

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 704 694**

51 Int. Cl.:

A61K 31/132 (2006.01)

A61K 31/724 (2006.01)

A61P 15/02 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.08.2011 E 15153105 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2018 EP 2898881**

54 Título: **Composiciones que comprenden complejos supramoleculares de polímeros polianiónicos y espermidina para su utilización en el tratamiento de periodonto y tejido oral dañado**

30 Prioridad:

04.08.2010 IT MI20101491

14.12.2010 IT MI20102277

16.12.2010 IT MI20102308

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.03.2019

73 Titular/es:

PIERREL PHARMA S.R.L. (100.0%)

Strada Statale Appia 7 bis 46 48

81043 Capua (CE), IT

72 Inventor/es:

GHISALBERTI, CARLO

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 704 694 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones que comprenden complejos supramoleculares de polímeros polianiónicos y espermidina para su utilización en el tratamiento de periodonto y tejido oral dañado.

5

Campo de la invención

La invención se refiere a composiciones que comprenden complejos supramoleculares formados por polímeros polianiónicos y espermidina para la utilización en el tratamiento, el mantenimiento o la reparación del periodonto y los tejidos orales.

10

Antecedentes

La espermidina pertenece al grupo de las poliaminas (PA), policationes metabólicas que unen ADN, ARN, proteínas, fosfolípidos y nucleósidos trifosfato cargados negativamente.

15

Esta capacidad podría explicar una contribución a la proliferación y diferenciación celular; ver Heby O. *Differentiation* 1981;19:1-20 y Cohen SS. *A Guide to the Polyamines*. New York: Oxford University Press; 1998;185-230.

20

Sin embargo, su papel biológico resulta difícil de definir claramente. Las PA de hecho resultan necesarias para la transcripción de los protooncogenes c-myc y c-fos. En particular, la espermidina preferentemente estimula la transcripción y expresión de c-myc, mientras que la putrescina, de c-fos (Tabib y Bachrach, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1999;31:1289-95). Anteriormente se había encontrado un papel en la transducción de señales entre la membrana celular y el núcleo (Tabib & Bachrach. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;202:720-7). La espermidina también participa en la transducción de señales de TGF- β (Blachowski S et al., *Int. J. Biochem.* 1994;26:891-897) y aparentemente resulta necesaria para la expresión normal del gen de TGF- β durante la migración celular.

25

Varias patentes reivindican la espermidina y otras PA en diversos contextos terapéuticos: los documentos WO97/014415 y WO99/051213 en la analgesia local y el eccema; el documento US6555140 en el incremento de la fertilidad y libido masculinas; el documento US06252838 en el antienviejecimiento de la piel; el documento US04242701 en el alcoholismo; el documento WO9852552 como anticancerígeno, y el documento US5432202 como antagonistas de Ca antihipertensivos.

30

Un comportamiento típico de la espermidina es la interacción con macromoléculas aniónicas para producir complejos supramoleculares, que, por ejemplo, modulan las interacciones de enzima/ADN (Isobe H. et al., *Chem Commun (Camb)*. 28(12):1549-51, 2005).

35

Los complejos supramoleculares formados por espermidina y grupos fosfato modifican el estado de condensación del ADN y lo protegen de las actividades de las nucleasas (D'Agostino L. et al., *IUBMB Life*. 58(2):75-82, 2006). Se encontró una propiedad similar en los agregados autoensamblados supramoleculares de espermidina de la poliamina, los cuales se informa que se comportan como factores protectores (D'Agostino L. et al., *FEBS J.* 2009;276(8): 2324-35).

40

El documento WO2010/049562 da a conocer complejos supramoleculares de polímero polianiónico con espermidina o espermina en proporciones comprendidas entre 1:0,1 y 1:0,5 p/p que claramente se aproximan a la equimolaridad. Su supuesto uso es el transporte de otros agentes bioactivos.

45

La única solicitud conocida son los productos antialopecia comercializados como Bioscalin® por Giuliani SpA (Milan, Italia), con HCl de espermidina comercializado como Biogenina y Cronobiogenina. Las formulaciones y métodos antialopecia se basan en HCl de espermidina han sido patentadas por Giuliani en la patente nº EP1469842, y documentos nº WO03/063851 y nº WO2010/060729.

50

Aunque existe una clara necesidad de terapéuticos que puedan estimular la regeneración del periodonto y el tejido oral mediante la proliferación celular, hasta el momento no se ha intentado el diseño complejos de espermidina con una eficacia elevada en este tejido específico.

55

Sumario

60

Inesperadamente se ha descubierto que determinados complejos supramoleculares formados por polímeros polianiónicos y espermidina presentan una eficiencia elevada en la regeneración del periodonto y el tejido conectivo oral.

65

En un aspecto, la invención se refiere a composiciones que comprenden complejos supramoleculares caracterizados por proporciones de equivalentes aniónicos (del polímero polianiónico) y equivalentes catiónicos

(de la espermidina) de entre 10:1 y 10⁷:1 eq/q, caracterizados además por una eficacia elevada en los tratamientos regenerativos.

5 En otro aspecto, los complejos supramoleculares inventivos presentan unas proporciones preferidas de entre 10²:1 y 10⁴:1 eq/eq.

10 En todavía otro aspecto, la invención se refiere a composiciones que comprenden los complejos supramoleculares anteriormente indicados para el mantenimiento y reparación de periodonto y tejidos orales senescentes.

Estas y otras características de la invención se describen con mayor detalle a continuación en la presente memoria.

15 Descripción detallada

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

20 Es una materia objeto de la exposición una composición que comprende un complejo supramolecular formado por como mínimo un polímero polianiónico y espermidina con una proporción de equivalentes aniónicos y equivalentes catiónicos (de la espermidina) de entre 10:1 y 10⁷:1 eq/eq. donde los componentes de dicho complejo supramolecular se mezclan íntimamente, sin ningún enlace covalente entre ellos, siendo dicha composición para la utilización en el mantenimiento y reparación de un tejido conectivo dañado o senescente seleccionado de mucosa oral, encías y periodonto.

25 La expresión "complejo supramolecular" tal como se utiliza en la presente memoria describe un complejo poliácido/polibásico formado por uno o más polímeros polianiónicos y espermidina caracterizado por una proporción de eq. aniónicos (de polímeros polianiónicos) a eq. catiónicos (de espermidina) de entre aproximadamente 10:1 y aproximadamente 10⁷:1 eq/eq, más preferentemente de entre aproximadamente 10²:1 y aproximadamente 10⁴:1 eq/eq.

30 Estos complejos supramoleculares para la utilización según la invención poseen una marcada actividad proliferativa/regenerativa, que es significativamente superior a la espermidina, el polímero polianiónico y la suma de los mismos.

35 Dichos complejos supramoleculares se caracterizan por una proporción $\geq 10:1$ eq/eq, difiriendo de complejos de polímero polianiónico y espermidina que se aproximan a la equimolaridad tanto en sus características estructurales como en una actividad proliferativa significativamente más alta sobre los fibroblastos.

40 La expresión "polímero polianiónico y espermidina que se aproximan a la equimolaridad" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a complejos que presentan proporciones de entre aproximadamente 1:3 y 10:1 eq/eq de equivalentes aniónicos de polímero polianiónico a equivalentes catiónicos de la espermidina.

45 La expresión "polímero polianiónico" se refiere, en el sentido más amplio entendido en la técnica, a un material polimérico o polímero que comprende una pluralidad de varias fracciones aniónicas en cada molécula. Incluye polímeros naturales/semisintéticos y polímeros totalmente sintéticos que contienen una pluralidad de fracciones aniónicas, tales como carboxílico (-COO⁻), sulfato (-OSO₃⁻), sulfonato (-SO₃⁻), fosfato (-OPO₃²⁻), fosfonatos (-PO₃²⁻) y una combinación de los mismos.

50 La expresión "polímero polianiónico" incluye "polímero derivado polianiónicamente", referido a polímeros anteriormente no polianiónicos que se convierten en polímero polianiónico con reactivos de derivación adecuados. Son ejemplos de derivaciones, la carboximetilación, la succinilación o la maleilación para los grupos carboxi; la sulfatación/sulfonación/sulfinilación para los grupos sulfato/sulfonato; la fosfatación/fosforilación para los grupos fosfato/fosfonato.

55 Entre los polímeros polianiónicos se incluyen fitopolisacáridos aniónicos, ficopolisacáridos y endopolisacáridos; polímeros polianiónicos semisintéticos y totalmente sintéticos.

60 Los polímeros polianiónicos naturales pueden ser fitopolisacáridos y ficopolisacáridos, tales como alginatos, agar, goma gelano, goma ghatti, goma karaya, goma tragacanto, goma wellano, goma xantano, carragenano κ , λ y γ , sulfato de xilomanano, fucoidán y fucogalactano.

65 Otros polímeros polianiónicos naturales pueden ser endopolisacáridos, tales como hialuronato, hialuronato reticulado y otros glucosaminoglicanos como heparina, heparinas supersulfatadas y modificadas, por ejemplo heparina supersulfatada, fraxiparina, fondaparina, idraparina, condroitín sulfato A, B y C, y los derivados de K5.

El hialuronato adecuado, también conocido como hialuranano (HA) puede ser de origen animal o microbiano, con

un peso molecular (PM) de entre 5.000 kDa y 10 MDa.

5 Los polímeros polianiónicos semisintéticos pueden ser polisacáridos carboximetilados, tales como carboximetilcelulosa, carboximetil-almidón, carboximetil-dextrano, carboximetil-quitosano, carboximetil-quitinas; polisacáridos sulfatados, tales como sulfato de ramnano, sulfato de dextrano, sulfato de celulosa, sulfoquitosanos, sulfato de curdlán, sulfato de gliioide (GP4324), sulfato de goma de algarrobo (GP4327), polisulfato de pentosano (PPS) y polisacáridos fosfatados, tales como fosfocelulosa y fosfoquitosano.

10 Los polímeros polianiónicos semisintéticos también pueden ser derivados de HA, por ejemplo derivados de HA de Fidia, o polisacáridos tiolados, tales como celulosa tiolada, alginatos tiolados, quitosano tiolado, hialuronato tiolado de ThioMatrix-Green River Polymers GmbH (Innsbruck, Austria) y similares.

15 El polímero polianiónico sintético puede ser poliacrilato y polimetacrilato, homopolímero lineal y reticulado y copolímeros de los mismos, tales como acrilatos/acrilamidas, acrilatos, acrilatos de alquilo C10-C30, acrilatos/octilacrilamidas, Carbopol™, Carbomer™ y Pemulen™ de Noveon-Lubrizol, ácido butil-poliacrílico, poli(sulfonato de acrilato-co-acrilamidometilpropano sulfonato), copolímeros de poli(acrilato-co-vinilsulfonato) y poli(acrilato-co-vinilbencenosulfonato); metilvinileter/maleico y otros copolímeros de maleato, también conocidos como "polimaleatos", por ejemplo de tipo Gantrez™ (ISP Corp.) y además según el documento nº
20 US2010172861 o US2003021793, así como poli(4-estirenosulfonato sódico), Y-ART-4, suramina, carbómeros tiolados, ácido poli(meta)acrílico tiolado y similares.

La expresión "polímero polianiónico" comprende además polímeros inorgánicos aniónicos, tales como polifosfatos o polímeros recombinantes, tal como se da a conocer en el documento WO2002/077036.

25 Los polímeros polianiónicos preferidos en el contexto de la presente invención son hialuronatos lineales y reticulados, alginatos, poliacrilatos lineales y reticulados, y polimaleatos.

El polímero polianiónico que debe utilizarse según la presente invención presenta un peso molecular ≥ 5.000 Da y/o una densidad aniónica de entre 0,1 y 18 meq/g, preferentemente de entre 1 y 14 meq/g.

30 En el contexto de la presente invención, puede utilizarse preferentemente la espermidina, N-(3-aminopropil)-1,4-butanodiamina o "Spd" a continuación en la presente memoria, es la sustancia de fórmula $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ como tal o como sal de la misma, de origen sintético y, también preferentemente, de pureza $\geq 99\%$ en peso seco.

35 Los complejos supramoleculares para la utilización según la invención se producen mediante intercambio ácido-base, por ejemplo mediante combinación de una sal de polímero polianiónico (típicamente Na) con sal de espermidina (por ejemplo, 3HCl) o mediante la combinación de polímeros polianiónicos en la forma de ácido con espermidina como base libre.

40 Los equivalentes aniónicos restantes en el polímero polianiónico dentro del complejo pueden encontrarse en forma de ácido o parcialmente neutralizados, por ejemplo con iones alcalinos o alcalino-térreos, tales como Na, K, Li, Ca y Mg, o aminas, tales como NH_4^+ , monoetanolamina, dietanolamina y trietanolamina, trometamina, isopropilamina, lisina, aminas eterocíclicas, tales como piperazina y similares.

45 La combinación de polímero polianiónico y espermidina puede llevarse a cabo en estado solvatado, preferentemente en agua y/o solventes solubles en agua, tales como alcoholes inferiores, etc. el complejo supramolecular formado de esta manera puede secarse, por ejemplo Mediante liofilización, secado por pulverización, secado al vacío, y similar, o utilizarse sin modificación en forma de solución, con la condición de
50 que los solventes sean fisiológicamente aceptables y compatibles con el uso final deseado.

En una forma de realización, el complejo supramolecular para la utilización según la invención se forma mediante la combinación de uno o más polímeros polianiónicos con espermidina directamente dentro del tanque-
55 mezclador en la preparación galénica. Puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante mezcla de la solución acuosa de los reactivos, opcionalmente junto con cosolventes, excipientes, diluyentes, portadores y adyuvantes seleccionados.

60 Alternativamente, el complejo supramolecular para la utilización según la invención se prepara directamente en estado sólido, por ejemplo mediante pulverización de una solución de espermidina sobre el polímero o, alternativamente, mediante la mezcla o trituración de los componentes en formas secas o parcialmente humectadas, y procedimientos similares.

A pesar del procedimiento aplicado, los complejos supramoleculares obtenidos para la utilización según la invención pueden mezclarse con varios excipientes, diluyentes, portadores y adyuvantes adicionales para
65 producir una composición adecuada para la reparación y mantenimiento del periodonto y tejidos orales.

Según un aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones y métodos para regenerar tejidos periodontales y orales conectivos mediante la inducción/estimulación de la proliferación celular.

5 Las composiciones para la utilización según la invención se administran para mejorar el periodonto y tejidos orales senescentes o para reparar el periodonto y tejidos orales dañados, incluyendo:

- la mucosa oral, es decir, en estomatología, para tratar la estomatitis, las úlceras aftosas y la xerostomía, y el síndrome de la boca seca y/o de Sjögren;

10 • encías y periodonto, es decir, en periodontología, para tratar la gingivitisperiodontitis.

Las composiciones de la invención comprenden complejos supramoleculares de proporción entre 10^3 y 10^7 eq/eq en una cantidad de entre aproximadamente 0,01% y aproximadamente 10% p/p, y complejos supramoleculares de proporción entre 10 y 10^2 eq/eq y cantidad entre aproximadamente 0,0001% y aproximadamente 10% p/p de la composición.

15 Preferentemente se diseña una composición para proporcionar una cantidad de espermidina de entre aproximadamente 10 μ moles y 0,1 nmoles por dosis unitaria, más preferentemente de entre aproximadamente 1 μ mol y 1 nmol por dosis unitaria, todavía más preferentemente de entre aproximadamente 100 nmoles y 10 nmoles por dosis unitaria.

Se recomiendan unos niveles de dosis bajos en composiciones absorbentes, en las que resulta suficiente un periodo de tiempo largo para liberar una cantidad terapéutica de espermidina sobre el periodonto y tejido oral diana. Los niveles de dosis superiores por el contrario se recomiendan en composiciones enjuagables u otras con un contacto breve a fin de proporcionar un nivel suficiente de espermidina para inducir la regeneración del periodonto y tejidos orales. La cantidad y duración del tratamiento se determinarán según la diana y condición del paciente, típicamente durante un periodo de 30 a 60 días o más, hasta conseguir el alivio, seguido posiblemente de la parada, reducción gradual o reducción durante un periodo indefinido.

30 Cabe destacar que la composición para la utilización según la invención difiere de composiciones, en caso de existir, que comprenden ocasionalmente uno o más polímeros polianiónicos y espermidina mezclados separadamente y que, de esta manera, pueden no producir, o sólo producir parcialmente, el complejo supramolecular correspondiente.

35 La composición para la utilización según la invención puede producirse según técnicas conocidas con ingredientes y portadores fisiológicamente aceptables con el fin de proporcionar el mejor perfil de beneficio/riesgo, por ejemplo los indicados en INCI-CTFA apéndice 93/35/ECC y/o en las farmacopeas.

40 Una composición líquida puede encontrarse en diferentes presentaciones, incluyendo gel, lipogel, aerosol, espray, loción, leche, espuma, crema, emulsión agua-en-aceite, emulsión aceite-en-agua o emulsiones multifase, parches mucoadhesivos y similares, junto con excipientes, portadores o propelentes adecuados.

45 Las composiciones para las mucosas orales pueden formularse de muchas maneras, por ejemplo según ADA/PDR: Guide to Dental Therapeutics, 4a ed, como colutorio solución oral, espray, gel sobre película, dentífricos, polvo dentífrico, comprimidos dentales, cremas y geles, goma de mascar, comprimidos y pastillas masticables, gel, película, gel sobre película, gránulos, pasta, polvos esparcibles, etc., para la aplicación sobre la cavidad oral directamente o mediante un dispositivo externo.

50 Ejemplos

Ejemplo 1. Patrón metabólico de HA-Spd 50:1 eq/eq en fibroblastos gingivales nativos

55 Se obtuvieron especímenes de tejido de tejido periodontal gingival no inflamado de la zona premolar durante cirugía oral (seis mujeres, 20 a 30 años de edad). Se lavó cada biopsia con D-PBS 0,1 M e inmediatamente se trituró con tijeras estériles. Los fragmentos de tejido se transfirieron a matraces Nunc de 25 cm² y, tras la adherencia, se complementaron con 5 ml de DMEM que contenía FBS al 10%, 100 UI/ml de penicilina, estreptomycin 10 ng/ml y 25 μ g/ml de anfotericina-B. Los cultivos se mantuvieron en una atmósfera de humedad saturada (5% de CO₂, 37°C) y se subcultivaron rutinariamente después de la utilización con tripsina al 0,1%, EDTA al 0,02% para desprender las células. En tiempos dados se recogieron sobrenadantes de cultivo celular y se lavaron los fibroblastos en PBS, se tripsinizaron y se recolectaron mediante centrifugación (100xg, 5 min). Tratamiento: 4 dosis, 1 punto temporal (24 o 48 h) con la muestra tratada con HA-Spd 10⁴:1, mientras que el espécimen no tratado sirvió de control.

65 Niveles de ARNm para TGF- β 1, LH2B, TIMP-1, TIMP-2 y GAPDH mediante RT-PCR en tiempo real. Se aisló el ARN mediante una modificación del método de tiocianato de guanidinio ácido-fenolcloroformo (reactivo TRI,

Sigma). Se transcribió inversamente 1 µg de ARN total en 20 µl de volumen final de mezcla de reacción (Biorad). Las secuencias de los cebadores para los genes diana eran las del software Beacon Designer 6.0 (BioRad). Se utilizó GAPDH para normalizar para las diferencias en cantidad de ARN total en cada muestra. Se llevó a cabo la amplificación en un volumen final de 20 µl en cada pocillo con 10 µl de 1x SYBR-verde Supermix (BioRad), 2 µl de molde, 300 pmoles de cada cebador, y se analizó cada muestra por triplicado en amplificaciones por duplicado. El ciclo umbral y los niveles de expresión génica respecto a GAPDH se calcularon mediante el método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Niveles de las proteínas COL-I y COL-III mediante transferencia en ranura. Para evaluar COL-1 y COL-III secretados por fibroblastos de paladar y tuberosidad, se concentraron los medios de cultivo celular 20 veces con columnas Centricon 10 (Amicon Y10, Millipore). Se determinó el contenido de proteínas mediante un ensayo colorimétrico (ensayo DC Protein, BioRad); se aplicaron manchas de 100 µg de proteínas totales de cada muestra en un vol. final de 200 µl de solución salina-tampón Tris (TBS) sobre una membrana de nitrocelulosa en un aparato Bio-Dot SF (Bio-Rad). Las membranas se bloquearon durante 1 h con leche desnatada al 5% en TBST (TBS que contenía Tween-20 al 0,05%), pH 8, y se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente en anticuerpo monoclonal de COL-1 (1:1.000 en TBST) (Sigma) o de COL-III (1:2.000 en TBST) (Sigma). Tras el lavado, las membranas se incubaron en suero de conejo antirratón conjugado con HRP (1:80.000 en TBST) (Sigma) durante 1 h. Las bandas inmunorreactivas se encontraban sobre sustrato Amplified Opti-4CN (BioRad) y se escanearon (UVBand, Eppendorf).

Niveles y actividad de la proteína MMP-1 medidos mediante transferencia western. Se diluyeron unos medios de cultivo concentrados (5 µg de proteínas totales) en SDS-tampón para muestras, se cargaron en gel de SDS-poliacrilamida al 10%, se separaron bajo condiciones reductoras y desnaturizantes a 80 V y se transfirieron a 90 V a una membrana de nitrocelulosa en Tris 0,025 M, glicina 192 mM y metanol al 20%, pH 8,3. Tras la electrotransferencia, las membranas se secaron al aire y se bloquearon durante 1 h. Tras el lavado, las membranas se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente con anticuerpo monoclonal de MMP-1 (1 µg/ml en TBST, Oncogene Research) y, tras el lavado, en suero de conejo antirratón conjugado con HRP (dilución 1:40.000, Sigma-Aldrich). Las bandas inmunorreactivas se revelaron con sustrato Amplified Opti-4CN (BioRad) y se escanearon (UVBand, Eppendorf).

Gelatinasas (actividad de MMP-2 y MMP-9) mediante zimografía en SDS. Los medios de cultivo concentrados se mezclaron 3:1 con tampón para muestras (que contenía SDS al 10%). Las muestras (5 µg de proteínas totales de cada muestra) se hicieron migrar bajo condiciones no reductoras sin desnaturalización por calor en SDS-PAGE al 10% copolimerizado con 1 mg/ml de gelatina de tipo I. Los geles migraron a 4°C. Tras el SDS-PAGE, los geles se lavaron dos veces en Triton X-100 al 2,5% durante 30' cada uno y se incubaron durante la noche a 37°C. La actividad gelatinolítica de MMP se detectó tras la tinción de los geles con azul brillante de Coomassie R250 como bandas claras sobre un fondo azul.

Recuento de fibroblastos. Se evaluó el efecto de proliferación a partir de la capacidad de las células de excluir el azul de tripán, de acuerdo con Patterson MK Jr, en: Jacob & Pastan, eds. *Methods in Enzymology*, vol. 58. New York: Academic Press; 1977:141.

Los resultados revelaron un patrón complejo de actividades reguladoras de los enzimas de degradación, tales como las colagenasas y MMP, y la modulación de TGF-β1, LH2B, TIMP-1/2 y GAPDH, que revertían resultados anteriores de Gagliano N et al. *J Periodontol* 2005; 76:443-9.

Ejemplo 2. Gel de HA-Spd simple

Se disolvieron 10 g de HA sódico (PM: 1,2 MDa) en 800 ml de agua hasta la hidratación total; después se añadieron 10 ml de Spd 1 mM bajo agitación durante 5', proporcionando un complejo HA-Spd 10²:1 eq/eq. A continuación, se mezclaron 0,9 g de alcohol bencílico y se agitó, y el volumen final se completó a 1 litro con agua purificada. El gel se cargó en tubos de PE de 60 ml adecuados para la mayoría de aplicaciones, tales como las mucosas urogenital, oral, auditiva, nasal y de la garganta, piel, y similares.

Ejemplo 3. Gel de polimaleato-Spd

Se preparó un gel con los ingredientes indicados en la Tabla I, a continuación.

Tabla I

Ingrediente	Cantidad (en 100 ml)
Gantrez S97BF	1,00 g
Espermidina 3HCl, 1 mM	100 µl
Propilenglicol	15,0 g

Parabenos	0,50 g
Agua purificada	hasta 100 ml

Se dispersó Gantrez S97BF, un copolímero de polimaleato de ISP Corp. (Wayne, NJ, USA) en agua y 8 ml de NaOH 1 N. Se añadió solución de espermidina y se agitó durante 5', proporcionando complejo de polimaleato-Spd 3×10^4 :1 eq/eq. Se mezclaron los demás componentes para acabar con un gel consistente adecuado para la mayoría de aplicaciones indicadas en la presente memoria.

Ejemplo 4. Gel de polianiones mixtos-Spd

Se preparó un gel con los ingredientes indicados en la Tabla II, a continuación.

Tabla II

Ingrediente	Cantidad (en 100 ml)
HA sódico	0,20 g
Carboximetilcelulosa sódica (CMC)	2,50 g
Policarbofil	0,30 g
Espermidina 3HCl, 1 mM	2,50 ml
Aceite de ricino hidrogenado PEG-40	1,00 g
EDTA disódico	0,05 g
Xilitol	7,50 g
Alcohol diclorobencílico	0,50 g
Clorofila Cu	0,12 mg
Sabores	0,30 g
NaOH	hasta pH 6,5
Agua purificada	hasta 100 ml

Se disolvió HA sódico, Blanose 7HXF (CMC) y policarbofilo Noveon AA-1 en agua hasta la hidratación oral, proporcionando un gel viscoso. A continuación, se añadió la solución de espermidina y se agitó durante 15'. Se añadieron individualmente los demás ingredientes y se mezclaron, proporcionando un gel de color verde homogéneo útil para la reparación de las mucosas.

Ejemplos 5-6. Gel de polimaleato-Spd con NAC e inhibidor de la mucoadhesión

Se preparó un gel con los ingredientes indicados en la Tabla III, a continuación.

Tabla III

Ingrediente	Cantidad (en 100 ml)
Gantrez S97BF	0,17 g
Espermidina 3HCl, 1 mM	500 μ l
Poloxámero 427	20,0 g
Aceite de ricino hidrogenado PEG-40	1,00 g
Povidona	5,00 g
Sacarinato sódico	0,30 g
Cloruro de benzalconio	0,10 g
N-acetil-cisteína (NAC)	0,30 g
d-Manosa	4,00 g
NaOH 1 N	hasta pH 6
Agua purificada	hasta 100 ml

Se suspendió polimaleato (Gantrez S97BF) en agua y se tituló con NaOH 1 N hasta pH 6. A continuación, se mezcló espermidina, proporcionando un complejo de polimaleato-Spd 10^3 :1 eq/eq.

La adición de los siguientes ingredientes finalizó con un gel homogéneo adecuado para la utilización sobre mucosas dañadas, con una actividad auxiliar de disruptor de biopelícula.

Se concibió una formulación todavía más mejorada con la adición de 5% a 15% p/p de D-manosa, proporcionando la inhibición de la adhesión bacteriana a las mucosas tratadas de esta manera.

Ejemplo 7. Colutorio modificado de Carbopol-Spd

Se disolvió 1 g de Carbopol Ultrez 20 (Noveon-Lubrisol) en 500 ml del colutorio comercial Iodosan Antiplacca

(Iodosan SpA, grupo GSK). Se corrigió el pH a 6,5 con NaOH 1 N. A continuación, se añadieron 5 ml de espermidina 3HCl 1 mM y se mezclaron hasta obtener una solución homogénea adecuada para el cuidado oral, problemas estomatológicos y gingivitis.

5 **Ejemplo 8. Goma de mascar con HA-Spd**

10 Se suministró una mezcla que comprendía xilitol, HA sódico y espermidina en una proporción 100:10:1 p/p obtenida mediante mezcla en seco de dichos componentes, a Gum Base Co Srl (Lainate, Italia) con instrucciones de fabricar una goma de mascar con 0,8% de dicha mezcla. El producto resultante se caracterizaba por una agradable palatabilidad que se aplica útilmente para la curación gingival.

Ejemplo 9. Evaluación *in vivo* en la estomatitis (estudio de caso)

15 Se proporcionó el gel de Ejemplo 21 a una mujer de 46 años con úlceras aftosas recurrentes en la boca y se le dio las instrucciones de aplicarlo por lo menos dos veces al día. El sujeto refirió la resolución en aproximadamente una semana, frente a las 3-4 semanas generalmente necesarias. El producto resultó bien tolerado, excepto por el sabor amargo, probablemente debido al alcohol bencílico.

20 **Ejemplo 10. Dentífrico de gel de CMC-Spd**

Se preparó una pasta dentífrica con los ingredientes indicados en la Tabla IV, a continuación.

Tabla IV

Ingrediente	Cantidad (en 100 g)
Espermidina 3HCl, 1 mM	2,00 ml
Carboximetilcelulosa sódica (CMC)	0,80 g
Xilitol	1,00 g
Propilenglicol	7,50 g
Laurilsarcosinato sódico	1,70 g
Macrogol 1600	1,00 g
Aroma	0,90 g
Sacarinato sódico	0,20 g
Fosfato sódico	0,20 g
Fosfato sódico dibásico 7H ₂ O	0,45 g
Azul de metileno, 1%	0,10 g
Parabenos	0,20 g
Sorbitol, 70%	hasta 100 g

25 El procedimiento siguió el método ordinario para la producción de un dentífrico, excepto en que la CMC en primer lugar se disolvió en agua y se añadió con la solución de espermidina; después se incorporaron los ingredientes restantes, proporcionando un gel traslúcido azul.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que comprende un complejo supramolecular formado por lo menos por un polímero polianiónico y espermidina con una proporción de equivalentes aniónicos a equivalentes catiónicos de 10:1 a 10^7 :1 eq/eq, en la que los componentes de dicho complejo supramolecular están mezclados íntimamente, sin ningún enlace covalente entre ellos, siendo dicha composición para la utilización en estomatología para tratar la estomatitis, la úlcera aftosa y la sequedad de boca, y en periodontología para tratar la gingivitis y la periodontitis.
- 10 2. Composición para la utilización según la reivindicación 1, en la que dicha proporción es de 10^2 :1 a 10^7 :1 eq/eq, preferentemente de 10^2 :1 a 10^4 :1.
- 15 3. Composición para la utilización según la reivindicación 1, en la que los polímeros polianiónicos son un fitopolisacárido, ficopolisacárido o endopolisacárido natural; un polisacárido derivado semisintético; o un polímero polianiónico sintético, y mezcla de los mismos.
- 20 4. Composición para la utilización según la reivindicación 3, en la que el fito-, fico- o endopolisacárido se selecciona de entre el grupo que consiste en alginatos, agar, goma gelano, goma ghatti, goma karaya, goma tragacanto, goma welano, goma xantana, carragenanos, sulfato de xilomanano, fucoidano y fucogalactano, e hialuronato lineal o reticulado.
- 25 5. Composición para la utilización según la reivindicación 3, en la que el polisacárido derivado semisintético se selecciona de entre el grupo que consiste en carboximetilcelulosa, croscarmelosa, carboximetil almidón, carboximetil dextrano, carboximetil quitosano, hialuronato lineal o reticulado, sulfato de ramnano, sulfato de dextrano, sulfato de celulosa, sulfato de curdlán y fosfoquitosano.
- 30 6. Composición para la utilización según la reivindicación 3, en la que el polímero polianiónico sintético se selecciona de entre el grupo que consiste en homopolímero lineal o reticulado, acrilatos y metacrilatos de homopolímero o copolímero, policarbófilo, Carbopol, copolímeros de anhídrido maleico ("polimaleatos") y (poli)acrilatos tiolados.
- 35 7. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que comprende unos complejos supramoleculares de una proporción de 10^3 - 10^7 eq/eq en una cantidad desde aproximadamente 0.01% a aproximadamente 10% p/p de la composición.
- 40 8. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que comprende unos complejos supramoleculares de una proporción de 10 - 10^2 eq/eq desde aproximadamente 0.0001% a aproximadamente 10% p/p de la composición.
9. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que es un colutorio, una solución oral, un espray, un gel, una película, un dentífrico, unos polvos dentales, un comprimido dental, una crema, un gel, una goma de mascar, un comprimido o una pastilla masticables, un gel sobre película, gránulos, una pasta o unos polvos esparcibles.