

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 698 101**

51 Int. Cl.:

A61K 31/715 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.10.2013 PCT/US2013/064322**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.04.2014 WO14059135**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2013 E 13844631 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2018 EP 2906227**

54 Título: **Compuestos de carbohidrato con restos de galactosa para el tratamiento de la nefropatía diabética y trastornos asociados**

30 Prioridad:

10.10.2012 US 201261711929 P

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

31.01.2019

73 Titular/es:

**GALECTIN THERAPEUTICS INC. (100.0%)
4960 Peachtree Industrial Blvd. Suite 240
Norcross, GA 30071, US**

72 Inventor/es:

**TRABER, PETER, G. y
ZOMER, ELIEZER**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 698 101 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos de carbohidrato con restos de galactosa para el tratamiento de la nefropatía diabética y trastornos asociados

Solicitud(es) relacionada(s)

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio y la prioridad de la solicitud provisional de EE.UU. de nº de serie 61/711.929, presentada el 10 de Octubre de 2012, cuya descripción completa se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad.

Campo de la invención

- 10 Los aspectos de la invención se refieren a métodos para tratar la nefropatía diabética y los trastornos asociados mediante el uso de un polisacárido con restos de galactosa de grado farmacéutico, o las composiciones farmacéuticas del mismo.

Antecedentes de la invención

- 15 La nefropatía diabética es una enfermedad renal progresiva provocada por la angiopatía de los capilares de los glomérulos renales. Se caracteriza patológicamente como una glomeruloesclerosis difusa que da como resultado proteinuria, síndrome nefrótico, reducción progresiva de la tasa de filtración glomerular, y finalmente da como resultado insuficiencia renal.

La nefropatía diabética se debe a una diabetes mellitus de larga duración, y es la principal indicación de la diálisis en muchos países occidentales.

- 20 Aunque el control del nivel sérico de glucosa y el control de la tensión arterial son eficaces para reducir la progresión de la nefropatía diabética, la insuficiencia renal sigue siendo un problema sanitario importante. Por lo tanto, existe una gran necesidad de proporcionar terapias que sean eficaces para prevenir, ralentizar la progresión, o invertir la nefropatía diabética.

Sumario de la invención

- 25 Ciertos aspectos de la invención se refieren a una formulación terapéutica que tiene una eficacia adecuada o incrementada en el tratamiento de la nefropatía diabética. En ciertas realizaciones, la formulación terapéutica incluye una dosis eficaz de un compuesto de polisacárido con restos de galactosa. En ciertas realizaciones, la formulación terapéutica se puede administrar sola o co-administrada con una dosis eficaz de un agente terapéutico en una mezcla o régimen. La formulación puede incluir además un agente terapéutico adicional para el tratamiento de la nefropatía diabética o la diabetes o excipientes, en la que la formulación está en forma de polvo o en forma líquida.

- 30 En ciertas realizaciones, una dosis eficaz de un polisacárido que contiene galactosa se puede administrar en una formulación para administración oral. Los métodos para preparar la formulación pueden incluir métodos para la alteración física del compuesto o la adición de diversos agentes que aumentan la absorción oral del polisacárido que contiene galactosa.

- 35 En ciertas realizaciones, el compuesto es un polisacárido que contiene galactosa y se puede usar en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de otro u otros inhibidores de galectina que pueden inhibir proteínas galectina individuales o un grupo de proteínas galectina. Los inhibidores de galectina pueden incluir, pero sin limitación, inhibidores orgánicos pequeños de galectina, anticuerpos monoclonales, inhibidores de ARN, péptidos de unión pequeños, inhibidores proteicos o combinaciones de los mismos.

- 40 En ciertas realizaciones, el método de tratamiento comprende la etapa de obtener una composición farmacéutica para administración parenteral o enteral, que comprende un compuesto de carbohidrato con restos de galactosa en un vehículo farmacéutico aceptable.

- 45 En ciertas realizaciones, el compuesto es un polisacárido que se puede definir químicamente como galacto-ramnogalacturonato, un heteropolímero ramificado, selectivamente despolimerizado, cuyo esqueleto está compuesto de manera predominante de restos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4, con una composición del esqueleto inferior de GalA con uniones 1,4 y ramnosa (Ram) con uniones 1,2 alternantes, que a su vez se unen a cualquier número de cadenas laterales, que incluyen de manera predominante 1,4-β-D-galactosa (Gal). Otros constituyentes menores de las cadenas laterales pueden incluir arabinosa (Ara), xilosa (Xil), glucosa (Glu), y fucosa (Fuc).

- 50 En ciertas realizaciones, el compuesto es un carbohidrato con restos de galactosa que se puede definir químicamente como un subtipo de galacto-ramnogalacturonato denominado galactoarabino-ramnogalacturonato, un heteropolímero ramificado, selectivamente despolimerizado, cuyo esqueleto está compuesto de manera predominante de restos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4, con una composición del esqueleto inferior de GalA con uniones 1,4 y ramnosa (Ram) con uniones 1,2 alternantes, que a su vez se unen a cualquier número de

cadenas laterales, que incluyen de manera predominante residuos de 1,4-β-D-galactosa (Gal) y 1,5α-L-arabinosa (Ara). Otros constituyentes menores de las cadenas laterales pueden incluir xilosa (Xil), glucosa (Glu), y fucosa (Fuc).

5 En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar a partir de pectina natural. Además, en ciertas realizaciones, el compuesto puede ser un compuesto con restos de galactosa sintético.

En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar a partir de pectina USP natural, altamente ramificada, mínimamente procesada y altamente metoxilada que puede proceder de cualquier fuente vegetal, lo que incluye, pero sin limitación, frutos cítricos, manzana, o remolacha.

10 En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar a partir de pectina USP natural, altamente ramificada, mínimamente procesada y altamente metoxilada, como la fabricada a partir de hollejo de manzana que contiene un 8-12% de pectina.

En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar con una hidrólisis específica y suficientemente controlada en condiciones alcalinas (pH 8 a 12) y ácidas (pH 1-5) o beta-eliminación mediante peróxido u otro procedimiento químico o mediante una hidrólisis enzimática adecuada y fraccionamiento.

15 En ciertas realizaciones, el compuesto se puede producir mediante un proceso que comprende una despolimerización catabolizada por una escisión por peroxidación selectiva de los enlaces glicosídicos mediante OH⁻ ionizado generado a partir de ácido ascórbico y/o peróxido en presencia o ausencia de una forma reducida adicional de un ión de metal de transición, como Cu⁺⁺ a 1 a 100 mM. También se pueden usar otros metales de transición como Ca⁺⁺ o Fe⁺⁺ para este fin.

20 En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar con una hidrólisis específica y suficientemente controlada del GalA con uniones α-1,4 metoxilado unido mediante enlaces glicosídicos, a la vez que se conservan las cadenas laterales con cantidades enriquecidas de 1,4-β-D-Gal y 1,5-α-L-Ara. Las cantidades de 1,4-β-D-Gal y 1,5-α-L-Ara se pueden determinar cuantitativamente mediante métodos de GC-MS (cromatografía de gases-espectroscopía de masas) y AELC-PAD (cromatografía líquida de intercambio aniónico-detector amperométrico de pulsos).

25 En ciertas realizaciones, el porcentaje molar de los residuos de 1,4-β-D-Gal y 1,5-α-L-Ara en el compuesto de la presente invención pueden superar el 10% de los carbohidratos molares totales, y la proporción aproximada oscila de 1:1 a 3:1, respectivamente.

En ciertas realizaciones, el porcentaje molar de los residuos de 1,5-α-L-Ara en el compuesto de la presente invención puede ser cero o hallarse solamente en pequeñas cantidades de hasta el 1%.

30 En ciertas realizaciones, el compuesto es un polisacárido químicamente definido como galacto-ramnogalacturonato o galactoarabino-ramnogalacturonato, un heteropolímero ramificado con una distribución de pesos moleculares medios de 2.000 a 80.000, o 20.000 a 70.000, o 5.000 a 55.000 Daltons, tal como se determina mediante los métodos de SEC-RI y/o SEC-MALLS.

35 En ciertas realizaciones, el compuesto puede ser un polisacárido modificado muy soluble con un intervalo de pesos moleculares suficientemente reducido, por ejemplo de alrededor de 2.000 a alrededor de 80.000 D, para que sea compatible con formulaciones terapéuticas para una administración plural por medio de vías que incluyen, pero sin limitación, las vías intravenosa, subcutánea, intraarticular, inhalada, y oral.

40 En ciertas realizaciones, el compuesto de carbohidrato con restos de galactosa puede comprender un polisacárido de galactomanano. En ciertas realizaciones, el compuesto es un oligosacárido de galactomanano que consiste básicamente en residuos de galactosa y manosa, y es el resultado de una despolimerización suficientemente controlada de galactomanano para dar como resultado una composición de polisacáridos de galactomanano con un peso molecular medio definido.

45 En ciertas realizaciones, la composición de polisacárido de galactomanano consiste básicamente en residuos de galactosa y manosa, y es el resultado de una despolimerización suficientemente controlada de galactomanano. En ciertas realizaciones, la composición comprende un polisacárido de galactomanano homogéneo. En ciertas realizaciones, el polisacárido de galactomanano tiene un peso medio de 4.000 a 60.000 D, tal como se ensaya mediante GPC-MALLS (galactomanano).

En ciertas realizaciones, la composición de polisacárido de galactomanano tiene una proporción de moléculas de manosa respecto de galactosa en un intervalo de 1:1 a 1:4.

50 En ciertas realizaciones, la composición de polisacárido de galactomanano tiene una proporción de moléculas de manosa respecto de galactosa de 1,7:1.

En ciertas realizaciones, la composición de polisacárido de galactomanano se produce mediante un proceso diseñado para generar un oligómero soluble muy puro y homogéneo con un peso molecular medio en el intervalo de alrededor de 48.000 Daltons, y una proporción de manosa respecto de galactosa en el intervalo de alrededor de

1,7:1. En ciertas realizaciones, el producto está en forma de un oligómero muy soluble de galactomanano (GM).

En ciertas realizaciones, el polisacárido que contiene galactosa y otros compuestos descritos se proponen como terapia solos o en combinación con otros agentes en glomerulopatías que son secundarias a enfermedades sistémicas que incluyen, pero sin limitación, nefropatía diabética, lupus eritematoso sistémico, amiloidosis, síndrome de Goodpasture, poliartritis/poliangitis microscópica, granulomatosis de Wegener, púrpura de Schonlein-Henoch, y trastornos asociados a la acumulación de complejos inmunitarios en el riñón.

En ciertas realizaciones, el polisacárido que contiene galactosa y otros compuestos descritos se proponen como terapia solos o en combinación con otros agentes en glomerulopatías primarias que incluyen, pero sin limitación, glomerulonefritis proliferativa difusa aguda (post-estreptocócica y no estreptocócica), glomerulonefritis rápidamente progresiva, glomerulonefritis crónica, glomerulonefritis membranosa, enfermedad de cambios mínimos, glomerulosclerosis segmentaria focal, glomerulonefritis membranoproliferativa, y nefropatía por IgA.

En ciertas realizaciones, el polisacárido que contiene galactosa y otros compuestos descritos se proponen como terapia solos o en combinación con otros agentes en trastornos tubulo-intersticiales renales o una enfermedad sistémica que incluye la expansión y el depósito de matriz extracelular en el espacio intersticial que incluye, pero sin limitación, nefropatía diabética, nefritis intersticial, y daño inmunológico en el hígado que incluye, pero sin limitación, rechazo de aloinjertos.

En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% de la proteinuria o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la proteinuria, que incluye, pero sin limitación, la proteína albúmina.

En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos un incremento del 10% de la tasa de filtración glomerular o al menos una reducción del 10% de la tasa de disminución de la tasa de filtración glomerular, tal como se mide mediante cualquier método habitual.

En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% de la matriz extracelular mesangial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la matriz extracelular mesangial, tal como se mide en cortes histológicos de riñón.

En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 5% del grosor de la membrana basal capilar glomerular, tal como se mide en cortes histológicos de riñón mediante el uso de microscopía óptica o electrónica.

En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% del volumen fraccionario del mesangio o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del volumen fraccionario del mesangio, tal como se mide en cortes histológicos de riñón.

En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% del volumen tubular intersticial o al menos una reducción el 10% de la tasa de incremento del volumen intersticial, tal como se mide en cortes histológicos de riñón.

En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% de la cantidad de colágeno en el espacio tubular intersticial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del colágeno en el espacio tubular intersticial, tal como se mide en cortes histológicos de riñón.

En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado un cambio de al menos un 10% en el nivel de los biomarcadores séricos de nefropatía diabética. Tales marcadores incluyen, pero sin limitación, citocinas inflamatorias y hemodinámicas, TNF- α , TGF- β o IL-8, osteopontina, o un perfil metabólico de componentes séricos que es indicativo de la presencia o gravedad de nefropatía diabética (lo que incluye marcadores séricos y urinarios). Un perfil de una o más de estas citocinas, tal como se mide mediante un inmunoensayo o una determinación proteómica mediante LC-espectroscopía de masas, puede proporcionar una determinación de la actividad de la enfermedad y un marcador de seguimiento en la terapia de la enfermedad.

Ciertos aspectos de la invención se refieren a un método que comprende obtener una composición para administración parenteral o enteral que comprende un galacto-ramnogalacturonato en un vehículo farmacéutico aceptable, y administrar a un sujeto que lo necesita una dosis eficaz de la composición. En ciertas realizaciones, la dosis eficaz es equivalente a una dosis animal de 0,1 mg/kg a 9,9 mg/kg, y da como resultado al menos uno de lo siguiente: al menos una reducción del 10% de la proteinuria o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la proteinuria; al menos un incremento del 10% de la tasa de filtración glomerular o al menos una reducción del 10% de la tasa de disminución de la tasa de filtración glomerular; al menos una reducción del 10% de

la matriz extracelular mesangial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la matriz extracelular mesangial; al menos una reducción del 5% del grosor de la membrana basal capilar glomerular; al menos una reducción del 10% del volumen fraccionario del mesangio o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del volumen fraccionario del mesangio; al menos una reducción del 10% del volumen tubular intersticial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del volumen intersticial; al menos una reducción del 10% de la cantidad de colágeno en el espacio tubular intersticial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del colágeno en el espacio tubular intersticial; al menos un 10% de cambio en el nivel de los biomarcadores séricos de nefropatía diabética. En ciertas realizaciones, el sujeto que lo necesita tiene al menos uno de lo siguiente: una glomerulopatía primaria, una glomerulopatía secundaria, y trastorno tubulo-intersticial renal. En ciertas realizaciones, los biomarcadores séricos de nefropatía diabética comprenden citocinas inflamatorias y hemodinámicas, TNF- α , TGF- β o IL-8, osteopontina, o un perfil metabólico de componentes séricos indicativo de la presencia o gravedad de la nefropatía diabética. En ciertas realizaciones, la dosis eficaz puede oscilar de 0,05 a 0,49 mg/kg.

En ciertas realizaciones, el galacto-ramnogalacturonato comprende un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4 y galacturonato de metilo (MeGalA) unido a heteropolímeros ramificados de oligómeros alternantes de residuos de ramnosa con uniones α -1,2 y de GalA con uniones α -1,4, y los residuos de ramnosa portan una ramificación primaria de oligómeros de residuos de 1,4- β -D-galactosa.

En ciertas realizaciones, el galacto-ramnogalacturonato comprende un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4 unido a heteropolímeros ramificados de oligómeros alternantes de residuos de ramnosa con uniones α -1,2 y de GalA con uniones α -1,4, y los residuos de ramnosa portan una ramificación primaria de oligómeros de residuos de 1,4- β -D-galactosa.

En ciertas realizaciones, el galacto-ramnogalacturonato puede comprender además residuos de xilosa, glucosa, fucosa o una combinación de los mismos.

En ciertas realizaciones, el galacto-ramnogalacturonato puede tener una distribución de pesos moleculares medios de 2.000 a 80.000, 20.000 a 70.000, o 5.000 a 55.000 Daltons, tal como se determina mediante los métodos SEC-RI y/o SEC-MALLS.

En ciertas realizaciones, el galacto-ramnogalacturonato puede estar sustancialmente exento de residuos de 1,5- α -L-Ara.

En ciertas realizaciones, la composición comprende además uno o más inhibidores de galectina. En ciertas realizaciones, los inhibidores de galectina pueden comprender inhibidores orgánicos pequeños de galectina, anticuerpos monoclonales, inhibidores de ARN, péptidos de unión pequeños, inhibidores proteicos o combinaciones de los mismos.

Ciertos aspectos de la invención se refieren a un método que comprende obtener una composición para administración parenteral o enteral que comprende un galactoarabino-ramnogalacturonato en un vehículo farmacéutico aceptable, y administrar a un sujeto que lo necesita una dosis eficaz que es equivalente a una dosis animal de 0,1 mg/kg a 1,99 mg/kg de la composición. En ciertas realizaciones, la dosis eficaz da como resultado al menos uno de lo siguiente: al menos una reducción del 10% de la proteinuria o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la proteinuria; al menos un incremento del 10% de la tasa de filtración glomerular o al menos una reducción del 10% de la tasa de disminución de la tasa de filtración glomerular; al menos una reducción del 10% de la matriz extracelular mesangial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la matriz extracelular mesangial; al menos una reducción del 5% del grosor de la membrana basal capilar glomerular; al menos una reducción del 10% del volumen fraccionario del mesangio o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del volumen fraccionario del mesangio; al menos una reducción del 10% del volumen tubular intersticial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del volumen intersticial; al menos una reducción del 10% de la cantidad de colágeno en el espacio tubular intersticial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del colágeno en el espacio tubular intersticial; al menos un 10% de cambio en el nivel de los biomarcadores séricos de nefropatía diabética. En ciertas realizaciones, el sujeto que lo necesita tiene al menos uno de lo siguiente: una glomerulopatía primaria, una glomerulopatía secundaria, y trastorno tubulo-intersticial renal. En ciertas realizaciones, los biomarcadores séricos de nefropatía diabética comprenden citocinas inflamatorias y hemodinámicas, TNF- α , TGF- β o IL-8, osteopontina, o un perfil metabólico de componentes séricos indicativo de la presencia o gravedad de la nefropatía diabética. En ciertas realizaciones, la dosis eficaz puede oscilar de 0,05 a 0,19 mg/kg.

En ciertas realizaciones, el galacto-ramnogalacturonato es un galactoarabino-ramnogalacturonato, que comprende un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4 y galacturonato de metilo (MeGalA) unido a heteropolímeros ramificados de oligómeros alternantes de residuos de ramnosa con uniones α -1,2 y GalA con uniones α -1,4, y los residuos de ramnosa portan una ramificación primaria de oligómeros de residuos de 1,4- β -D-galactosa, residuos de 1,5- α -L-arabinosa, o combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, el porcentaje molar de los residuos de 1,4- β -D-Gal, 1,5- α -L-Ara y las combinaciones de los mismos es al menos un 8% de los carbohidratos molares totales. En ciertas realizaciones, los residuos de 1,4- β -D-Gal y 1,5- α -L-Ara pueden estar

presentes en una proporción que oscila de 1:1 a 3:1. En ciertas realizaciones, el galactoarabino-ramnogalacturonato puede tener una distribución de pesos moleculares medios de 2.000 a 80.000, 20.000 a 70.000, o 5.000 a 55.000 Daltons, tal como se determina mediante los métodos SEC-RI y/o SEC-MALLS. En ciertas realizaciones, el galactoarabino-ramnogalacturonato puede tener un grado de metoxilación que oscila del 40% al 70%. En ciertas realizaciones, el galactoarabino-ramnogalacturonato puede tener una proporción de galacturonato de metilo más ácido galacturónico respecto de galactosa que oscila de 4:1 a 7:1.

Los aspectos de la invención se refieren a una composición que comprende una dosis eficaz equivalente a una dosis animal de 0,1 mg/kg a 1,99 mg/kg de un galactoarabino-ramnogalacturonato en un vehículo farmacéutico aceptable para el uso en el tratamiento de la nefropatía diabética, en el que el galactoarabino-ramnogalacturonato comprende un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4 y galacturonato de metilo (MeGalA) unido a heteropolímeros ramificados de oligómeros alternantes de residuos de ramnosa con uniones α -1,2 y GalA con uniones α -1,4, y los residuos de ramnosa portan una ramificación primaria de oligómeros de residuos de 1,4- β -D-galactosa, residuos de 1,5- α -L-arabinosa, o combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, la dosis eficaz puede oscilar de 0,05 a 0,19 mg/kg.

Los aspectos de la invención se refieren a una composición que comprende una dosis eficaz equivalente a una dosis animal de 0,1 mg/kg a 9,99 mg/kg de un galacto-ramnogalacturonato en un vehículo farmacéutico aceptable para el uso en el tratamiento de la nefropatía diabética, en el que el galacto-ramnogalacturonato comprende un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4 unido a heteropolímeros ramificados de oligómeros alternantes de residuos de ramnosa con uniones α -1,2 y GalA con uniones α -1,4, y los residuos de ramnosa portan una ramificación primaria de oligómeros de residuos de 1,4- β -D-galactosa. En ciertas realizaciones, la dosis eficaz puede oscilar de 0,05 a 0,49 mg/kg.

Breve descripción de los dibujos

La presente invención se explicará además con referencia a los dibujos adjuntos, en los que se hace referencia a estructuras semejantes mediante números semejantes en las diversas vistas. Los dibujos mostrados no están necesariamente a escala, y el énfasis se centra más bien en general en ilustrar los principios de la presente invención.

La FIGURA 1 muestra cortes histológicos de riñones de ratón teñidos con reactivo de ácido peryódico-Schiff (PAS). Se muestran fotografías de pequeño aumento (x200) y gran aumento (x400) de los tres grupos experimentales: 1) Ratón normal; 2) Ratonés diabéticos tratados con vehículo (solución salina tamponada con fosfato, control de tratamiento); y 3) Ratonés diabéticos tratados con GR-MD-02/001B (IV 40 mg/kg). Las flechas apuntan a un glomérulo.

La FIGURA 2 muestra cortes histológicos de riñones de ratón teñidos con reactivo rojo Picrosirius. Se muestran fotografías de pequeño aumento (x50) y gran aumento (x200) de los tres grupos experimentales: 1) Ratón normal; 2) Ratonés diabéticos tratados con vehículo (solución salina tamponada con fosfato, control de tratamiento); y 3) Ratonés diabéticos tratados con GR-MD-02/001B (IV 40 mg/kg). Las flechas apuntan a una fibra teñida que indica la presencia de colágeno tipo I.

La FIGURA 3 muestra los resultados de la morfometría digital de riñones de ratón teñidos con reactivo rojo Picrosirius para cuantificar el porcentaje de tinción con rojo Sirius. Comparaciones estadísticas del porcentaje de tinción con rojo Sirius mostrada para los tres grupos experimentales: 1) Ratón normal; 2) Ratonés diabéticos tratados con vehículo (solución salina tamponada con fosfato, control de tratamiento); y 3) Ratonés diabéticos tratados con GR-MD-02/001B (IV 40 mg/kg).

Descripción detallada de la invención

En la presente memoria se describen realizaciones detalladas de la presente invención; sin embargo, se debe entender que las realizaciones descritas son simplemente ilustrativas de la invención, que se puede realizar de diversas formas. Además, cada uno de los ejemplos proporcionados con respecto a las diversas realizaciones de la invención pretende ser ilustrativo, y no restrictivo. Además, las figuras no están necesariamente a escala, y ciertas características pueden estar exageradas para mostrar detalles de componentes particulares. Además, cualquier medida, especificación y similares mostrada en las figuras pretenden ser ilustrativas, y no restrictivas. Por lo tanto, los detalles estructurales y funcionales específicos descritos en la presente memoria no se deben interpretar como limitantes, sino simplemente como una base representativa para enseñar a un experto en la técnica a emplear de diversas maneras la presente invención.

A menos que se especifique de otra manera, todos los porcentajes expresados en la presente memoria están en peso/peso.

Entre un 20% y 40% de los pacientes de diabetes (Tipo I y Tipo II) desarrollan finalmente nefropatía diabética. La nefropatía diabética, también conocida como síndrome de Kimmelstiel-Wilson, o glomeruloesclerosis diabética nodular, y glomerulonefritis intercapilar, es una enfermedad renal progresiva provocada por la angiopatía de los capilares de los glomérulos renales. La nefropatía diabética es la causa principal de enfermedad renal crónica en los

Estados Unidos y otras sociedades occidentales, responsable del 30-40% de la enfermedad renal terminal en los Estados Unidos. También es una de las complicaciones más significativas a largo plazo con respecto a la morbilidad y mortalidad para los pacientes individuales de diabetes.

5 La nefropatía diabética es un síndrome clínico caracterizado por lo siguiente: 1) Albuminuria persistente (>300 mg/d o >200 µg/min), 2) Disminución progresiva de la tasa de filtración glomerular (TFG), 3) tensión arterial elevada.

La nefropatía diabética se diagnostica en general después de un urianálisis rutinario y un cribado de microalbuminuria en el ámbito de la diabetes.

10 Los pacientes pueden tener hallazgos físicos asociados a una diabetes mellitus de larga duración, tales como hipertensión, enfermedad vascular periférica, indicios de neuropatía diabética en forma de sensibilidad fina disminuida y reflejo osteotendinoso disminuido, indicios de cuarto ruido cardíaco durante la auscultación cardíaca, o úlceras cutáneas que no cicatrizan/osteomielitis. Casi todos los pacientes de nefropatía y diabetes Tipo I muestran signos de enfermedad microvascular diabética, tal como retinopatía y neuropatía.

15 Los pacientes con nefropatía diabética tienen una reducción progresiva e inexorable de la tasa de filtración glomerular. Los pacientes con nefropatía diabética con diabetes Tipo I o Tipo II tienen una disminución de la tasa de filtración glomerular de alrededor de 9,6 a 12 ml/min/año a alrededor de 5,4 a 7,2 ml/min/año, respectivamente

Aunque existen pruebas sólidas que sugieren que el tratamiento temprano retrasa o previene el inicio de la nefropatía diabética o la enfermedad renal diabética, sigue siendo un problema de salud importante. Por lo tanto, existe la necesidad de un tratamiento que pueda prevenir, retrasar la progresión, o provocar la regresión de la enfermedad.

20 La patología renal clásica en la nefropatía diabética es la glomeruloesclerosis nodular. Se dan tres cambios histológicos principales en los glomérulos de las personas con nefropatía diabética: 1) expansión de las células mesangiales y producción incrementada de matriz y/o glicosilación de las proteínas de la matriz; 2) engrosamiento de la membrana basal glomerular (MBG), que se da después de la expansión de las células mesangiales y de la matriz; 3) esclerosis glomerular. Estos patrones histológicos diferentes parecen tener una importancia pronóstica similar.

25 El cambio clave en la glomerulopatía diabética es el aumento de la matriz extracelular. La anomalía morfológica más temprana en la nefropatía diabética es el engrosamiento de la membrana basal glomerular y la expansión del mesangio debido a la acumulación de matriz extracelular.

30 A medida que progresa la patología glomerular, se da un cambio patológico creciente en el intersticio entre los túbulos renales, que incluye una acumulación incrementada de material de la matriz extracelular y de colágeno.

Los hallazgos histológicos muestran un incremento de la acumulación de material de la matriz extracelular y de colágeno en los espacios sólidos del glomérulo, observado con mucha frecuencia como una ramificación macroscópica de material sólido (reacción positiva para la reacción de ácido peryódico-Schiff (PAS)), pero también hay acumulaciones acelulares grandes, o nódulos (lesiones/nódulos de Kimmelstiel-Wilson).

35 La gravedad de la glomerulopatía diabética se puede estimar por el grosor de la membrana basal periférica y el mesangio y la matriz, expresado como una fracción de los espacios adecuados (p.ej., fracción en volumen de mesangio/glomérulo, matriz/mesangio, o matriz/glomérulo).

40 La microscopía de inmunofluorescencia puede revelar la acumulación de albúmina, inmunoglobulinas, fibrina, y otras proteínas plasmáticas a lo largo de la membrana basal glomerular en un patrón lineal muy probablemente como resultado de la exudación desde los vasos sanguíneos.

En la enfermedad avanzada, la microscopía electrónica muestra que las regiones mesangiales ocupan una gran proporción del glomérulo, con un contenido de matriz prominente. Además, la membrana basal de las paredes de los capilares (es decir, la membrana basal periférica) es más gruesa de lo normal.

45 Además de la patología glomerular, la nefropatía diabética da como resultado un incremento del material de la matriz en los espacios intersticiales tubulares del riñón. La gravedad de la enfermedad intersticial se puede determinar midiendo la cantidad de material de la matriz entre las células tubulares renales, lo que incluye, pero sin limitación, colágeno tipo I, colágeno tipo IV, ácido hialurónico, hialuronano, y proteoglicanos.

50 La fisiopatología subyacente que conduce a las lesiones patológicas no se comprende completamente, pero puede incluir productos de glicosilación avanzada y estrés oxidativo. Se cree que el desarrollo de la nefropatía diabética está asociado a la hiperglucemia. La glucosa puede reaccionar de manera no enzimática con las proteínas para formar una base de Schiff y productos de Amadori y productos finales de glicosilación avanzada (AGEs), que se cree que desempeñan un papel crucial en la progresión de la nefropatía diabética

La fisiopatología también puede implicar una diversidad de citocinas inflamatorias y citotóxicas que incluyen, pero sin limitación, factor de crecimiento transformante β1, angiotensina II, y óxido nítrico.

Ciertos aspectos de la invención se refieren a métodos para tratar (p.ej., controlar, mitigar, mejorar, aliviar, o ralentizar la progresión) o métodos para prevenir (p.ej., retrasar el inicio o reducir el riesgo de desarrollar) una o más enfermedades, trastornos, o afecciones en las que están implicadas las galectinas, en un sujeto que lo necesita. En ciertos aspectos, los métodos incluyen administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de carbohidrato con restos de galactosa, o una composición que comprende el compuesto de carbohidrato con restos de galactosa, a un sujeto que tiene nefropatía diabética.

Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "dosis eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto que, solo o en combinación con una cantidad de un agente terapéutico, cuando se administra en forma de una formulación parenteral, subcutánea, inhalada, intraarticular, ocular, u oral a un animal o ser humano con nefropatía diabética o una enfermedad asociada, da como resultado la reducción de la actividad de la enfermedad, tal como se define más adelante en las diversas realizaciones. Por ejemplo, la expresión "dosis eficaz" significa la cantidad de carbohidrato con restos de galactosa u otro agente en combinación con el carbohidrato con restos de galactosa que, cuando se administra en forma de una dosis parenteral o en una formulación oral a un animal o ser humano con nefropatía diabética, da como resultado al menos uno de lo siguiente: al menos una reducción del 10% de la proteinuria (que incluye, pero sin limitación, la proteína albúmina), al menos un incremento del 10% de la tasa de filtración glomerular, al menos una reducción del 10% de la matriz extracelular mesangial, al menos una reducción del 10% del grosor de la membrana basal capilar glomerular, al menos una reducción del 10% del volumen fraccionario del mesangio, al menos una reducción del 10% del volumen tubular intersticial, y/o al menos una reducción del 10% de la cantidad de colágeno en el espacio tubular intersticial.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo o adyuvante que se puede administrar a un sujeto (p.ej., un paciente) junto con un compuesto de esta invención, y que no destruye la actividad farmacológica del mismo y es atóxico cuando se administra en dosis suficientes para suministrar una cantidad terapéutica o una cantidad eficaz del compuesto. Por ejemplo, la expresión vehículo farmacéuticamente aceptable se puede referir a todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, p.ej., albúmina humana o polipéptidos de gelatina reticulada, revestimientos, compuestos antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, p.ej., cloruro sódico o glutamato sódico, y compuestos retardantes de la absorción, y similares, que son fisiológicamente compatibles. El uso de tales medios y compuestos para las sustancias farmacéuticamente activas se conoce bien en la técnica. Preferiblemente, el vehículo es adecuado para administración oral, intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, cefalorraquídea o epidural (p.ej., mediante inyección o infusión). Dependiendo de la vía de administración, el compuesto activo se puede revestir con un material para proteger el compuesto de la acción de los ácidos y otras condiciones naturales que pueden inactivar el compuesto.

La expresión "eficacia" se refiere en ciertas realizaciones a la demostración de una mejora en la patología, las manifestaciones de la enfermedad o los hallazgos clínicos de la nefropatía diabética u otras glomerulonefropatías primarias o secundarias.

En ciertas realizaciones, el método de tratamiento comprende la etapa de obtener una composición para administración parenteral o enteral, que comprende un compuesto de carbohidrato con restos de galactosa en un vehículo farmacéutico aceptable.

En ciertas realizaciones, el compuesto es un polisacárido que se puede definir químicamente como galactoramnogalacturonato, un heteropolímero ramificado, selectivamente despolimerizado, cuyo esqueleto está compuesto de manera predominante de restos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4, con una composición del esqueleto inferior de GalA con uniones 1,4 y ramnosa (Ram) con uniones 1,2 alternantes, que a su vez se unen a cualquier número de cadenas laterales, que incluyen de manera predominante 1,4-β-D-galactosa (Gal). Otros constituyentes menores de las cadenas laterales pueden incluir arabinosa (Ara), xilosa (Xil), glucosa (Glu), y fucosa (Fuc).

En ciertas realizaciones, el compuesto es un carbohidrato con restos de galactosa que se puede definir químicamente como un subtipo de galactoramnogalacturonato denominado galactoarabino-ramnogalacturonato, un heteropolímero ramificado, selectivamente despolimerizado, cuyo esqueleto está compuesto de manera predominante de restos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4, con una composición del esqueleto inferior de GalA con uniones 1,4 y ramnosa (Ram) con uniones 1,2 alternantes, que a su vez se unen a cualquier número de cadenas laterales, que incluyen de manera predominante residuos de 1,4-β-D-galactosa (Gal) y 1,5α-L-arabinosa (Ara). Otros constituyentes menores de las cadenas laterales pueden incluir xilosa (Xil), glucosa (Glu), y fucosa (Fuc).

En ciertas realizaciones, el porcentaje molar de los residuos de 1,4-β-D-Gal y 1,5-α-L-Ara en el compuesto de la presente invención pueden superar el 10% de los carbohidratos molares totales, y la proporción aproximada oscila de 1:1 a 3:1, respectivamente.

En ciertas realizaciones, el porcentaje molar de los residuos de 1,5-α-L-Ara en el compuesto de la presente invención puede ser cero o hallarse solamente en pequeñas cantidades de hasta el 1%.

En ciertas realizaciones, el compuesto es un carbohidrato con restos de galactosa que se puede definir

- químicamente como un compuesto de galactoarabino-ramnogalacturonato que comprende un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4 y galacturonato de metilo (MeGalA) unido a heteropolímeros ramificados de oligómeros alternantes de residuos de ramnosa con uniones α -1,2 y GalA con uniones α -1,4, y los residuos de ramnosa portan una ramificación primaria de oligómeros de residuos de 1,4- β -D-galactosa, residuos de 1,5- α -L-arabinosa, o combinaciones de los mismos.
- 5 En ciertas realizaciones, el compuesto puede tener un grado de metoxilación que oscila del 40% al 70% del máximo del 87%. En ciertas realizaciones, el compuesto tiene una proporción de galacturonato de metilo respecto de ácido galacturónico que oscila de 2:1 a 1:2. En ciertas realizaciones, el compuesto tiene una proporción de galacturonato de metilo más ácido galacturónico respecto de galactosa que oscila de 4:1 a 7:1
- 10 En ciertas realizaciones, el oligómero de residuos de 1,4- β -D-galactosa, residuos de 1,5- α -L-arabinosa o combinaciones de los mismos representa al menos un 8 por ciento molar del contenido molar de carbohidrato total. En ciertas realizaciones, los residuos de 1,4- β -D-galactosa y 1,5- α -L-arabinosa están presentes en una proporción 2:1 o 3:1.
- 15 En ciertas realizaciones, el compuesto es un polisacárido químicamente definido como galacto-ramnogalacturonato o galactoarabino-ramnogalacturonato, un heteropolímero ramificado con una distribución de pesos moleculares medios de 2.000 a 80.000, o 20.000 a 70.000, o 5.000 a 55.000 Daltons, tal como se determina mediante los métodos de SEC-RI y/o SEC-MALLS.
- 20 En ciertas realizaciones, el compuesto puede ser un polisacárido modificado muy soluble con un intervalo de pesos moleculares suficientemente reducido, por ejemplo de alrededor de 2.000 a alrededor de 80.000 D, para que sea compatible con formulaciones terapéuticas para una administración plural por medio de vías que incluyen, pero sin limitación, las vías intravenosa, subcutánea, intraarticular, inhalada, y oral.
- 25 En ciertas realizaciones el compuesto de galacto-ramnogalacturonato se puede producir mediante el método descrito en el documento de número de serie de EE.UU. 8.236.780 y el documento PCT/US12/55311.
- En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar a partir de pectina USP natural, altamente ramificada, mínimamente procesada y altamente metoxilada que puede proceder de cualquier fuente vegetal, lo que incluye, pero sin limitación, frutos cítricos, manzana, o remolacha.
- 30 En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar a partir de pectina USP natural, altamente ramificada, mínimamente procesada y altamente metoxilada, como la fabricada a partir de hollejo de manzana que contiene un 8-12% de pectina.
- 35 En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar con una hidrólisis específica y suficientemente controlada del GalA con uniones α -1,4 metoxilado unido mediante enlaces glicosídicos, a la vez que se conservan las cadenas laterales con cantidades enriquecidas de 1,4- β -D-Gal y 1,5- α -L-Ara. Las cantidades de 1,4- β -D-Gal y 1,5- α -L-Ara se pueden determinar cuantitativamente mediante métodos de GC-MS (cromatografía de gases-espectroscopía de masas) y AELC-PAD (cromatografía líquida de intercambio aniónico-detector amperométrico de pulsos).
- 40 En ciertas realizaciones, el compuesto se puede sintetizar con una hidrólisis específica y suficientemente controlada en condiciones alcalinas (pH 8 a 12) y ácidas (pH 1-5) o beta-eliminación mediante peróxido u otro procedimiento químico o mediante una hidrólisis enzimática adecuada y fraccionamiento.
- En ciertas realizaciones, el compuesto se puede producir mediante un proceso que comprende una despolimerización catabolizada por una escisión por peroxidación selectiva de los enlaces glicosídicos mediante OH⁻ ionizado generado a partir de ácido ascórbico y/o peróxido en presencia o ausencia de una forma reducida adicional de un ión de metal de transición, como Cu⁺⁺ a 1 a 100 mM. También se pueden usar otros metales de transición como Ca⁺⁺ o Fe⁺⁺ para este fin.
- 45 Tal como se usa en la presente memoria, el término "despolimerización" se refiere a la hidrólisis parcial, selectiva o completa del esqueleto de polisacárido que se da, por ejemplo, cuando se trata químicamente el polisacárido, lo que da como resultado fragmentos de tamaño reducido en comparación con el polisacárido original.
- 50 En ciertas realizaciones, el compuesto despolimerizado se puede exponer a un pH de 8 a 10, durante 10 a 30 minutos a temperatura de 2 °C a 60 °C para iniciar una desmetoxilación limitada controlada para generar un compuesto despolimerizado con un grado de metoxilación del 40 al 70 por ciento en comparación con los niveles iniciales de un máximo del 87%, y se puede denominar compuesto semi-metoxilado. Se considera que la metoxilación completa del ácido galacturónico es de aproximadamente DE 87%.
- En ciertas realizaciones, la composición despolimerizada se puede exponer a múltiples lavados con alcohol ácido caliente (p.ej. a temperaturas que oscilan de 30 °C a 80 °C) para eliminar cualquier endotoxina residual, cobre y metales pesados, contaminantes agrícolas y otras impurezas.
- En ciertas realizaciones, los galacto-ramnogalacturonatos químicamente alterados solubles se preparan modificando

- polímeros naturales para reducir el peso molecular hasta el intervalo deseado, reduciendo el grupo alquilado (desmetoxilación o desacetilación). Antes de la modificación química, los polisacáridos naturales puede tener un intervalo de pesos moleculares de alrededor de 40.000-1.000.000 D con múltiples ramas de sacáridos, por ejemplo, ramas compuestas de 1 a 20 monosacáridos de glucosa, arabinosa, galactosa, etc., y estas ramas pueden estar conectadas al esqueleto por medio de monosacáridos neutros tales como ramnosa. Estas moléculas pueden incluir además un único ácido urónico o una cadena de ácido urónico en forma de esqueleto sacárido que puede estar esterificado desde apenas alrededor del 2% hasta alrededor del 70%. Las múltiples ramas pueden tener ellas mismas múltiples ramas de sacáridos, y las múltiples ramas incluyen opcionalmente sacáridos neutros y derivados de sacáridos neutros, que crean principalmente entidades hidrófobas.
- 5
- 10 En ciertas realizaciones, la composición de galacto-ramnogalacturonato se puede producir mediante diversos tratamientos, que incluyen calor, pH elevado o bajo, diversas formas de filtración con exclusión por peso molecular (o combinaciones de estos métodos) mediante el uso de un material de pectina en bruto de cualquier fuente vegetal. Por ejemplo, el material de pectina en bruto puede ser de manzana, frutos cítricos, o pectina de remolacha, algunos de los cuales están disponibles comercialmente como material de pectina USP.
- 15 En ciertas realizaciones, el compuesto comprende una pectina modificada. Se han descrito varias composiciones de compuestos de carbohidratos y procesos para la fabricación de las mismas. Véanse las patentes de EE.UU. n°s 6.573.245, 6.645.946, 6.914.055, 6.982.255, 7.012.068, 7.491.708 y 7.893.252.
- En ciertas realizaciones, la composición de galacto-ramnogalacturonato se produce como se describió en la patente de EE.UU. n° 8.128.966 y la solicitud de EE.UU. n° US 2012-0149658.
- 20 En ciertas realizaciones, la composición de carbohidrato con restos de galactosa se produce como se describió en las solicitudes provisionales de EE.UU. de n°s de serie 61/704.174 y 61/693.978.
- En ciertas realizaciones, el compuesto pertenece a la clase general que comprende un esqueleto de ácido poligalacturónico sustancialmente desmetoxilado que tiene residuos de ramnosa que penden de él. Se cree que en los materiales de este tipo, las unidades terminales de galactosa que penden del esqueleto se unen a proteínas galectina. El resto de la molécula puede potenciar la acción del compuesto en la moderación de la respuesta del sistema inmunitario. Aunque sin desear limitarse por ninguna especulación, el resto de la molécula puede interactuar con las porciones restantes de la proteína galectina y/o puede prolongar la unión de la porción de carbohidrato a ella.
- 25
- 30 En ciertas realizaciones, el compuesto puede comprender un polisacárido de galactomanano. En ciertas realizaciones, el compuesto es un oligosacárido de galactomanano que consiste básicamente en residuos de galactosa y manosa, y es el resultado de una despolimerización suficientemente controlada de galactomanano para dar como resultado una composición de polisacáridos de galactomanano con un peso molecular medio definido.
- El galactomanano se puede obtener a partir de una diversidad de fuentes naturales, tales como fuentes vegetales y microbianas. El polisacárido también se puede producir de manera sintética. El galactomanano se puede obtener de goma de algarrobo (*Ceratonia siliqua*), goma guar (*Cyamopsis tetragonoloba*), y acacia de tres espinas (*Gleditsia triacanthos*), que son ejemplos de galactomananos disponibles comercialmente. Los polisacáridos incluyen, pero sin limitación, galactomananos disponibles de varias fuentes vegetales y microbianas. Por ejemplo, el galactomanano puede ser un derivado de goma guar de semillas de *Cyamopsis tetragonoloba*. En otras realizaciones, el galactomanano puede ser un derivado de *Gleditsia triacanthos*, *Medicago falcata*, *Trigonella Foenum-graecum* y microbios, como *Ceratonia siliqua*, *Xanthomonas campestris*, galactomanano de levaduras y mohos, arabinogalactano (de *Larix occidentalis*), ramnogalacturonano (de patata), carragenano (de algas *Eucheuma*), y la goma de algarrobo (de *Ceratonia siliqua*).
- 35
- 40 Tal como se usa en la presente memoria, el término "esqueleto" significa la cadena principal de un polisacárido, o la cadena que se origina de la cadena principal de un polisacárido inicial, que tiene restos de sacáridos unidos de manera secuencial mediante enlaces glicosídicos alfa o beta. Un esqueleto puede comprender restos adicionales de monosacáridos conectados a él en diversas posiciones a lo largo de la cadena secuencial.
- 45
- En ciertas realizaciones, la composición de polisacáridos de galactomanano consiste básicamente en residuos de galactosa y manosa, y resulta de una despolimerización lo suficientemente controlada de galactomanano como para dar como resultado un polisacárido de galactomanano homogéneo. En ciertas realizaciones, el polisacárido de galactomanano tiene un peso medio de 4.000 a 60.000 D, tal como se ensaya mediante GPC-MALLS (galactomanano).
- 50
- En ciertas realizaciones, la composición de polisacárido de galactomanano tiene una proporción de moléculas de manosa respecto de galactosa en un intervalo de 1:1 a 1:4.
- 55
- En ciertas realizaciones, la composición de polisacárido de galactomanano tiene una proporción de moléculas de manosa respecto de galactosa de 1,7:1.
- En ciertas realizaciones, la composición de polisacáridos de galactomanano se produce como se describió en el

- documento US 7.893.252. El proceso se diseña para generar un oligómero soluble y homogéneo muy puro con un peso molecular medio en el intervalo de alrededor de 48.000 Daltons, y una proporción de manosa respecto de galactosa en el intervalo de alrededor de 1,7:1. El proceso incorpora cuatro fases principales: una despolimerización controlada para producir el oligómero de galactomanano deseado y tres etapas de purificación, eliminación de las impurezas insolubles, eliminación de impurezas solubles en agua, eliminación de impurezas solubles en disolventes orgánicos, y finalmente liofilización para generar una forma pura y estable de galactomanano en polvo. En ciertas realizaciones, el producto está en forma de un oligómero muy soluble de galactomanano (GM).
- El galactomanano se puede envasar y distribuir en forma de una disolución concentrada estéril en un vial de un único uso, aunque se puede producir y distribuir galactomanano en bruto en forma de polvo. El proceso descrito en la presente memoria es tanto para el fármaco en bruto como para el producto farmacológico final. El producto farmacológico de galactomanano se puede combinar y administrar junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico para formar los ingredientes activos de una preparación farmacéutica. En ciertas realizaciones, el producto farmacológico puede contener solución salina normal para infusión (alrededor de 0,9 M de cloruro sódico en agua), y tiene un pH de alrededor de 6,5.
- Aunque la discusión anterior se ha dirigido principalmente a los materiales terapéuticos basados en pectinas modificadas y galactomanano, se debe entender que la presente invención no se limita a ellos. De acuerdo con los principios generales de la presente invención, se puede emplear cualquier miembro de la amplia clase de compuestos que pueden interactuar con y bloquear las galectinas. Estos materiales, en una realización, comprenden materiales de carbohidratos, ya que tales materiales tienen una baja toxicidad y exhiben una interacción intensa con las galectinas, o exhiben un efecto antiinflamatorio intenso. Los materiales de pectinas modificadas constituyen un grupo particular de materiales de carbohidratos. Igualmente, se pueden emplear de forma similar análogos sintéticos y semisintéticos de los mismos, tales como los materiales de ácido poligalacturónico.
- Otra clase de materiales de la presente invención comprende moléculas que tienen una primera porción, que en general es un carbohidrato, y que es capaz de unirse a galectinas, unidas a una segunda porción que inactiva o modera de otra manera la actividad de una proteína. No es necesario que esta segunda porción sea un carbohidrato, y puede comprender un material que reticule o desnaturalice de otra manera el segmento de la proteína que comprende una porción activa de la proteína galectina, o una porción activa de otra proteína que interactúa con la galectina. Tales materiales incluyen especies activas tales como azufre u otros elementos anfígenos solos o en combinación, tales como tioles, sulfhidrilos y similares. Otras especies activas pueden comprender grupos ciano, tiocianatos, agentes alquilantes, aldehídos y similares. Algunas especies activas pueden ser proteínas, que incluyen, pero sin limitación, anticuerpos monoclonales.
- En ciertas realizaciones, el método comprende las etapas de obtener un compuesto de carbohidrato con restos de galactosa para administración parenteral o enteral en un vehículo farmacéutico aceptable.
- En ciertas realizaciones, el método comprende la etapa de obtener un compuesto de carbohidrato con restos de galactosa para administración parenteral o enteral que comprende un disacárido u oligosacárido químicamente modificado, y/o derivados del mismo, que tiene al menos una galactosa como estructura química inicial que incluye, pero sin limitación, galactopiranosidos o 3-triazolil-galactósidos.
- En ciertas realizaciones, la composición de disacárido u oligosacárido modificado químicamente se produce como se describió en el documento US 6.444.655.
- En ciertas realizaciones, la composición de disacárido u oligosacárido modificado químicamente se produce como se describió en el documento US 8.092.825.
- En ciertas realizaciones, la composición de disacárido u oligosacárido modificado químicamente se produce como se describió en el documento US 7.700.763.
- En ciertas realizaciones, la composición de disacárido u oligosacárido modificado químicamente se produce como se describió en el documento US 7.638.623.
- En ciertas realizaciones, la composición de disacárido u oligosacárido modificado químicamente se produce como se describió en el documento US 7.230.096.
- En ciertas realizaciones, el compuesto con restos de galactosa se puede sintetizar como se describió en las solicitudes provisionales de EE.UU. n°s 61/704.174 y 61/693.978.
- En ciertas realizaciones, el compuesto de carbohidrato con restos de galactosa se puede usar en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico. Por ejemplo, el compuesto de carbohidrato con restos de galactosa se puede usar en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico convencional para la nefropatía diabética.
- En ciertas realizaciones, el compuesto de carbohidrato con restos de galactosa se puede usar en una mezcla. "Mezcla" significa más de un componente mezclados entre sí para formar una combinación. Para los fines de la

presente invención, "mezcla" significa la mezcla de dos o más compuestos en cualquier momento antes o después de, o simultáneamente con, la administración.

- 5 Ciertos aspectos de la invención se refieren a una formulación terapéutica para la nefropatía diabética que tiene una eficacia adecuada o incrementada en el tratamiento de la nefropatía diabética. En ciertas realizaciones, la formulación terapéutica para la nefropatía diabética incluye una dosis eficaz de un polisacárido con restos de galactosa. En ciertas realizaciones, la formulación terapéutica para la nefropatía diabética se puede administrar sola o co-administrada con una dosis eficaz de un agente terapéutico en una mezcla o régimen. La formulación puede incluir además un agente terapéutico adicional para la nefropatía diabética o la diabetes o excipientes, en la que la formulación está en forma de polvo o en forma líquida.
- 10 En otra realización, una dosis eficaz de un polisacárido que contiene galactosa se puede administrar en una formulación para administración oral. Los métodos para preparar la formulación pueden incluir métodos para la alteración física del compuesto o la adición de diversos agentes que aumentan la absorción oral del polisacárido que contiene galactosa. Las alteraciones del compuesto pueden incluir, pero sin limitación, la unión a un resto hidrófobo tal como, pero sin limitación, un grupo alifático. Las adiciones a la formulación que pueden aumentar la absorción pueden incluir, pero sin limitación, agentes que incrementan la permeabilidad de la barrera intestinal.
- 15 En ciertas realizaciones, el compuesto es un polisacárido que contiene galactosa y se puede usar en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de otro u otros inhibidores de galectina que pueden inhibir proteínas galectina individuales o un grupo de proteínas galectina. Los inhibidores de galectina pueden incluir, pero sin limitación, inhibidores orgánicos pequeños de galectina, anticuerpos monoclonales, inhibidores de ARN, péptidos de unión pequeños, inhibidores proteicos o combinaciones de los mismos.
- 20 En ciertas realizaciones, el polisacárido que contiene galactosa y otros compuestos descritos se proponen como una terapia por sí sola o en combinación con otros compuestos enumerados anteriormente para la nefropatía diabética humana como método para prevenir, ralentizar la progresión, o mejorar o invertir la enfermedad.
- 25 En ciertas realizaciones, el polisacárido que contiene galactosa y otros compuestos descritos se proponen como terapia solos o en combinación con otros compuestos enumerados anteriormente en glomerulopatías primarias que incluyen, pero sin limitación, glomerulonefritis proliferativa difusa aguda (post-estreptocócica y no estreptocócica), glomerulonefritis rápidamente progresiva, glomerulonefritis crónica, glomerulonefritis membranosa, enfermedad de cambios mínimos, glomeruloesclerosis segmentaria focal, glomerulonefritis membranoproliferativa, y nefropatía por IgA.
- 30 En ciertas realizaciones, el polisacárido que contiene galactosa y otros compuestos descritos se proponen como terapia solos o en combinación con otros compuestos enumerados anteriormente en glomerulopatías que son secundarias a enfermedades sistémicas que incluyen, pero sin limitación, nefropatía diabética, lupus eritematoso sistémico, amiloidosis, síndrome de Goodpasture, poliartritis/poliangitis microscópica, granulomatosis de Wegener, púrpura de Schonlein-Henoch, y trastornos asociados a la acumulación de complejos inmunitarios en el riñón.
- 35 En ciertas realizaciones, el polisacárido que contiene galactosa y otros compuestos descritos se proponen como terapia solos o en combinación con otros compuestos enumerados anteriormente en trastornos tubulo-intersticiales renales o una enfermedad sistémica que incluye la expansión y el depósito de matriz extracelular en el espacio intersticial que incluye, pero sin limitación, nefropatía diabética, nefritis intersticial, y daño inmunológico en el hígado que incluye, pero sin limitación, rechazo de aloinjertos.
- 40 En ciertas realizaciones, se puede administrar una dosis eficaz de un polisacárido que contiene galactosa por medio de una diversidad de vías que incluyen la parenteral por medio de una infusión intravenosa administrada como infusiones rápidas repetidas o una infusión constante, inyección intradérmica, administrada de manera subcutánea como una inyección rápida repetida o una infusión constante, o administración oral.
- 45 Una dosis parenteral eficaz (proporcionada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa a un animal experimental está dentro del intervalo de 0,1 mg/kg a 160 mg/kg de peso corporal, o 1 mg/kg, o 10 mg/kg, o 30 mg/kg, o 60 mg/kg, o 90 mg/kg, o 120 mg/kg de peso corporal. En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (proporcionada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa a un animal experimental está en el intervalo de 0,1 mg/kg a 1 mg/kg, 0,1 a 1,5 mg/kg, 0,1 mg/kg a 1,9 mg/kg. En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (proporcionada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa a un animal experimental está en el intervalo de 0,1 mg/kg a 3 mg/kg, 0,1 mg/kg a 4 mg/kg, 0,1 mg/kg a 5 mg/kg, 0,1 mg/kg a 6 mg/kg, 0,1 mg/kg a 7 mg/kg, 0,1 mg/kg a 8 mg/kg, 0,1 mg/kg a 9 mg/kg, o 0,1 mg/kg a 9,9 mg/kg. En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (proporcionada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa a un animal experimental es menor de 10 mg/kg o es menor de 2 mg/kg.
- 50
- 55 En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de galacto-ramnogalacturonato a un animal experimental puede ser 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 2, mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg o 9,99 mg/kg. En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de galacto-ramnogalacturonato a un

animal experimental puede estar en el intervalo de 0,1 a 9,99 mg/kg, 0,2 a 9,99 mg/kg, 0,3 a 9,99 mg/kg, 0,4 a 9,99 mg/kg, 0,5 a 9,99 mg/kg, 1 a 9,99 mg/kg, 2 a 9,99 mg/kg, 3 a 9,99 mg/kg, 4 a 9,99 mg/kg, 5 a 9,99 mg/kg, 6 a 9,99 mg/kg, 7 a 9,99 mg/kg, 8 a 9,99 mg/kg, 9 a 9,99 mg/kg, 0,1 a 0,2 mg/kg, 1 a 2 mg/kg, 2 a 3 mg/kg, 3 a 4 mg/kg, 4 a 5 mg/kg, 5 a 6 mg/kg, 6 a 7 mg/kg, 7 a 8 mg/kg, 8 a 9 mg/kg.

- 5 En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de galactoarabino-ramnogalacturonato a un animal experimental puede ser 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,40 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,7 mg/kg, 0,8 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3, mg/kg 1,4 mg/kg, 1,5, mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, o 1,99 mg/kg. En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de galactoarabino-ramnogalacturonato a un animal experimental puede estar en el intervalo de 0,1 mg/kg a 0,2 mg/kg, 0,2 a 0,3 mg/kg, 0,3 mg/kg a 0,4 mg/kg, 0,4 a 0,5 mg/kg, 0,5 mg/kg a 0,6 mg/kg, 0,6 mg/kg, a 0,7 mg/kg, 0,7 a 0,8 mg/kg, 0,8 a 0,9 mg/kg, 0,9 mg/kg a 1 mg/kg, 1 a 1,1 mg/kg, 1,1 a 1,2 mg/kg, 1,2 a 1,3 mg/kg, 1,3 mg/kg a 1,4 mg/kg, 1,4 mg/kg a 1,5 mg/kg, 1,5 a 1,6 mg/kg, 1,6 a 1,7 mg/kg, 1,7 a 1,9 mg/kg, o 1,9 a 1,99 mg/kg.

- 10 Una dosis parenteral eficaz (proporcionada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa a un animal experimental se puede administrar tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez al mes, o en forma de una infusión constante.

- 15 En ciertas realizaciones, una dosis parenteral eficaz de polisacárido que contiene galactosa a un ser humano se define como el equivalente respecto de la dosis animal que proporciona la misma exposición sistémica en seres humanos que en animales. La equivalencia de la exposición sistémica se define como la misma área bajo la curva (ABC_{∞}) realizada como parte de un análisis de parámetros farmacocinéticos. Por ejemplo, la dosis equivalente humana respecto de una dosis animal sería la dosis en seres humanos que proporcionase la misma exposición sistémica, o ABC, que se halla en los animales a esa dosis. En ciertas realizaciones, el modelo animal experimental es el ratón.

- 20 En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de galacto-ramnogalacturonato es equivalente a una dosis animal en el intervalo de 0,1 a 9,99 mg/kg, 0,2 a 9,99 mg/kg, 0,3 a 9,99 mg/kg, 0,4 a 9,99 mg/kg, 0,5 a 9,99 mg/kg, 1 a 9,99 mg/kg, 2 a 9,99 mg/kg, 3 a 9,99 mg/kg, 4 a 9,99 mg/kg, 5 a 9,99 mg/kg, 6 a 9,99 mg/kg, 7 a 9,99 mg/kg, 8 a 9,99 mg/kg, 9 a 9,99 mg/kg, 0,1 a 0,2 mg/kg, 1 a 2 mg/kg, 2 a 3 mg/kg, 3 a 4 mg/kg, 4 a 5 mg/kg, 5 a 6 mg/kg, 6 a 7 mg/kg, 7 a 8 mg/kg, 8 a 9 mg/kg. En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de galactoarabino-ramnogalacturonato es equivalente a una dosis animal en el intervalo de 0,1 mg/kg a 0,2 mg/kg, 0,2 a 0,3 mg/kg, 0,3 mg/kg a 0,4 mg/kg, 0,4 a 0,5 mg/kg, 0,5 mg/kg a 0,6 mg/kg, 0,6 mg/kg, a 0,7 mg/kg, 0,7 a 0,8 mg/kg, 0,8 a 0,9 mg/kg, 0,9 mg/kg a 1 mg/kg, 1 a 1,1 mg/kg, 1,1 a 1 mg/kg, 2 mg/kg, 1,2 a 1,3 mg/kg, 1,3 mg/kg a 1,4 mg/kg, 1,4 mg/kg a 1,5 mg/kg, 1,5 a 1,6 mg/kg, 1,6 a 1,7 mg/kg, 1,7 a 1,9 mg/kg, o 1,9 a 1,99 mg/kg.

- 25 Una dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa o subcutánea) de un polisacárido que contiene galactosa a un sujeto humano está en el intervalo de 0,05 mg/kg hasta 25 mg/kg de peso corporal, o 1 mg/kg, o 2 mg/kg, o 5 mg/kg, o 7,5 mg/kg, o 10 mg/kg de peso corporal, o 15 mg/kg de peso corporal. En ciertas realizaciones, una dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa para un sujeto humano está en el intervalo de 0,05 mg/kg a 0,1 mg/kg, de 0,05 mg/kg a 0,19 mg/kg, de 0,05 mg/kg a 0,3 mg/kg, de 0,05 mg/kg a 0,4 mg/kg o de 0,05 mg/kg a 0,49 mg/kg. En ciertas realizaciones, una dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa para un sujeto humano es menor de 0,5 mg/kg, o es menor de 0,2 mg/kg. Por ejemplo, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa para un animal experimental puede ser 0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,19 mg/kg. En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa para un animal experimental puede ser 0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, o 0,49 mg/kg.

- 30 En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de galacto-ramnogalacturonato puede estar en el intervalo de 0,05 mg/kg a 0,1 mg/kg, de 0,05 mg/kg a 0,2 mg/kg, de 0,05 mg/kg a 0,3 mg/kg, de 0,05 mg/kg a 0,4 mg/kg o de 0,05 mg/kg a 0,49 mg/kg, 0,1 mg/kg a 0,2 mg/kg, 0,2 mg/kg a 0,3 mg/kg, 0,3 mg/kg a 0,4 mg/kg, 0,4 mg/kg a 0,49 mg/kg, 0,2 mg/kg a 0,49 mg/kg, 0,3 a mg/kg a 0,49 mg/kg.

- 35 En ciertas realizaciones, la dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa, intraperitoneal, o subcutánea) de galactoarabino-ramnogalacturonato puede ser 0,05 mg/kg a 0,1 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,06 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,07 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,08 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,09 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,11 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,12 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,13 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,14 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,15 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,16 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,17 mg/kg, 0,05 mg/kg a 0,18 mg/kg, 0,1 a 0,19 mg/kg.

- 40 Una dosis parenteral eficaz (administrada de manera intravenosa o subcutánea) de polisacárido que contiene galactosa para un sujeto humano se puede administrar tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez al mes, o en forma de una infusión constante.

- 5 En ciertas realizaciones, la nefropatía diabética se puede reproducir en modelos animales que incluyen, pero sin limitación, ratones, ratas, cerdos, monos cinomolgos. En estos animales, se puede inducir la diabetes mediante una diversidad de métodos, que incluyen, pero sin limitación, el tratamiento con una toxina para las células de los islotes (que incluye, pero sin limitación, estreptozotocina a dosis alta y a dosis baja) y/o proporcionar una dieta alta en grasas.
- 10 En ciertas realizaciones, la nefropatía diabética se puede reproducir en modelos genéticos de ratón. Tales modelos incluyen, pero sin limitación, el ratón NOD, el ratón Akita de insulina-2, el ratón db/db, el ratón Ob/ob, ratones con la mutación del gen agouti, el ratón NZO, o diversos ratones con mutaciones monogenéticas o ratones transgénicos que incluyen, pero sin limitación, los genes de apolipoproteína E, óxido nítrico sintasa endotelial, mutaciones que conducen a un incremento de AGE, y ratones GLUT1 o ratones de cepa pura con un desarrollo de la diabetes dependiente de la cepa.
- 15 En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% de la proteinuria o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la proteinuria, que incluye, pero sin limitación, la proteína albúmina.
- 20 En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos un incremento del 10% de la tasa de filtración glomerular o al menos una reducción del 10% de la tasa de disminución de la tasa de filtración glomerular, tal como se mide mediante cualquier método habitual.
- 25 En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% de la matriz extracelular mesangial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la matriz extracelular mesangial, tal como se mide en cortes histológicos de riñón.
- En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 5% del grosor de la membrana basal capilar glomerular, tal como se mide en cortes histológicos de riñón mediante el uso de microscopía óptica o electrónica.
- 30 En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% del volumen fraccionario del mesangio o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del volumen fraccionario del mesangio, tal como se mide en cortes histológicos de riñón.
- 35 En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado al menos una reducción del 10% de la cantidad de colágeno en el espacio tubular intersticial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del colágeno en el espacio tubular intersticial, tal como se mide en cortes histológicos de riñón.
- 40 En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado un cambio de al menos un 10% en el nivel de los biomarcadores séricos de nefropatía diabética. Tales marcadores incluyen, pero sin limitación, citocinas inflamatorias y hemodinámicas, TNF-alfa, TGF-beta o IL-8, osteopontina, o un perfil metabólico de componentes séricos que es indicativo de la presencia o gravedad de nefropatía diabética (lo que incluye marcadores séricos y urinarios). Un perfil de una o más de estas citocinas, tal como se mide mediante un inmunoensayo o una determinación proteómica mediante LC-espectroscopía de masas, puede proporcionar una determinación de la actividad de la enfermedad y un marcador de seguimiento en la terapia de la enfermedad.
- 45 En ciertas realizaciones, se puede determinar una dosis terapéuticamente eficaz por un efecto sobre la nefropatía diabética que da como resultado una reducción de las complicaciones clínicas de la insuficiencia renal crónica tal como, por ejemplo, la necesidad de terapia sustitutiva renal, que incluye la diálisis y el trasplante renal.
- EJEMPLO 1: MÉTODO DE FABRICACIÓN DE UN COMPUESTO DE CARBOHIDRATO CON RESTOS DE GALACTOSA**
- 50 Lo siguiente es un ejemplo ilustrativo de la producción de un polisacárido terapéutico que no pretende limitar la invención. En este caso, el compuesto de carbohidrato con restos de galactosa es galactoarabino-ramnogalacturonato, y se ha marcado GR-MD-02/001B en esta solicitud.
- 55 Se disolvió pectina de manzana USP HM (50 kg) y se calentó en agua a 35-85 °C. Se añadió HCl o NaOH 1 M para ajustar el pH de la disolución a pH 5-7 y se mezcló bien. La mezcla continuó durante 2 horas a la temperatura establecida de 35-85 °C. Se añadió NaOH o HCl 1 M según fue necesario para reajustar el pH entre 5 y 7. La

disolución se enfrió a 30 °C. A 30 °C, se ajustó el pH entre 5 y 7.

Se añade CuSO₄ a la disolución de pectina de pH ajustado para dar como resultado una concentración final de CuSO₄ 1 mM. La disolución de CuSO₄ 1 mM se mezcló durante 30 minutos a una temperatura de entre 10 °C y 30 °C.

5 Al final de la etapa de mezcla de CuSO₄ 1 mM de 30 minutos, se añadieron 50 gramos de ascorbato sódico (la cantidad se pre-calibró para conseguir el PM deseado) y se mezcló durante 5 a 20 minutos. Se añadió H₂O₂ partiendo de 0,02 y hasta 1,0 mol/kg de pectina (pre-calibrado para el PM de pectina inicial), y la concentración de H₂O₂ se mantuvo durante 4 horas (mediante el uso de un ensayo cuantitativo, Sigma, San Luis) mientras el pH de la disolución se mantenía entre 4 y 7.

10 Se añadió NaOH 5 M a la disolución para dar como resultado una disolución de pH entre 8 y 10. La disolución de pH ajustado se mezcló durante 10-30 minutos. Después se añadió HCl concentrado a la disolución de pH ajustado para ajustar el pH de la disolución entre 4 y 5. La disolución, una vez ajustada a un pH entre 4 y 5, se puede seguir mezclando durante 2 a 24 horas entre 2 °C y 8 °C.

15 La disolución se calentó después a 80 °C durante 30-180 minutos, y se añadieron 1-5 kg de un agente auxiliar de filtración (Celite) a la disolución, y la disolución con Celite añadida se agitó durante 30 minutos y después se filtró. Se descartaron los sólidos resultantes de la filtración.

El filtrado se concentró 1,5 - 3X a vacío, y después se ajustó el pH entre 3 y 5. Se añadió etanol o isopropanol caliente a un 50% en peso. La mezcla se agitó 1-2 horas para precipitar el producto, y después se filtró la mezcla. Se descartó el filtrado, y dejó un precipitado blanco a blanquecino.

20 Se añadió EtOH frío al 96% a la disolución y después se agitó la suspensión espesa resultante durante 30 minutos. La disolución se filtró y el filtrado se descartó. Se repitió la etapa de suspensión espesa en EtOH al 96%, seguido de una filtración final y la recuperación del precipitado blanco a blanquecino.

EJEMPLO 2: MÉTODO DE TRATAMIENTO DE UN MODELO DE RATÓN DE NEFROPATÍA DIABÉTICA

25 El modelo experimental usado en este ejemplo es un ratón en el que se indujo la diabetes, y se administró una dieta alta en grasas. La diabetes se indujo inmediatamente tras el parto con una única inyección de estreptozotocina. Cuatro semanas más tarde se inició la administración de una dieta alta en grasas a los ratones.

30 Los ratones diabéticos se trataron con vehículo (solución salina tamponada con fosfato) o GR-MD-02/001B administrado de manera intravenosa a una dosis de 40 mg/kg tres veces a la semana durante cuatro semanas en total. Hubo ocho (8) ratones en cada grupo. También se utilizaron dos ratones normales como grupo de comparación.

Los niveles de glucemia estuvieron notablemente elevados en los grupos de control con vehículo y de GR-MD-02/001B, sin diferencias estadísticas entre los grupos. La glucemia normal en ratones fue aproximadamente de 100 mg/dL, y la media en los animales diabéticos fue de entre 700 y 800 mg/dL, por lo que se demuestra que todos los animales tuvieron una diabetes evidente.

35 Los ratones diabéticos tuvieron indicios histológicos evidentes de nefropatía diabética, tal como se muestra en las fotografías de cortes de riñón teñidos con PAS en la FIGURA 1. La flecha en cada grupo muestra un glomérulo, la estructura más afectada en esta enfermedad. En los animales de control tratados con vehículo existe un incremento claro del material de la membrana basal mesangial (la matriz extracelular rosa) respecto de los animales normales. En comparación, los ratones tratados con GR-MD-02/001B mostraron una disminución notable del material de la matriz extracelular mesangial en comparación con los animales de control tratados con vehículo.

40 La FIGURA 2 muestra cortes de riñón teñidos con reactivo rojo Sirius que tiñe de manera específica las fibras de colágeno tipo I. Se usa el reactivo rojo Sirius como tinción para determinar el incremento del material de la matriz extracelular en el intersticio entre las células tubulares. Se observa una tinción roja mínima en los animales normales. Sin embargo, existe un incremento de la tinción observada en los animales de control tratados con vehículo. Esto está representado por regiones lineales de tinción roja en una configuración de "malla de gallinero" que indica que hay un incremento del colágeno en los espacios intersticiales entre los túbulos renales. Tras el tratamiento con GR-MD-02/001B, existe una reducción notable de la tinción con rojo Sirius, lo que indica que el tratamiento redujo el colágeno intersticial.

45 La Figura 3 muestra una comparación estadística del porcentaje de tinción con rojo Sirius entre los grupos experimentales. Se analizaron treinta y dos (32) portaobjetos diferentes de cada grupo con enmascaramiento mediante morfometría digital cuantitativa con respecto al porcentaje de tinción con rojo Sirius. La figura muestra que los animales de control tratados con vehículo tienen un incremento de la tinción con rojo Sirius en comparación con los animales normales, lo que indica que hubo un depósito de colágeno en los espacios intersticiales entre los túbulos del modelo diabético. El tratamiento con GR-MD-02/001B dio como resultado una disminución estadísticamente significativa de la tinción con rojo Sirius en comparación con los controles tratados con vehículo, y

los niveles fueron prácticamente iguales que los de los ratones normales.

Este ejemplo demostró que el modelo de ratón de diabetes usado exhibe los cambios patológicos indispensables de la nefropatía diabética. Además, al contrario de otros diversos modelos, parece recapitular lo que se observa en la nefropatía diabética humana, ya que exhibe una glomerulonefropatía y expansión intersticial tubular.

- 5 Este ejemplo mostró además que uno de los muchos compuestos de carbohidrato con restos de galactosa descritos en esta invención, GR-MD-02/001B, tuvo un efecto terapéutico sobre las manifestaciones patológicas de la nefropatía diabética en este modelo de ratón. GR-MD02/001B redujo la expansión mesangial de la matriz extracelular y redujo el depósito de matriz, tal como se ejemplifica mediante el colágeno, en el espacio intersticial tubular.
- 10 Los resultados de este ejemplo sugieren que los compuestos de carbohidrato con restos de galactosa pueden ser eficaces en el tratamiento de la nefropatía diabética humana.

Se entiende que los ejemplos y realizaciones descritos en la presente memoria tienen fines ilustrativos solamente.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para administración parenteral o enteral que comprende un galactoarabino-ramnogalacturonato en un vehículo aceptable farmacéutico,
- 5 en la que el galacto-ramnogalacturonato es un galactoarabino-ramnogalacturonato, que comprende un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4 y galacturonato de metilo (MeGalA) unido a heteropolímeros ramificados de oligómeros alternantes de residuos de ramnosa con uniones α -1,2 y GalA con uniones α -1,4, y los residuos de ramnosa portan una ramificación primaria de oligómeros de residuos de 1,4- β -D-galactosa, residuos de 1,5- α -L-arabinosa, o combinaciones de los mismos,
- 10 en la que el porcentaje molar de los residuos de 1,4- β -D-Gal, 1,5- α -L-Ara y las combinaciones de los mismos es al menos un 8% de los carbohidratos molares totales,
- en la que los residuos de 1,4- β -D-Gal y 1,5- α -L-Ara están presentes a una proporción que oscila de 1:1 a 3:1,
- en la que el galactoarabino-ramnogalacturonato tiene un grado de metoxilación que oscila del 40% al 70%,
- para el uso en un método que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una dosis eficaz de la composición, que da como resultado al menos uno de lo siguiente:
- 15 al menos una reducción del 10% de la proteinuria o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la proteinuria;
- al menos un incremento del 10% de la tasa de filtración glomerular o al menos una reducción del 10% de la tasa de disminución de la tasa de filtración glomerular;
- 20 al menos una reducción del 10% de la matriz extracelular mesangial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento de la matriz extracelular mesangial;
- al menos una reducción del 5% del grosor de la membrana basal capilar glomerular;
- al menos una reducción del 10% del volumen fraccionario del mesangio o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del volumen fraccionario del mesangio;
- 25 al menos una reducción del 10% del volumen tubular intersticial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del volumen intersticial;
- al menos una reducción del 10% de la cantidad de colágeno en el espacio tubular intersticial o al menos una reducción del 10% de la tasa de incremento del colágeno en el espacio tubular intersticial;
- al menos un 10% de cambio en el nivel de los biomarcadores séricos de nefropatía diabética;
- 30 en el que el sujeto que lo necesita tiene al menos uno de lo siguiente: una glomerulopatía primaria, una glomerulopatía secundaria, y trastorno tubulo-intersticial renal.
2. Una composición que comprende una dosis eficaz de galactoarabino-ramnogalacturonato en un vehículo farmacéutico aceptable para el uso en el tratamiento de la nefropatía diabética, en el que el galactoarabino-ramnogalacturonato comprende un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (GalA) con uniones 1,4 y galacturonato de metilo (MeGalA) unido a heteropolímeros ramificados de oligómeros alternantes de residuos de ramnosa con uniones α -1,2 y GalA con uniones α -1,4, y los residuos de ramnosa portan una ramificación primaria de oligómeros de residuos de 1,4- β -D-galactosa, residuos de 1,5- α -L-arabinosa, o combinaciones de los mismos,
- 35 en la que el porcentaje molar de los residuos de 1,4- β -D-Gal, 1,5- α -L-Ara y las combinaciones de los mismos es al menos un 8% de los carbohidratos molares totales,
- en la que los residuos de 1,4- β -D-Gal y 1,5- α -L-Ara están presentes a una proporción que oscila de 1:1 a 3:1,
- 40 en la que el galactoarabino-ramnogalacturonato tiene un grado de metoxilación que oscila del 40% al 70%.
3. La composición para el uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el galactoarabino-ramnogalacturonato tiene una distribución de pesos moleculares medios de 20.000 a 70.000 Daltons, tal como se determina mediante los métodos SEC-RI y/o SEC-MALLS.
- 45 4. La composición para el uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el galactoarabino-ramnogalacturonato tiene una proporción de galacturonato de metilo más ácido galacturónico respecto de galactosa que oscila de 4:1 a 7:1.
5. La composición para el uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la composición comprende además uno o más inhibidores de galectina, en la que los inhibidores de galectina comprenden opcionalmente

inhibidores orgánicos pequeños de galectina, anticuerpos monoclonales, inhibidores de ARN, péptidos de unión pequeños, inhibidores proteicos o combinaciones de los mismos.

6. La composición según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el galactoarabino-ramnogalacturonato se obtuvo de pectina de manzana.
- 5 7. La composición para el uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el galactoarabino-ramnogalacturonato tiene una distribución de pesos moleculares medios de 2.000 a 80.000 Daltons, tal como se determina mediante los métodos SEC-RI y/o SEC-MALLS.
- 10 8. La composición para el uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el galactoarabino-ramnogalacturonato tiene una distribución de pesos moleculares medios de 5.000 a 55.000 Daltons, tal como se determina mediante los métodos SEC-RI y/o SEC-MALLS.
9. La composición para el uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la dosis eficaz de galactoarabino-ramnogalacturonato es equivalente a una dosis animal de 0,1 mg/kg a 1,99 mg/kg de peso corporal del animal, y opcionalmente oscila de 0,05 a 0,19 mg/kg de peso corporal.

FIG. 1

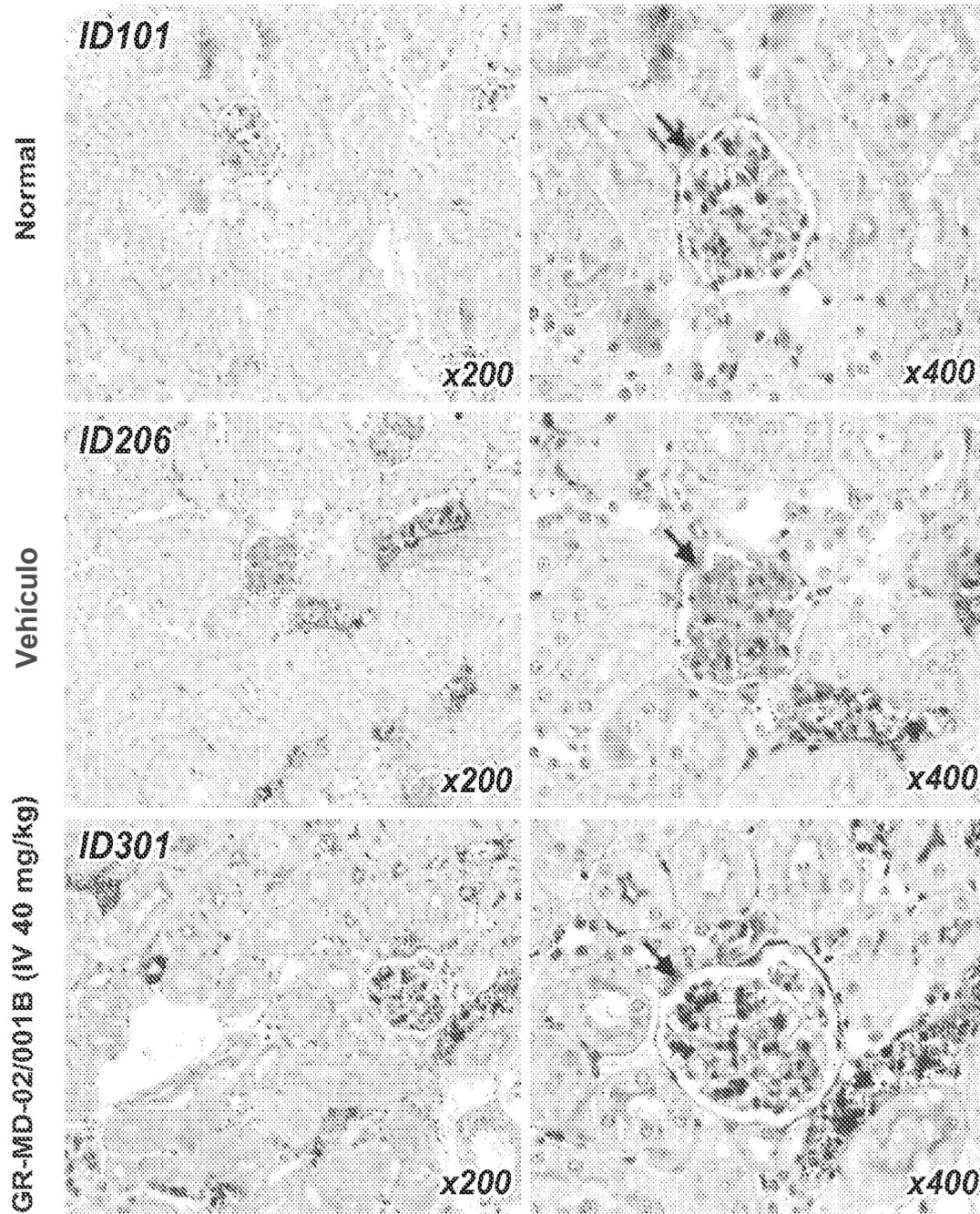


FIG. 2

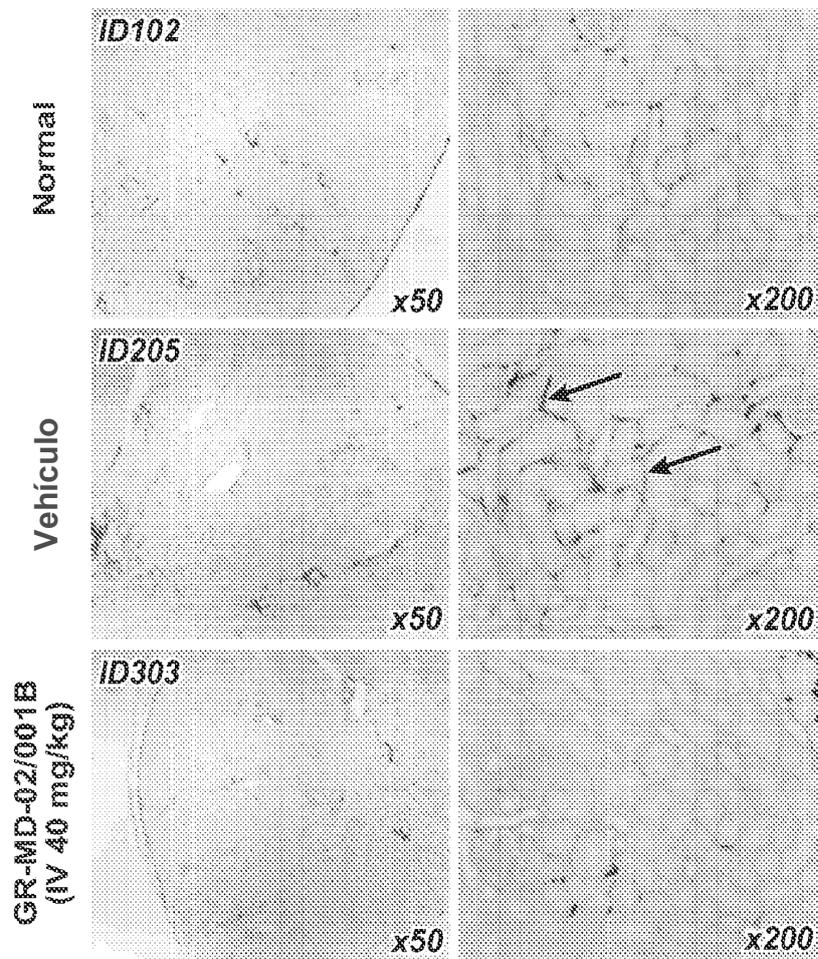


FIG. 3

