

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 752 204**

51 Int. Cl.:

A61K 36/09 (2006.01)

A61K 31/728 (2006.01)

A61K 33/14 (2006.01)

A61K 9/12 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.06.2017 E 17176138 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2019 EP 3257516**

54 Título: **Composición farmacéutica que comprende Cetraria islandica Ach., hialuronato de sodio y una solución salina para tratar dolencias del sistema respiratorio**

30 Prioridad:

15.06.2016 IT UA20164387

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

03.04.2020

73 Titular/es:

**NEILOS S.R.L. (100.0%)
Via Bagnulo,95
80063 Piano di Sorrento (NA), IT**

72 Inventor/es:

**DI MAIO, UMBERTO y
BAGNULO, ANTONINO,**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

Observaciones:

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

ES 2 752 204 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

Composición farmacéutica que comprende *Cetraria islandica Ach.*, hialuronato de sodio y una solución salina para tratar dolencias del sistema respiratorio

5 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una mezcla que comprende o, alternativamente, consiste en *Cetraria islandica Ach.*, hialuronato de sodio y una solución salina con una osmolaridad tal como para asegurar que el producto terminado tenga una osmolaridad de más de o igual a 300 mOsm/l y, para su uso como medicamento, preferiblemente para adolescentes y sujetos de edad pediátrica, en el tratamiento de trastornos/patologías del aparato respiratorio seleccionados de entre rinitis, sinusitis, asma, faringitis (faringoamigdalitis), epiglotitis, laringitis, bronquiolitis, fibrosis quística y bronquiectasia, preferiblemente para adolescentes y sujetos de edad pediátrica. Finalmente, una realización preferida de la presente invención se refiere a dicha composición para su uso en el tratamiento de patologías del aparato respiratorio asociadas con hipersecreción de moco, preferiblemente para adolescentes y sujetos de edad pediátrica.

15 Se conoce bien que el aparato respiratorio consiste en diversas estructuras anatómicas necesarias para su correcto funcionamiento. De hecho, tiene la tarea de intercambiar gases, oxígeno y dióxido de carbono, entre los tejidos y el entrono exterior, siendo esta función fundamental para todos los procesos celulares del cuerpo. Anatómicamente, pueden distinguirse dos macroáreas, las vías respiratorias altas y bajas.

20 Las vías respiratorias altas consisten en la nariz, la faringe y estructuras asociadas, mientras que las vías respiratorias bajas consisten en la laringe, la tráquea, los bronquios y los pulmones, cuya superficie respiratoria real consiste en los alvéolos. Este sistema de órganos complejo sirve para preparar el aire para la entrada en los pulmones filtrándolo de cualquier materia particulada y calentándolo y humidificándolo. La presencia de moco y estructuras celulares particulares (tales como los pelos de la nariz) provocan la filtración del aire y sólo permiten que pasen partículas de unos pocos micrómetros con un diámetro aerodinámico apropiado.

25 Todo el aparato respiratorio consiste en células epiteliales a lo largo del árbol traqueobronquial que difieren en tipo y función. Las células cilíndricas ciliadas caracterizan las vías respiratorias desde la tráquea hasta los bronquiolos terminales. Las células calciformes mucíferas (presentes en los bronquios) tienen la función de secretar moco, útil para mantener la humedad correcta del epitelio y atrapar la materia particulada.

Los trastornos/patologías del aparato respiratorio más comunes se describen a continuación.

35 Rinitis: es un proceso inflamatorio que afecta a la mucosa de las cavidades nasales y puede distinguirse entre aguda y crónica. La rinitis aguda generalmente se sostiene mediante virus, que incluyen rinovirus, virus gripal y paragripal, VSR, virus Coxsackie y adenovirus. Es posible que haya superinfecciones bacterianas, que conducen a complicaciones tales como otitis y sinusitis. El resfriado común provocado por el rinovirus da lugar a síntomas agudos en los primeros días, con un exceso de secreciones de moco que son líquidas y transparentes, y se vuelven purulentas y malolientes en el caso de superposición bacteriana.

La forma crónica es generalmente secundaria a la sinusitis, desviaciones del tabique nasal y adenoides hipertróficas.

45 La rinitis alérgica es del tipo agudo y se debe a la exposición de un sujeto a sustancias que provocan una reacción mediada por IgE, caracterizada por una producción excesiva de líquidos, prurito intranasal, estornudos y obstrucción. Estudios recientes han destacado una correlación en la manifestación de rinitis alérgica y asma, que pueden considerarse como dos manifestaciones de todo el aparato respiratorio, en lugar de atribuir uno a las vías altas y el otro a las vías bajas del árbol respiratorio.

50 Sinusitis: es una inflamación de la mucosa que recubre los senos paranasales, las cavidades óseas que se sitúan en los huesos de la cara y están en comunicación con las fosas nasales. Cuando la sinusitis implica la cavidad nasal se habla de rinosinusitis. Las anomalías ciliares o la inmovilidad determinan una inhibición de drenaje que da como resultado sinusitis. Los factores que predisponen a esta patología son un estado inmunocomprometido, desviación del tabique nasal, pólipos nasales, tumores, traumatismos y fracturas, abuso de cocaína y la presencia de cuerpos extraños. Una forma viral aguda puede ser susceptible a la superinfección bacteriana. Las micosis también son posibles. Los signos y síntomas de rinosinusitis aguda consisten en: secreciones mucopurulentas de la nariz, obstrucción nasal, congestión, dolor facial, hiposmia, anosmia y fiebre. Las formas crónicas tienen una aparición más lenta, una duración más larga y una frecuencia mayor.

60 Faringitis (faringoamigdalitis): es un proceso inflamatorio de la faringe, la hipofaringe, la úvula y las amígdalas, que se transmite generalmente por el contacto directo con las secreciones respiratorias. Es más frecuente en edad pediátrica (5-15 años) y aunque a menudo es autolimitada, la inflamación de las partes implicadas puede provocar una permeabilidad reducida de las vías respiratorias o en cualquier caso impedir la ingestión de cantidades adecuadas de líquidos, con la consiguiente deshidratación. La infección puede sostenerse por virus (tales como Epstein-Barr) y bacterias (tales como *Streptococcus pyogenes*, *C. diphtheriae* beta-hemolítico de grupo A).

Epiglotitis: es una inflamación de la epiglotis, provocada por una infección viral o bacteriana, que determina una inflamación del órgano con una posible obstrucción de las vías respiratorias. Está provocada principalmente por *H. influenzae* de tipo b, pero también por estreptococos, estafilococos o un traumatismo térmico. Se manifiesta con dolor de oído (en adultos) y disfonía, mientras que la fiebre está ausente en hasta el 50% de los casos y puede desarrollarse en una etapa tardía.

Laringitis: es una inflamación que se manifiesta con afonía y ronquera, provocada principalmente por virus, pero también por bacterias (incluyendo estreptococos y *C. diphtheriae*) en hasta el 10% de los casos. Las causas no infecciosas pueden ser tumores, un traumatismo térmico o cáustico o ERGE. Asma: es una patología inflamatoria común, a menudo también pediátrica, cuya etiología se ve influida por factores genéticos y ambientales. Caracterizada por la hiperreactividad de las vías respiratorias, que se manifiesta como una obstrucción excesiva en respuesta a broncoconstrictores y alérgenos, la sobreproducción de moco (debido a la secreción de mediadores por mastocitos y neutrófilos) e infiltración de eosinófilos, afecta a más de 300 millones de personas en el mundo. Bronquiolitis: una enfermedad frecuente en edad pediátrica, se caracteriza por una inflamación extensa de las vías respiratorias acompañada por una producción intensa de moco y necrosis de células epiteliales. Está provocada principalmente por una infección viral, VRS en particular, pero también adenovirus, virus gripales y paragripales y rinovirus, mientras que las bacterias implicadas con mayor frecuencia son del género *Chlamydia*. En edad pediátrica, las manifestaciones clínicas principales son taquipnea, disnea o crepitantes en la auscultación, que generalmente siguen a una infección del aparato respiratorio superior.

Fibrosis quística: es una enfermedad provocada por una mutación del gen que codifica para la proteína CFTR, un canal de aniones expresado en células epiteliales a lo largo del cuerpo. Aunque funciona sobre todo como un canal de iones cloruro, también es capaz de regular la función de otras proteínas de membrana, tales como el canal de sodio epitelial (ENaC), cuya actividad se inhibe. La disfunción del canal de CFTR en los pulmones determina una absorción excesiva de sodio y una secreción activa reducida de cloro, con la consiguiente reducción en la capa líquida en la superficie de la mucosa. Esto conduce a un barrido mucociliar anómalo, con una retención de moco viscoso, lo que favorece infecciones e inflamación y, por tanto, daño pulmonar.

Bronquiectasia: es una patología caracterizada por una dilatación irreversible de una parte del árbol bronquial en los pulmones. La dilatación bronquial puede ser el resultado de un defecto estructural de la pared, una exposición a una presión anómala o un daño al cartílago o tejido elástico como resultado de una inflamación.

Afecta a los bronquios y bronquiolos, en los que puede surgir un círculo vicioso de infección e inflamación, también con la liberación de mediadores. Los síntomas comunes son tos con mocos y dolor torácico. El moco contiene una cantidad aumentada de elastasa, TNF α , IL-8 y prostanoïdes. Puede manifestarse como un proceso obstructivo local o difuso que implica una parte de ambos lóbulos, acompañado también por sinusitis o asma.

En el mercado existen muchos productos mucolíticos que contiene o se basan en, por ejemplo, el principio activo N-acetilcisteína, que actúa rompiendo enlaces disulfuro. Sin embargo, la eficacia de los productos mucolíticos en general, y N-acetilcisteína en particular, no es siempre decisiva y a menudo, como en el caso del principio activo N-acetilcisteína, el uso de los mismos está contraindicado en niños menores de dos años de edad.

La erdoseína es un agente mucolítico capaz de reducir también la adhesividad de las bacterias, y la guaifenesina puede reducir la tensión superficial del moco, con un efecto expectorante. Sin embargo, el uso de estos principios activos tampoco ha proporcionado siempre resultados claros y definitivos con una eficacia apreciable.

Otros productos presentes en el mercado son disolución de NaCl al 0,9% en viales, disoluciones hipertónicas, disoluciones con ácido hialurónico y combinaciones de estas. Sin embargo, la solución salina por sí sola, por ejemplo, sólo puede ejercer un efecto de limpieza en la mucosa o puede servir para facilitar la administración de otros fármacos.

El documento DE 20 2006 011920 U1 divulga una composición para tratar rinitis que comprende (a) cloruro de sodio, (b) musgo islandés (*Lichen islandicus*), también denominado *Cetraria islandica* y, opcionalmente, (c) ácido hialurónico o sus sales. Además, D1 divulga en el ejemplo 1 una composición que comprende (b) *Lichen islandicus* y (a) cloruro de sodio que garantiza una osmolaridad igual a 300 mOsm/l. Sin embargo, la composición del ejemplo 1 de tal documento no contiene ácido hialurónico o sus sales.

El documento DE 20 2013 000445 U1 divulga una composición para el tratamiento de ronquera o enfermedades inflamatorias de la orofaringe (dolor de garganta) que comprende (a) al menos un polisacárido, tal como musgo islandés (*Lichen islandicus*), también denominado *Cetraria islandica*, y (b) al menos un glicosaminoglicano, preferiblemente ácido hialurónico o sus sales, más preferiblemente hialuronato de sodio. Sin embargo, tal documento no menciona nada sobre una composición que también comprende, además de *Cetraria islandica* y ácido hialurónico o su sal de sodio, una solución salina que garantiza una osmolaridad de más de o igual a 300 mOsm/l.

Por tanto, todavía existe una gran necesidad entre los médicos en el campo de ser capaces de tener nuevas

composiciones para tratar trastornos/patologías del aparato respiratorio que sean eficaces, fáciles de usar, sin efectos secundarios y eficaces para todas las categorías de pacientes, incluyendo adolescentes y sujetos de edad pediátrica.

5 El solicitante, después de una larga y extensa actividad de investigación y desarrollo, ha proporcionado una respuesta a las necesidades anteriormente mencionadas mediante el desarrollo de una nueva composición para el tratamiento de trastornos/patologías del aparato respiratorio superior e inferior.

10 La presente invención se refiere a la composición para su uso tal como se reivindica en las reivindicaciones adjuntas.

Las realizaciones preferidas de la presente invención se describen a continuación a modo de ejemplo y, por tanto, no limitan el alcance de la invención.

15 A menos que se especifique lo contrario, dentro del alcance de la presente invención los porcentajes y las cantidades de un componente en una mezcla pretenden referirse al peso de ese componente en relación con el peso total de la mezcla.

20 Dentro del alcance de la presente invención, "tratamiento" de enfermedades significa una terapia dirigida a restablecer un estado de salud del sujeto, mantener los estados existentes y/o evitar que dichos estados de salud empeoren.

25 Dentro del alcance de la presente invención, "prevención" de patologías significa una terapia dirigida a evitar la aparición de una patología de este tipo en un sujeto, también, pero no sólo, como una complicación o un efecto de un estado patológico o trastorno preexistente.

30 En el contexto de la presente invención, composición/composiciones significa cualquier forma farmacéutica y, a modo de ejemplo, composiciones farmacéuticas en un pulverizador o viales, o dispositivos médicos en un pulverizador o viales, todos indistintamente para uso oral, nasal o inhalatorio por aplicación de pulverizador o aerosol.

35 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica líquida para su uso que comprende una mezcla y, opcionalmente, excipientes, aditivos y principios farmacéuticamente aceptables, para el tratamiento de trastornos/patologías del aparato respiratorio superior e inferior.

A modo de ejemplo no limitativo, se utilizan los siguientes excipientes, que se añadirán a la mezcla de la presente invención:

- 40 • Hidróxido de sodio;
- Ácido cítrico;
- Benzoato de sodio;
- 45 • Sorbato de potasio;
- Deshidroacetato de sodio;
- 50 • Polisorbato 20.

55 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una mezcla que comprende o, alternativamente, consiste en *Cetraria islandica Ach.*, hialuronato de sodio y una solución salina con una osmolaridad tal como para asegurar que el producto terminado/composición final tenga una osmolaridad de más de o igual a 300 mOsm/l y, opcionalmente, excipientes, aditivos y principios farmacéuticamente aceptables; para su uso como medicamento en el tratamiento de trastornos/patologías del aparato respiratorio seleccionados de entre rinitis, sinusitis, asma, faringitis (faringoamigdalitis), epiglotitis, laringitis, bronquiolitis, fibrosis quística y bronquiectasia.

60 La composición para su uso de la presente invención ventajosamente muestra un efecto terapéutico eficaz gracias a la acción sinérgica de los componentes/principios activos contenidos en la misma.

65 *Cetraria islandica Ach.*, como extracto líquido, seco o glicérico, contenida en la mezcla, que a su vez está contenida en la composición para su uso de la presente invención, está presente ventajosamente en una concentración en peso comprendida desde el 0,001% hasta el 10% en relación con el producto terminado/composición final, preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,001% hasta el 5% e incluso más preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,001% hasta el 2,5%.

El hialuronato de sodio está presente junto con la *Cetraria islandica Ach.* en una concentración en peso opcional comprendida desde el 0,01% hasta el 5%, preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,05% hasta el 2,50%, o desde el 0,3% hasta el 2,5%, e incluso más preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,1% hasta el 1% o desde el 0,5% hasta el 1%, en relación con el producto terminado/composición final.

El peso molecular promedio del hialuronato de sodio, usado junto con la *Cetraria islandica Ach.*, está comprendido ventajosamente desde 100 kDa hasta 3000 kDa; preferiblemente, el peso molecular promedio del hialuronato de sodio está comprendido desde 200 kDa hasta 1500 kDa; incluso más preferiblemente, el peso molecular promedio del hialuronato de sodio está comprendido desde 300 kDa hasta 1000 kDa, por ejemplo desde 500 kDa hasta 800 kDa.

En el contexto de la presente invención, hialuronato de sodio también incluye ácido hialurónico y/o sales del mismo, tales como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, por ejemplo potasio, magnesio o calcio.

La composición para su uso de la presente invención está en forma líquida y contiene, además de *Cetraria islandica Ach.* y hialuronato de sodio, una solución salina basada en una sal osmóticamente activa, tal como, por ejemplo, cloruro de sodio. La solución salina contenida en la composición para su uso de la presente invención tiene una osmolaridad tal como para asegurar que el producto terminado/composición final tenga una osmolaridad de más de o igual a 300 mOsm/l, preferiblemente comprendida desde 300 mOsm/l hasta 10000 mOsm/l o desde 300 mOsm/l hasta 2000 mOsm/l; incluso más preferiblemente que tenga una osmolaridad comprendida desde 300 mOsm/l hasta 3000 mOsm/l o desde 400 mOsm/l hasta 1000 mOsm/l, por ejemplo 360, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1220, 1660, 2100, 2380 ó 2900 mOsm/l.

La composición de la presente invención es para su uso como medicamento y se indica ventajosamente para el tratamiento de trastornos/patologías del aparato respiratorio superior e inferior, en todas las categorías de pacientes, en particular para el tratamiento de adolescentes y sujetos de edad pediátrica.

La composición de la presente invención es una composición para su uso como medicamento y puede emplearse de manera válida para uso nasal mediante aplicación por pulverizador o aerosol en el tratamiento de trastornos/patologías del aparato respiratorio superior e inferior seleccionados de entre rinitis, sinusitis, asma, faringitis (faringoamigdalitis), epiglotitis, laringitis, bronquiolitis, fibrosis quística y bronquiectasia.

La composición para su uso de la presente invención es ventajosamente para uso oral, nasal o inhalatorio y se administra preferiblemente mediante nebulización con un dispositivo especial, tal como un nebulizador neumático o ultrasónico, o usando un pulverizador, o mediante instilación nasal directa.

Ventajosamente, la composición para su uso de la presente invención hace posible que se obtenga un (a) efecto expectorante eficaz gracias a i) una reducción en la viscosidad del moco y/o ii) una reducción en la adhesividad del moco y/o iii) un aumento en barrido mucociliar.

Además, la composición para su uso de la presente invención también muestra ventajosamente (b) un efecto antibacteriano, y/o (c) un efecto antiinflamatorio, y/o (d) un efecto antioxidante.

Gracias al ácido fumarprotocetrárico, *Cetraria islandica* es capaz de reducir la viscosidad del moco. Gracias a los ácidos liquesterínico, protoliquesterínico y rocelárico puede conducir a la reducción en la tensión superficial del moco y de esta manera reducir la adhesividad del mismo en la mucosa respiratoria. La disolución de cloruro de sodio tiene una acción osmótica que permite la entrada de agua, con el consiguiente aumento en la fluidez del moco. Además, es capaz de conducir a la rotura de los enlaces iónicos de mucinas. Finalmente, ha demostrado una capacidad para reducir la adhesión de ADN a mucinas, facilitándose así la acción de enzimas proteolíticas en la degradación de mucinas así como de ADNasa en la degradación de ADN, que conduce a una reducción en la viscosidad del moco. Estas tres acciones conducen a una reducción en la viscosidad del moco. El hialuronato de sodio es capaz de aumentar el barrido mucociliar. La combinación de los efectos de reducción de la viscosidad del moco, reducción de la adhesividad del moco y aumento del barrido mucociliar conduce a un aumento en la expectoración.

El extracto de *Cetraria islandica* muestra acciones antibacterianas y antimicóticas, cuyo mecanismo aún no se ha esclarecido. El hialuronato de sodio es capaz de reducir la adhesividad de las bacterias a la mucosa respiratoria. Estos dos efectos contribuyen a combatir infecciones bacterianas y fúngicas del aparato respiratorio. *Cetraria islandica* tiene una acción antioxidante, asociada principalmente con el ácido fumarprotocetrárico, que puede contribuir a la reducción del estrés oxidativo y, por tanto, a la inflamación asociada con las patologías que pueden afectar al aparato respiratorio.

Finalmente, *Cetraria islandica* también muestra una acción antiinflamatoria gracias a las liqueninas, que aumentan la producción de IL-10, que a su vez inhibe la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias. Esto puede contribuir a la reducción de la progresión de patologías que afectan al aparato respiratorio y a la reducción de los síntomas asociados con las mismas.

La combinación de los efectos expectorantes, antibacterianos, antiinflamatorios y antioxidantes de los principios activos usados en esta formulación pueden conducir a una eficacia terapéutica en el tratamiento de las patologías del aparato respiratorio asociadas con hipersecreción de moco, y una mejora sustancial en la actividad respiratoria.

Los extractos de *Cetraria Islandica Ach.* en alcohol cetílico que pueden usarse en una realización de la composición para su uso de la presente invención están en forma de un extracto líquido, seco o glicérico. Los extractos de *Cetraria islandica (Cetraria islandica (L.) Ach.*, o musgo islandés, es una especie de líquen fruticoso que crece en el suelo, típico de áreas montañosas) contiene una alta concentración de ácido fumarprotocetrárico, que puede alcanzar el 11,5% en el extracto seco. El ácido fumarprotocetrárico posee una acción expectorante y antioxidante, así como una antibacteriana y antiinflamatoria. La actividad expectorante se evaluó usando el método de rojo de fenol. La administración oral de dosis crecientes de ácido fumarprotocetrárico condujo a un aumento en la cantidad de moco secretado, que fue de 5,03, 6,4 y 8,8 veces mayor que la secreción basal a dosificaciones de 25 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg.

Cetraria islandica contiene diversos metabolitos secundarios, cada uno de los cuales puede tener un papel fisiológico. El principal es el ácido fumarprotocetrárico, pero también están presentes: ácido liquesterínico, ácido protoliquesterínico, ácido rocelárico y ácido protocetrárico. Desde un punto de vista estructural, los ácidos liquesterínico, protoliquesterínico y rocelárico son tensioactivos; por tanto, es probable que actúen reduciendo la tensión superficial del moco. De esta manera, se reduciría la viscosidad del moco y su capacidad para adherirse a células epiteliales, favoreciéndose así la eliminación de los mismos.

Además de los mecanismos de acción implicados en la actividad expectorante, los extractos de *Cetraria* también muestran una acción antibacteriana, antimicótica y antiinflamatoria, que puede contribuir a su eficacia terapéutica en el tratamiento de patologías respiratorias.

El ácido hialurónico es un polímero que consiste en ácido D-glucurónico y D-N-acetilglucosamina, unidos por enlaces glicosídicos β -1,4 y β -1,3. Es un componente de las secreciones normales de las vías respiratorias. Se secreta por las células serosas de la glándula de la submucosa de las vías respiratorias y las células de la superficie del epitelio.

El peso molecular del polímero determina su actividad biológica. De hecho, el ácido hialurónico de bajo peso molecular (< 1000 kDa) es capaz de modificar la frecuencia de latido de los cilios presentes en las células epiteliales de la tráquea.

El uso de una solución salina hipertónica como adyuvante en numerosos problemas del aparato respiratorio es por ahora común. En numerosas situaciones patológicas, tales como, por ejemplo, bronquiectasia, la presencia de exceso de moco representa uno de los factores más importantes para mantener activas la infección e inflamación, con los consiguientes impactos negativos en la calidad de vida así como una morbilidad y mortalidad aumentadas. Una disolución hipertónica de cloruro de sodio es capaz de romper los enlaces iónicos presentes en el moco, lo que puede reducir la viscosidad del mismo reduciendo las reticulaciones.

En una realización (FR1), la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende:

- una mezcla que comprende o, alternativamente, consiste en *Cetraria islandica Ach.*, hialuronato de sodio y una solución salina con una osmolaridad tal como para asegurar que dicha composición tenga una osmolaridad de más de o igual a 300 mOsm/l y, opcionalmente,

- excipientes, aditivos y principios farmacéuticamente aceptables;

para su uso como medicamento en el tratamiento de trastornos/patologías del aparato respiratorio seleccionados de entre rinitis, sinusitis, asma, faringitis (faringoamigdalitis), epiglotitis, laringitis, bronquiolitis, fibrosis quística y bronquiectasia.

En una realización preferida (FR2), en la composición para su uso según FR1, *Cetraria islandica Ach.* está presente como un extracto líquido, seco o glicérico; preferiblemente la *Cetraria islandica Ach.* está presente en una concentración en peso comprendida desde el 0,001% hasta el 10%, preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,1% hasta el 5%, incluso más preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,1% hasta el 2,5%, en relación con el peso total de la composición.

En una realización preferida (FR3), en la composición para su uso según FR1 o FR2, el hialuronato de sodio está presente en una concentración en peso comprendida desde el 0,1% hasta el 5%, preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,3% hasta el 2,5%, incluso más preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,5% hasta el 1%, en relación con el peso total de la composición.

En una realización preferida (FR4), en la composición para su uso según una de FR1-FR3, el peso molecular

promedio del hialuronato de sodio usado junto con *Cetraria islandica Ach.* está comprendido desde 100 kDa hasta 3000 kDa; preferiblemente, el peso molecular promedio del hialuronato de sodio está comprendido desde 200 kDa hasta 1500 kDa; incluso más preferiblemente, el peso molecular promedio del hialuronato de sodio está comprendido desde 300 kDa hasta 1000 kDa.

5 En una realización preferida (FR5), en la composición para su uso según una de FR1-FR4, la solución salina se basa en una sal osmóticamente activa, preferiblemente cloruro de sodio, en una cantidad tal como para asegurar que dicha composición tenga una osmolaridad de más de o igual a 300 mOsm/l, preferiblemente comprendida desde 300 mOsm/l hasta 2000 mOsm/l; incluso más preferiblemente, que tenga una osmolaridad comprendida desde 400 mOsm/l hasta 1000 mOsm/l.

En una realización preferida (FR6), en la composición para su uso según una de FR1-FR5, dicha composición para su uso como medicamento es preferiblemente para el tratamiento de adolescentes y sujetos de edad pediátrica.

15 En una realización preferida (FR8), en la composición para su uso según una de FR1-FR6, dicha composición para su uso como medicamento es para el tratamiento de las patologías del aparato respiratorio asociadas con la hipersecreción de moco, preferiblemente en adolescentes y sujetos de edad pediátrica.

20 En una realización preferida (FR9), en la composición para su uso según una de FR1-FR6 o FR8, dicha composición es para uso oral o nasal mediante aplicación/administración por pulverizador o aerosol.

En una realización preferida (FR10), en la composición para su uso según una de FR1-FR6 o FR8-FR9, dicha composición se administra mediante nebulización con un dispositivo especial, tal como un nebulizador neumático o ultrasónico, o usando un pulverizador, o mediante instilación nasal directa.

25

Materiales y métodos

1. Actividad expectorante

30 La actividad expectorante puede evaluarse usando el método de rojo de fenol, un método ampliamente descrito en la bibliografía [1]-[6].

La administración de la formulación mediante inhalación puede llevarse a cabo mediante intubación de la tráquea de ratas, siguiendo el método descrito por Lizio *et al.* [7]. Para el estudio se hizo uso de ratas macho Sprague-Dawley, que pesan desde 250 hasta 300g. La administración de la formulación se lleva a cabo tras un periodo de aclimatización que dura aproximadamente una semana, durante la que se alojan en habitaciones con temperatura controlada (temperatura de 23±2°C, humedad del 50±2%, ciclos de luz-oscuridad de 12 horas), con acceso libre a agua y alimento. Para ser capaces de intubar la tráquea de las ratas, se administra una dosis de atropina (50 mg/kg, por vía intramuscular) con una ligera anestesia realizada con dióxido de carbono, tal como se describió por Koehler *et al.* [8]. La administración de atropina sirve para reducir la sensibilidad y motilidad de la laringe y la secreción de saliva, facilitándose así la intubación. Diez minutos tras la administración de atropina, se administra una disolución que contiene xilazina (8 mg/kg) y ketamina (80 mg/kg) para inducir la anestesia. Se suspenden las ratas por los incisivos superiores a una barra de metal unida a una mesa inclinada 30° con respecto a la posición supina. Para ser capaces de tener la laringe, faringe y tráquea en el mismo plano, se coloca un cilindro de metal detrás del cuello de los animales. La boca puede mantenerse en una posición abierta usando unas pinzas planas o un fórceps pequeño. La tráquea puede visualizarse gracias a la iluminación percutánea, obtenida usando una lámpara de alta intensidad de 12 V. La luz de la lámpara se transporta por medio de una varilla de fibra óptica colocada en contacto con la piel en la región faringoepiglótica del cuello de la rata, para que sean visibles las cuerdas vocales y la luz de la tráquea. Para la intubación, se hace uso de una aguja de calibre 16, modificada de tal manera que sea 3 mm más corta que el catéter de polietileno y actúe como un "estilete". La parte distal del catéter se corta diagonalmente con una inclinación de 30°. Para ser capaces de insertar el catéter en la tráquea, se lleva a cabo la siguiente operación: la punta del tubo se posiciona a la derecha, después se introduce entre las cuerdas vocales de la rata y finalmente se rota 90° antes de insertarse completamente en la tráquea, de tal manera que se inserte la punta directamente en la luz traqueal. En este momento, puede retirarse la aguja y hacer que el catéter avance [7].

55 Treinta minutos tras la administración de la formulación mediante inhalación, se administra una disolución de rojo de fenol de 10 mg/ml (fenilsulfonftaleína, un indicador ácido-base) por vía intraperitoneal a una dosis de 200 mg/ml. Treinta minutos tras la administración de rojo de fenol, se anestesian los animales; se afeita la parte anterosuperior del cuello y se expone la tráquea. Se realiza un lavado traqueobronquial con 2 ml de solución salina al 0,9% y se recupera 1 ml de líquido tras el lavado. Se centrifuga el líquido del lavado a 1600 rpm durante 10 minutos. En este momento, se recoge el sobrenadante y se le añaden 0,5 ml de una disolución de NaOH 0,01 N para permitir que el indicador cambie de color. La concentración de rojo de fenol se determina por medio de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 535 nm y se expresa en mg/ml [6].

65 Un procedimiento alternativo para llevar a cabo la prueba de rojo de fenol se ha descrito por Kee Jae Song *et al.* En este caso, tras la administración de la formulación, se inyectan 0,2 ml de una disolución de rojo de fenol al 2,5%.

Después de 30 minutos, se sacrifican las ratas. Se disecciona la tráquea y se sumerge en solución salina al 0,9%. Posteriormente, se lava a tráquea y se añaden 0,1 ml de disolución de hidróxido de sodio 1 M a la solución salina. La concentración se mide por medio de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 546 nm.

5 Alternativamente, puede evaluarse la actividad expectorante de las diversas formulaciones que contienen *Cetraria islandica* en ratones usando el método de rojo de fenol, tal como se describe ampliamente en la bibliografía (Engler H y Szelenyi I, J Pharmacol Methods, 1984; 11:151-157; Coppi G y Gatti MT, Farmaco. 1989; 44:541-5; de Barros Alves GM *et al.*, Pulm Pharmacol Ther. 2014; 27:139-43).

10 Los ratones (Charles River, machos de 20-25 g), tras un periodo de aclimatización que dura aproximadamente una semana, durante la que se alojan en habitaciones con temperatura controlada (temperatura de 23±2°C, humedad del 50±2%, ciclos de luz-oscuridad de 12 horas), con acceso libre a agua y alimento, se distribuyen en grupos de 6-10 animales cada uno y reciben las formulaciones que van a someterse a prueba mediante aerosol (5 ml) (véase la tabla 2). Un grupo de control (control positivo) recibe guaifenesina como fármaco de referencia (500 mg/kg por vía oral). Algunos animales no reciben tratamiento (animales no tratados). Después de 30 minutos transcurridos tras la administración, cada ratón recibe, por vía intraperitoneal (i.p.), 200 mg/kg de una disolución (10 mg/ml) de rojo de fenol; treinta minutos tras la administración de rojo de fenol, cada animal, anestesiado con tiletamina/zolazepam (telazol 30 mg/kg i.p.) y xilazina (10 mg/kg i.p.), se somete a lavado broncoalveolar con 2 ml de solución salina (0,9% p/v). Se centrifuga el líquido del lavado recogido a 1600 rpm durante 10 min; se añade NaOH (0,01 N) a los sobrenadantes recogidos en un razón de 2:1 para permitir que el indicador cambie de color desde amarillo hasta rojo. Se mide la absorbancia de las diversas disoluciones mediante un lector espectrofotométrico a 546 nm y se deriva de las mismas la concentración de rojo de fenol (mg/ml) usando una curva de calibración (0,055-10 mg/ml) de rojo de fenol como referencia.

25 2. Actividad antiinflamatoria y antioxidante

La actividad antiinflamatoria y antioxidante de las diversas formulaciones de *C. islandica* se evalúa *in vitro* en una línea de macrófagos murina (J774A.1) estimulados con endotoxina bacteriana (LPS) según un procedimiento previamente descrito (Ialenti *et al.*, Mol Pharmacol 2005; 67:1620-1628).

30 *Macrófagos murinos J774*

Se cultiva la línea celular de macrófagos murinos J774 en un medio apropiado (medio de Eagle modificado por Dulbecco; DMEM) complementado con glutamina 2 mM, Hepes 25 mM, penicilina (100 U/ml), estreptomycin (100 µg/ml), suero bovino fetal al 10% (FBS) y piruvato de sodio al 1,2%. Se siembran las células en placas de Petri con un diámetro de 10 cm a una densidad de 1×10^6 células/placa. En el día del experimento, se siembran las células en placas de 24 pocillos a una densidad de $2,5 \times 10^5$ células/ml/pocillo. Después de 18 horas, se tratan previamente las células durante 2 horas con los compuestos que van a someterse a prueba (tabla 2) y se estimulan con LPS de *Escherichia coli* (serotipo 0111:B4) 10 µg/ml durante 24 horas. Se usa fosfato de dexametasona de sodio (1 mM) como fármaco de referencia. Al final de la incubación, se recoge el sobrenadante del cultivo celular; en último lugar se someterán a ensayo los nitritos y las citocinas proinflamatorias (por ejemplo, TNF α).

Viabilidad celular

45 En experimentos preliminares, se evaluó la citotoxicidad de las sustancias que van a someterse a prueba (tabla 2) mediante la determinación de la respiración celular. La respiración celular, que es una medición de la viabilidad celular, se evalúa mediante la reducción de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) a formazano (Mosmann *et al.*, 1983), una reacción dependiente de las mitocondrias. Se siembran las células en placas de 96 pocillos y se tratan tal como se describió anteriormente. Al final del periodo de 24 horas, se incuban las células con MTT (0,2 mg/ml) durante 1 hora. Posteriormente, se aspira el medio de cultivo y se solubilizan las células en DMSO (100 µl). La reducción de MTT a formazano en las células se evalúa midiendo la absorbancia a 550 nm (DO₅₅₀).

Dosificación de nitritos

55 La concentración de nitritos, un metabolito estable y medible de monóxido de nitrógeno, se mide en el sobrenadante del cultivo celular usando el método colorimétrico de Griess, añadiendo 100 µl de reactivo de Griess (clorhidrato de naftiletildiamina al 0,1% en H₂O destilada y sulfanilamida al 1% en H₃PO₄ al 5%; vol. 1:1) a 100 µl de las muestras. Después de 10 minutos de incubación, se mide la absorbancia del cromóforo en un lector para microplacas a una longitud de onda de 550 nm (DO₅₅₀). Se determina la concentración de nitritos comparando los valores de absorbancia leídos con los de una curva de calibración de nitrito de sodio, preparada en el medio de cultivo celular.

65

Dosificación de citocinas

La concentración de las citocinas proinflamatorias (por ejemplo, TNF α) se mide en el sobrenadante del cultivo celular por medio de un ensayo inmunoenzimático.

Medición de la liberación de mediadores inflamatorios

La actividad antiinflamatoria *in vitro* también puede analizarse midiendo la secreción de IL-10 e IL-12p40 por células dendríticas humanas derivadas de monocitos [16].

Medición de la liberación de interleucina 8 (IL-8), interleucina 6 (IL-6) y RANTES.

Aquino *et al.* informan el siguiente método. Se hace uso de 1×10^6 células, que se les deja adherirse a la placa y luego se tratan durante 2 horas con el extracto cuya actividad se desea medir, y se estimulan con TNF- α durante 14 horas. Se mide la liberación de IL-8, IL-6 y RANTES por medio de la prueba de ELISA y la concentración de citocinas se expresa como pg/ml/ 10^6 células y como porcentaje del control en ausencia de cualquier estimulación o tratamiento [17].

Prueba de actividad de lipoxigenasa

Medio de reacción: tampón tris-HCl. 100 mg de enzima, disolución de ácido linoleico. Se sometió a prueba el efecto inhibidor del extracto de interés añadiendo la disolución madre del extracto a diferentes volúmenes, y midiendo la absorbancia a 234 nm. La actividad de la enzima se monitoriza como aumento en absorbancia en relación con la formación de ácido hidroperoxilinoico [18].

La actividad antioxidante puede evaluarse eligiendo uno de los siguientes métodos propuestos.

DPPH

La actividad antioxidante *in vitro* puede medirse por medio de la prueba de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), que mide la actividad anti-radicales libres. Procedimiento experimental: preparación de disoluciones madre del extracto en DMSO al 5% a una concentración de 1 μ g/ml. Luego se diluyó la disolución a diversas concentraciones expresadas en μ g/ml. Se mezclaron las disoluciones diluidas con disolución metanólica de DPPH 0,05 mg/ml. Las mezclas se analizaron a 517 nm, usando metanol como blanco [11].

CE₅₀, es decir la concentración media con actividad de eliminación se mide usando la prueba de Litchfield y Wilcoxon como la concentración en μ g/ml de muestra necesaria para reducir la concentración inicial de DPPH al 50% [12].

Poder reductor

Procedimiento experimental: preparación de disoluciones madre del extracto en DMSO al 5% a una concentración de 1 μ g/ml. Luego se diluyó la disolución a diversas concentraciones expresadas en μ g/ml. Se mezcló 1 ml de cada extracto con tampón fosfato y ferrocianuro de potasio y se dejaron a 50°C durante 20 minutos; luego se añadió ácido tricloroacético y se centrifugó la mezcla completa. El sobrenadante, mezclado con agua destilada y cloruro férrico, se analizó a 700 nm. Un aumento en la absorbancia indica un aumento en el poder reductor.

Actividad de eliminación en anión superóxido

Procedimiento experimental: preparación de disoluciones madre del extracto en DMSO al 5% a una concentración de 1 μ g/ml. Luego se diluyó la disolución a diversas concentraciones expresadas en μ g/ml. Se hicieron reaccionar 0,1 ml de cada muestra con NBT (nitroazul de tetrazolio) y NADH; se comenzó la reacción con PMS (metosulfato de fenazina). Se realizó el análisis mediante espectrofotometría UV-Vis a 560 nm, considerando una reducción en la absorbancia como indicador de la actividad de eliminación aumentada en el radical del anión de superóxido [11].

Contenido de compuestos fenólicos totales

Se usa el método de Folin-Ciocalteu. Las muestras se colocan en un tubo de ensayo y se añaden reactivo de Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio. La medición se realiza mediante espectrofotometría a 760 nm.

*Otros métodos usados para medir la actividad antioxidante**ABTS*

Esta prueba mide la actividad anti-radicales libres usando 2,2-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico). Este

compuesto puede generarse mediante el sistema enzimático constituido por peróxido de hidrógeno y peroxidasa del rábano. El radical ABTS*, un cromógeno, es estable a temperatura ambiente, pero no lo es por encima de 35°C y a un pH superior a 7,5. Además, la razón de ABTS/ABTS* en el medio influye en la estabilidad; reacciona con ácido ascórbico de manera constante con una estequiometría de 1 mol de ácido ascórbico por 2 moles de ABTS* reducido. La reacción se monitoriza mediante espectroscopía UV-Vis a 414 nm [13], midiendo la reducción en absorbancia. El método contempla la adición de la muestra tras la formación del radical para evitar interacciones con los reactivos [14].

Permite una medición de la actividad antioxidante tanto en sustancias hidrófilas y lipófilas, y es rápido.

ORAC (ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno)

Esta prueba se basa en la producción *in situ* de radicales libres de peróxido generados con un compuesto azo, diclorhidrato de 2,2-azobis(2-metilpropionamida) (AAPH). AAPH genera radicales libres que, en presencia de oxígeno, generan radicales peróxido que interactúan con una sonda fluorescente, cambiando su intensidad y aumentando la frecuencia de la extinción de la fluorescencia. En presencia de antioxidantes, se inhibe la extinción de la fluorescencia. Se realizó un cálculo del área bajo la curva de fluorescencia (micromoles de Trolox por ml). Si la sonda fluorescente es fluoresceína (excitación a 490 nm y emisión a 514 nm), se usa un pH a 7,40 [15]. Otras sondas pueden ser beta-ficoeritrina y pirogalol.

3. Actividad antibacteriana

Se sometió a prueba el posible efecto antibacteriano de las diversas formulaciones de *C. islandica* en las principales bacterias Gram-positivas y Gram-negativas responsables de trastornos respiratorios (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*) usando el ensayo colorimétrico de resazurina según un procedimiento previamente descrito (Grujicic *et al.*, Cytotechnology 2014; 66:803-813).

Para evaluar la actividad antibacteriana y antimicótica de la presente formulación, es posible usar diferentes métodos descritos en la bibliografía. La actividad antibacteriana y antimicótica se determina en las especies de bacterias y hongos que afectan con mayor frecuencia al aparato respiratorio. Los cultivos bacterianos se mantienen en un gel de agar, los fúngicos se mantienen en dextrosa.

El método contempla realizar microdiluciones de la formulación [9]. Para determinar la CMI (concentración mínima inhibitoria), es posible usar el ensayo de resazurina, descrito por Sarker *et al.* [10]. La resazurina es un indicador redox usado en la evaluación del crecimiento microbiano. Tiene un color azul no fluorescente, pero puede oxidarse a resorufina, que tiene un color rosa fluorescente, mediante la oxidoreductasa presente en las células bacterianas aún vivas. Después, se han preparado placas de Petri con los cultivos bacterianos, se añaden 10 µl de una disolución de resazurina y se añade una disolución de la formulación a cada placa de Petri a concentraciones crecientes [9]. Tras un periodo de incubación, se evalúa la actividad antibacteriana: la primera placa que muestra un color azul (que indica la ausencia de crecimiento bacteriano) es la que contiene la concentración mínima inhibitoria que inhibe el crecimiento bacteriano. Se llevan a cabo tres pruebas y se calcula el valor medio de la CMI observada en la prueba de resorufina para determinar la CMI para cada cepa bacteriana [10].

Bibliografía

[1] R. Chakraborty, B. De, N. Devanna, y S. Sen, "Antitussive, expectorant activity of *Marsilea minuta* L., an Indian vegetable", J. Adv. Pharm. Technol. Res., vol. 4, n.º 1, págs. 61-4, enero de 2013.

[2] K. J. Song, Y. J. Shin, K. R. Lee, E. J. Lee, Y. S. Suh, y K. S. Kim, "Expectorant and Antitussive Effect of *Hedera helix* and *Rhizoma coptidis* extracts mixture", Yonsei Med. J., vol. 56, n.º 3, págs. 819-824, 2015.

[3] Y. Ge, F. Zhang, Q. Qin, Y. Shang, y D. Wan, "In Vivo Evaluation of the Antiasthmatic, Antitussive, and Expectorant Activities and Chemical Components of Three *Elaeagnus* Leaves," vol. 2015, 2015.

[4] T. Guo, J. Qing Wei, y J. Ping Ma, "Antitussive and expectorant activities of *Potentilla anserina*," Pharm. Biol., vol. 54, n.º 5, págs. 807-11, mayo de 2016.

[5] K. Shin, T. Kim, J. Kyung, D. Kim, D. Park, y E. Choi, "Effectiveness of the combinational treatment of *Laminaria japonica* and *Cistanche tubulosa* extracts in hair growth," Lab Anim Res, vol. 31, n.º 1, págs. 24-32, 2015.

[6] G. M. De Barros Alves, M. B. De Sousa Maia, E. De Souza Franco, A. M. Galvão, T. G. from Silva, R. M. Gomes, M. B. Martins, E. P. from Silva Falcão, C. M. M. B. De Castro, y N. H. from Silva, "Expectorant and antioxidant activities of purified fumarprotocetraric acid from *Cladonia verticillaris* lichen in mice," Pulm. Pharmacol. Ther., vol. 27, n.º 2, págs. 139-143, 2014.

[7] R. Lizio, a Westhof, C. M. Lehr, y T. Klenner, "Oral endotracheal intubation of rats for intratracheal instillation and

- aerosol drug delivery”, *Lab. Anim.*, vol. 35, n.º 3, págs. 257-60, 2001.
- 5 [8] I. Kohler, R. Meier, A. Busato, G. Neiger-Aeschbacher, y U. Schatzmann, “Is carbon dioxide (CO₂) a useful short acting anaesthetic for small laboratory animals?”, *Lab. Anim.*, vol. 33, n.º 2, págs. 155-161, abril de 1999.
- [9] D. Grujicic, I. Stosic, M. Kosanic, T. Stanojkovic, B. Rankovic, y O. Milosevic- Djordjevic, “Evaluation of in vitro antioxidant, antimicrobial, genotoxic and anticancer activities of lichen *Cetraria islandica*”, *Cytotechnology*, págs. 1-11, 2014.
- 10 [10] S. D. Sarker, L. Nahar, y Y. Kumarasamy, “Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals”, *Methods*, vol. 42, n.º 4, págs. 321-324, 2007.
- 15 [11] D. Grujicic, I. Stosic, y M. Kosanic, “Evaluation of in vitro antioxidant, antimicrobial, genotoxic and anticancer activities of lichen *Cetraria islandica*”, *Cytotechnology*, 2014.
- [12] F. Sansone, T. Mencherini, y P. Picerno, “Microencapsulation by spray drying of *Lanena microcarpa* extract: technological characteristics and antioxidant activity”, *JPP Res*, 2014.
- 20 [13] “An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material-00463537c5d0b00a36000000.pdf”.
- [14] D. Villaño y M. Fernández-Pachón, “Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro”, *Anal. Chim....*, 2005.
- 25 [15] S. Litescu y S. Eremia, “The Use of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assays in the Assessment of Beverages”, ... *Impact ...* 2014.
- 30 [16] S. Omarsdottir, E. S. Olafsdottir, y J. Freysdottir, “Immunomodulating effects of lichen-derived polysaccharides on monocyte-derived dendritic cells”, *Int. Immunopharmacol.*, vol. 6, n.º 11, págs. 1642-1650, noviembre de 2006.
- [17] R. P. Aquino, A. Santoro, y L. Prota, “Composition and anti-inflammatory activity of extracts from three *Paeonia* species”, ... 2014.
- 35 [18] L. Rackova, M. Oblozinsky, D. Kostalova, V. Kettmann, y L. Bezakova, “Free radical scavenging activity and lipoxygenase inhibition of *Mahonia aquifolium* extract and isoquinoline alkaloids”, *J. Inflamm. (Lond)*, vol. 4, n.º 1, pág. 15, 2007.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende:
 - 5 - una mezcla que comprende o, alternativamente, consiste en *Cetraria islandica Ach.*, hialuronato de sodio y una solución salina con una osmolaridad tal como para asegurar que dicha composición tenga una osmolaridad de más de o igual a 300 mOsm/l y, opcionalmente,
 - 10 - excipientes, aditivos y principios farmacéuticamente aceptables;

para su uso como medicamento en el tratamiento de trastornos/patologías del aparato respiratorio seleccionados de entre rinitis, sinusitis, asma, faringitis (faringoamigdalitis), epiglotitis, laringitis, bronquiolitis, fibrosis quística y bronquiectasia.
- 15 2. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que la *Cetraria islandica Ach.* está presente como un extracto líquido, seco o glicérico; preferiblemente, la *Cetraria islandica Ach.* está presente en una concentración en peso comprendida desde el 0,001% hasta el 10%, preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,1% hasta el 5%, e incluso más preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,1% hasta el 2,5%, en relación con el peso total de la composición.
- 20 3. Composición para su uso según la reivindicación 1 ó 2, en la que el hialuronato de sodio está presente en una concentración en peso comprendida desde el 0,01% hasta el 5%, preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,05% hasta el 2,5%, o desde el 0,3% hasta el 2,5%, e incluso más preferiblemente en una concentración en peso comprendida desde el 0,1% hasta el 1% o desde el 0,5% hasta el 1%, en relación con el producto terminado/composición final.
- 25 4. Composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el peso molecular promedio del hialuronato de sodio usado junto con la *Cetraria islandica Ach.* está comprendido desde 100 kDa hasta 3000 kDa; preferiblemente, el peso molecular promedio del hialuronato de sodio está comprendido desde 200 kDa hasta 1500 kDa; incluso más preferiblemente, el peso molecular promedio del hialuronato de sodio está comprendido desde 300 kDa hasta 1000 kDa.
- 30 5. Composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que la solución salina se basa en una sal osmóticamente activa, preferiblemente cloruro de sodio, en una cantidad tal como para asegurar que dicha composición tenga una osmolaridad de más de o igual a 300 mOsm/l, preferiblemente comprendida desde más de 300 mOsm/l hasta 10000 mOsm/l o desde más de 300 mOsm/l hasta 2000 mOsm/l; incluso más preferiblemente, que tenga una osmolaridad comprendida desde más de 300 mOsm/l hasta 3000 mOsm/l o desde 400 mOsm/l hasta 1000 mOsm/l, por ejemplo 360, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1220, 1660, 2100, 2380 ó 2900 mOsm/l.
- 35 6. Composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que dicha composición es para su uso en el tratamiento de adolescentes y sujetos de edad pediátrica.
- 40 7. Composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que dicha composición es para su uso en el tratamiento de las patologías del aparato respiratorio asociadas con hipersecreción de moco, preferiblemente en adolescentes y sujetos de edad pediátrica.
- 45 8. Composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que dicha composición es para uso oral, nasal o inhalatorio, mediante aplicación/administración por pulverizador o aerosol.
- 50 9. Composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la que dicha composición se administra mediante nebulización con un dispositivo especial, tal como un nebulizador neumático o ultrasónico, o usando un pulverizador, o mediante instilación nasal directa.