fucoïdan U.p. 5508005 aumenta cuando se administra en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En particular, la resorción de Fucoïdan U.p. 5508005 aumentó sustancialmente en presencia de caprato de sodio, bromelaína y en presencia de una combinación de quitosano y bromelaína.

20 Las Figuras 7a-b representan la resorción del NASP, Fucoïdan FvF DS1001108B en modelos de células Caco-2 en ausencia de cualquier potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, así como en presencia de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal desoxicolato (en dos concentraciones diferentes), bromelaína, quitosano y en la presencia de una combinación de bromelaína y quitosano. Las Figuras 7a-b ilustran que las concentraciones basolaterales de Fucoïdan FvF DS1001108B aumentaron en presencia de un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, indicando que la resorción de Fucoïdan FvF DS1001108B aumenta cuando se administra en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En particular, la resorción de Fucoïdan FvF DS1001108B aumenta sustancialmente cuando se administra en presencia de una combinación de quitosano y bromelaína.

30 Las Figuras 8a- muestran la resorción del NASP, Fucoïdan FvF SK110144B en modelos de células Caco-2 en ausencia de cualquier potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, así como en presencia de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal desoxicolato (en dos concentraciones diferentes), bromelaína, quitosano y en presencia de una combinación de bromelaína y quitosano. Las Figuras 8a-b demuestran que las concentraciones basolaterales de Fucoïdan FvF SK110144B aumentaron en presencia de un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, indicando que la resorción de Fucoïdan FvF SK110144B aumenta cuando se administra en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En particular, la resorción de Fucoïdan FvF SK110144B aumentó sustancialmente en presencia de desoxicolato al 0,08%, bromelaína, y en presencia de una combinación de quitosano y bromelaína.

40 Las Figuras 9 y 14 muestran la resorción del NASP sintético β -ciclodextrina sulfatada en modelos de células Caco-2 en ausencia de cualquier potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, así como en presencia de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal desoxicolato, bromelaína y caprato de sodio. La Figura 9 demuestra que las concentraciones basolaterales de β -ciclodextrina sulfatada aumentaron en presencia de un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, indicando que la resorción de β -ciclodextrina sulfatada aumenta cuando se administra en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En particular, la resorción de β -ciclodextrina sulfatada aumentó sustancialmente en presencia de los tres de desoxicolato, bromelaína y caprato de sodio a las 8 horas.

50 Las Figuras 10 y 15 muestran la resorción del NASP sintético, maltopentaosa sulfatada en modelos de células Caco-2 en ausencia de cualquier potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, así como en presencia de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal desoxicolato, bromelaína, quitosano y caprato de sodio. La Figura 10 demuestra que las concentraciones basolaterales de maltopentaosa sulfatada aumentaron en presencia de un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, indicando que la resorción de maltopentaosa sulfatada aumenta cuando se administra en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal. En particular, la resorción de maltopentaosa sulfatada aumentó sustancialmente en presencia de desoxicolato y bromelaína a las 8 horas. La maltopentaosa sulfatada también mostró una resorción aumentada fuerte en presencia de quitosano y caprato de sodio.

60 Como se demuestra en las Figuras 4-10, las concentraciones basolaterales de NASP tanto naturales como sintéticos aumentan en presencia de cada uno de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, indicando que la resorción del NASP aumenta cuando se administra en combinación con un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en comparación con la resorción en ausencia del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal.

Las Figuras 11a-b ilustran el efecto de diferentes concentraciones de quitosano y bromelaína cuando se emplea una combinación de quitosano y bromelaína en combinación con los NASP Fucoidan F.v. L/FVF 1091 (Figura 11a) y Fucoidan FvF DS1001108B (Figura 11b). En particular, las combinaciones de quitosano y bromelaína incluyen 0,3% de quitosano y 0,5 mg/ml de bromelaína; 1,5% de quitosano y 0,25 mg/ml de bromelaína; 3% de quitosano y 0,05 mg/ml de bromelaína; y 3% de quitosano y 0,5 mg/ml de bromelaína. Como se ilustra en las Figuras 10a-b, una combinación de 3% de quitosano y 0.5 mg/ml de bromelaína demostró la resorción más fuerte de NASP.

La Tabla 6 es un resumen del porcentaje de resorción de NASP naturales y sintéticos en el modelo de células Caco-2. Como se muestra en la Tabla 4, todos los NASP demostraron una resorción aumentada en presencia de los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastronómica de interés.

Tabla 6

Resorción media a las 8 horas (%)	BAX513	F.v. L/FVF 1091	U.p. 5508005	F.v. DS1001108B	B-ciclodextrina sulfatada	Maltopentaosa sulfatada
MW	180 kD	143 kD	380 kD	18 kD	3 kD	3 kD
Sin potenciador	0.3	0.6	0.1	2.3	0	0
Caprato de Sodio (12 mM)	0.4	3.7	3.5	n/a	19.3	13.1
Desoxicolato (0.06%)	n/a	n/a	n/a	n/a	20.6	67.4
Desoxicolato (0.08%)	1.4	14.5	4.7	18.2	36.1	113.2
Bromelaína (0.5 mg/ml)	11.3	9.5	6.2	n/a	24.7	48.6
Quitosano (3%)	0.8	1.6	2.5	2.0	15.6	35.7
Bromelaína (0.5 mg/ml) y Quitosano (3%)	9.9	36.7	19.6	27.2	59.8	158.8

Las Figuras 12a-b y 13a-c muestran la condición de la capa celular como se mide por resistencia eléctrica transepitelial en presencia y en ausencia de potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal cuando se prueba con β -ciclodextrina sulfatada y maltopentosa sulfatada, respectivamente. Como se representa en las Figuras 12a-b, en presencia de β -ciclodextrina sulfatada, el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal bromelaína reduce los valores de resistencia eléctrica transepitelial sustancialmente ($<300 \text{ ohm/cm}^2$). Los valores de resistencia eléctrica transepitelial se mantuvieron bajos después de la adición de medio nuevo. Sin embargo, el tratamiento con el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal solo dio como resultado la recuperación de la resistencia eléctrica transepitelial. De igual manera, como se muestra en las Figuras 13a-c, en presencia de maltopentosa sulfatada, los potenciadores de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal, bromelaína, desoxicolato y quitosano reducen los valores de resistencia eléctrica transepitelial sustancialmente. Sin embargo, al contrario que los estudios como se representan en las Figuras 12a-b para la β -ciclodextrina sulfatada, la resistencia eléctrica transepitelial aumentó después de la eliminación del potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal y la maltopentaosa.

Reivindicaciones

- 5 1. Un polisacárido sulfatado no anticoagulante (NASP) en combinación con un inhibidor de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal en una cantidad procoagulante de un polisacárido sulfatado no anticoagulante (NASP) para su uso en mejorar la coagulación sanguínea en un sujeto, en donde la cantidad procoagulante del polisacárido sulfatado no anticoagulante (NASP) en combinación con el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal es una formulación de dosificación oral y en donde el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal comprende quitosano y bromelaína en donde la proporción de quitosano a bromelaína es suficiente para aumentar la permeación dos veces o más de lo que se lograría mediante la suma de quitosano o bromelaína individualmente.
- 10 2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la cantidad de NASP administrada al sujeto varía de 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg.
- 15 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el NASP es un NASP de origen natural o sintético.
- 20 4. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el NASP es un NASP de origen natural seleccionado del grupo que consiste de N-acetil-heparina (NAH), N-acetil-de-O-sulfatada-heparina (NA-de-o-SH), de-N-sulfatada-heparina (De-NSH), de-N-sulfatada-acetilada-heparina (De-NSAH), heparina oxidada con peryodato (POH), laminarina químicamente sulfatada (CSL), ácido alginico químicamente sulfatado (CSAA), pectina químicamente sulfatada (CSP), sulfato de dextrano (DXS), oligosacáridos derivados de heparina (HDO), polisulfato de pentosano (PPS) y fucoidanos, y combinaciones de los mismos.
- 25 5. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el NASP es un NASP sintético seleccionado del grupo que consiste de oligómeros sulfatados, pentosas sulfatadas, hexosas sulfatadas o ciclodextrinas sulfatadas.
- 30 6. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la combinación comprende adicionalmente uno o más factores seleccionados del grupo que consiste de factor XI, factor XII, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMWK), factor V, factor VII, factor VIII, factor IX, factor X, factor XIII, factor II, factor de von Willebrands, factor tisular, factor VIIa, factor Va y factor Xa, factor IXa, factor XIa, factor XIIa y factor VIIIa.
- 35 7. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el sujeto:
- 40 (a) tiene un trastorno hemorrágico seleccionado del grupo que consiste de un trastorno hemorrágico crónico o agudo, un trastorno de la coagulación congénito provocado por una deficiencia del factor sanguíneo y un trastorno de la coagulación adquirido; o
- (b) necesita una coagulación sanguínea mejorada debido a la administración previa de un anticoagulante; o
- (c) necesita una coagulación sanguínea mejorada debido a un procedimiento quirúrgico u otro procedimiento invasivo.
- 45 8. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la combinación inhibe la actividad de TFPI en el sujeto.
9. Una composición de dosificación oral que comprende:
- 50 (a) una cantidad procoagulante de un polisacárido sulfatado no anticoagulante (NASP);
- (b) un potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal; y
- (c) un vehículo de administración de dosificación oral;
- 55 en donde la composición de dosificación oral está en forma de dosificación unitaria, en donde el potenciador de la permeación de la barrera epitelial gastrointestinal comprende quitosano y una bromelaína en donde la proporción de quitosano a bromelaína es suficiente para mejorar la permeación dos veces o más de lo que se lograría mediante la suma de quitosano o bromelaína individualmente.
- 60
- 65

Examen de Biodisponibilidad de Modelo de Células CaCo2

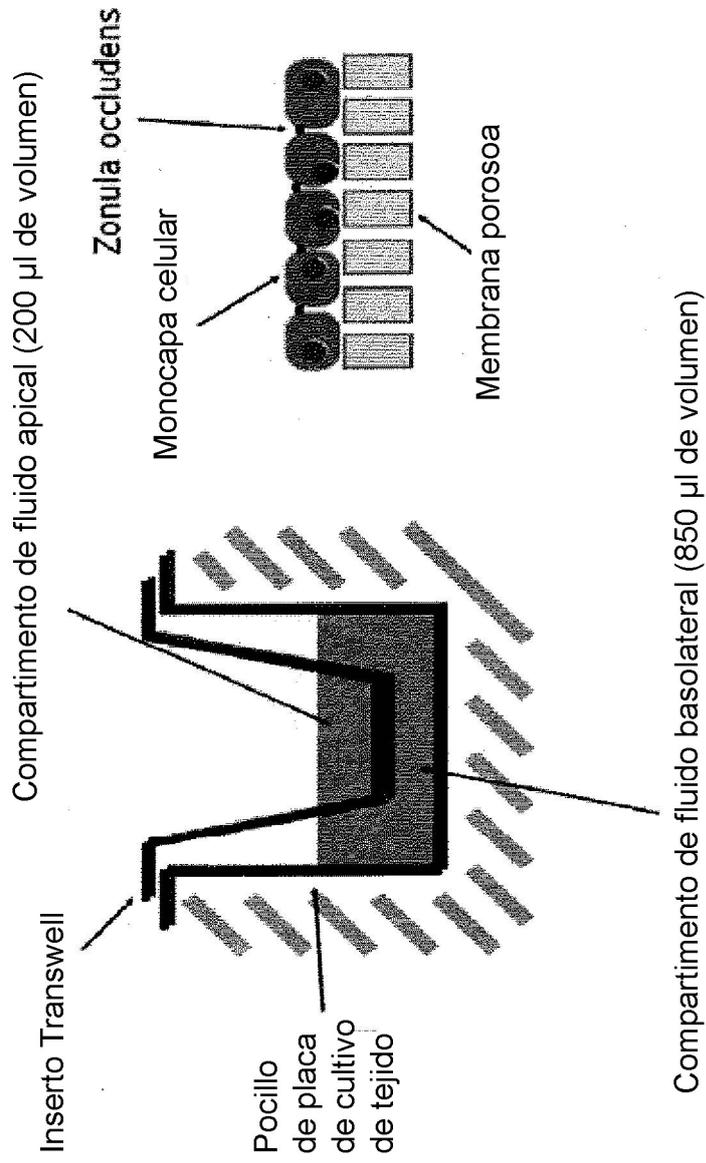


Fig. 1

Examen de Biodisponibilidad de Modelo de Células CaCo2

Concentraciones basolaterales de L/FVF en el sistema CaCo2 (1 mg/ml)

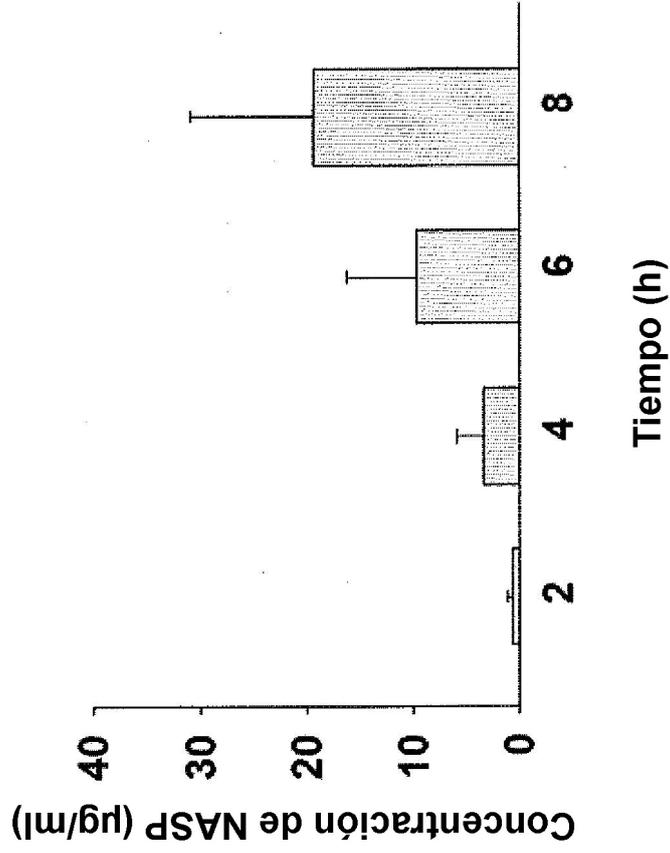


Fig. 2

Condición de Capa Celular Medida por TEER

TEER = Resistencia eléctrica transepitelial

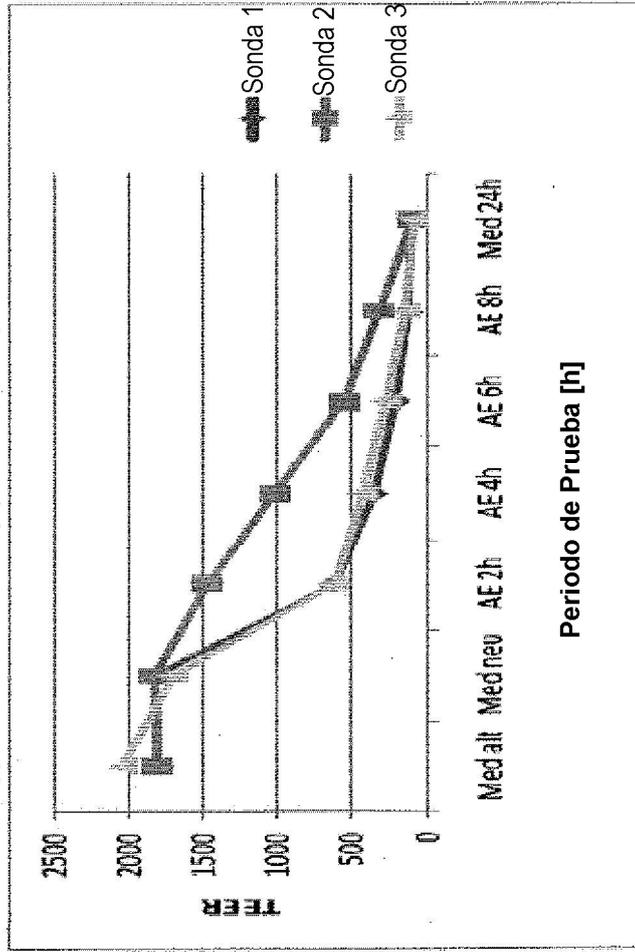
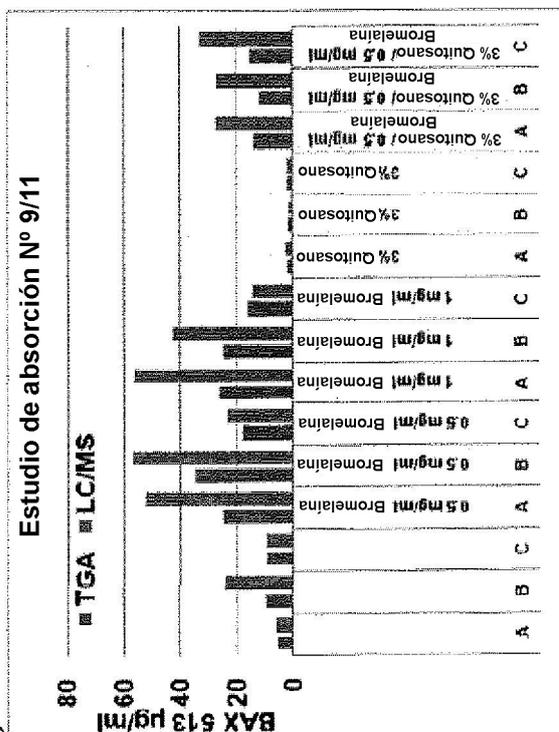


Fig. 3

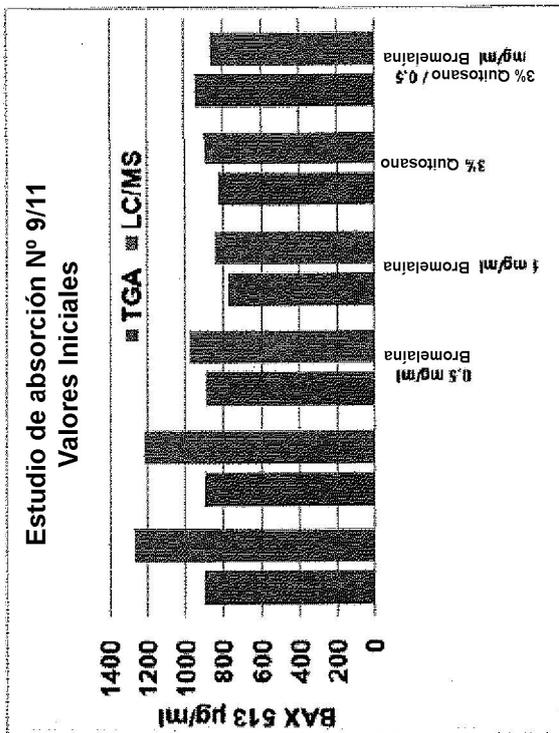
BAX513 y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal

ES 2 676 885 T3

4a)

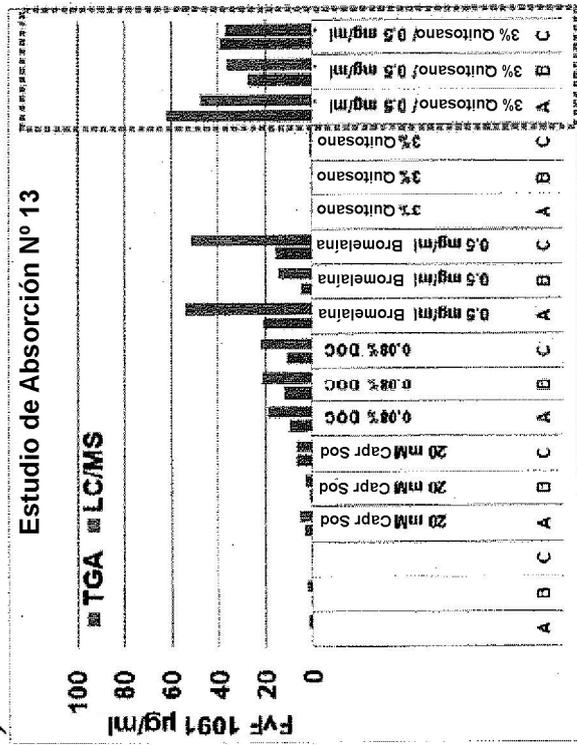


4b)

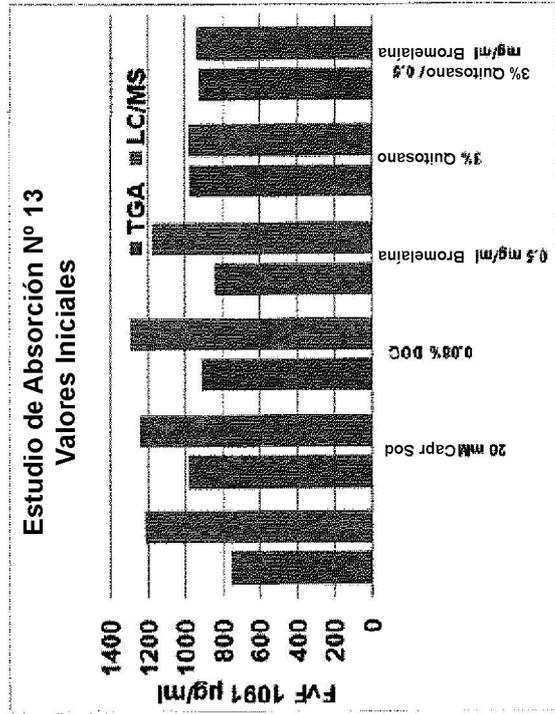


FvF 1091 y Potenciadores de la Barrera Epitelial Gastrointestinal

5a)



5b)



FvF 1091 y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal

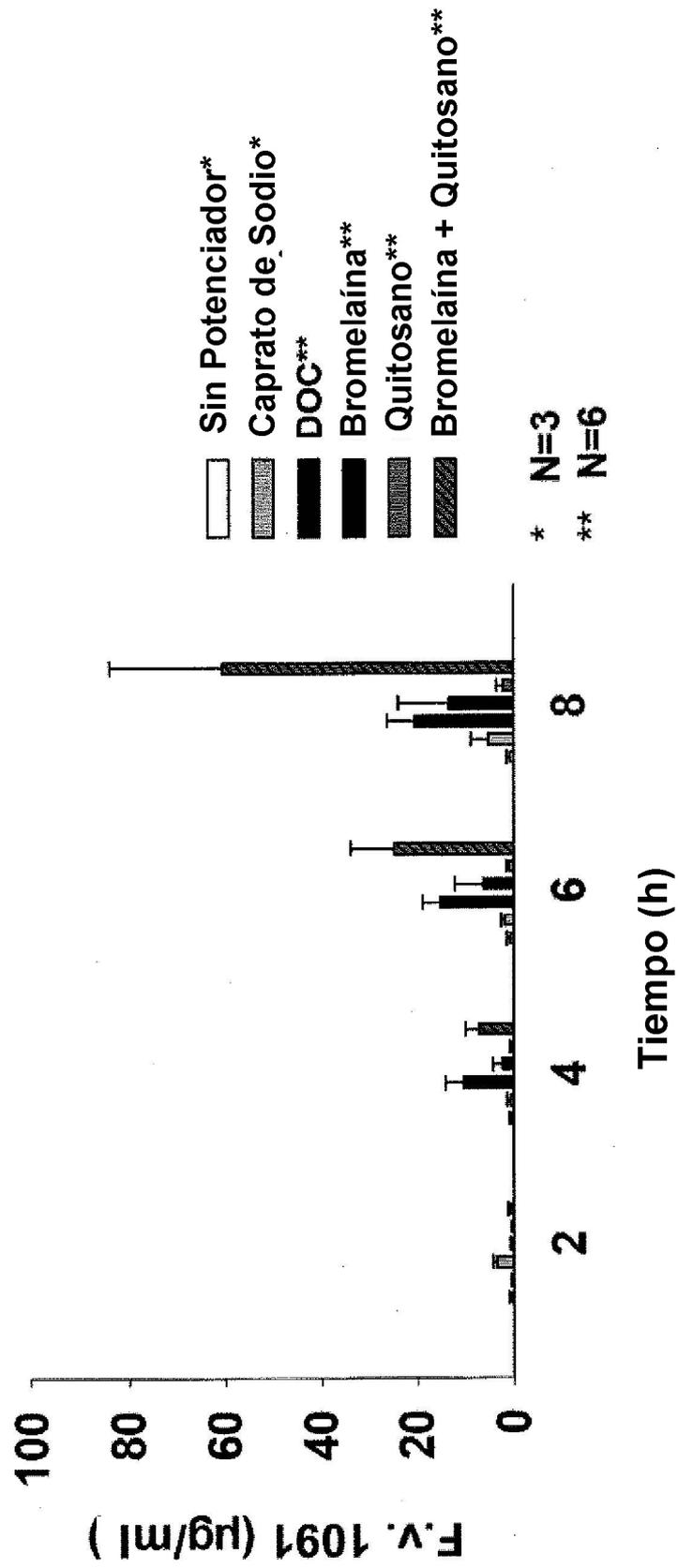
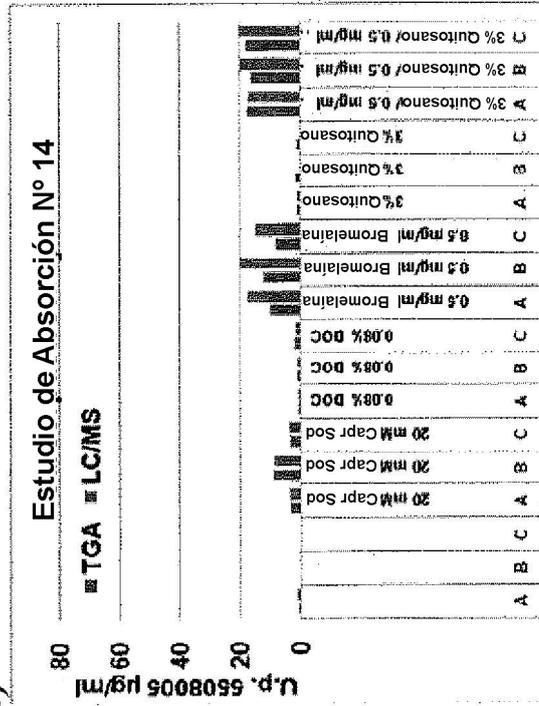


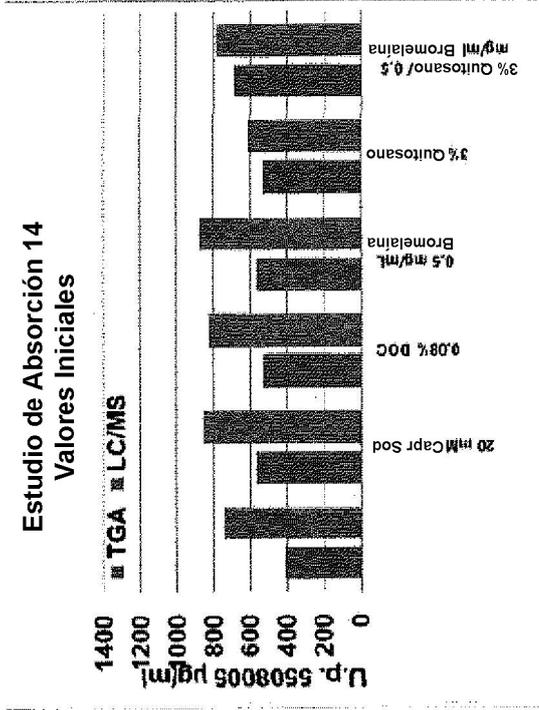
Fig. 5c

U.p. 5508005 y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal

6a)

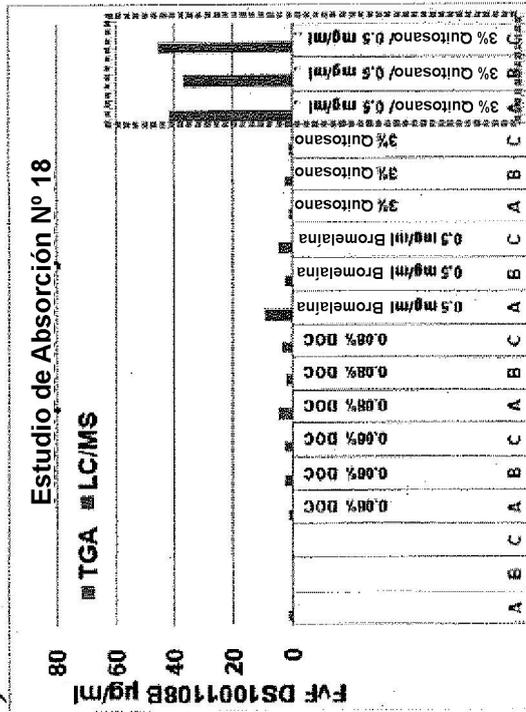


6b)

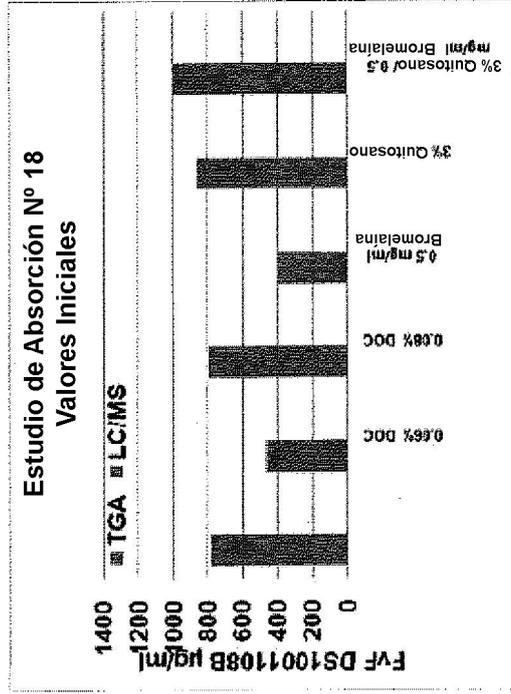


FvF DS1001108B y Potenciadores de la Barrera Epitelial Gastrointestinal

7a)

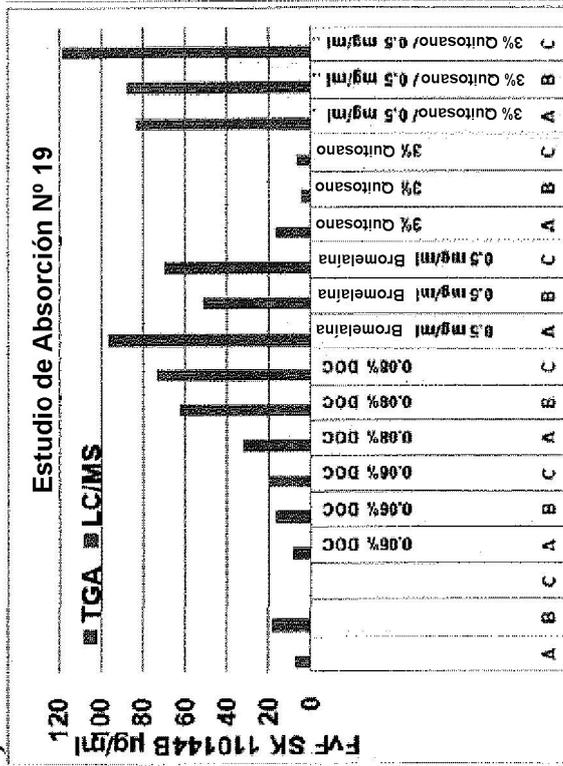


7b)

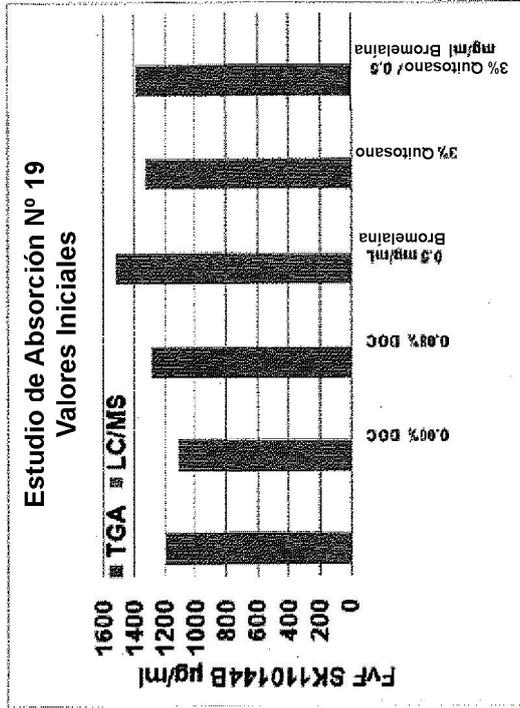


FvF SK110144B y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal

8a)



8b)



β -Ciclodextrina Sulfatada y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal

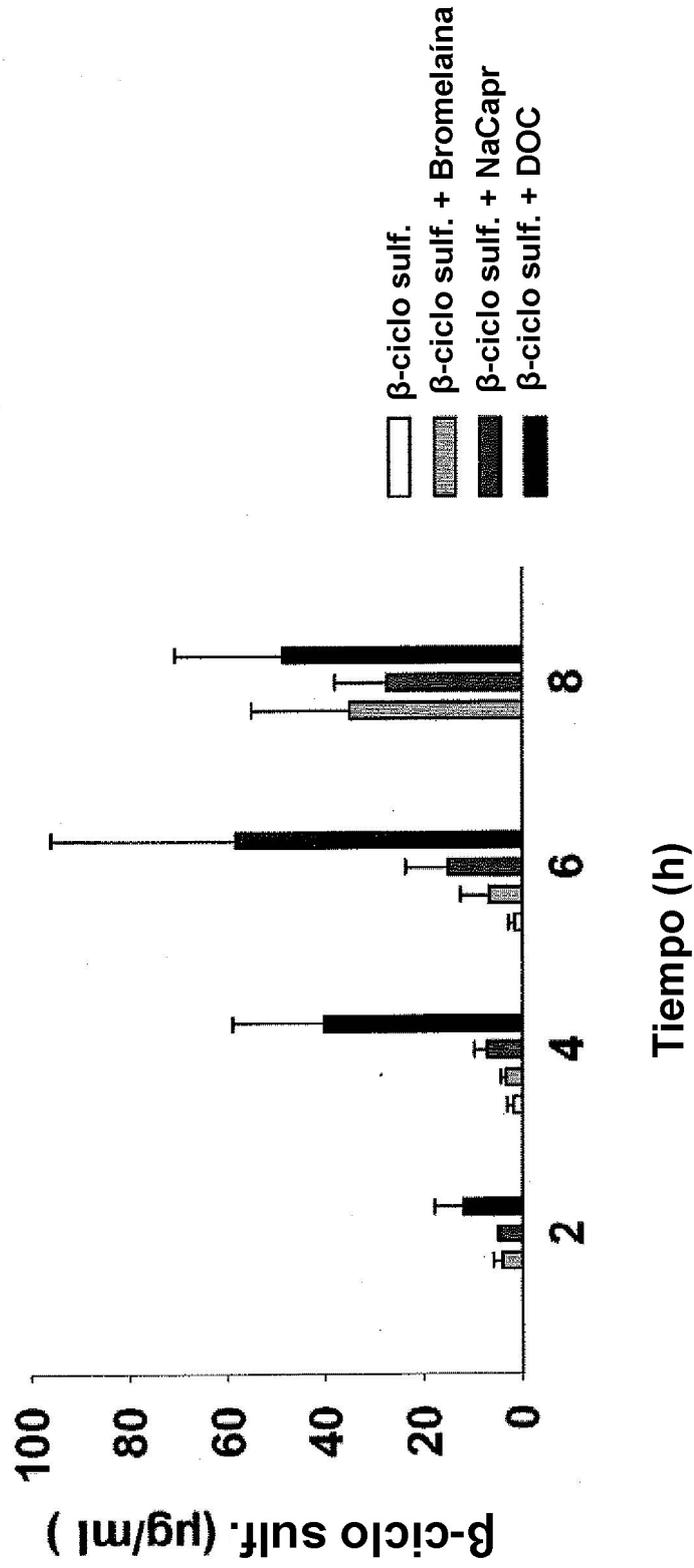


Fig. 9

Maltopentaosa Sulfatada y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal

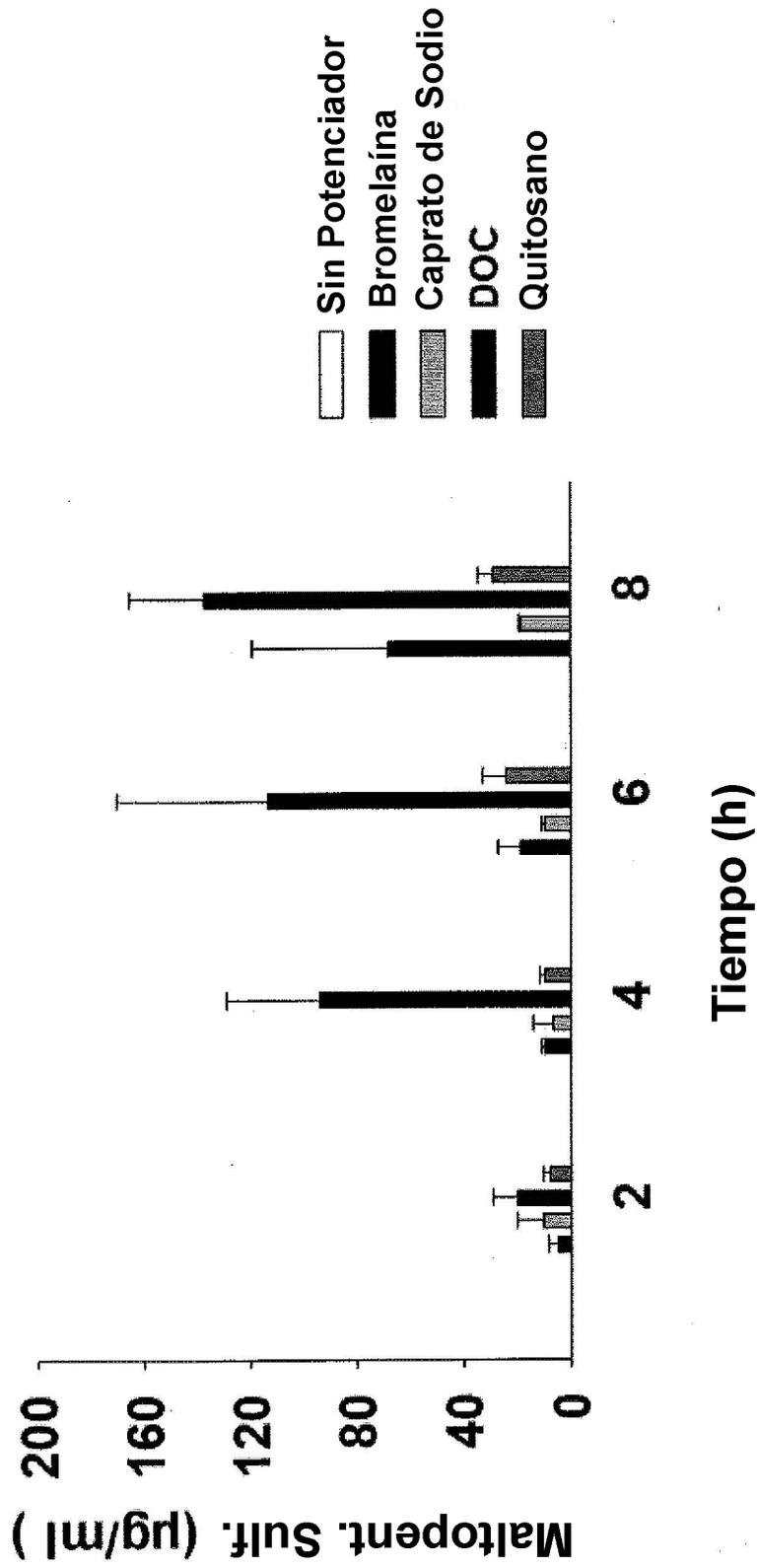
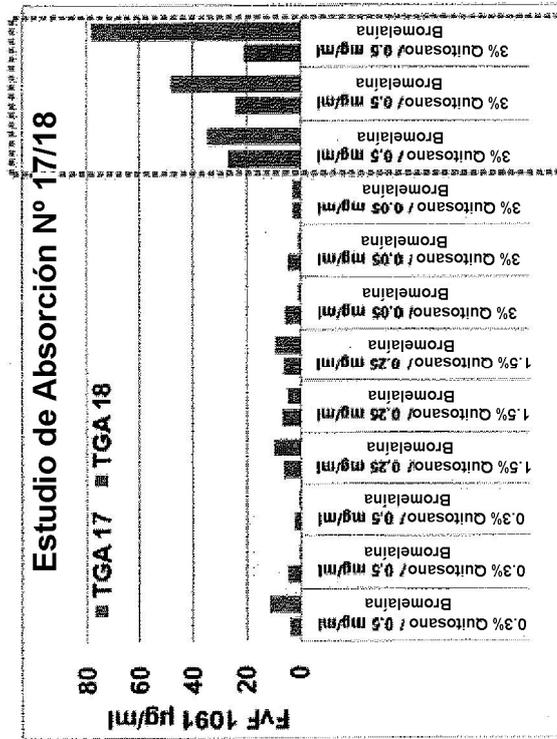


Fig. 10

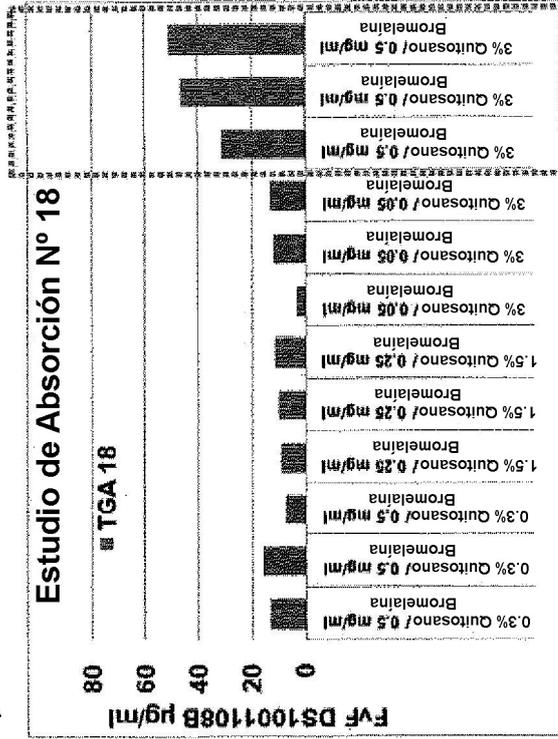
Tratamiento de Combinación : Bromelaína y Quitosano

Variación de la Concentración

11a)

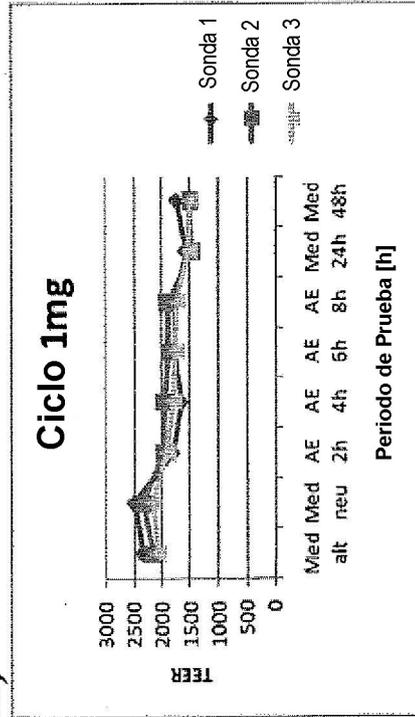


11b)

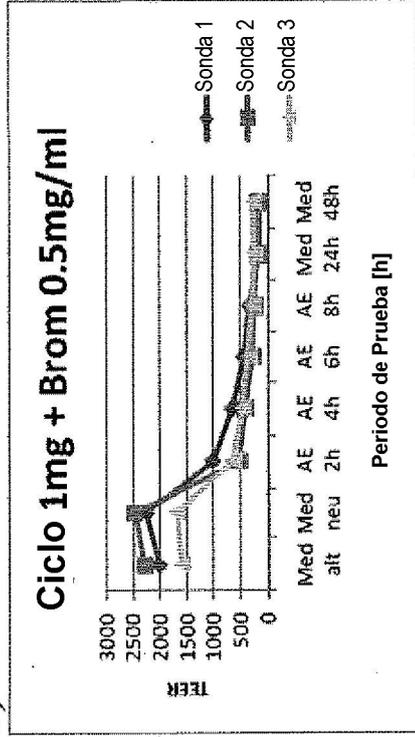


Efecto de β -Ciclodextrina Sulfatada y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal sobre los Valores TEER

12a)

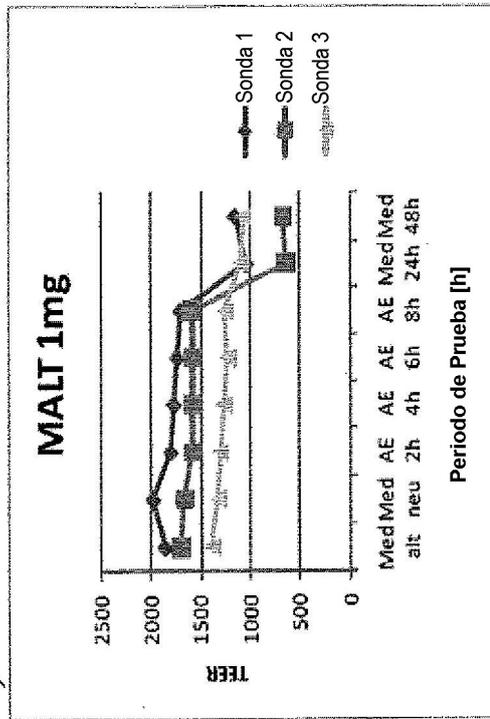


12b)

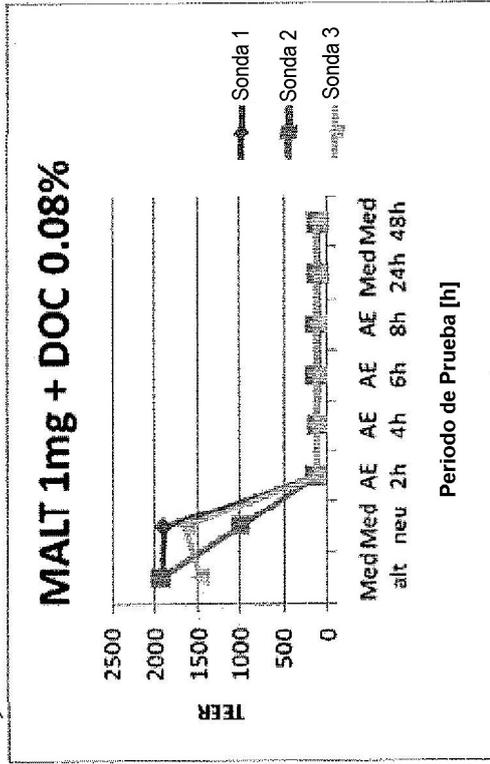


Efecto de Maltopentaosa Sulfatada y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal sobre los Valores TEER

13a)



13b)



Efecto de Maltopentaosa Sulfatada y Potenciadores de la Permeación de la Barrera Epitelial Gastrointestinal sobre los Valores TEER

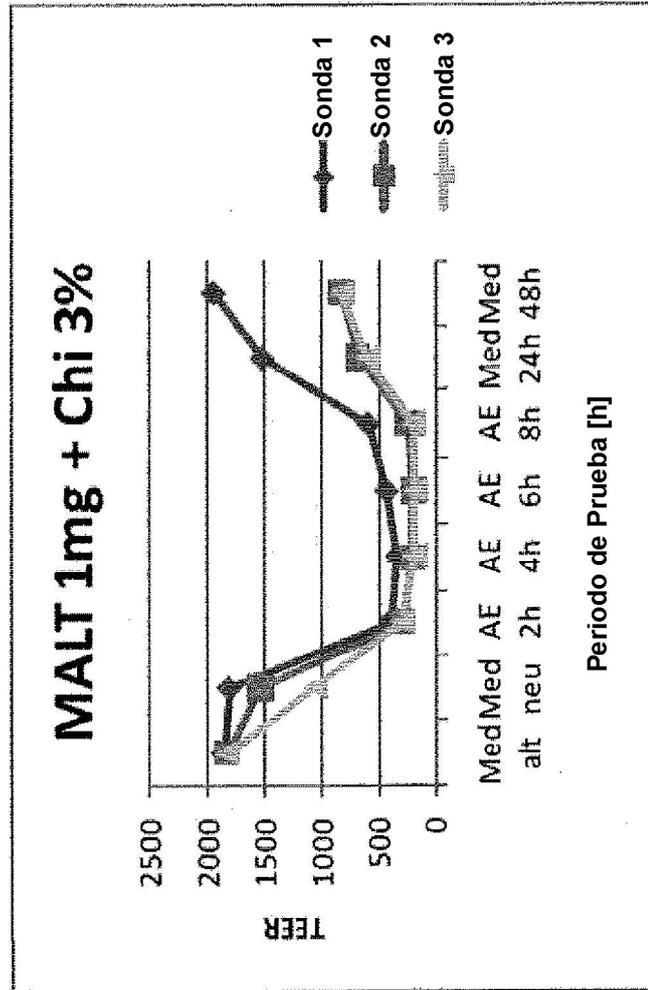


Fig. 13c

β-ciclodextrina sulfatada y potenciador de la absorción

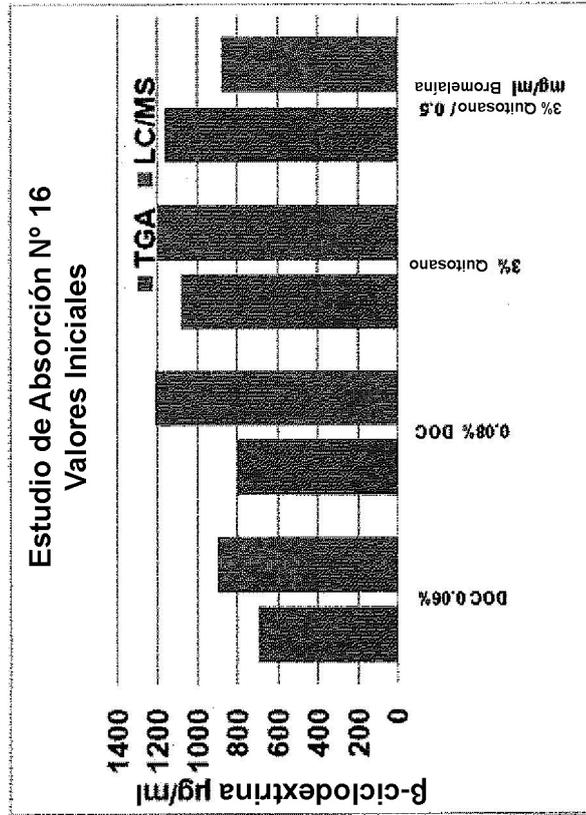


Fig. 14b

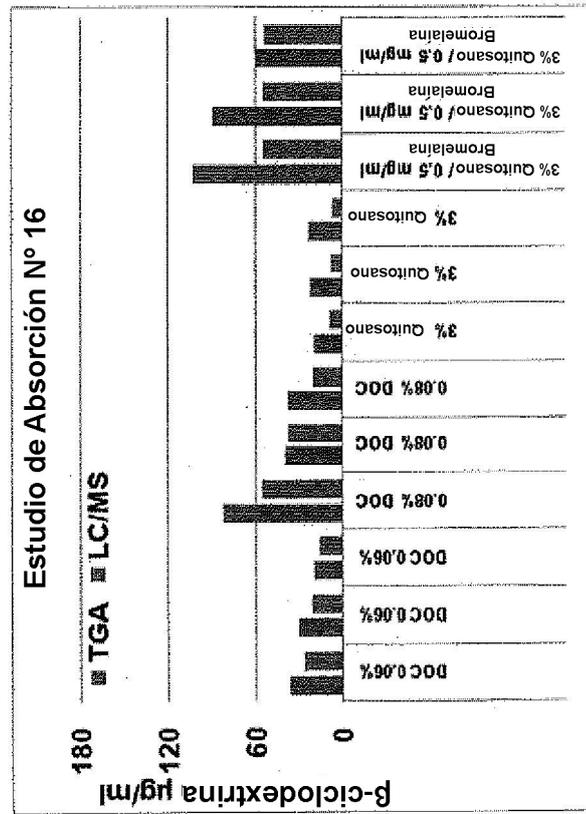


Fig. 14a

Maltopentaosa sulfatada y potenciador de la absorción

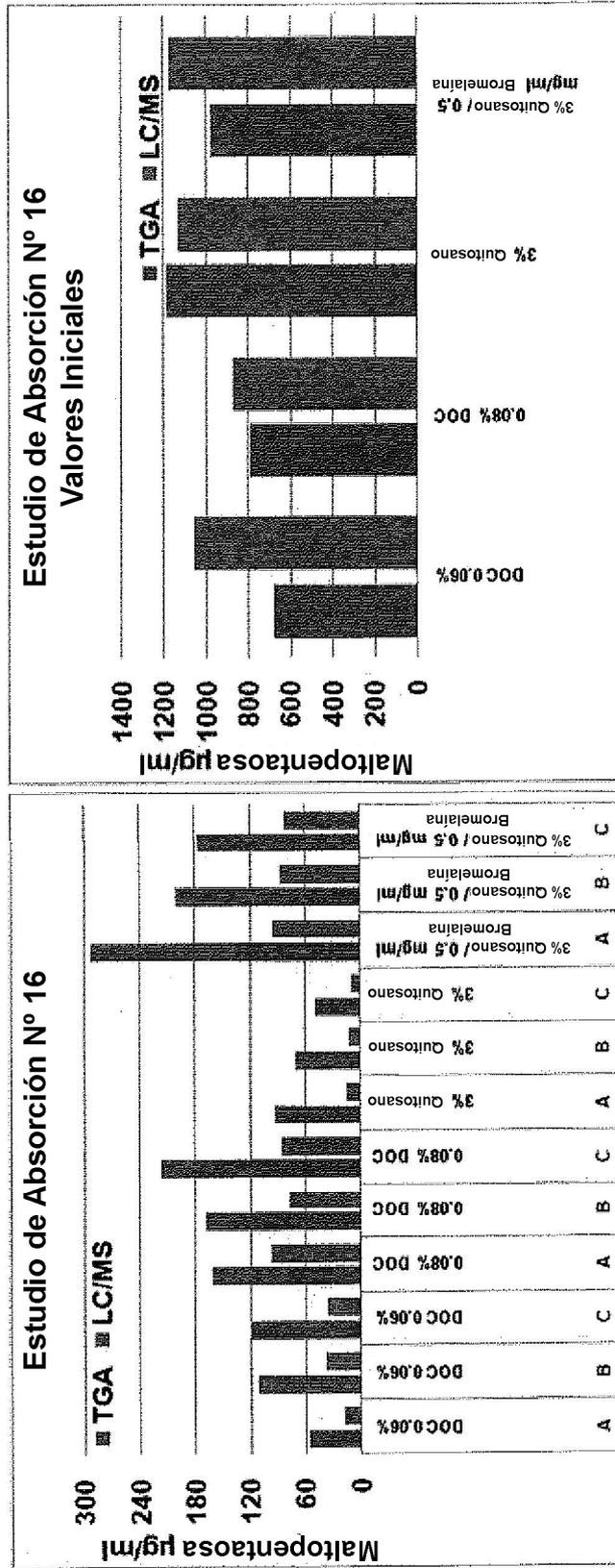


Fig. 15a

Fig. 15b