

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 730 106**

51 Int. Cl.:

A61K 31/185 (2006.01)

A61K 31/205 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

A61K 31/66 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.08.2008** **E 11004754 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019** **EP 2380569**

54 Título: **Osmolitos para la reducción de los efectos secundarios de esteroides o antihistamínicos**

30 Prioridad:

27.08.2007 DE 102007040615

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

08.11.2019

73 Titular/es:

**BITOP AG (100.0%)
Stockumer Strasse 28
58453 Witten, DE**

72 Inventor/es:

**KRUTMANN, JEAN;
LENTZEN, GEORG y
SCHWARZ, THOMAS**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 730 106 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

Osmolitos para la reducción de los efectos secundarios de esteroides o antihistamínicos

Osmolitos

- 5 Los osmolitos de microorganismos extremófilos forman un grupo conocido de sustancias protectoras de bajo peso molecular. Los extremófilos son microorganismos muy excepcionales, dado que crecen óptimamente por ejemplo con altas concentraciones salinas (hasta 200 g de NaCl/l) y altas temperaturas (de 60-110 °C), que conducirían en caso de organismos mesófilos ("normales") a daños masivos de estructuras celulares. En los últimos años se ha dedicado por tanto un gran esfuerzo de investigación para identificar los componentes bioquímicos que conducen a la estabilización térmica, química y física notable de las estructuras celulares. Aunque muchas enzimas de 10 microorganismos hipertermófilos son estables también bajo altas temperaturas, no se aplica esto generalmente para las estructuras celulares de organismos termófilos e hipertermófilos. A la alta estabilidad frente a la temperatura de estructuras celulares contribuyen en medida considerable las sustancias orgánicas de bajo peso molecular (solutos compatibles, osmolitos) en el medio intracelular. Distintos osmolitos novedosos pudieron identificarse por primera vez en los últimos años en microorganismos extremófilos. En algunos casos pudo mostrarse ya la contribución de 15 estos compuestos a la protección de estructuras celulares frente a calor y sequedad (Lippert, K., Galinski, E.A. (1994), Appl. Microbiol. Biotech. 37, 61-65; Louis, P., Trüper, H.G., Galinski, E.A. (1994), Appl. Microbiol. Biotech. 41, 684-688; Ramos, Raven, Sharp, Bartolucci, Rossi, Cannio, Lebbink, v. d. Oost, de Vos, Santos (1997), Appl. Environm. Microbiol. 63, 4020-4025; Da Costa, Santos, Galinski (1998), Adv. In Biochemical Engineering Biotechnology, 61, 117-153).
- 20 Los osmolitos encontrados en los microorganismos extremófilos (solutos compatibles) no se forman de células humanas o animales.

Enfermedades de las vías respiratorias virales

- 25 Los rinovirus son agentes patógenos que generan los denominados resfriados o también denominados catarro. Éstos pertenecen al grupo de virus Picornaviridae (nombre de pico = pequeño y ARN) y forman allí el género *Rhinovirus*. Se diferencian actualmente 117 serotipos.

- 30 Los rinovirus infectan la mucosa de la zona nasal y de la faringe, permanecen estrictamente localizados y no originan ninguna infección generalizada. Se produce un resfriado banal, raras veces en niños una bronquitis. El organismo humano reacciona ante los ataques víricos con una reacción de inflamación de la mucosa nasal. Los vasos de la mucosa se vuelven más permeables, sale líquido que recorre la nariz. Posteriormente se hincha la mucosa nasal hasta un espesor de medio centímetro, de manera que la respiración por la nariz resulta prácticamente imposible. Cabe añadir eventualmente malestar y dolor de cabeza. Con frecuencia se produce además de la infección vírica aún una infección secundaria por bacterias en la garganta y la zona de la faringe.

- 35 Los adenovirus humanos son virus de la familia de los Adenoviridae. Los virus de esta familia infectan tanto a seres humanos como animales. Por primera vez se aislaron de amígdalas faríngeas humanas (adenoides), de los cuales se derivó también el nombre de estos virus.

- 40 Los adenovirus originan principalmente enfermedades de las vías respiratorias. Dependiendo del respectivo serotipo pueden producirse sin embargo también una serie de otras enfermedades, así por ejemplo gastroenteritis, conjuntivitis, cistitis, rinitis, faringitis o diarrea. Los síntomas de la enfermedad de las vías respiratorias por adenovirus llegan desde el sencillo catarro por la bronquitis hasta la neumonía. En pacientes con sistema inmunitario debilitado existe una especial propensión a complicaciones graves de las infecciones por adenovirus, tal como por ejemplo el ARDS o *Acute Respiratory Distress Syndrome*.

Enfermedades de las vías respiratorias alérgicas

- 45 A nivel mundial aumenta mucho el número de enfermedades alérgicas. Los estudios han dado como resultado que a nivel mundial en promedio un 7,5 % de todos los niños y jóvenes padecen rinoconjuntivitis (fiebre del heno de naturaleza alérgica, combinada con una sintomatología ocular) (Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema: ISAAC, Lancet, 351, 1225-1332, 1998). A pesar de las actividades de investigación intensivas no está todavía completamente aclarada la patogénesis de la rinoconjuntivitis. Aunque en los pasados años se han conseguido claros avances en el tratamiento con medicamentos de esta enfermedad, todavía no es satisfactoria la terapia. Los síntomas agudos (picazón, irritación, 50 hinchazón, flujo nasal o bien lagrimeo) de la rinoconjuntivitis pueden controlarse bien entre otras cosas con ayuda de antihistamínicos. Sin embargo apenas tienen una influencia terapéuticamente relevante sobre la inflamación en la que se basa la enfermedad y siempre progresiva. Esta inflamación es una reacción de defensa del organismo y su tejido contra estímulos nocivos con el objetivo de remediar el daño o limitarlo al menos localmente así como eliminar el origen del daño (por ejemplo bacterias o cuerpos foráneos introducidos). Los desencadenantes de una 55 inflamación pueden ser microorganismos (bacterias, virus, hongos o parásitos), cuerpos foráneos (polen, cristales de asbesto o de silicato), destrozamiento de tejido mediante daño mecánico, sustancias nocivas químicas e influencias físicas así como mediante desencadenantes propios del cuerpo (células tumorales descompuestas, sangre extravasal,

reacciones autoinmunitarias) o cristales de sustancias precipitadas en el organismo (ácido úrico, oxalato y fosfato de calcio, colesterol). Mediante la acción de las sustancias nocivas se produce en el organismo con ayuda de las células T ayudantes la liberación de mediadores de la inflamación, en particular histamina con interleucina-8, leucotrienos y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), de manera que se activa la cascada conectada posteriormente de la lucha contra la inflamación en el organismo. En el transcurso de la carga mediante las sustancias nocivas mencionadas anteriormente se produce también una influencia sobre las moléculas de adhesión de los epitelios afectados mediante la influencia externa, éstas se producen de manera condicionada por las sustancias nocivas directamente o la reacción propia del cuerpo de manera más intensa o menos intensa. Por ejemplo, mediante la carga se expresa la molécula ICAM-1 de manera más intensa en las células afectadas.

10 Rinitis alérgica y asma

Los alérgenos en el aire de respiración desencadenan reacciones en el tracto respiratorio, normalmente con edema de la mucosa e hipersecreción (rinitis alérgica, fiebre del heno) así como broncoespasmos (asma). Por el contrario, los alérgenos de alimentación en primer lugar síntomas gastro-intestinales tal como náuseas, vómitos y diarrea. La piel reacciona frente a alérgenos con picor, hinchazón y urticaria así como dermatitis atópica (neurodermitis). Por el contrario, si el alérgeno llega directamente al torrente sanguíneo (por ejemplo infusión de productos sanguíneos, medicamentos) o es la exposición a alérgenos especialmente intensa, resulta una reacción sistémica inmediata que probablemente acarrea una caída de la tensión arterial que pone la vida en peligro (choque anafiláctico). La acción de los osmolitos (en particular de la ectoína) para su administración en el caso de dermatitis atópica y en el caso de inflamaciones en el tracto gastro-intestinal se ha descrito en la solicitud de patente alemana DE 103 30 243.3 (Osmolitos para el tratamiento de la neurodermitis) y de la solicitud de patente alemana DE 10 2005 011 442.3 (Agentes que contienen soluto compatible para su uso oral) y es estado de la técnica.

El tratamiento de inflamaciones agudas y/o crónicas de la fosa nasal principal y/o de las fosas nasales secundarias se realiza principalmente con pulverizaciones nasales antiinflamatorias, pulverizaciones nasales que contienen cortisona, sustancias expectorantes o antibióticos. Todas las sustancias mencionadas van acompañadas de efectos secundarios. Las pulverizaciones nasales que contienen cortisona desencadenan a menudo por sí mismas reacciones alérgicas.

A menudo tanto por los pacientes como por el médico consideran la rinitis alérgica (rinoconjuntivitis) como una enfermedad sin importancia y se trata por consiguiente solo de manera insuficiente. Sin embargo, como consecuencia puede producirse un denominado cambio de estadio, es decir, a partir de la rinitis relativamente inofensiva se desarrolla el asma bronquial que ha de tomarse muy en serio. Por este motivo es imprescindible tratar ya la rinoconjuntivitis alérgica de manera suficiente e intensa o prevenirla. Solo entonces los pacientes pueden vivir sin molestias y solo entonces puede impedirse un cambio de estadio potencialmente mortal de manera eventual.

En el momento actual, los corticosteroides pueden combatir la inflamación en la que se basa la rinoconjuntivitis de la manera más eficaz. Muchos pacientes, pero también médicos, no usan sin embargo estos medicamentos debido a sus posibles efectos secundarios sistémicos (por ejemplo, ralentización del crecimiento, osteoporosis) en absoluto o solo con reticencia, en la mayoría de los casos no hasta una fase tardía de la enfermedad.

Los antihistamínicos se usan en la fase aguda de la rinoconjuntivitis alérgica para aliviar los síntomas a menudo muy molestos. Sin embargo, la administración sistémica de antihistamínicos, a pesar del desarrollo de nuevos antihistamínicos, tienen en función del usuario efectos secundarios sedantes (incapacidad para conducir, somnolencia), que limitan considerablemente su uso. Si bien las preparaciones de nueva generación tienen considerablemente menos efectos secundarios, sin embargo también tienen en muchos casos una eficacia claramente peor.

Sorprendentemente se encontró ahora que la administración de osmolitos, tal como, por ejemplo, ectoína, en una forma que puede administrarse, por ejemplo, por vía nasal para la profilaxis y el tratamiento de la "rinitis alérgica (fiebre del heno)", es ventajosa. El fundamento se basa en la observación de que en las células epiteliales de la nariz, en el marco de la reacción inflamatoria que es típica para la rinitis alérgica (fiebre del heno), mediante la interacción de las células epiteliales con el alérgeno relevante (por ejemplo, polen) se produce en estas células una regulación por incremento de moléculas de adhesión, tal como, por ejemplo, ICAM-1, que es la condición previa para la formación de los síntomas clínicos de catarro. Los inventores observaron que la regulación por incremento de la ICAM-1 puede inhibirse mediante estímulos proinflamatorios mediante ectoína. Por consiguiente puede usarse una forma de administración nasal que contiene osmolitos para el tratamiento y la profilaxis de la fiebre del heno. Debido a la acción física de los osmolitos, que exclusivamente modifica la estructura del agua, prácticamente pueden descartarse los efectos secundarios típicos específicos de los esteroides.

La segunda indicación que puede tratarse sorprendentemente mediante ectoína es la administración de osmolitos para la profilaxis de infecciones por rinovirus y/o adenovirus del tracto respiratorio. Las infecciones por virus, en particular infecciones por rinovirus, son una causa principal de la exacerbación (agravamiento) de asma. Se sabe desde hace algunos años que la molécula de ICAM-1 actúa no solo como molécula de adhesión para otras células, sino además como receptor para rinovirus (= virus del resfriado). Además, mediante la infección por rinovirus se desencadena la expresión reforzada de ICAM-1 en epitelios respiratorios. En este sentido puede impedirse o bien

debilitarse, mediante el tratamiento con osmolitos, una regulación por incremento de moléculas de ICAM-1 en el epitelio nasal y con ello la expresión de este receptor de rinovirus, de modo que puede impedirse o debilitarse el desarrollo y la producción de una infección por rinovirus en el ser humano. Dentro del complejo de adhesión de las células se encuentra el receptor CAR, que se usa como sitio de acoplamiento de los adenovirus. Los distintos serotipos de los Adenoviridae usan entonces otros receptores distintos (integrina, CD46, glicosaminoglicanos de sulfato de heparina, CD80, CD86 y miembros de MHC-1, para introducirse en las células. La modificación de la expresión de moléculas de adhesión mediante tratamiento con osmolitos puede debilitar o probablemente también impedir por tanto también una posibilidad de los adenovirus de acoplarse o introducirse en la célula.

Sorprendentemente se encontró además que la administración tópica con ayuda de una pulverización nasal sobre los epitelios nasales es ventajosa por diferentes motivos. La administración puede tener lugar a este respecto de manera simultánea, secuencial o por separado. La administración tópica de la pulverización nasal que contiene osmolitos es responsable de la eliminación rápida de los síntomas agudos (por ejemplo, irritación, picor, hinchazón), sin que aparezcan efectos secundarios. Con el osmolito contenido en la preparación puede combatirse satisfactoriamente la inflamación en la que se basa el cuadro clínico. A menudo en casos límite el médico tratante no puede establecer con total seguridad, si se trata todavía "solo" de una rinoconjuntivitis o si ya se trata de una enfermedad de las vías respiratorias, tal como asma bronquial. Es ventajoso que la combinación de acuerdo con la invención también puede usarse para el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias superiores e inferiores.

Sorprendentemente se encontró adicionalmente que los efectos secundarios de pulverizaciones nasales que contienen principio activo (por ejemplo, pero no exclusivamente, glucocorticoides, antihistamínicos) mediante la adición de osmolitos pueden reducirse claramente. En este sentido podrían usarse los osmolitos en combinación con otros principios activos y reducir así la concentración de uso necesaria de la otra sustancia. Otra posibilidad sería la administración preventiva de osmolitos, que debilitan directamente el perfil de efectos secundarios de las sustancias que van a administrarse posteriormente. Esto hace interesante la combinación general de extremolitos con esteroides. Por consiguiente también tiene sentido una terapia de combinación de osmolitos (en particular ectoína e hidroxiectoína) con otros principios activos administrados por vía intranasal o por vía intraocular, que provocan los efectos secundarios no deseados. En este sentido también es concebible añadir a los osmolitos formulaciones de principios activos, que se administran por vía nasal o por vía ocular para el tratamiento de una enfermedad de un órgano (por ejemplo, cáncer), pero que desarrollan un efecto secundario inflamatorio sobre el epitelio nasal. La administración conjunta de osmolitos con, por ejemplo, glucocorticoides o antihistamínicos, o bien la administración preventiva de osmolitos antes de un tratamiento con estas sustancias podría ser como principio general también una posibilidad eficaz en otras formas de administración (por vía tópica, por vía dérmica, por vía intraperitoneal, por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía oral) para reducir los efectos secundarios de las sustancias o mediante la combinación de los principios activos de osmolitos con los de los principios activos administrados simultánea o posteriormente para reducir la concentración de uso de los principios activos, con lo que se produce un perjuicio reducido del paciente tratado.

En el caso de los solutos compatibles (osmolitos) se trata preferentemente de ectoína, ácido 4,5,6,7-tetrahidro-2-metil-1H-[1,3]-diazepin-4-S-carboxílico (homoectoína), hidroxiectoína, fosfato de di-mio-inositol (DIP), 2,3-difosfoglicerato cíclico (DPGc), fosfato de 1,1-di-glicerol (DGP), glicerato de β -manosilo (firoína), β -manosilgliceramida (firoína-A), fosfato de di-manosil-di-inositol (DMIP), glucosilglicerol, taurina, betaína, citrulina y/o un derivado de estos compuestos tales como sales, ésteres o ácidos. La concentración de los solutos compatibles se encuentra normalmente entre el 0,01 % y el 20 % en peso, preferentemente entre el 0,1 % y el 10 % en peso, de manera especialmente preferente entre el 0,1 % y el 5 % en peso, con respecto al peso total.

Mediante una administración adaptada al respectivo tratamiento, aplicación e indicación de los osmolitos pueden conseguirse las concentraciones eficaces ya con dosificaciones reducidas. La administración del osmolito permite combatir las reacciones molestas tales como picor, flujo nasal e impide la progresión de la inflamación. Por consiguiente cabe esperar una mayor conformidad de los pacientes.

En particular en el caso de la administración intranasal o intraocular no solo se produce una acción rápida, sino también una actividad terapéutica elevada, que va acompañada de una acción antiinflamatoria intensa. Por tanto, la presente invención se basa en el objetivo de poner a disposición agentes para la prevención o el tratamiento de reacciones de hipersensibilidad inmunológica, en particular de la rinitis alérgica y para la prevención de infecciones por rinovirus y/o adenovirus, que representen un planteamiento de terapia más amplio (de manera intencionada no mono-específico), con pocos efectos secundarios y con ello un planteamiento de terapia más eficaz. Un aspecto de la presente invención consiste en el uso de osmolitos para la preparación de un fármaco o una especialidad farmacéutica, por ejemplo, en forma de una pulverización nasal o en forma de gotas oculares para la prevención o el tratamiento de la rinitis alérgica e infecciones por virus, produciéndose mediante la protección mediada por osmolitos de las células epiteliales de la nariz una debilitación de la expresión de productos génicos proinflamatorios (por ejemplo, ICAM1) en el marco de reacciones inflamatorias.

La dosificación puede realizarse varias veces al día, dependiendo la dosis individual del osmolito usado y en particular del estado general del paciente (edad, peso, etc.) y del grado de gravedad de la enfermedad.

Para la administración tópica pueden tenerse en cuenta diferentes formulaciones farmacéuticas, por ejemplo, pulverizaciones nasales, gotas nasales y gotas oculares. Debido a la solubilidad en agua del principio activo osmolito (preferentemente ectoína), las formulaciones con estos principios activos pueden formularse preferentemente como soluciones acuosas.

5 Además de los osmolitos eficaces, las preparaciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden contener otras partes constituyentes tales como conservantes, estabilizadores, agentes isotónicos, espesantes, estabilizadores de suspensión, coadyuvantes para el ajuste del pH, sistemas tampón y agentes humectantes. Las preparaciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden contener además otras partes constituyentes eficaces tales como antihistamínicos o principios activos esteroideos (por ejemplo, loteprednol etabonato).

10 Como conservantes se tienen en cuenta: cloruro de benzalconio, clorobutanol, tiomersal, metilparabeno, propilparabeno, ácido sórbico y sus sales, edetato de sodio, alcohol feniletílico, digluconato de clorhidrato de clorhexidina, acetato de clorhidrato de clorhexidina, bromuro de cetilpiridinio, cloruro de cetilpiridinio, clorocresol, acetato de fenilmercurio, nitrato de fenilmercurio, borato de fenilmercurio, fenoxietanol.

15 Los coadyuvantes adecuados para el ajuste de la isotonía de las formulaciones son, por ejemplo: cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol, glucosa, sorbitol, glicerol, propilenglicol. En general, estos coadyuvantes se usan en concentraciones del 0,1 % al 10 %.

20 Las formulaciones de la invención pueden contener igualmente sistemas tampón adecuados u otros coadyuvantes para el ajuste del pH, para ajustar y mantener un valor de pH en el orden de magnitud de 4-8, preferentemente de 5 a 7,5. Los sistemas tampón adecuados son citrato, fosfato, trometamol, glicina, borato, acetato. Estos sistemas tampón pueden prepararse a partir de sustancias tales como ácido cítrico, fosfato de monosodio, fosfato de disodio, glicina, ácido bórico, tetraborato de sodio, ácido acético o acetato de sodio.

Pueden usarse igualmente otros coadyuvantes para el ajuste del pH tal como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Como agentes humectantes para las formulaciones se tienen en cuenta: cloruro de benzalconio, cloruro de cetilpiridinio, Tyloxapol, diferentes polisorbatos [TweenTM] así como poloxámeros y otras sustancias polioxiethyladas.

25 El siguiente ejemplo de una pulverización nasal ilustra la invención, sin limitar ésta.

Pulverización nasal con ectoína (0,1 %)

30 Disponer en un recipiente con mecanismo de agitación adecuado aproximadamente 45 kg de agua purificada. Añadir a esto sucesivamente el principio activo ectoína, hidroxipropilmetilcelulosa, acetato de sodio, cloruro de benzalconio y solución de sorbitol y disolver con agitación. Enrasar la solución generada con agua purificada hasta un volumen de 49,5 litros. Ajustar el valor de pH de la solución con solución de hidróxido de sodio 1 N a pH 6,0. Enrasar con agua purificada hasta el volumen final de 50,0 litros y agitar. Filtrar la solución por un filtro adecuado y verter en frascos, que a continuación se equipan con una bomba de pulverización nasal adecuada.

Estudios de efectividad

Ejemplo 1

35 Tratamiento de la sensibilización e inducción de reacciones alérgicas en ratones con ovoalbúmina (OVA)

La sensibilización de ratones de siete semanas de edad de la estirpe endogámica Balb/c se realizó mediante inyección intraperitoneal de una mezcla de ovoalbúmina e hidróxido de aluminio en un volumen total de 200 µl de tampón (PBS). En total se realizó la inyección dos veces, en el día 0 y en el día 14. El tamaño de grupo por grupo sometido a estudio ascendía a n=8.

40 Para provocar a continuación una reacción alérgica en el pulmón de los ratones, es decir, desencadenar el asma alérgico agudo, se trataron por inhalación los ratones en el día 28 y en el día 38 en cada caso durante 30 minutos con aerosol de ovoalbúmina. Para esto se colocaron los ratones en una cámara de plexiglás. En ésta se introdujo en forma nebulizada a través de un inhalador una solución de OVA al 1 %.

Tratamiento de los animales con solución de ectoína o solución salina al 0,9 %

45 Para el tratamiento de los animales con ectoína se anestesian los animales por medio de una mezcla de ketamina y Rompun. Entonces se administraron por medio de capilares de vidrio delante del orificio nasal 50 µl de una solución estéril de ectoína o solución salina al 0,9 %, hasta que ésta se inhaló completamente. Los 14 tratamientos en total comenzaron en el día 0. El último tratamiento se realizó en el día 32.

Resultado

50 Como criterios de valoración del estudio se determinaron la hiperreactividad bronquial por medio de pletismógrafos, la composición celular del lavado broncoalveolar (BAL) y la liberación de anticuerpos anti-IgE e IgG1 específicos de OVA.

Pudo establecerse claramente una influencia positiva del tratamiento con solución de ectoína en comparación con el tratamiento con solución salina al 0,9 % con respecto a estos criterios de valoración.

Ejemplo 2

Sensibilización e inducción de asma alérgico en ratas con ovoalbúmina (OVA)

5 En el ensayo se usaron 4 grupos de tratamiento, un grupo de referencia, un grupo control negativo aparentemente sensibilizado y tratado con vehículo y un grupo control positivo tratado con vehículo. El tamaño de grupo ascendía a n=16.

10 En la primera etapa del ensayo se sensibilizaron sistémicamente todos los animales de los grupos, excepto el grupo aparentemente sensibilizado, frente a la ovoalbúmina (Ova) más adyuvantes, el control negativo recibió NaCl. En el día 7 y 14 se les administró a los animales una dosis de refuerzo de Ova por vía intratraqueal (refuerzo de la sensibilización). 48 h, 24 h y 2 h antes de la exposición inhalatoria final al alérgeno se realizó un pretratamiento intratraqueal con la sustancia de prueba, ectoína, en tres grados de dosificación en tres grupos así como con el control positivo. Los dos grupos de control obtuvieron a este respecto solo NaCl. Tras la finalización de la fase de espera se anestesiaron entonces los animales, se les intubó por vía orotraqueal con cuidado y tras colocar un catéter esofágico y alcanzar un estado estacionario se midió mediante pletismografía corporal en primer lugar la función pulmonar antes de la provocación (inclusive parámetros tales como volumen de ventilación pulmonar, frecuencia respiratoria, conformidad dinámica y resistencia pulmonar). El almacenamiento y la evaluación de los datos tuvieron se realizaron con un programa informático desarrollado especialmente para estas pruebas de función pulmonar (HEM, Notocord/Francia). Entonces se realizó una exposición inhalatoria definida de los animales de ensayo frente al alérgeno, ovoalbúmina (exposición a ovoalbúmina, modelo de una reacción asmática inducida alérgicamente).

Influencia de la solución de ectoína sobre la reacción alérgica prematura

Durante y tras la exposición se continuó con el registro de los parámetros de la función pulmonar para la detección del broncoespasmo.

25 Pudo establecerse una influencia positiva clara de la solución de ectoína sobre los parámetros de la función pulmonar en comparación con el control negativo.

Influencia de la solución de ectoína sobre la reacción alérgica tardía

30 Se estudió la fase alérgica tardía 24 h tras la exposición a ovoalbúmina. En primer lugar se sometieron a estudio los animales para determinar su hiperreactividad de las vías respiratorias frente a estímulos no específicos. Para ello se realizó una prueba de hiperreactividad en forma de una provocación con acetilcolina inhalatoria creciente gradualmente. Después se sacrificaron sin dolor los animales y se lavaron los pulmones (BAL). A partir del líquido de lavado se determinó el número de células total y el recuento celular diferencial inclusive el número de eosinófilos en el BAL.

35 Pudo establecerse claramente una influencia positiva del tratamiento con solución de ectoína en comparación con el tratamiento con el control negativo sobre la reacción alérgica tardía.

Ejemplo 3

Influencia de la pulverización nasal de ectoína sobre la reacción alérgica en el ser humano

En un estudio cruzado, doble ciego, aleatorizado, con 20 pacientes que padecen rinitis alérgica se estudió el efecto de una pulverización nasal de ectoína sobre la reacción tras una "exposición al alérgeno".

40 Se estimularon los pacientes por vía intranasal al principio del estudio con un alérgeno definido y se midió la reacción alérgica mediante diferentes parámetros. Después de esto se realizó un tratamiento de 2 semanas con pulverización nasal de ectoína o pulverización nasal placebo (NaCl al 0,9 %) y se realizó una nueva estimulación con el alérgeno definido junto con medición de la reacción alérgica.

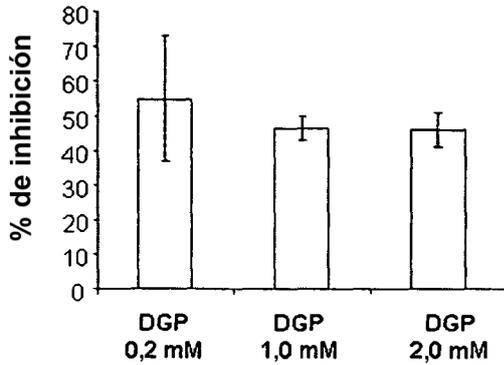
45 Tras una fase de lavado suficiente se trataron los pacientes de manera cruzada análogamente con la pulverización nasal de ectoína o la pulverización nasal placebo.

Por consiguiente pudo compararse la acción de la pulverización nasal de ectoína de manera intraindividual e interindividual con la solución placebo. Pudo mostrarse que la pulverización nasal de ectoína mejoraba claramente los síntomas de la rinitis alérgica en este estudio en comparación con la pulverización nasal placebo.

Ejemplo 4

Reducción de la expresión de ICAM-1 mediante DGP

Se trataron previamente queratinocitos humanos durante 24 h con DGP. Tras la irradiación con radiación UVA (sustancia nociva ambiental) se midió la cantidad de ICAM-1. DGP inhibió la expresión en un 49 %.



5

Figura: Inhibición de la expresión de ICAM-1 mediante DGP en distintas concentraciones de uso

Ejemplo 5

Inhibición de la expresión de ICAM-1 mediante ectoína

10 Se midió la expresión de ICAM-1 con PCR con transcriptasa inversa diferencial (RT-PCR) y el kit de Applied Biosystem. Para tener en cuenta las fluctuaciones normales en la expresión génica de las células epiteliales se relativizó la expresión de ICAM-1 con respecto al gen de β -actina doméstico (*house-keeping*) formado de manera constitutiva. Se realizó el análisis semicuantitativo de la RT-PCR con una cromatografía de intercambio iónico con un espectrofotómetro UV (A260). (A) Control irradiado, no tratado previamente, (B) incubado previamente con RonaCareTMEctoin 1 mM durante 24 h e irradiado con una dosis individual de 30 J/cm² o (C) incubado previamente con ectoína 1 mM durante 24 h, sin irradiación, con el medio celular incubado previamente durante 24 h. La radiación UVA indujo una regulación por incremento de la expresión de ICAM-1. El pretratamiento de queratinocitos con ectoína 1 mM puede subsanar casi completamente la inducción de ICAM-1 inducida mediante radiación UVA en todo momento.

15

REIVINDICACIONES

1. Medicamento que contiene como principio activo al menos un soluto compatible para su administración para el tratamiento de reacciones inflamatorias agudas o crónicas del tracto respiratorio, que se producen mediante principios activos de la clase de los esteroides o de los antihistamínicos, seleccionándose el soluto compatible del grupo que está constituido por: ectoína, ácido 4,5,6,7-tetrahidro-2-metil-1H-[1,3]-diazepin-4-S-carboxílico (homoectoína), hidroiectoína, fosfato de di-mio-inositol (DIP), 2,3-difosfoglicerato cíclico (DPGc), fosfato de 1,1-di-glicerol (DGP), glicerato de β -manosilo (firoína), β -manosilgliceramida (firoína-A), fosfato de di-manosil-di-inositol (DMIP), glucosilglicerol, taurina, betaina, citrulina y/o sales, ésteres o ácidos de estos compuestos.
- 5
2. Medicamento para su administración según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el esteroide es un glucocorticoide.
- 10
3. Medicamento que contiene como principio activo al menos un soluto compatible para su administración para la reducción de efectos secundarios que se producen mediante principios activos, administrados al mismo tiempo o después, de la clase de los esteroides o antihistamínicos, seleccionándose el soluto compatible del grupo que está constituido por: ectoína, ácido 4,5,6,7-tetrahidro-2-metil-1H-[1,3]-diazepin-4-S-carboxílico (homoectoína), hidroiectoína, fosfato de di-mio-inositol (DIP), 2,3-difosfoglicerato cíclico (DPGc), fosfato de 1,1-di-glicerol (DGP), glicerato de β -manosilo (firoína), β -manosilgliceramida (firoína-A), fosfato de di-manosil-di-inositol (DMIP), glucosilglicerol, taurina, betaina, citrulina y/o sales, ésteres o ácidos de estos compuestos.
- 15
4. Medicamento para su administración según la reivindicación 3, **caracterizado porque** el esteroide es un glucocorticoide.
- 20
5. Medicamento para su administración según una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** el soluto compatible se encuentra en una concentración del 0,01 % al 20 % en peso con respecto al peso total.
6. Medicamento para su administración según la reivindicación 5, **caracterizado porque** el soluto compatible se encuentra en una concentración del 0,1 % al 10 % en peso con respecto al peso total.
- 25
7. Medicamento para su administración según la reivindicación 6, **caracterizado porque** el soluto compatible se encuentra en una concentración del 0,1 % al 5 % en peso con respecto al peso total.
8. Medicamento para su administración según una de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque** el medicamento se encuentra en forma de administración líquida o semilíquida.
9. Medicamento para su administración según una de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado porque** el medicamento se encuentra en forma de una pulverización, en forma de gotas oculares o de gotas nasales o como preparación líquida o sólida que puede inhalarse.
- 30
10. Medicamento para su administración según una de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** el medicamento contiene al menos un antihistamínico o un esteroide.
11. Medicamento para su administración según la reivindicación 10, **caracterizado porque** el esteroide es un glucocorticoide.