

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 565**

51 Int. Cl.:

**A61P 31/04** (2006.01)

**A61K 31/785** (2006.01)

**A61K 31/7028** (2006.01)

**A61K 38/14** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.08.2015 PCT/EP2015/069334**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.02.2016 WO16026981**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.08.2015 E 15751042 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2019 EP 3183003**

54 Título: **Métodos para la prevención y/o el tratamiento de infecciones**

30 Prioridad:

**22.08.2014 EP 14382324**

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

**11.05.2020**

73 Titular/es:

**INSTITUT D'INVESTIGACIÓ BIOMÈDICA DE  
BELLVITGE (IDIBELL) (100.0%)  
Hospital Duran i Reynals, 3ª planta, Gran Via de  
l'Hospitalet, 199  
08908 Hospitalet de Llobregat, Barcelona, ES**

72 Inventor/es:

**MAÑEZ MENDILUCE, RAFAEL;  
COSTA VALLÉS, CRISTINA;  
PÉREZ CRUZ, MAGDIEL y  
BELLO GIL, DANIEL**

74 Agente/Representante:

**FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás**

**ES 2 759 565 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

Métodos para la prevención y/o el tratamiento de infecciones

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere al campo de la terapéutica y, más en particular, a agentes y composiciones para la prevención y/o el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal en un sujeto.

10 **Antecedentes de la técnica**

Las infecciones graves, incluyendo septicemia (disfunción orgánica aguda secundaria a una infección) y el choque séptico (septicemia grave más hipotensión no revertida con rehidratación) son problemas de atención sanitaria importantes, que afectan a millones de individuos en todo el mundo cada año, con el fallecimiento de uno de cada cuatro (y a menudo más) pacientes, y de incidencia creciente. En el caso particular de septicemia y choque séptico, no existe un tratamiento específico. Se consideró la drotrecogina alfa (Xigris®) durante varios años como la única terapia para estos estados. Sin embargo, recientemente se retiró del mercado porque un ensayo clínico repetido no mostró la eficacia observada en el ensayo PROWESS inicial.

20 Pueden considerarse dos tipos de infecciones graves. En primer lugar, la infección provocada por microorganismos exógenos que colonizan las vías respiratorias altas, incluyendo neumococos y meningococos, en la que hay vacunas específicas disponibles para prevenir la enfermedad relacionada con la infección. El impacto de la vacunación en las infecciones meningocócicas es incuestionable, ya que el número de casos de septicemia meningocócica o meningitis en adultos jóvenes durante los últimos 25 años ha disminuido drásticamente. Los beneficios de la vacunación en relación con los casos de septicemia neumocócica o meningitis son más controvertidos, ya que todavía se producen incluso en sujetos vacunados.

30 El segundo grupo principal de infecciones graves lo producen bacterias entéricas endógenas. La hipótesis del "origen intestinal de las infecciones" propone que bacterias, que residen normalmente dentro de la luz del tracto intestinal, translocan a través de la barrera epitelial intestinal y actúan como fuente de infección en sitios distantes. Se ha demostrado que varios factores predisponen a la translocación bacteriana. Estos incluyen choque con flujo sanguíneo esplácnico reducido, nutrición parenteral, daño epitelial intestinal y terapia con antibióticos.

35 La importancia clínica de la translocación bacteriana es notable en las infecciones hospitalarias y de pacientes neutropénicos, desempeñando un papel importante en la causalidad de la septicemia. Esto puede afectar hasta al 12% de los pacientes ingresados en la UCI (septicemia adquirida en la UCI) y el 1,6% de las personas con cáncer al año. En comparación con la población general, los pacientes con cáncer tienen cuatro veces más probabilidades de ser hospitalizados con infecciones graves, con una mortalidad en el hospital del 37,8%. Otros pacientes que corren el riesgo de infecciones bacterianas entéricas son aquellos sometidos a cirugía o procedimientos médicos. Después de cirugía cardíaca, el 1,4% de los pacientes desarrollan infecciones graves con una tasa de mortalidad del 32%. Además, un estudio reciente mostró que, después de cirugía general, se produjeron septicemia y choque séptico en el 2,3% y el 1,6% de los pacientes, respectivamente, mientras que la incidencia de embolia pulmonar e infarto de miocardio fue del 0,3% y el 0,2%, respectivamente. Las tasas de mortalidad en un plazo de 30 días fueron del 5,4% para infección grave, el 33,7% para choque séptico, el 9,1% para embolia pulmonar y el 32% para infarto de miocardio. Estos datos sugieren que las infecciones graves son una complicación común y grave en aquellos pacientes que se someten a cirugía general, y que se producen con más frecuencia que la embolia pulmonar o el infarto de miocardio.

50 Se han propuesto algunas estrategias en la prevención y/o el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias entéricas en un sujeto. El documento US8361441 B2 divulga un método para la prevención y/o el tratamiento de infecciones bacterianas provocadas por *Enterobacteriaceae* en un mamífero que comprende la administración de una proteína A de membrana externa bacteriana (OmpA) o su derivado. El documento WO2004078209 A1 divulga un método para el tratamiento de una enfermedad entérica provocada por una bacteria Gram-negativa, que incluye administrar una vacuna o un material hiperinmunitario producido contra dicha vacuna a un individuo, en el que la vacuna comprende uno o más antígenos de pared celular reactivos de una manera característica de los serotipos del grupo O, o reactivos de una manera característica de los antígenos asociados a lipopolisacáridos, y al menos algunos de dichos antígenos se separan de las paredes celulares bacterianas o fragmentos de pared.

60 El documento US2007/249524 A1 divulga un método para tratar infecciones por *Clostridium difficile* mediante la administración de un oligosacárido que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal. El oligosacárido puede administrarse por vía oral por vía rectal, y se usa para tratar una infección en el tracto gastrointestinal.

65 El documento US 2004/058888 A1 se refiere a reactivos y métodos de síntesis de di y trisacáridos biológicamente activos que comprenden  $\alpha$ -D-Gal(1-3)-D-Gal. Divulga un método de tratamiento de infecciones por *Clostridium difficile*.

El documento EP0089940 A1 describe el uso de oligosacáridos que contienen resto  $\alpha$ -galactosilo terminal para el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias.

5 Sin embargo, estos documentos no divulgan un método para tratar infecciones que no sean en el tracto gastrointestinal.

10 K.H. Lin *et al* (Antimicrobial agents and Chemotherapy 2010, 54 (10), 4129-4136), describen que la alfa-galactosil-ceramida ( $\alpha$ -GalCer) y su análogo, C34, que comprenden un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, pueden usarse para tratar infecciones por *Staphylococcus aureus*. Específicamente, los compuestos se usan para tratar una herida en el muslo. Este documento no divulga el uso de una estructura principal de poli-L-lisina como soporte para el resto  $\alpha$ -galactosilo.

15 El documento WO 2004/069873 A2 describe el uso de "intercambiadores de especificidad" para tratar o prevenir enfermedades humanas. Un intercambiador de especificidad comprende un dominio de especificidad que tiene menos de 200 aminoácidos de longitud unido a al menos un sacárido, preferiblemente Gal $\alpha$ (1,3)-Gal $\beta$ . En el documento WO 2004/069873 A2, el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal se liga a dicho dominio de especificidad diseñado para unirse a un patógeno.

20 Teranishi K *et al* (Xenotransplantation 2001, 8(1) 4-5); Domenech N *et al* (Transplantation proceedings 2003, 35(5), 2049-2050); Katopodis A G *et al* (Journal of clinical investigation 2002, 110(12), 1869-1877); y Karsten Wiebe *et al* (Transplantation 2006, 82 (5), 681-688), describen el uso de GAS914 para el tratamiento de rechazo hiperagudo de órganos de cerdo en monos del viejo mundo pero no divulgan que la reducción de anticuerpos anti-Gal pueda usarse para tratar infecciones bacterianas.

25 Sin embargo, todavía existe la necesidad en el estado de la técnica de identificar agentes adecuados y eficaces para su uso en el tratamiento o la prevención de infecciones en un sujeto provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal incluyendo bacterias entéricas.

### Breve resumen de la invención

30 Los autores de la presente invención han encontrado que la retirada de anticuerpos contra residuos de galactosa- $\alpha$ 1,3-galactosa mediada por GAS914 en un sujeto aumenta la actividad bactericida en suero contra aislados sanguíneos de *Escherichia coli*, proponiendo un papel para aquellos compuestos que comprenden un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal en la prevención y/o el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal, particularmente bacterias entéricas, en un sujeto.

40 Por tanto, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a GAS 914 para su uso en la prevención de una infección en un sujeto, en el que dicha infección está provocada por bacterias del tracto gastrointestinal, y la infección se produce en la sangre, el corazón, el aparato cardiovascular, el hígado, el pulmón, las vías respiratorias, el riñón, las vías urinarias, el sistema nervioso central, la piel, tejidos subcutáneos o heridas quirúrgicas

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición que comprende:

45 (i) GAS914, y

(ii) un antibiótico.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición como la anterior para su uso en medicina.

50 En un último aspecto, la invención se refiere a una composición como la anterior para su uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal en un sujeto.

### Breve descripción de las figuras

55 La figura 1 muestra los efectos de la retirada de anticuerpos anti-Gal en ratones Gal-KO. Tasa de supervivencia (A) y bienestar (B) en ratones tratados con GAS914 (n = 17) antes de la CLP y ratones de control (n = 17). (C) Tasa de supervivencia en ratones tratados con GAS914 12 h después de la CLP y ratones de control. (D) Niveles de IgG e IgM anti-Gal en ratones tratados con GAS914 antes de la CLP y ratones de control.

60 La figura 2 muestra un aumento en anticuerpos IgG que se unen a *E. coli* en ratones Gal-KO que experimentan septicemia después de la retirada de anticuerpos anti-Gal mediante GAS914.

65 La figura 3 muestra el efecto bactericida de GAS914 en ratones Gal-KO, en el que la reactividad sérica en ratones Gal-KO tratados con GAS914 es similar a la observada en ratones naturales que carecen de anticuerpos anti-Gal. CLP: punción y ligadura del colon.

La figura 4 muestra un dendrímero de poli(amidoamina) (PAMAM) de segunda generación (G2, 16 ramas) funcionalizado con múltiples copias del trisacárido alfa-Gal.

## 5 Descripción detallada

La invención se refiere al objeto definido en las reivindicaciones; la siguiente descripción está sujeta a esta definición.

10 Los autores de la presente divulgación han encontrado que la retirada de anticuerpos para galactosa- $\alpha$ 1-3 galactosa (anticuerpos anti-Gal) de suero usando un compuesto que contiene un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, en particular GAS914, da como resultado un aumento de la reactividad de IgG en suero y actividad bactericida a aislados bacterianos de la sangre, en particular a aislados de *Escherichia coli*, en un modelo animal que genera anticuerpos naturales anti-Gal (ratones Gal-KO). Este aumento da como resultado niveles de reactividad de IgG que son  
15 similares a los observados en ratones naturales que carecen de anticuerpos anti-Gal (véase el ejemplo 2). Basándose en estos datos experimentales, los autores de la presente divulgación concluyen que la retirada de anticuerpos anti-Gal aumentó la actividad bactericida en suero, y propusieron un papel para aquellos compuestos que comprenden un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal en la prevención y/o el tratamiento de infecciones en un sujeto provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal, particularmente bacterias entéricas.

20

### Definiciones

El término " $\alpha$ -galactosilo" o "resto  $\alpha$ -galactosilo" o "residuo  $\alpha$ -galactosilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un residuo de galactosa terminal en una molécula, es decir, a un radical glicosilo derivado de  $\alpha$ -  
25 galactosa. En algunos contextos, el término alfa-galactosilo se refiere en particular a una unidad de alfa-galactosa unida a un segundo monosacárido.

El término "agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal", tal como se usa en el presente documento, también conocido como "agente alfa-galactosilo" o "agente de unión a anti-Gal" se refiere a cualquier molécula, o  
30 parte de una molécula, con una estructura terminal que comprende Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc-R, Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-3GlcNAc-R, o cualquier cadena de hidratos de carbono con Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal en el extremo no reductor, o a cualquier molécula con unidad  $\alpha$ -galactosilo terminal, capaz de unirse al anticuerpo anti-Gal, en la que dicha unidad  $\alpha$ -galactosilo puede unirse a un segundo monosacárido, tal como galactosa o glucosa. El epítipo  $\alpha$ -Gal (también conocido como "epítipo alfa-galactosilo" o "epítipo de unión anti-Gal") se sintetiza mediante la enzima de  
35 glicosilación  $\alpha$ -1,3-galactosiltransferasa ( $\alpha$ 1,3GT) y se expresa en cantidades muy grandes en las células de mamíferos no primates, prosimios y en monos del nuevo mundo. Se inactivó el gen  $\alpha$ 1,3GT en primates del viejo mundo ancestrales. Por tanto, los humanos, simios y monos del viejo mundo carecen de epítipos  $\alpha$ -gal y producen anticuerpos anti-Gal de alto título. En particular, el agente de la divulgación comprende un  $\alpha$ -galactosilo terminal, en el que dicho  $\alpha$ -galactosilo se selecciona del grupo que comprende Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-  
40 6Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal y unidad(es) de azúcar de  $\alpha$ -galactosa terminal(es) capaces de unirse a anticuerpos anti-Gal.

El término "glicolípido  $\alpha$ -Gal", se refiere a cualquier glicolípido que tiene al menos un resto  $\alpha$ -gal en su extremo no reductor de la cadena de hidratos de carbono. El término "liposomas  $\alpha$ -Gal" se refiere a cualquier liposoma que tiene  
45 un resto  $\alpha$ -gal y es capaz de unirse al anticuerpo anti-Gal.

El término "anticuerpo anti-Gal", o "anti-Gal", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo que interactúa específicamente con el epítipo  $\alpha$ -Gal (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GcNAc-R o Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-3GcNAc-R) en glicolípidos, glicoproteínas u otras moléculas que comprenden el epítipo alfa-galactosilo. Este anticuerpo constituye  
50 aproximadamente el 1% de IgG circulante en suero humano y se produce, tras la estimulación, por el 1% de linfocitos B circulantes. El anticuerpo anti-Gal también está presente como anticuerpos IgA en secreciones corporales tales como saliva, leche y calostro. Se ha propuesto que la fuente antigénica para la producción constante de anticuerpos anti-Gal son los epítipos de tipo alfa-galactosilo encontrados en muchas bacterias de la flora gastrointestinal. Mientras que anti-Gal es abundante en humanos, simios y monos del viejo mundo, está ausente en monos del nuevo mundo, prosimios y mamíferos no primates. El último grupo de especies produce, sin embargo, grandes cantidades de epítipos alfa-galactosilo. Se estima que anti-Gal apareció en monos del viejo mundo ancestrales hace menos de 28 millones de años, posiblemente como resultado de un acontecimiento evolutivo que ejerció una presión selectiva para la supresión de la expresión de epítipos alfa-galactosilo mediante la inactivación del gen para la enzima alfa-1,3-galactosiltransferasa. Esto también dio como resultado la pérdida de tolerancia inmunitaria al epítipo alfa-galactosilo y la producción de anti-Gal. Los anticuerpos anti-Gal se unen *in vivo*  
60 a epítipos  $\alpha$ -gal cuando se administran a humanos o monos del viejo mundo. Esto es particularmente evidente en el contexto de xenotrasplante, donde la unión *in vivo* de anti-Gal a epítipos  $\alpha$ -gal en riñón o corazón de cerdo trasplantado es la causa principal del rápido rechazo de tales injertos en humanos y monos del viejo mundo. Los anticuerpos anti-Gal son responsables del rechazo hiperagudo de un xenoinjerto.

El término “antibiótico”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una sustancia química producida por un ser vivo o un derivado sintético de la misma que a bajas concentraciones destruye o impide el crecimiento de determinadas clases de microorganismos sensibles, generalmente bacterias, aunque algunos antibióticos también se usan para el tratamiento de infecciones por hongos o protozoos. Los antibióticos se usan en medicina humana, animal u hortícola para tratar infecciones provocadas por microorganismos. Los antibióticos incluidos en la presente divulgación son, sin limitación, antibióticos aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefem, carbapenems, cefalosporinas, glicopéptidos, macrólidos, monobactamas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas y otros tales como arsfenamina, cloranfenicol, clindamicina, lincomicina, etambutol, fosfomicina, ácido fusídico, furazolidona, isoniazida, linezolid, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoina, platensimicina, pirazinamida, quinupristina/dalfopristina, rifampina o rifampicina, tinidazol, viomicina y capreomicina; preferiblemente cefalosporinas, tetraciclinas, glicopéptidos, carbapenems, polipéptidos, rifampicina, aminoglucósidos, sulfonamidas, viomicina y capreomicina. En una realización preferida, el antibiótico se selecciona del grupo de carbapenems, cefalosporinas, monobactamas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas.

Los términos “anticuerpo”, “inmunoglobulina” y términos similares se refieren a un polipéptido sustancialmente codificado por un gen de inmunoglobulina o genes de inmunoglobulina, o fragmentos de los mismos, que se unen específicamente y reconocen un analito (antígeno). Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen los genes de las regiones constantes kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como la miríada de genes de la región variable de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican como o bien kappa o bien lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulina, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Una unidad estructural de inmunoglobulina (anticuerpo) a modo de ejemplo se compone de dos pares de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena “ligera” (aproximadamente 25 kD) y una “pesada” (aproximadamente 50-70 kD). El extremo N-terminal de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos responsable principalmente del reconocimiento de antígenos. Los términos cadena ligera variable (VL) y cadena pesada variable (VH) se refieren a estas cadenas ligera y pesada respectivamente. Los extremos C-terminales de cada cadena pesada se unen juntos por disulfuro, y forman la región constante del anticuerpo. Según la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos pueden asignarse a diferentes “clases”. Hay cinco clases principales de anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas pueden dividirse adicionalmente en “subclases” (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Las “cadenas ligeras” de inmunoglobulina de cadena completa (de aproximadamente 25 kDa o aproximadamente 214 aminoácidos) comprenden una región variable de aproximadamente 1-10 aminoácidos en el extremo NH<sub>2</sub> terminal y una región constante kappa o lambda en el extremo COOH-terminal. Las “cadenas pesadas” de inmunoglobulina de longitud completa (de aproximadamente 50 kDa o aproximadamente 446 aminoácidos) comprenden de manera similar una región variable (de aproximadamente 1 a 16 aminoácidos) y una de las clases o regiones constantes de cadena pesada mencionadas anteriormente, por ejemplo, gamma (de aproximadamente 330 aminoácidos). Las estructuras de las subunidades y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas se conocen bien.

El anticuerpo descrito en el presente documento es un anticuerpo anti-Gal que reconoce y se une a un epítipo  $\alpha$ -Gal, en el que dicho epítipo comprende un  $\alpha$ -galactosilo terminal. Más particularmente, el anticuerpo anti-Gal reconoce y se une a un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal que se selecciona del grupo que comprende Gal $\alpha$ 1-3Gal, Gal $\alpha$ 1-2Gal, Gal $\alpha$ 1-6Gal y unidad(es) de azúcar de  $\alpha$ -galactosa capaces de unirse a anticuerpos anti-Gal. Más preferiblemente, el anticuerpo anti-Gal reconoce y se une a un epítipo  $\alpha$ -Gal o a un agente que comprende un Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal. Incluso más preferiblemente, el anticuerpo anti-Gal reconoce y se une a GAS914. Tal como se usa en el presente documento, la expresión “un anticuerpo selecciona como diana” se refiere al reconocimiento específico y la unión del anticuerpo a un antígeno particular. Tal como se usa en el presente documento, la expresión “se une específicamente a” se refiere a la capacidad de los anticuerpos para unirse específicamente a epítopos que comprenden un  $\alpha$ -galactosilo terminal y no a epítopos que comprenden otros hidratos de carbono.

El término “bacterias del tracto gastrointestinal”, tal como se usa en el presente documento, también conocidas como “microflora intestinal” o “flora del tracto gastrointestinal” se refiere a bacterias, incluyendo bacterias aerobias y anaerobias, encontradas normalmente en el tracto intestinal en un sujeto sano. La composición de la flora del tracto gastrointestinal difiere entre diversas especies animales, y dentro de una especie animal. En humanos, hay diferencias en la composición de la flora que están influidas por la edad, la dieta, las condiciones culturales y el uso de antibióticos. En el tracto gastrointestinal superior de humanos adultos, el esófago contiene sólo las bacterias tragadas con saliva y alimentos. Debido a la alta acidez del jugo gástrico, pueden cultivarse muy pocas bacterias (principalmente lactobacilos tolerantes a ácido) a partir del estómago normal. El intestino delgado proximal tiene una flora Gram-positiva relativamente escasa, que consiste principalmente en lactobacilos y *Enterococcus faecalis*. Esta región muestra aproximadamente 10<sup>5</sup>-10<sup>7</sup> bacterias por ml de líquido. La parte distal del intestino delgado contiene mayores números de bacterias (10<sup>8</sup>/ml) y especies adicionales, incluyendo coliformes (*E. coli* y relacionados) y *Bacteroides*, además de lactobacilos y enterococos. La flora del intestino grueso (colon) es cuantitativamente similar a la encontrada en heces. Las poblaciones de bacterias en el colon alcanzan niveles de 10<sup>11</sup>/ml en heces. Los coliformes se vuelven más prominentes, y los enterococos, clostridios y lactobacilos pueden encontrarse de manera

regular, pero las especies predominantes son *Bacteroides* anaerobios y bacterias del ácido láctico anaerobias en el género *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium bifidum*). Estos organismos pueden superar en número a *E. coli* en de 1.000:1 a 10.000:1. A veces, pueden residir números significativos de metanógenos anaerobios (hasta  $10^{10}$ /g) en el colon de humanos. La composición de la flora del tracto gastrointestinal varía a lo largo del tracto (a niveles longitudinales) y a través del tracto (a niveles horizontales) donde determinadas bacterias se unen al epitelio gastrointestinal y otras se producen en la luz. En una realización particular, las bacterias del tracto gastrointestinal son bacterias entéricas.

El término “dendrímero”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una macromolécula que tiene un núcleo y que tiene múltiples vainas de estructuras ramificadas que emanan del núcleo. La forma y el tamaño de un dendrímero puede variar. En una realización particular, el dendrímero es de forma aproximadamente esférica o globular. El dendrímero puede tener un diámetro en el intervalo de aproximadamente 15 ángstrom (Å) a aproximadamente 250 Å, con un intervalo correspondiente de pesos moleculares, por ejemplo, desde aproximadamente 500 Dalton hasta aproximadamente 2 millones de Dalton. Los dendrímeros pueden obtenerse comercialmente de diversas fuentes (por ejemplo, Dendritech, Midland, Michigan) o sintetizarse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica. Las moléculas dendríticas pueden dividirse aproximadamente en las especies de bajo peso molecular y alto peso molecular. La primera categoría incluye dendrímeros y dendritas mientras que la segunda abarca polímeros dendronizados, polímeros hiperramificados y polímeros de cepillo (también denominados cepillos de botella). Los dendrímeros y las dendritas son compuestos repetidamente ramificados, monodispersos y habitualmente muy simétricos. No hay ninguna diferencia evidente en la definición de dendrímero y dendrita. Una dendrita contiene generalmente un solo grupo químicamente direccionable que se denomina punto focal. Debido a la falta de distribución de la masa molar, los dendrímeros y dendritas de alta masa molar son macromoléculas pero no polímeros. Las propiedades de los dendrímeros están dominadas por los grupos funcionales en la superficie molecular. La encapsulación dendrítica de moléculas funcionales permite el aislamiento del sitio activo, una estructura que imita la estructura de los sitios activos en biomateriales porque los andamiajes dendríticos separan las funciones internas y externas. Por ejemplo, un dendrímero puede ser soluble en agua cuando su grupo final es un grupo hidrófilo, como un grupo carboxilo.

Los dendrímeros pueden caracterizarse generalmente por las siguientes características: (i) un núcleo iniciador (I) que puede tener uno o más sitios reactivos y ser puntiformes o de un tamaño significativo para afectar la topología final del dendrímero; (ii) una o más capas de unidades de repetición ramificadas unidas al núcleo iniciador; (iii) grupos terminales funcionales, tales como grupos aniónicos o catiónicos, unidos, opcionalmente a través de grupos de unión, a la superficie del dendrímero.

El resto del núcleo puede contener sólo 1 punto de unión para una unidad estructural o puede contener 2, 3 o más puntos, que pueden o no usarse adicionalmente para la unión de unidades estructurales. Normalmente, el punto de unión es un grupo amino libre. Los restos del núcleo pueden consistir en, comprender o derivarse de una unidad estructural o pueden ser una molécula diferente a las unidades estructurales. En el presente documento se ilustran restos del núcleo a modo de ejemplo y se describen en la publicación WO/2007/106944.

El término “bacterias entéricas”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a bacterias en forma de bastón Gram-negativas con metabolismo facultativo anaerobio que viven en los tractos intestinales de animales sanos y enfermos. También se caracterizan por ser positivas verdaderas para catalasa y citocromos, fermentando glucosa mediante una de las dos rutas principales dando una variedad de productos finales, siendo negativas para oxidasa y presentando el antígeno común enterobacteriano en la pared celular. Algunos de los miembros de esta familia pueden vivir en el intestino sin provocar problemas de salud en individuos con buena salud, mientras que otros casi siempre provocan signos de infección, incluyendo vómitos, diarrea y síntomas relacionados. En una realización particular, las bacterias entéricas se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Veillonella*, y la familia *Enterobacteriaceae*.

El término “familia *Enterobacteriaceae*”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a bacterias entéricas seleccionadas del grupo que consiste en bacterias del género *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* y *Yersinia*.

El término “epítipo” o “determinante antigénico”, tal como se usa en el presente documento, incluye cualquier región de un antígeno que se reconoce específicamente por un anticuerpo. Uno y el mismo antígeno puede tener epítipos diferentes. Cada epítipo generalmente consiste en agrupaciones de superficies químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar, que tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. En el contexto de la presente divulgación, el epítipo es un epítipo  $\alpha$ -Gal, en el que dicho epítipo comprende un  $\alpha$ -galactosilo terminal, y en el que dicho epítipo se reconoce y une por anticuerpos anti-Gal.

El término “infección”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a invasión por bacterias, virus, hongos,

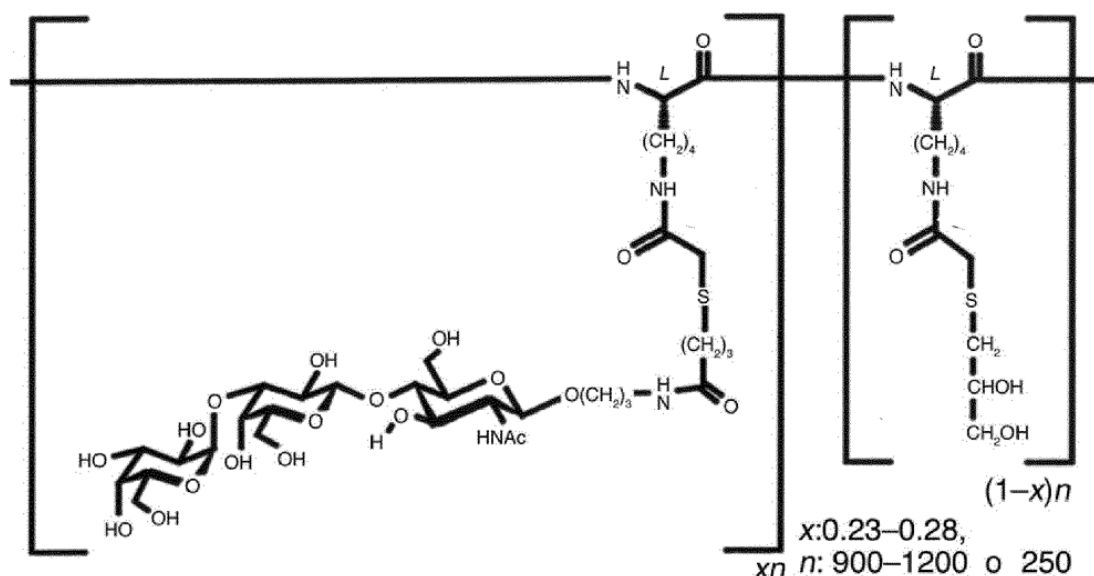
protozoos u otros microorganismos, haciendo referencia a la proliferación no deseada o presencia de invasión de microbios patógenos en un organismo huésped. Incluye el crecimiento excesivo de microbios que normalmente están presentes en o sobre el cuerpo de un mamífero u otro organismo. Más generalmente, una infección microbiana puede ser cualquier situación en la que la presencia de una(s) población/poblaciones microbiana(s) está(n) dañando a un mamífero huésped. Por tanto, una infección microbiana existe cuando están presentes números excesivos de una población microbiana en o sobre el cuerpo de un mamífero, o cuando los efectos de la presencia de una(s) población/poblaciones microbiana(s) está(n) dañando las células u otro tejido de un mamífero. En particular, en el contexto de la presente divulgación, la infección es una infección bacteriana. En una realización particular, la infección bacteriana está provocada por bacterias del tracto gastrointestinal. En una realización más particular, las bacterias del tracto gastrointestinal son bacterias entéricas, preferiblemente bacterias entéricas seleccionadas del grupo que consiste en bacterias del género *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactobaacilus*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptotoccus* y *Veillonella*, y la familia *Enterobacteriaceae*. Más particularmente, las bacterias entéricas se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactobacilus*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* y *Veillonella*. En otra realización, las bacterias del tracto gastrointestinal no son bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* que provocan infecciones gastrointestinales, no son bacterias del género *Clostridium* y/o no son bacterias del género *Staphylococcus*. Bacterias entéricas de la familia *Enterobacteriaceae* que producen infecciones gastrointestinales son aquellas seleccionadas del grupo que consiste en bacterias del género *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y cepas de *E. coli* enteropatógenas (EPEC, agente causal de diarrea), enterotoxigénicas (ETEC, agente causal de diarrea sin fiebre), enteroinvasivas (EIEC, causal de un síndrome similar a la shigelosis), enterohemorrágicas (EHEC, agente causal de diarrea con sangre) y enteroagregativas (EAEC, también conocida como agente causal heteroadherente de diarrea líquida sin fiebre).

El término “galactosa” o “Gal”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un epímero C-4 de glucosa que existe tanto en forma de cada abierta como cíclica. La forma de cadena abierta tiene un carbonilo al final de la cadena. En la forma de cadena abierta los isómeros D y L no pueden separarse, pero las formas cíclicas pueden cristalizarse y aislarse.

El término “Gal( $\alpha$ 1,3)Gal” o “Gal( $\alpha$ 1,3)” o  $\alpha$ 1,3-galactobiosa (en algunos contextos, también denominada alfa-Gal) se refiere a galactosa( $\alpha$ 1,3)galactosa (n.º CAS 13168-24-6). Los compuestos que comprenden un epítipo galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa incluyen, sin limitación, galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa y derivados de la misma incluyendo oligómeros (por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros) de galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa y glicopéptidos que portan oligosacáridos con galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa terminal. Los derivados de galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa incluyen, por ejemplo, amidas, ésteres, éteres, aminas, sulfonamidas, tioéteres, acetales, carbamatos, ureas y amidinas. Los ejemplos de compuestos que comprenden un epítipo galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa, a modo de ilustración y no limitación, incluyen galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa ( $\alpha$ 1-3-galactobiosa) (Gal $\alpha$ 1-3Gal) y derivados de la misma tales como, por ejemplo, derivados de glucosamina, trisacárido B-2 lineal (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc), trisacárido B-6 lineal (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc) y derivados de los mismos,  $\alpha$ 1-3 galactobiosil  $\beta$ -metil glucósido,  $\alpha$ 1-3,  $\beta$ 1-4 galactotriosa (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Gal), galactotetraosa (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Gal $\alpha$ 1-3-D-Gal), y derivados de lo anterior tales como, por ejemplo, derivados de aminoácido (por ejemplo, dodecalisina, glicina) y glicopéptidos con galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa.

De manera similar, los términos “Gal( $\alpha$ 1,2)Gal”, “Gal( $\alpha$ 1,6)Gal” y “Gal( $\alpha$ 1,6)Glc” se refieren, respectivamente, a galactosa( $\alpha$ 1,2)galactosa, galactosa( $\alpha$ 1,6)galactosa y galactosa( $\alpha$ 1,6)glucosa.

El término “GAS914”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un conjugado de trisacárido-pollisina de Gal soluble de aproximadamente 500 kDa que compite de manera eficaz por la unión de  $\alpha$ -Gal mediante anticuerpos IgM (CI(50), 43 nM) e IgG (CI(50), 28 nM) de  $\alpha$ -Gal *in vitro* (Katopodis G *et al.* 2002 J. Clin. Invest., 110: 1869-1877; Zhong R *et al.* 2003 Trasplantation 75: 10-19). Es un antígeno inyectable artificial con una estructura principal de polisina lineal (con una longitud promedio de 1.000 lisinas) y con aproximadamente el 25% de cadenas laterales conjugadas a trisacárido B lineal (trisacárido B lineal de tipo 2, Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc). Se describe en el documento WO9847915 de Novartis AG (Basel, Suiza). GAS914 tiene la siguiente estructura (Katopodis G *et al.* 2002 J Clin Invest 110(12):1869-1877).



GAS914 se muestra en el presente documento como la estructura química de copolímero al azar, en la que n representa el grado de polimerización promedio; x representa la fracción de monómero glicosilado; y 1 - x representa la fracción de monómero con los extremos ocupados por tioglicerol.

El término "glicoconjugado", tal como se usa en el presente documento, se refiere a hidratos de carbono unidos de manera covalente a una segunda especie química, en el que dicha segunda especie química se selecciona del grupo que comprende proteínas (conocidas como glicoproteínas), péptidos (peptidoglicanos, glicopéptidos), lípidos (glicolípidos, lipopolisacáridos), sacáridos (glicosacáridos). Los glicoconjugados, tal como se describe en el presente documento, incluyen, sin imitación, aquellos en los que un hidrato de carbono que comprende un resto alfa-galactosilo terminal se conjuga con albúmina sérica bovina (BSA), albúmina sérica humana (HSA), o 1,2-di-O-hexadecil-sn-glicerol-3-fosfoetanolamina (HDPE).

El término "glicolípido" se refiere a una molécula lipídica unida a un hidrato de carbono. Los glicolípidos comprenden glicero-glicolípidos, glicoesfingolípidos y glicosilfosfatidilinosítoles. Los glicolípidos según la divulgación comprenden al menos un residuo de hidrato de carbono que comprende un residuo alfa-galactosilo terminal. En una realización particular, los glicolípidos según la divulgación comprenden un Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal, o unidad(es) de azúcar de  $\alpha$ -galactosa terminal(es) capaz/capaces de unirse a un anticuerpo anti-Gal, más preferiblemente un Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal.

El término "glicoproteína" se refiere a cualquier proteína que se modifica de manera covalente mediante al menos un residuo de hidrato de carbono. Las glicoproteínas que pueden estudiarse según el método descrito en el presente documento incluyen aquellas que se modifican mediante un monosacárido o mediante un oligosacárido y en las que dicho monosacárido u oligosacárido está unido a la cadena polipeptídica mediante una cadena lateral que comprende un átomo de nitrógeno (N-glicosilación) o un átomo de oxígeno (O-glicosilación). Normalmente, la N-glicosilación comprende la modificación de proteínas en residuos de asparagina que forman parte de una secuencia consenso del tipo Asn-X-Ser o Asn-X-Thr. La O-glicosilación se produce en las cadenas laterales de residuos de serina y/o treonina. Las glicoproteínas y los glicopéptidos según la divulgación comprenden al menos un residuo de hidrato de carbono que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, en particular seleccionado del grupo que comprende un Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal, o unidad(es) de azúcar de  $\alpha$ -galactosa terminal(es) capaz/capaces de unirse a un anticuerpo anti-Gal, más preferiblemente un Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal.

El término "resto", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una parte de una molécula que puede incluir o bien grupos funcionales completos o bien partes de grupos funcionales como subestructuras.

El término "sujeto" o "individuo" o "animal" o "paciente" quiere decir cualquier sujeto, particularmente un sujeto mamífero, para el que se desea diagnóstico, pronóstico o terapia. Los sujetos mamíferos incluyen humanos, animales domésticos, animales de granja y zoológico, de deportes, o animales domésticos tales como perros, gatos, cobayas, conejos, ratas, ratones, caballos, ganado, vacas, y así sucesivamente. En una realización preferida, el sujeto carece de epítomos  $\alpha$ -Gal pero tiene anticuerpos naturales anti-Gal, e incluye humanos, simios y monos del viejo mundo (superfamilia *Cercopithecoidea*, clado *Catarrhini*, incluyendo babuinos y macacos). En una realización más preferida, el sujeto es un humano. En una realización particular, el sujeto padece una infección, en particular el sujeto padece una infección provocada por bacterias del tracto gastrointestinal, más particularmente provocada por bacterias entéricas.



El término “soporte”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier material configurado para unirse químicamente al agente que comprende un resto alfa-galactosilo terminal de la divulgación de una manera que proporciona una asociación estable. Tal unión puede ser covalente o no covalente. La unión no covalente incluye interacciones electrostáticas, hidrófilas e hidrófobas. La unión covalente es la formación de enlaces covalentes que se caracterizan por compartir pares de electrones entre átomos. Tal unión covalente puede ser directamente entre el agente y el soporte o puede formarse mediante un agente de reticulación o mediante inclusión de un grupo reactivo específico en el soporte o en el agente o ambos. La unión covalente de un agente puede lograrse usando una pareja de unión, tal como avidina o estreptavidina, inmovilizada al soporte y la unión no covalente del agente biotinilado a la avidina o estreptavidina. La inmovilización también puede implicar una combinación de interacciones covalentes y no covalentes. El soporte según la divulgación permite depositar agente sobre el mismo, su transporte y/o su liberación en el sitio deseado, particularmente en el sitio donde el agente ejerce su efecto.

#### 15 *Agentes para su uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones*

Se describe en el presente documento un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal para su uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones en un sujeto, en el que dicha infección está provocada por bacterias del tracto gastrointestinal.

Alternativamente, también se describe el uso de un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de infecciones en un sujeto, en el que dicha infección está provocada por bacterias del tracto gastrointestinal.

En una realización particular, dicha prevención y/o tratamiento de la infección se realiza mediante la retirada de anticuerpos anti-Gal del suero mediada por dicho agente. En otra realización preferida, la prevención y/o el tratamiento se realiza mediante la retirada de los anticuerpos anti-Gal, que son del isotipo IgG2. Estos anticuerpos no son capaces de activar de manera eficaz el complemento. La retirada de los anticuerpos anti-Gal del isotipo IgG2 permite que otros isotipos IgG, que son activadores más eficaces del complemento, se unan a los antígenos bacterianos, facilitando la activación del complemento.

Por tanto, la divulgación se refiere a agentes para su uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones en un sujeto que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal. Dicha infección que va a prevenirse y/o tratarse mediante el agente para su uso según la presente divulgación está provocada por bacterias del tracto gastrointestinal. En una realización particular, las bacterias del tracto gastrointestinal son bacterias entéricas. Más particularmente, las bacterias entéricas se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Veillonella*, y la familia *Enterobacteriaceae*. Más particularmente, las bacterias entéricas de la familia *Enterobacteriaceae* se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* y *Yersinia*. Más particularmente, las bacterias entéricas se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* y *Veillonella*. En otra realización, las bacterias del tracto gastrointestinal no son bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* que producen infecciones gastrointestinales, no son bacterias del género *Clostridium* y/o no son bacterias del género *Staphylococcus*. Las bacterias entéricas de la familia *Enterobacteriaceae* que producen infecciones gastrointestinales se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y cepas de *E. coli* enteropatógenas (EPEC), enterotoxigénicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC), enterohemorrágicas (EHEC) y enteroagregativas (EAEC, también conocida como heteroadherente).

*Acinetobacter* es un género de bacterias Gram-negativas aerobias pertenecientes a la clase más amplia de *Gammaproteobacteria*. Las especies de *Acinetobacter* no son móviles y negativas a oxidasa, y se producen en pares bajo aumento. Las especies de *Acinetobacter* son una fuente clave de infección en pacientes debilitados en el hospital, en particular las especies *Acinetobacter baumannii*. En una realización particular, la bacteria entérica de *Acinetobacter* es *Acinetobacter baumannii*.

*Actinomyces* es un género de actinobacterias Gram-positivas, anaerobias de manera facultativa (excepto *A. meyeri*, un anaerobio estricto). Todas las especies crecen mejor en condiciones anaerobias. Las especies de *Actinomyces* no forman endosporas y, mientras que las bacterias individuales tienen forma de bastón, las colonias de *Actinomyces* forman redes de hifas ramificadas en forma de hongo. Las especies de *Actinomyces* normalmente están presentes en las encías y son la causa más común de infección en procedimientos dentales y abscesos orales. Muchas especies de *Actinomyces* son patógenos oportunistas de humanos y otros mamíferos, particularmente en la cavidad oral. En casos raros, estas bacterias pueden producir actinomicosis, una enfermedad caracterizada por la formación de abscesos en la boca, los pulmones o el tracto gastrointestinal. La actinomicosis la produce con mayor frecuencia

*Actinomyces israelii*. *A. israelii* también puede producir endocarditis.

*Bacteroides* es un género de bacterias anaerobias Gram-negativas, anaerobias de manera obligada. Las especies de *Bacteroides* son bacilos que no forman endosporas, y pueden ser o bien móviles o bien no móviles, según las especies. La composición base de ADN es del 0-48% de GC. Algunas especies (*B. fragilis*, por ejemplo) son patógenos oportunistas de humanos, que provocan infecciones de la cavidad peritoneal, cirugía gastrointestinal y apendicitis mediante la formación de abscesos, inhibiendo la fagocitosis e inactivando los antibióticos betalactámicos. Aunque las especies de *Bacteroides* son anaerobias, son transitoriamente aerotolerantes y, por tanto, pueden sobrevivir en la cavidad abdominal.

*Bifidobacterium* es un género de bacterias anaerobias Gram-positivas, no móviles, a menudo ramificadas. Son habitantes ubicuos y endosimbióticos del tracto gastrointestinal, la vagina y la boca (*B. dentium*) de mamíferos, incluyendo humanos. Las bifidobacterias son uno de los principales géneros de bacterias que forman la flora del colon en los mamíferos. Algunas bifidobacterias se usan como probióticos.

*Campylobacter* es un género de bacterias Gram-negativas microaerófilas. Es una causa importante de intoxicación alimentaria debido a la manipulación de carne cruda o su poco cocinado. Móviles, con flagelos o bien unipolares o bien bipolares, los organismos tienen un aspecto característico de espiral/sacacorchos y son positivos para oxidasa. *Campylobacter jejuni* es una de las principales causas de enfermedades bacterianas transmitidas por alimentos en muchos países desarrollados. Al menos una docena de especies de *Campylobacter* han estado implicadas en enfermedades humanas. Las realizaciones preferidas incluyen *C. jejuni* y *C. coli*. La campilobacteriosis se refiere a la infección provocada por *Campylobacter*. Produce un síndrome inflamatorio, a veces sanguinolento, diarrea, periodontitis o disentería, que incluye principalmente calambres, fiebre y dolor.

*Clostridium* es un género de bacterias Gram-positivas, que son anaerobias obligadas capaces de producir endosporas. Las células individuales tienen forma de bastón. Hay cinco especies principales responsables de enfermedades en humanos, todas las cuales son realizaciones preferidas: *C. botulinum* (produce toxina botulínica en alimentos/heridas y puede producir botulismo), *C. difficile* (puede florecer cuando otras bacterias en el intestino mueren durante la terapia con antibióticos, lo que conduce a colitis pseudomembranosa, una causa de diarrea asociada a antibióticos), *C. perfringens* (también conocida como *C. welchii*, produce una amplia gama de síntomas, desde intoxicación alimentaria hasta gangrena gaseosa, y también es responsable de la enterotoxemia), *C. tetani* (es el organismo causal del tétanos) y *C. sordellii* (puede producir una infección mortal en casos excepcionalmente raros después de abortos médicos).

*Corynebacterium* es un género de bacterias Gram-positivas, en forma de bastón, ampliamente distribuidas en la naturaleza y mayormente inocuas. En una realización preferida, *Corynebacterium* es *C. diphtheriae*.

*Enterococcus* es un género de bacterias Gram-positivas del ácido láctico del filo *Firmicutes*. Las infecciones clínicas importantes provocadas por *Enterococcus* incluyen infecciones de las vías urinarias, bacteriemia, endocarditis bacteriana, diverticulitis y meningitis. Las cepas sensibles de estas bacterias pueden tratarse con ampicilina, penicilina y vancomicina. En una realización particular, las bacterias entéricas de *Enterococcus* se seleccionan del grupo que consiste en *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*.

*Eubacterium* es un género de bacterias Gram-positivas o Gram-negativas de la familia *Eubacteriaceae*. Estas bacterias se caracterizan por una pared celular rígida. Pueden ser móviles (tienen un flagelo) o no móviles.

*Fusobacterium* es un género de bacterias Gram-negativas anaerobias en el que las células individuales son bacilos en forma de bastón con extremos puntiagudos.

*Haemophilus* es un género de bacterias de cocobacilos Gram-negativas, pleomórficas, pertenecientes a la familia *Pasteurellaceae*, y o bien aerobias o bien anaerobias de manera facultativa. Las realizaciones preferidas incluyen *H. influenza* y *H. ducreyi* (el agente causal del chancroide).

*Helicobacter* es un género de bacterias Gram-negativas que tienen una forma helicoidal característica. En una realización preferida, la bacteria *Helicobacter* es *H. pylori*.

*Lactobacillus* es un género de bacterias Gram-positivas anaerobias facultativas o microaerófilas en forma de bastón.

*Mobiluncus* es un género de bacterias Gram-positivas, anaerobias, con forma de bastón. Se encuentran en la vagina humana, particularmente junto con *Gardnerella vaginalis* en casos de vaginosis bacteriana.

*Peptostreptococcus* es un género de bacterias anaerobias, Gram-positivas, no formadoras de esporas. En una realización, la bacteria del género *Peptostreptococcus* es *P. magnus*.

*Porphyromonas* es un género de bacterias anaerobias no móviles, Gram-negativas, en forma de bastón. En una realización, la bacteria de *Porphyromonas* es *P. gingivalis*.

*Prevotella* es un género de bacterias Gram-negativas. *Prevotella* spp. son miembros de la flora oral y vaginal y se recuperan de infecciones anaerobias de las vías respiratorias.

5 *Propionibacterium* es un género de bacterias Gram-positivas, en forma de bastón, capaces de sintetizar ácido propiónico mediante enzimas transcarboxilasa.

*Pseudomonas* es un género de gammaproteobacterias aerobias Gram-negativas. En una realización particular, las bacterias entéricas de *Pseudomonas* son *Pseudomonas aeruginosa*.

10 *Staphylococcus* es un género de bacterias Gram-positivas, con aspecto redondo (cocos) y que se forman en agrupaciones similares a uvas. En una realización particular, las bacterias entéricas de *Staphylococcus* se seleccionan del grupo que consiste en *Staphylococcus aureus*.

15 *Streptococcus* es un género de bacterias Gram-positivas esféricas pertenecientes al filo *Firmicutes* y al grupo de bacterias del ácido láctico.

*Veillonella* es un género de bacterias anaerobias Gram-negativas, conocido por sus capacidades de fermentación de lactato. En una realización preferida, la bacteria del género *Veillonella* es *Veillonella parvula*.

20 *Enterobacteriaceae* es una gran familia de bacterias Gram-negativas que incluye simbiontes inofensivos así como patógenos (incluyendo *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Yersinia pestis*, *Klebsiella* y *Shigella*). Otras bacterias que producen enfermedades en esta familia incluyen *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Citrobacter*. Muchos miembros de esta familia forman parte normal de la flora intestinal que se encuentra en los intestinos de los humanos y otros animales, mientras que otros se encuentran en el agua o el suelo, o son parásitos en una variedad de animales y plantas diferentes. *Escherichia coli* es uno de los organismos modelo más importantes. En una realización particular, las bacterias entéricas de la familia *Enterobacteriaceae* se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* y *Yersinia*.

25 *Citrobacter* es un género de bacterias coliformes Gram-negativas de la familia *Enterobacteriaceae*. Las especies *C. amalonaticus*, *C. koseri* y *C. freundii* pueden usar citrato como única fuente de carbono. Estas especies son todas las realizaciones preferidas.

30 *Enterobacter* es un género de bacterias comunes Gram-negativas, anaerobias de manera facultativa, en forma de bastón, que no forman esporas de la familia *Enterobacteriaceae*. En una realización particular, las bacterias entéricas de *Enterobacter* se seleccionan del grupo que consiste en *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*.

35 *Escherichia* es un género de bacterias Gram-negativas, no formadoras de esporas, anaerobias de manera facultativa, con forma de bastón de la familia *Enterobacteriaceae*. En una realización particular, las bacterias entéricas de *Escherichia* son *Escherichia coli*.

40 *Klebsiella* es un género de bacterias no móviles, Gram-negativas, negativas para oxidasa, en forma de bastón con una cápsula prominente a base de polisacáridos, de la familia *Enterobacteriaceae*. En una realización particular, las bacterias entéricas de *Klebsiella* son *Klebsiella pneumoniae*.

45 *Proteus* es un género de proteobacterias Gram-negativas, de la familia *Enterobacteriaceae*. En una realización preferida, las bacterias del género *Proteo* son *P. mirabilis* o *P. vulgaris*.

50 *Salmonella* es un género de bacterias Gram-negativas en forma de bastón, de la familia *Enterobacteriaceae*. Sólo hay dos especies de *Salmonella*, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*, de las cuales hay alrededor de seis subespecies. Las salmonelas se encuentran en todo el mundo tanto en animales de sangre fría como de sangre caliente, y en el medio ambiente. Provocan enfermedades tales como fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea e intoxicación alimentaria. Las especies de *Salmonella* son patógenos intracelulares facultativos. Muchas infecciones se deben a la ingestión de alimentos contaminados. Pueden dividirse en dos grupos, serovariedades tifoideas y no tifoideas de *Salmonella*. Las serovariedades tifoideas incluyen *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi*.

55 *Serratia* es un género de bacterias Gram-negativas, anaerobias de manera facultativa, en forma de bastón de la familia *Enterobacteriaceae*. En una realización particular, las bacterias del género *Serratia* son *S. marcescens*, *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea* o *S. odoriferae*.

60 *Shigella* es un género de bacterias Gram-negativas, anaerobias facultativas, no formadoras de esporas, no móviles, con forma de bastón. En una realización particular, las bacterias del género *Shigella* son *S. boydii*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* o *S. sonnei*.

65 *Yersinia* es un género de bacterias Gram-negativas en forma de bastón de la familia *Enterobacteriaceae*, que tienen unos pocos micrómetros de largo y fracciones de un micrómetro de diámetro, y son anaerobias facultativas. Algunos

miembros de *Yersinia* son patógenos en humanos; en particular, *Y. pestis* es el agente causal de la peste. Los roedores son los reservorios naturales de *Yersinia* y, con menos frecuencia, otros mamíferos sirven como huéspedes. La infección puede producirse o bien a través de la sangre (en el caso de *Y. pestis*) o bien por los alimentos, ocasionalmente a través del consumo de productos alimenticios (especialmente verduras, productos derivados de la leche y carne) contaminados con orina o heces infectadas.

En una realización particular, el sujeto que padece infección por bacterias del tracto gastrointestinal, o candidato a padecer infección por bacterias del tracto gastrointestinal, tiene anticuerpos anti-Gal endógenos naturales. En una realización particular preferida, el sujeto es un humano.

La infección provocada por bacterias del tracto gastrointestinal puede producirse en cualquier órgano o tejido del sujeto. En una realización particular, la infección provocada por bacterias del tracto gastrointestinal, particularmente bacterias entéricas, se produce en la sangre, el tracto gastrointestinal, el corazón, el sistema cardiovascular, el hígado, el pulmón, las vías respiratorias, el riñón, las vías urinarias, el sistema nervioso central, la piel, tejidos subcutáneos o heridas quirúrgicas. En una realización más particular, la infección provocada por bacterias del tracto gastrointestinal, particularmente bacterias entéricas, se produce en la sangre.

En una realización, el efecto terapéutico del agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal se logra agotando los anticuerpos anti-Gal del suero y potenciando la actividad bactericida del suero. En otra realización, el efecto terapéutico del agente que comprende el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal no se logra modulando la respuesta inflamatoria del paciente frente a las bacterias que provocan la infección.

Tal como se describió previamente, el agente para su uso según la divulgación comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal. En una realización particular, el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal se selecciona del grupo que comprende Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal, y unidad(es) de azúcar terminal(es) de  $\alpha$ -galactosa capaz/capaces de unirse a un anticuerpo anti-Gal. En una realización preferida particular, el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal del agente para su uso según la divulgación comprende un Gal1 $\alpha$ 1-3Gal terminal.

Las moléculas naturales o sintéticas que comprenden una o más moléculas de  $\alpha$ -galactosilo terminales según la presente divulgación incluyen, sin limitación, lo siguiente:

i. galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa, oligómeros (por ejemplo, dímeros o disacáridos, trímeros o trisacáridos, tetrámeros o tetrasacáridos, pentámeros o pentasacáridos) de galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa y derivados de los mismos, incluyendo derivados de glucosamina, trisacárido B-2 lineal (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GcNAc, n.º CAS 101627-01-4), trisacárido B-6 lineal (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc, n.º CAS 56038-36-9) y sus derivados,  $\alpha$ -1-3 galactobiosil  $\beta$ -metilglucósido;  $\alpha$ -1-3,  $\beta$ -1-4 galactotriosa (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Gal, n.º CAS 56038-36-9), galactotetraosa (Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Gal $\alpha$ 1-3-D-Gal, n.º CAS 56038-38-1), pentasacárido de Galili (L537, Gal- $\alpha$ 1,3Gal- $\beta$ 1,4GlcNAc- $\beta$ 1,3Gal- $\beta$ 1,4Glc, n.º CAS 119502-59-9), y derivados de los anteriores tales como, por ejemplo, derivados de aminoácidos (por ejemplo, dodecalisina, glicina), amidas, ésteres, éteres, aminas, sulfonamidas, tioéteres, acetales, carbamatos, ureas y amidinas,

ii. glicopéptidos que comprenden oligosacáridos con galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa terminal,

iii. glicoproteínas que comprenden oligosacáridos con galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa terminal

iv. glicolípidos que contienen un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, tal como los glicolípidos disponibles comercialmente (Dextra Laboratories, Ltd., Reino Unido), tales como glicolípidos Gal $\alpha$ 1-3Gal que comprenden trisacárido lineal del grupo sanguíneo B de tipo 2 (GN334, Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc, n.º CAS 101627-01-4); y que comprenden pentasacárido de Galili (L537, Gal- $\alpha$ 1,3Gal- $\beta$ 1,4GlcNAc- $\beta$ 1,3Gal- $\beta$ 1,4Glc, n.º CAS 119502-59-9),

v. un glicoconjugado que contiene un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, tal como los glicoconjugados disponibles comercialmente que comprenden epítomos galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa, incluyendo, por ejemplo: Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc-BSA (n.º NGP0330, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4(3-desoxiGlcNAc)-HSA (n.º NGP2335), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-HDPE (n.º NGL0334), Gal $\alpha$ 1-3Gal-BSA (n.º NGP0203, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-3GlcNAc (n.º NGP0333, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-3GlcNAc-HSA (n.º NGP2333, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4(6-desoxiGlcNAc)-HSA (n.º NGP2336, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc-HSA (n.º NGP2330, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal-BSA (n.º NGP1203, espaciador de 14 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal-HSA (n.º NGP2203, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal-HSA (n.º NGP3203, espaciador de 14 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc-BSA (n.º NGP0334, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc-BSA (n.º NGP1334, espaciador de 14 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc-HSA (n.º NGP2334, espaciador de 3 átomos), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc-HSA (n.º NGP3334, espaciador de 14 átomos) y Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc-BSA (n.º NGP0330, espaciador de 3 átomos), Gal  $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-HDPE (n.º NGL0203),

vi. oligosacáridos de galactosa- $\alpha$ -1,3-galactosa, tales como los disponibles comercialmente de Elicityl, que incluyen, sin limitación, Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-3(Fuc $\alpha$ 1-4)GlcNAc (n.º GLY076), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4(Fuc $\alpha$ 1-3)GlcNAc (n.º GLY075), Gal $\alpha$ 1-3[Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3]4Gal $\beta$ 1-4Glc (n.º GLY079), Gal $\alpha$ 1-3[Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3]3Gal $\beta$ 1-4Glc (n.º GLY078), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc (n.º GLY070), Gal $\alpha$ 1-3[Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3]2Gal $\beta$ 1-4Glc (n.º GLY077), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc (n.º GLY071), Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc (n.º GLY74-2, trisacárido B-2 lineal) , y Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-3GlcNAc (n.º GLY74-1),

vii. liposomas que contienen un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, y

viii. macromoléculas adicionales con epítomos  $\alpha$ -Gal que son adecuadas para inyección y posterior unión *in situ* a anticuerpos anti-Gal incluyendo, sin limitación:

- laminina de ratón con 50-70 epítomos  $\alpha$ -gal (Galili U 1993 Springer Seminars in Immunopathology 15, 155), disponible comercialmente de Life Technologies (n.º 23017-015),

- múltiples epítomos  $\alpha$ -gal sintéticos ligados a BSA (Stone KR *et al.* Transplantation 2007 83 (2): 211-219),

- GAS914, producido por Novartis (documento WO9847915) y divulgado en Zhong R *et al.* Transplantation 2003 75 (1): 10-19,

- el conjugado de polietilenglicol de  $\alpha$ -Gal TPC (Schirmer JM *et al.* 2004 Xenotransplantation 11 (5): 436-443) y

- péptidos que imitan el epítomo  $\alpha$ -Gal unidos a una estructura principal de macromolécula (Sandrin MS *et al.* 1997 Glycoconj J 14 (1): 97-105) y péptidos codificados por los genes de mucina MUC1, 3 y 4.

En una realización de la divulgación, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal está anclado a un soporte. En una realización particular, dicho agente está anclado al soporte a través de un ligador, en el que el ligador es cualquier unidad bifuncional (homobifuncional o heterobifuncional) que hace posible ligar covalentemente el agente al soporte. Esta estructura del agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal anclado a un soporte confiere una mejor disponibilidad del agente al anticuerpo diana, así como un compuesto más estable. Además, en el caso preferido de que el agente se administre por vía subcutánea o por vía endovenosa, la semivida del agente es mayor que cuando se administra en forma no compatible, por ejemplo, como un mono, di o trisacárido.

En una realización particular, las moléculas que contienen grupos reactivos capaces de conjugarse mediante agentes de reticulación son proteínas o péptidos. Para la reticulación de proteínas, los grupos funcionales de proteínas para agentes de reticulación comprenden grupos amina, grupos épsilon-amina de lisinas, grupos alfa-amino terminales, grupos sulfhidrilo de cisteínas (grupos -SH o tiol), grupos hidrato de carbono (en el caso de las glicoproteínas) o grupos carboxilo.

Los agentes de reticulación de proteínas para grupos amina, grupos épsilon-amina de lisinas y grupos alfa-amino terminales incluyen, sin limitación, imidoésteres y ésteres de NH-hidroxisuccinimida (ésteres de NHS). Los agentes de reticulación de proteínas para grupos sulfhidrilo incluyen, pero no se limitan a, maleimidias, haloacetilos (tales como yodoacetilo) y disulfuro de piridilo (piridilditioles). Los agentes de reticulación de proteínas para grupos carbonilo (tales como aldehídos o cetonas) mediante tratamiento oxidativo de hidratos de carbono de glicoproteínas incluyen, sin limitación, reactivos que comprenden hidrazidas (-NH-NH<sub>2</sub>). Los agentes de reticulación de proteínas para grupos carboxilo incluyen, sin limitación, carbodiimidias.

Los soportes adecuados para su uso tal como se describe en el presente documento incluyen cualquier molécula capaz de unirse al agente tal como se describe en el presente documento que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal. Los materiales adecuados como soporte incluyen materiales poliméricos, particularmente materiales celulósicos y materiales derivados de la celulosa, tales como papeles que contienen fibras, polímeros sintéticos o de origen natural modificados, tales como poliaminoácidos, en particular, poli-L-lisina, nitrocelulosa, acetato de celulosa, poli(cloruro de vinilo), poli(acrilamida), dextrano reticulado, agarosa, poli(acrilato), polietileno, polipropileno, poli(4-metilbuteno), poliestireno, polimetacrilato, poli(tereftalato de etileno), nailon, poli(butirato de vinilo)), etc; usados o bien solo o bien junto con otros materiales; vidrio, cerámica, metales, y similares.

En una realización particular, el soporte al que se une el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal se selecciona del grupo que consiste en una polilisina lineal, preferiblemente una poli-L-lisina, y un dendrímero. La polilisina que va a usarse como soporte comprende entre 10 y 5000 lisinas, preferiblemente entre 20 y 2500 lisinas, más preferiblemente entre 50 y 2000 lisinas y aún más preferiblemente aproximadamente 1000 lisinas.

En una realización particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal para su uso, tal como se describe en el presente documento, está ligado a un soporte, en el que

- 5 el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal está comprendido dentro de un grupo seleccionado del grupo que consiste en un Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-6Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal y una(s) unidad(es) de azúcar de  $\alpha$ -galactosa terminal(es) capaz/capaces de unirse a un anticuerpo anti-Gal, preferiblemente en el que el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, más preferiblemente el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y
- 10 el soporte es una estructura principal de poli-lisina lineal, preferiblemente poli-L-lisina, en el que dicha estructura principal comprende entre 10 y 5000 lisinas, preferiblemente entre 20 y 2500 lisinas, más preferiblemente entre 50 y 2000 lisinas, incluso más preferiblemente aproximadamente 1000 lisinas.

En otra realización, parte o la totalidad de los grupos  $\epsilon$ -amino de las cadenas en la estructura principal de poli-L-lisina que no contienen un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal tienen los extremos ocupados. En una realización preferida, la estructura de caperuza es un tioglicerol.

15 En una realización más particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal para su uso tal como se describe en el presente documento está unido a un soporte, en el que el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y en el que el soporte es una estructura principal de poli-lisina lineal, preferiblemente el agente es GAS914, en el que la estructura principal de poli-lisina lineal tiene una longitud promedio de 1.000 lisinas y aproximadamente el 25% de las cadenas laterales se conjugan con Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc.

En otra realización particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal para su uso tal como se describe en el presente documento está unido a un soporte, en el que

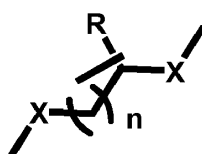
- 25 el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal está comprendido dentro de un grupo seleccionado del grupo que consiste en un Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-6Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal y una(s) unidad(es) de azúcar de  $\alpha$ -galactosa terminal(es) capaz/capaces de unirse a un anticuerpo anti-Gal, preferiblemente en el que el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, más preferiblemente el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, incluso más preferiblemente en el que el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y
- 30 el soporte es un dendrímero.

35 En una realización más particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal para su uso tal como se describe en el presente documento está unido a un soporte, en el que el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y en el que el soporte es un dendrímero.

40 Los dendrímeros pueden identificarse por un número de generación (Gn) y cada reacción de síntesis completa da como resultado una nueva generación de dendrímeros. El peso molecular y el número de grupos terminales aumentan exponencialmente en función del número de generación (el número de capas) del dendrímero. Pueden sintetizarse diferentes tipos de dendrímeros basándose en la estructura del núcleo que inicia el proceso de polimerización. Pueden usarse dendrímeros de cualquier generación.

45 La estructura del núcleo del dendrímero en algunos aspectos dicta varias características de la molécula, tales como la forma general, la densidad y la funcionalidad de la superficie. En una realización particular, los dendrímeros esféricos tienen amoníaco como núcleo iniciador trivalente o etilendiamina (EDA) como núcleo iniciador tetravalente. Los dendrímeros en forma de bastón usan núcleos lineales de polietilenimina de diferentes longitudes; con núcleos más largos que conducen a una mayor longitud del bastón.

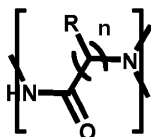
50 En una realización particular, el núcleo del dendrímero se selecciona del grupo que incluye una alquildiamina, hidroxialquilamina o hidroxialquenol, según la siguiente fórmula:



55 en la que n oscila desde 0 hasta 20, preferiblemente desde 0 hasta 10, más preferiblemente desde 0 hasta 5, e incluso más preferiblemente, n es 2, y R se selecciona de H y alquilo.

En una realización ilustrativa, no limitativa, de la divulgación, los bloques estructurales se unen al núcleo formando

una estructura como la siguiente:



5 en la que n oscila desde 0 hasta 20, preferiblemente desde 0 hasta 10, más preferiblemente desde 0 hasta 5, y R se selecciona de H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alquilamino (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), dialquilamino (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alquenilo (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), alquenilamino (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), dialquenilamino (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), alquinilo (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), alquinilamino (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), dialquinilamino (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), alcoxilo, aralquilo, alcanilo, alquilo, hidroxialquilo, -CO<sub>2</sub>R' y -CONHR', en los que R' es alquilo.

10 Los polímeros dendríticos tal como se describe en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, dendrímeros de ramificación simétricos y asimétricos, moléculas en cascada, arbores y similares, aunque los polímeros dendríticos más preferidos son polímeros estelares densos. Los dendrímeros estelares densos divulgados en el presente documento son simétricos, ya que los brazos de las ramas son de igual longitud. La ramificación se produce en los átomos de hidrógeno de un grupo NH<sub>2</sub> terminal de un dendrímero de generación completa, o en el átomo de hidrógeno de un grupo COOH terminal de un dendrímero de media generación. El número de ramas que permiten los dendrímeros es 2<sup>n</sup>.

20 Los dendrímeros tal como se describe en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, dendrímeros de poli(amidoamina) (PAMAM) tales como polímeros estelares densos y polímeros Starburst, dendrímeros de poli(amidoamina-organosilicio) (PAMAMOS), dendrímeros de (poli(propilenimina)) (PPI), dendrímeros tecto, dendrímeros multilingües, dendrímeros quirales, dendrímeros híbridos/polímeros lineales, dendrímeros anfífilos, dendrímeros micelares y dendrímeros tipo Fréchet.

25 En una realización particular, el agente tal como se describe en el presente documento está unido a un dendrímero, en el que dicho dendrímero es un dendrímero PAMAM. Los dendrímeros PAMAM son una familia de polímeros solubles en agua caracterizados por una arquitectura de ramificación única en forma de árbol y una forma esférica compacta en disolución. Pueden sintetizarse varias clases de dendrímeros PAMAM usando diferentes núcleos tales como etilendiamina (EDA) y 1,4-diaminobutano (DAB) con diferentes grupos de superficie (por ejemplo, amina, hidroxilo o carboxilo). En alguna realización, los dendrímeros PAMAM son un dendrímero de generación n (G<sub>n</sub>), en el que n es un número entero entre 0 y 10 y en el que el número de grupos funcionales es 2<sup>n</sup>. En una realización, el dendrímero es un dendrímero G<sub>1</sub>, en otra realización, el dendrímero es un dendrímero G<sub>2</sub>.

35 En un aspecto, se prefieren los dendrímeros PAMAM. En una realización particular, el número de ramificaciones de los dendrímeros oscila desde 4 (G<sub>0</sub>) hasta 1024 (G<sub>7</sub>), preferiblemente oscila desde 8 (G<sub>1</sub>) hasta 512 (G<sub>6</sub>), y más preferiblemente oscila desde 16 (G<sub>2</sub>) hasta 128 (G<sub>5</sub>) posibles ramas. El grado de sustitución de estas ramas oscila desde el 10 hasta el 100%, más preferiblemente desde el 25% hasta el 100%. Estos dos parámetros, G<sub>n</sub> y % de sustitución dan el número total de moléculas de epítipo (agente) presentes en la molécula completa.

40 A modo de ejemplo, una estructura molecular que comprende el dendrímero PAMAM de 2<sup>a</sup> generación (G<sub>2</sub>) totalmente sustituido con trisacáridos que contienen alfa-Gal se muestra en la figura 4.

45 Estos compuestos, y glicoconjugados, glicolípidos, glicoproteínas u oligosacáridos sintéticos y naturales similares unidos a grupos reactivos que comprenden un resto α-galactosilo terminal, preferiblemente un Galα.1-3Gal terminal, también pueden unirse a anticuerpos anti-Gal y, por tanto, considerarse equivalentes funcionales de los agentes para su uso tal como se describe en el presente documento. En una realización preferida particular, el agente que comprende un resto α-galactosilo terminal para su uso según la divulgación es GAS914.

50 Los expertos conocen ensayos para determinar si una molécula es capaz de unirse específicamente a un anticuerpo, particularmente un anticuerpo anti-Gal, e incluyen, sin limitación, inmunoprecipitación, radioinmunoensayo (RIA), ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y técnicas inmunofluorescentes tales como microscopía de fluorescencia o citometría de flujo.

55 De manera similar, los expertos en la técnica conocen métodos para determinar la actividad bactericida de un agente e incluyen el ensayo realizado por los inventores y descrito en el ejemplo 2 de la presente solicitud, así como aquellos ensayos para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) de un fármaco y el título bactericida sérico (SBT) de la sangre o el líquido corporal de un paciente durante el tratamiento tal como lo describe Hacek (Hacek DM *et al.* 1999 J Clin Microbiol 37 (6): 1881-1884).

60 Las cantidades apropiadas de un agente según la divulgación pueden formularse con excipientes y/o portadores farmacéuticamente aceptables para obtener una composición farmacéutica para su uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal. Una composición que incluye un agente tal como se describe en el presente documento puede administrarse a un sujeto por una variedad de vías

que incluyen, sin limitación, administración sistémica, por ejemplo, por inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular y administración intraperitoneal. Además, también es posible administrar la composición que comprende el agente por vía intranasal o por vía sublingual que permite la administración sistémica mediante un modo de administración no agresivo. Además, la administración intraventricular puede ser adecuada. Una vía de administración preferida es la inyección subcutánea. En una realización particular, el agente para su uso según la divulgación se administra al sujeto por vía subcutánea o por vía intravenosa. En otra realización, el agente para su uso según la divulgación no se administra por vía oral. Los expertos en la técnica están familiarizados con los principios y procedimientos comentados en fuentes ampliamente conocidas y disponibles como Remington's Pharmaceutical Science (17<sup>a</sup> Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985) y The Pharmaceutical Basis of Therapeutics de Goodman y Gilman (8<sup>a</sup> Ed., Pergamon Press, Elmsford, N.Y., 1990).

En una realización preferida, los agentes de la divulgación se formulan según el procedimiento convencional como una composición farmacéutica adaptada para la administración a seres humanos y otros mamíferos que producen anticuerpos anti-Gal naturales. La presencia de anticuerpos anti-Gal en un sujeto puede determinarse mediante métodos conocidos en la técnica para determinar la presencia en una muestra de anticuerpos contra un antígeno de interés. Por ejemplo, la presencia de anticuerpos anti-Gal en un sujeto puede determinarse poniendo en contacto una muestra del sujeto con un reactivo que contiene un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, preferiblemente el epítipo glucosídico Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc-R, y determinando la cantidad de anticuerpo unido al reactivo. Preferiblemente, el reactivo se inmoviliza para facilitar la separación del reactivo del material no unido. Un método adecuado para la determinación de anticuerpos anti-Gal se ha descrito por Galili *et al.* (Proc.Natl.Acad.Sic.USA, 1987, 84: 1369-1373). El nivel de anticuerpo anti-Gal puede proporcionarse en términos absolutos o por referencia a una actividad biológica asociada a las propiedades de unión anti-Gal, por ejemplo, la hemaglutinación de eritrocitos de diferentes especies, tal como lo describen Galili *et al.* citado anteriormente, y proporcionar el título de los anticuerpos en la muestra original con la debida cuenta de todas las diluciones realizadas durante la etapa de determinación. En una realización, se considera que el sujeto contiene anticuerpos anti-Gal si una muestra del sujeto (preferiblemente suero) muestra un título de al menos 1:5000, 1:2500, 1:2000, 1:1000, 1:500, 1:100, 1:50, 1:25, 1:10, 1:5 o más cuando se analiza usando el método descrito por Galili *et al.* usando eritrocitos de rata, eritrocitos de conejo, eritrocitos de vaca, eritrocitos de cerdo o eritrocitos de perro.

En otra realización, el agente para su uso tal como se describe en el presente documento se administra antes del inicio de la infección, es decir, con fines preventivos.

Normalmente, las composiciones para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea o intraventricular son disoluciones de tampón acuoso isotónico estéril.

Cuando sea necesario, el agente tal como se describe en el presente documento está comprendido en una composición que también incluye un agente solubilizante y un anestésico local para aliviar cualquier dolor en el sitio de inyección. Generalmente, los componentes se suministran o bien por separado o bien se mezclan en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado libre de agua en un recipiente herméticamente cerrado, tal como una ampolla o una bolsita que indica la cantidad de agente activo. Cuando la composición va a administrarse por infusión, puede dispensarse con una botella de infusión que contiene agua o solución salina estéril de calidad farmacéutica. Cuando la composición se administra por inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina para que los componentes puedan mezclarse antes de la administración.

En otros casos además de la administración intravenosa, la composición puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes de tamponamiento del pH. La composición puede ser una disolución líquida, una suspensión, una emulsión, un gel, un polímero o una formulación de liberación sostenida. La composición puede formularse con aglutinantes y portadores tradicionales, tal como se conocería en la técnica. Las formulaciones pueden incluir portadores convencionales tales como calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacárido de sodio, celulosa, carbonato de magnesio, etc., portadores inertes que tienen una funcionalidad bien establecida en la fabricación de productos farmacéuticos. Se conocen diversos sistemas de administración y pueden usarse para administrar un agente terapéutico tal como se describe en el presente documento, que incluye encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas y similares.

En aún otra realización preferida, los productos terapéuticos que contienen los agentes tal como se describe en el presente documento pueden formularse como formas neutras o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las formadas con grupos amino libres, tales como las derivadas de los ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico y similares, y las formadas con grupos carboxilo libres, tales como las derivadas hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio, férrico, isopropilamina, trietilamina, 2-etilaminoetanol, histidina, procaína, o similares.

Las composiciones farmacéuticas que contienen el agente según la divulgación pueden presentarse en cualquier forma farmacéutica de administración que se considere apropiada para la vía de administración seleccionada, por ejemplo, por administración sistémica, oral, parenteral o tópica, para lo cual incluirá los excipientes farmacéuticamente aceptables necesarios para la formulación del método de administración deseado.



La cantidad eficaz del agente puede variar dentro de un amplio intervalo y, en general, variará según las circunstancias particulares de la aplicación, la duración de la exposición y otras consideraciones. En una realización particular, la dosis oscila entre 0,05 mg/kg y 20 mg/kg.

5 Las formas de dosificación sólidas para administración oral pueden incluir cápsulas convencionales, cápsulas de liberación sostenida, comprimidos convencionales, comprimidos de liberación sostenida, comprimidos masticables, comprimidos sublinguales, comprimidos efervescentes, pastillas, suspensiones, polvos, gránulos y geles. En estas formas de dosificación sólidas, los compuestos activos pueden mezclarse con al menos un excipiente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como en la práctica normal, 10 sustancias adicionales que no sean diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos, comprimidos efervescentes y pastillas, las formas de dosificación también pueden comprender agentes de tamponamiento. Los comprimidos y las pastillas pueden prepararse con recubrimientos entéricos.

15 Las formas de dosificación líquidas para administración oral pueden incluir emulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica, tales como agua. Esas composiciones también pueden comprender adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, y agentes edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes.

20 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas, inyectables estériles pueden formularse según la técnica conocida usando agentes dispersantes, agentes humectantes y/o agentes de suspensión adecuados. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden usarse están el agua, disolución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Los aceites estériles también se usan convencionalmente como disolventes o medios de suspensión.

25 Para la administración tópica, los compuestos tal como se describe en el presente documento pueden formularse como cremas, geles, lociones, líquidos, pomadas, disoluciones de pulverización, dispersiones, barras sólidas, emulsiones, microemulsiones y similares, que pueden formularse según métodos convencionales que usan excipientes adecuados, tales como, por ejemplo, emulsionantes, tensioactivos, agentes espesantes, agentes colorantes, y combinaciones de dos o más de los mismos.

30 Además, los compuestos pueden administrarse en forma de parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. En una realización, los compuestos se administran como un parche transdérmico, por ejemplo, en forma de parche transdérmico de liberación sostenida. Los parches transdérmicos adecuados se describen con más detalle en, por ejemplo, los documentos US5262165, US5948433, US6010715 y US6071531.

35 Las composiciones que comprenden los agentes tal como se describe en el presente documento pueden incluir adicionalmente excipientes convencionales, es decir, portadores farmacéuticamente aceptables adecuados para aplicación parenteral que no reaccionan perjudicialmente con los compuestos activos. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, por ejemplo, agua, soluciones salinas, alcohol, aceites vegetales, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, tensioactivos, ácido silícico, parafina viscosa, aceite de perfume, monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos petroetiales, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares.

45 Se conocen varios sistemas de administración de fármacos y pueden usarse para administrar los agentes o las composiciones descritos en el presente documento, que incluyen, por ejemplo, encapsulación en liposomas, microburbujas, emulsiones, micropartículas, microcápsulas y similares. La dosificación requerida puede administrarse como una única unidad o en una forma de liberación sostenida.

50 Las formas de liberación sostenida y los materiales y métodos apropiados para su preparación se describen en, por ejemplo, "Modified-Release Drug Delivery Technology", Rathbone, M. J. Hadgraft, J. y Roberts, M. S. (eds.), Marcel Dekker, Inc., Nueva York (2002), "Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology", Wise, D. L. (ed.), Marcel Dekker, Inc. Nueva York, (2000)). En una realización, la forma administrable por vía oral de un compuesto está en una forma de liberación sostenida que además comprende al menos un recubrimiento o una matriz. El 55 recubrimiento o la matriz de liberación sostenida incluye, sin limitación, polímeros naturales, semisintéticos o sintéticos insolubles en agua, modificados, ceras, grasas, alcoholes grasos, ácidos grasos, plastificantes semisintéticos o sintéticos naturales, o una combinación de dos o más de ellos.

60 Los recubrimientos entéricos pueden aplicarse usando procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica, tal como se describe, por ejemplo, en Johnson, J.L., "Pharmaceutical tablet coating", Coatings Technology Handbook (segunda edición), Satas, D. y Tracton, AA (eds), Marcel Dekker, Inc. Nueva York, (2001), Carstensen, T., "Coating Tablets in Advanced Pharmaceutical Solids", Swarbrick, J. (ed.), Marcel Dekker, Inc. Nueva York (2001), 455- 468.

65 Aunque las necesidades individuales varían, la determinación de los intervalos óptimos para cantidades eficaces del agente pertenece a la experiencia común de los expertos en la técnica. En general, la dosificación necesaria para

proporcionar una cantidad eficaz de dicho compuesto, que puede ajustarla un experto en la técnica, variará según la edad, la salud, el estado físico, el sexo, la dieta, el peso, el grado de alteración del receptor, la frecuencia de tratamiento y la naturaleza y extensión de la afectación o enfermedad, el estado médico del paciente, la vía de administración, las consideraciones farmacológicas tales como actividad, eficacia, perfil farmacocinético y toxicológico del compuesto particular usado, si se usa un sistema de administración de fármacos, y si el compuesto se administra como parte de una combinación de fármacos.

La cantidad del compuesto según la divulgación que es eficaz en el tratamiento de un trastorno o estado particular dependerá de la naturaleza del trastorno o estado, en particular una infección provocada por bacterias del tracto gastrointestinal, y puede determinarse mediante técnicas clínicas convencionales, incluyendo la referencia a Goodman y Gilman, citado anteriormente; The Physician's Desk Reference, Medical Economics Company, Inc., Oradell, NJ, 1995 y Drug Facts and Comparisons, Inc., St. Louis, MO, 1993. La dosis precisa para su uso en la formulación también dependerá de la vía de administración y la gravedad de la enfermedad o el trastorno, y debe decidirse según la opinión del médico y las circunstancias del paciente.

Composiciones de la divulgación y usos de las mismas

En otro aspecto, la divulgación se refiere a una composición que comprende

- (i) un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, y
- (ii) un antibiótico.

Los agentes que comprenden un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal según la divulgación se han descrito anteriormente en el contexto de los usos terapéuticos descritos en el presente documento. En una realización particular, el  $\alpha$ -galactosilo terminal se selecciona del grupo que comprende Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal y unidad(es) de azúcar  $\alpha$ -galactosa terminal(es) capaz/capaces de unirse a un anticuerpo anti-Gal. En una realización más particular, el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal. En una realización preferida, el agente es cualquiera de los agentes definidos anteriormente en el contexto de las aplicaciones terapéuticas en los grupos i a viii.

Las moléculas naturales o sintéticas que comprenden uno o más restos de  $\alpha$ -galactosilo terminal según la presente divulgación se han descrito anteriormente en el contexto de los usos terapéuticos descritos en el presente documento. Todos los agentes descritos en este respecto son igualmente adecuados para combinarse con los antibióticos según la presente divulgación.

En una realización, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal de la composición está anclado a un soporte. Los soportes adecuados se han descrito previamente en el contexto del agente para su uso según la divulgación y se han incorporado en el presente documento. En una realización particular, el soporte al que se une el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal se selecciona del grupo que consiste en una poli-L-lisina lineal y un dendrímero. En otra realización, parte o la totalidad de los grupos  $\epsilon$ -amino de las cadenas en la estructura principal de poli-L-lisina que contienen un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal tienen los extremos ocupados. En una realización preferida, la estructura de caperuza es un tioglicerol.

En una realización particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal de la composición según la invención está unido a un soporte, en el que

- el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal está comprendido dentro de un grupo seleccionado del grupo que consiste en un Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-6Gal terminal, un Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal y una(s) unidad(es) de azúcar de  $\alpha$ -galactosa terminal(es) capaz/capaces de unirse a un anticuerpo anti-Gal, preferiblemente en el que el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, más preferiblemente el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, incluso más preferiblemente en el que el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y
- el soporte es una poli-L-lisina lineal, en el que dicha estructura principal comprende entre 10 y 5000 lisinas, preferiblemente entre 20 y 2500 lisinas, más preferiblemente entre 50 y 2000 lisinas, incluso más preferiblemente aproximadamente 1000 lisinas.

En una realización más particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal de la composición está unido a un soporte, en el que el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y en el que el soporte es una estructura principal de polilisina lineal, preferiblemente el agente es GAS914, en el que la cadena principal de polilisina lineal tiene una longitud promedio de 1.000 lisinas y aproximadamente el 25% de las cadenas laterales se conjugan con Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc.

En otra realización particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal de la composición está unido a un soporte, en el que

- 5 • el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal está comprendido dentro de un grupo seleccionado del grupo que consiste en Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-2Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Gal terminal, Gal $\alpha$ 1-6Glc terminal y una(s) unidad(es) de azúcar de  $\alpha$ -galactosa terminal(es) capaz/capaces de unirse a un anticuerpo anti-Gal, preferiblemente en el que el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, más preferiblemente el  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal terminal, incluso más preferiblemente en el que el resto de  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y
- 10 • el soporte es un dendrímero.

En una realización más particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal de la composición está unido a un soporte, en el que el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y en el que el soporte es un dendrímero. Los dendrímeros tal como se describe en el presente documento se han descrito previamente en el contexto del agente para su uso tal como se describe en el presente documento y se incorporan en el presente documento. En una realización particular, el dendrímero es un dendrímero de poli(amidoamina) (PAMAM). En una realización más particular, el agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal de la composición está unido a un soporte, en el que el resto  $\alpha$ -galactosilo terminal es Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc terminal, y en el que el soporte es PAMAM, preferiblemente como en el compuesto que se muestra en la figura 4.

Los antibióticos de la composición tal como se describe en el presente documento incluyen, sin limitación, carbapenems, cefalosporinas, monobactamas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas.

25 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una composición que comprende

(i) un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, y

(ii) un antibiótico

30 para uso en medicina.

En una realización alternativa, la divulgación se refiere al uso de una composición que comprende

35 (i) un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, y

(ii) un antibiótico

40 para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a una composición que comprende

45 (i) un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, y

(ii) un antibiótico

para su uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal.

50 Alternativamente, la divulgación se refiere al uso de una composición que comprende

(i) un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, y

(ii) un antibiótico

55 para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal.

60 En una realización alternativa más, la divulgación se refiere a un método para la prevención y/o el tratamiento de inflamación en un sujeto que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende

(i) un agente que comprende un resto  $\alpha$ -galactosilo terminal, y

(ii) un antibiótico.

En una realización particular, la infección está provocada por bacterias del tracto gastrointestinal, en la que las bacterias del tracto gastrointestinal son bacterias entéricas. Más particularmente, las bacterias entéricas se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Veillonella*, y la familia *Enterobacteriaceae*. Más particularmente, las bacterias entéricas de la familia *Enterobacteriaceae* se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* y *Yersinia*. Más particularmente, las bacterias entéricas se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* y *Veillonella*. En otra realización, las bacterias del tracto gastrointestinal no son bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* que producen infecciones gastrointestinales, no son bacterias del género *Clostridium* y/o no son bacterias del género *Staphylococcus*. Las bacterias entéricas de la familia *Enterobacteriaceae* que producen infecciones gastrointestinales se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y cepas de *E. coli* enteropatógenas (EPEC), enterotoxigénicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC), enterohemorrágicas (EHEC) y enteroagregativas (EAEC, también conocida como heteroadherente).

En una realización particular, la infección se produce en la sangre, el tracto gastrointestinal, el corazón, el sistema cardiovascular, el hígado, el pulmón, las vías respiratorias, el riñón, las vías urinarias, el sistema nervioso central, la piel, tejidos subcutáneos y heridas quirúrgicas.

Las vías de administración adecuadas se han descrito previamente en el contexto del agente de la divulgación. En una realización particular, la composición se administra al sujeto por vía subcutánea o por vía intravenosa. En otra realización, el agente para su uso según la divulgación no se administra por vía oral. En una realización particular, el sujeto tiene anticuerpos anti-Gal endógenos. Los métodos para determinar la presencia de anticuerpos anti-Gal en un sujeto y para clasificar a un sujeto como que tiene o no anticuerpos anti-Gal se han definido en el contexto del método terapéutico y son igualmente aplicables en el contexto del uso de las composiciones. En una realización preferida, el sujeto es un humano.

## Ejemplos

*Ejemplo 1. La retirada de anticuerpos anti-Gal previene la septicemia en ratones con desactivación de Gal*

Se usó un ratón con desactivación que carecía del gen  $\alpha$ -1,3-galactosiltransferasa ( $\alpha$ 1,3GT). Este ratón genera anticuerpos anti-Gal naturales sin ninguna necesidad de inmunización adicional, lo que permite a los inventores investigar si la retirada de los anticuerpos anti-Gal con GAS914 como acción única puede tener un impacto en la septicemia desarrollada en los ratones con desactivación de Gal después de la punción y ligadura del colon (CLP). En este modelo, se ligó un total de 0,5 cm de ciego y se pinchó dos veces usando una aguja de calibre 30 para permitir la protuberancia del contenido del ciego y asegurar la presencia de bacterias en el peritoneo.

Para evaluar el estado clínico de los ratones, se analizó la actividad física usando un sistema de puntuación de bienestar establecido que evalúa la actividad espontánea, la ingesta de alimentos y la respuesta a estímulos exógenos. Se incluyeron un total de 34 animales en el estudio. Diecisiete (grupo de control) no recibieron ningún tratamiento. Los otros 17 (grupo con GAS914) se trataron con 10 mg/kg de GAS914 por vía intraperitoneal cada dos días desde el día -3 de CLP y posteriormente. La dosificación y el intervalo de inyecciones de GAS914 se seleccionaron basándose en estudios locales previos que mostraron la retirada completa de anticuerpos anti-Gal el día 0 (día de la CLP). Esencialmente, todos los anticuerpos anti-Gal se eliminan con la inyección inicial de GAS914.

Tal como se muestra en la figura 1A, 4 de los 17 (24%) ratones con desactivación de Gal tratados con GAS914 murieron después de la CLP en comparación con 11 (65%) de animales no tratados ( $p = 0,01$ ), y produciéndose la mayoría de las muertes dentro de las 48 h después de la CLP. Además, el bienestar de los animales fue mejor desde el primer día después de la CLP en animales tratados con GAS914 en comparación con los controles (figura 1B). Para obtener el beneficio de la retirada de los anticuerpos anti-Gal en la septicemia, estos deben agotarse antes de la CLP. Los inventores también investigaron en dos grupos de 10 animales si la retirada de anticuerpos anti-Gal con GAS 914, 12 h después de la CLP, tenía un impacto sobre la supervivencia y el bienestar de los animales. En este caso, GAS914 no proporcionó ningún beneficio en comparación con los animales de control (figura 1C).

El tratamiento con GAS914 antes de la CLP se asoció con casi el agotamiento de todos los anticuerpos IgM e IgG anti-Gal en el momento de la CLP (figura 1D). Estos anticuerpos apenas cambian después de la CLP, mientras que en los animales no tratados hubo una reducción significativa de los anticuerpos IgM e IgG anti-Gal después de la CLP, lo que sugiere la presencia del antígeno después del procedimiento (figura 1D). A pesar de esto, no se observaron diferencias 24 h después de la CLP entre los animales que recibieron o no GAS914 con respecto al

número de bacterias aisladas en la sangre, el tipo (*Escherichia coli* en todos los casos) y el genotipo de estos microorganismos.

*Ejemplo 2. La retirada de anticuerpos anti-Gal aumenta la actividad bactericida en suero*

Los autores de la invención observaron que la unión de anticuerpos naturales a aislados de sangre bacterianos después de la CLP se modificó mediante GAS914. La retirada de anticuerpos anti-Gal se asoció con un aumento de la reactividad de otros anticuerpos IgG de ratones gal-KO a *E. coli* (figura 2). Por tanto, la CLP en ratones Gal-KO provocó una septicemia con aislamiento sanguíneo de *E. coli* que se une mediante anticuerpos anti-Gal, y la retirada de anticuerpos anti-Gal con GAS914 permitió la reacción de otros anticuerpos IgG a la misma *E. coli*.

Se incubaron *E. coli* aislada de sangre de ratón Gal-KO después de la CLP y *E. coli* O86:B7 (ATCC) durante la noche en caldo de nutrientes Difco (Becton Dickinson) en un agitador a 37°C. Al día siguiente, la suspensión bacteriana se diluyó 100 veces usando medio nuevo. Se añadió complemento estéril de conejo bebé (Serotec) a la suspensión bacteriana (30 µl/ml). Después se incubó la mezcla con 50 µl/ml de muestras de suero de ratón inactivadas por calor (con y sin anticuerpos anti-Gal), durante 12 horas a 37°C. La capacidad bactericida en suero se evaluó colocando en placas cada hora una dilución adecuada del cultivo en placas con medio de agar al 1,5% (p/v) durante 18 h a 37°C. Al día siguiente se contaron las colonias bacterianas. El caldo solo se usó como control negativo para el crecimiento bacteriano y se usó el complemento sin suero de ratón añadido como control positivo para destruir a través de la vía alternativa del complemento. *E. coli* O86:B7 (ATCC).

El aumento de la unión de anticuerpos a aislados sanguíneos de *E. coli* condujo a un aumento de la actividad bactericida en suero directa del suero de ratones Gal-KO (figura 3). Una agrupación de suero de ratones comercial (Sigma S3509) mostró el 75% y el 74% en la destrucción de anticuerpos mediada por el complemento de *E. coli* aislada de ratones Gal-KO después de la CLP y cepa *E. coli* O86:B7 (figura 3). Este último se usó como control de la bacteria que se une eficazmente a los anticuerpos alfa-Gal (Posekany KJ *et al.* 2002 Infect Immun 70 (11): 6215-6222; Lamontagne A *et al.* 2013 PLoS One 8 (6): e64992). Los ratones con suero Gal-KO que portaban anticuerpos anti-Gal evidenciaron una destrucción promedio del 18,3% y el 32%, respectivamente, contra las dos *E. coli*, que aumentó al 73% y el 78%, respectivamente, después del agotamiento de los anticuerpos anti-Gal con GAS914 ( $p < 0,05$  para ambos aumentos).

En conjunto, estos datos confirman que GAS914 en ratones Gal-KO aumentó la reactividad de anticuerpos IgG en suero y la actividad bactericida en la sangre a aislados de *E. coli*, a niveles similares a los observados en ratones naturales que carecen de anticuerpos anti-Gal.

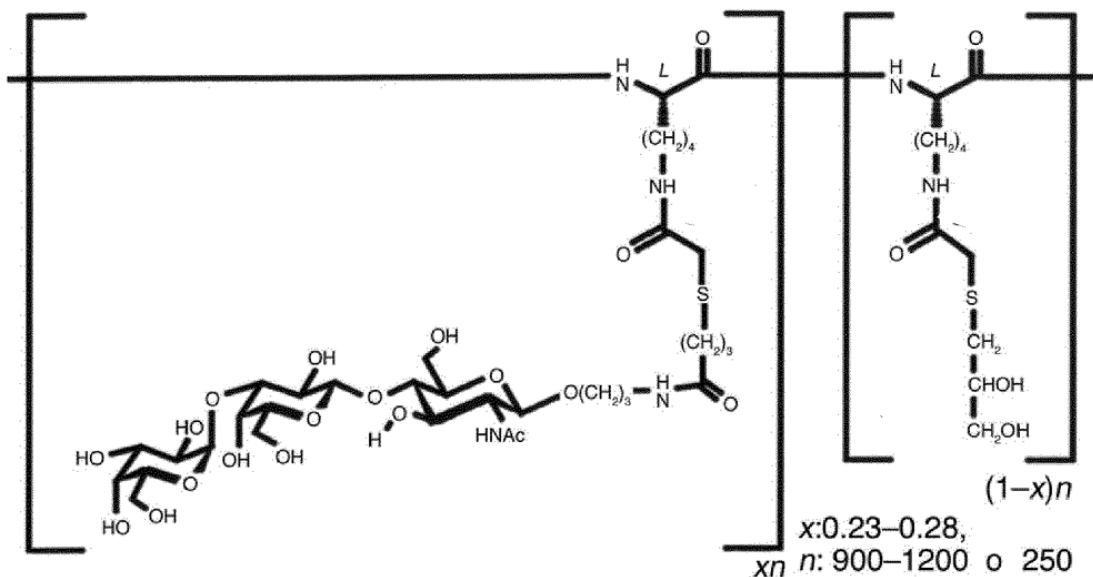
*Ejemplo 3. Patrón anti-hidratos de carbono en suero después de la retirada de anticuerpos anti-Gal mediante GAS914*

Se investigó el patrón de anticuerpos anti-hidratos de carbono en suero antes y después del tratamiento con GAS914 en una matriz de glicano que contenía 435 antígenos de glicano y 141 antígenos bacterianos. Los únicos antígenos de hidratos de carbono que mostraron reducciones después del tratamiento con GAS914 fueron el trisacárido Gal, el tetrasacárido Gal y el pentasacárido Gal, con niveles que cayeron un 96,5%, un 95% y un 90%, respectivamente, en comparación con los anteriores al tratamiento. Además, también hubo aumentos estadísticamente significativos contra 48 hidratos de carbono y 9 antígenos bacterianos. Muchos de los aumentos correspondieron a unidades de fluorescencia relativa (UFR) por debajo de 1000. Sin embargo, estos aumentos incluyeron dos estructuras de Fuca1-2Galb1-3(Fuca1-4)GlcNAcb que se expresa en *E. coli* O86:B7, una de las bacterias en la que se observó un aumento de la actividad bactericida con la retirada de anticuerpos anti-Gal. Por tanto, es posible que se produzcan cambios estadísticamente significativos incluso con valores inferiores a 1000. Los hidratos de carbono y antígenos bacterianos que muestran aumentos estadísticamente significativos después del agotamiento de los anticuerpos anti-Gal con valores superiores a 1500 UFR incluyeron lo siguiente:

1. Quitotriosa, quitopentaosa y quitohexosa, que mostraron aumentos estadísticamente significativos con valores altos. Estos residuos de GlcNAc también se expresaron en dos antígenos bacterianos que también muestran cambios estadísticamente significativos con valores altos: *Salmonella enterica* O62 y *Pseudomonas aeruginosa* O3.
2. Otro hidrato de carbono con aumentos significativos y valores altos fue el ácido hialurónico con 8 disacáridos. El ácido hialurónico se expresa en *E. coli* O161 como el antígeno bacteriano con el mayor cambio estadísticamente significativo después del tratamiento con GAS914.
3. Los residuos de Galb1-4GalNAcb, b-manosa y sialil-lea también tuvieron cambios estadísticamente significativos y valores altos.
4. *Salmonella enterica* O47 mostró cambios estadísticamente significativos con valores altos.

REIVINDICACIONES

1. Copolímero al azar GAS914 que tiene la siguiente estructura:



5

en la que n representa el grado de polimerización promedio, x representa la fracción de monómero glicosilado; y 1 - x representa la fracción de monómero con los extremos ocupados por tioglicerol, para su uso en la prevención de una infección en un sujeto, en el que dicha infección está provocada por bacterias del tracto gastrointestinal, y la infección se produce en la sangre, el corazón, el aparato cardiovascular, el hígado, el pulmón, las vías respiratorias, el riñón, las vías urinarias, el sistema nervioso central, la piel, tejidos subcutáneos o heridas quirúrgicas.

10

2. GAS914 para su uso según la reivindicación anterior, en el que la prevención de la infección se realiza mediante la retirada de anticuerpos anti-Gal mediada por dicho agente.

15

3. GAS914 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que GAS914 se administra al sujeto por vía subcutánea o por vía intravenosa.

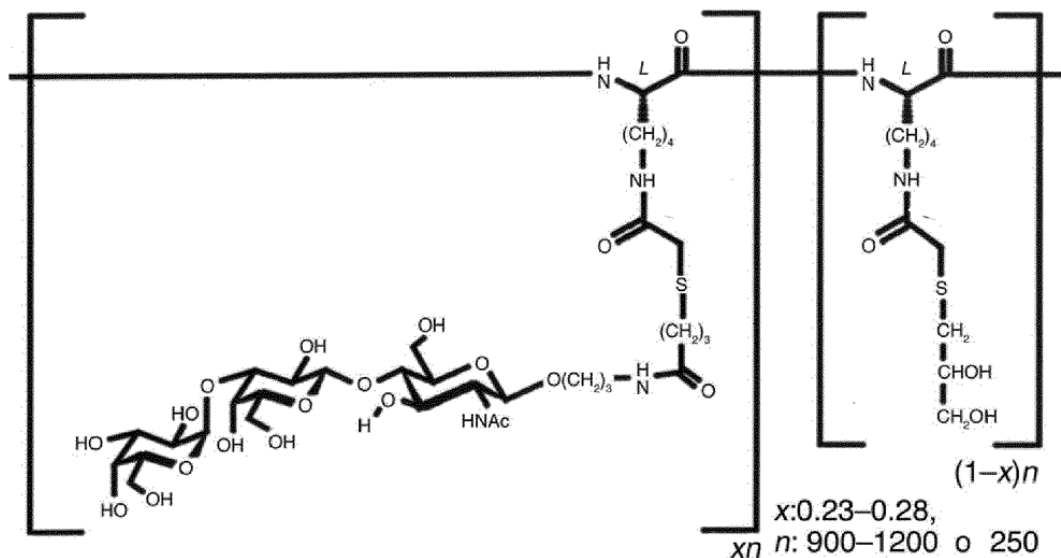
20

4. GAS914 para su uso según la reivindicación 3, en el que GAS914 se formula como una disolución en tampón acuoso isotónico estéril.

5. Composición que comprende:

25

(i) el copolímero al azar GAS914 que tiene la siguiente estructura:



en la que  $n$  representa el grado de polimerización promedio,  $x$  representa la fracción de monómero glicosilado; y  $1 - x$  representa la fracción de monómero con los extremos ocupados por tioglicerol, y

- 5 (ii) un antibiótico.
6. Composición según la reivindicación 5, en la que dicho antibiótico en (ii) se selecciona del grupo que consiste en carbapenems, cefalosporinas, monobactamas, penicilinas, polipéptidos, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas.
- 10 7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 5 ó 6, para su uso en medicina.
8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 5 ó 6, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una infección provocada por bacterias del tracto gastrointestinal en un sujeto.
- 15 9. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que la infección se produce en la sangre, el corazón, el aparato cardiovascular, el hígado, el pulmón, las vías respiratorias, el riñón, las vías urinarias, el sistema nervioso central, la piel, tejidos subcutáneos o heridas quirúrgicas.
- 20 10. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en la que la composición se administra al sujeto por vía subcutánea o por vía intravenosa.
11. GAS914 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que dicha infección es una infección de la sangre.
- 25 12. GAS914 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 11, o composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en el que las bacterias del tracto gastrointestinal son bacterias entéricas, preferiblemente en el que las bacterias entéricas se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Veillonella*, y bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*.
- 30 13. GAS914 para su uso según la reivindicación 12, o composición para su uso según la reivindicación 12, en el que las bacterias entéricas de la familia *Enterobacteriaceae* se seleccionan del grupo que consiste en bacterias del género *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* y *Yersinia*.
- 35 14. GAS914 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 11 a 13, o composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, en el que el sujeto tiene anticuerpos anti-Gal endógenos.
- 40 15. GAS914 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 11 a 14, o composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 14, en el que el sujeto es un humano.

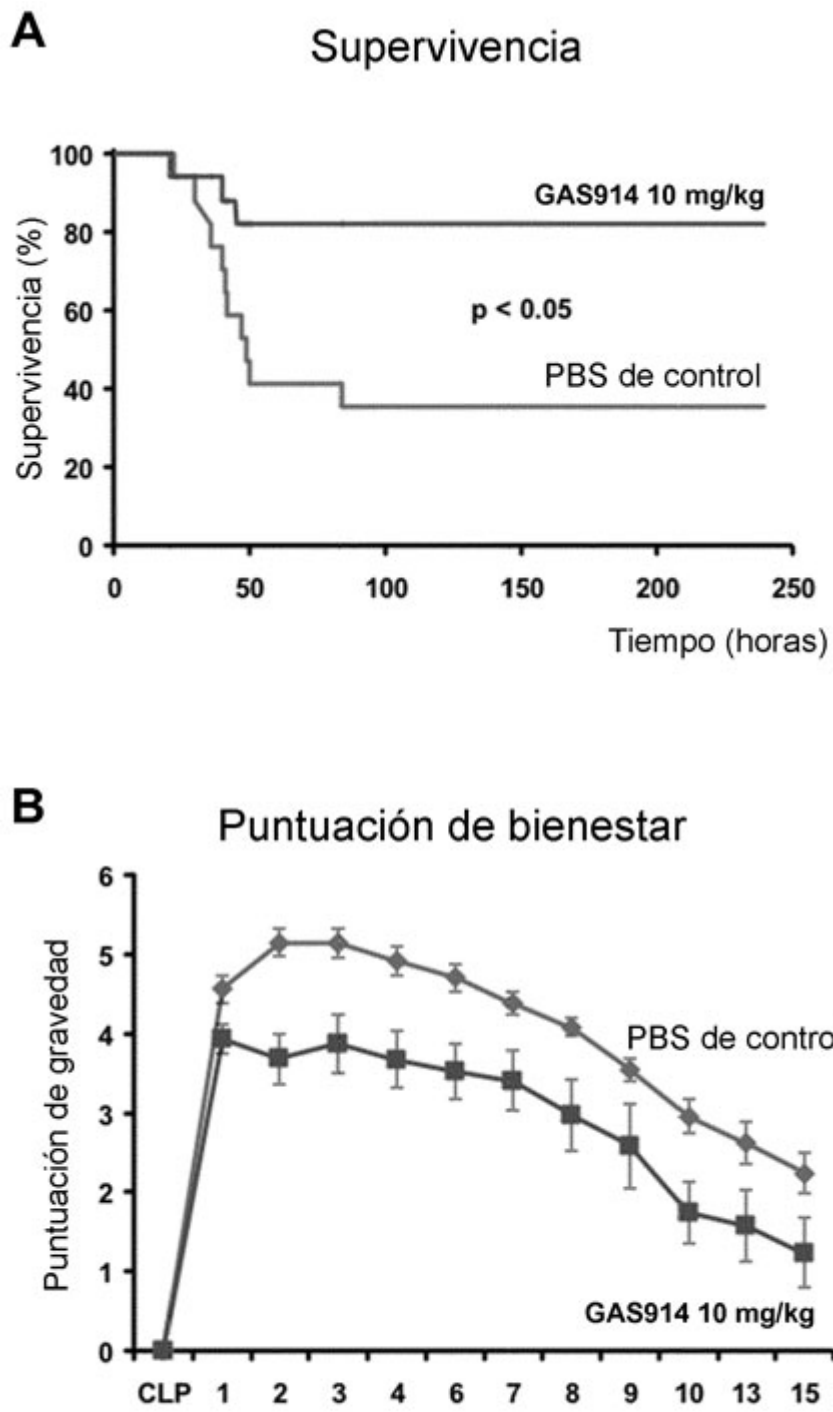


Fig. 1



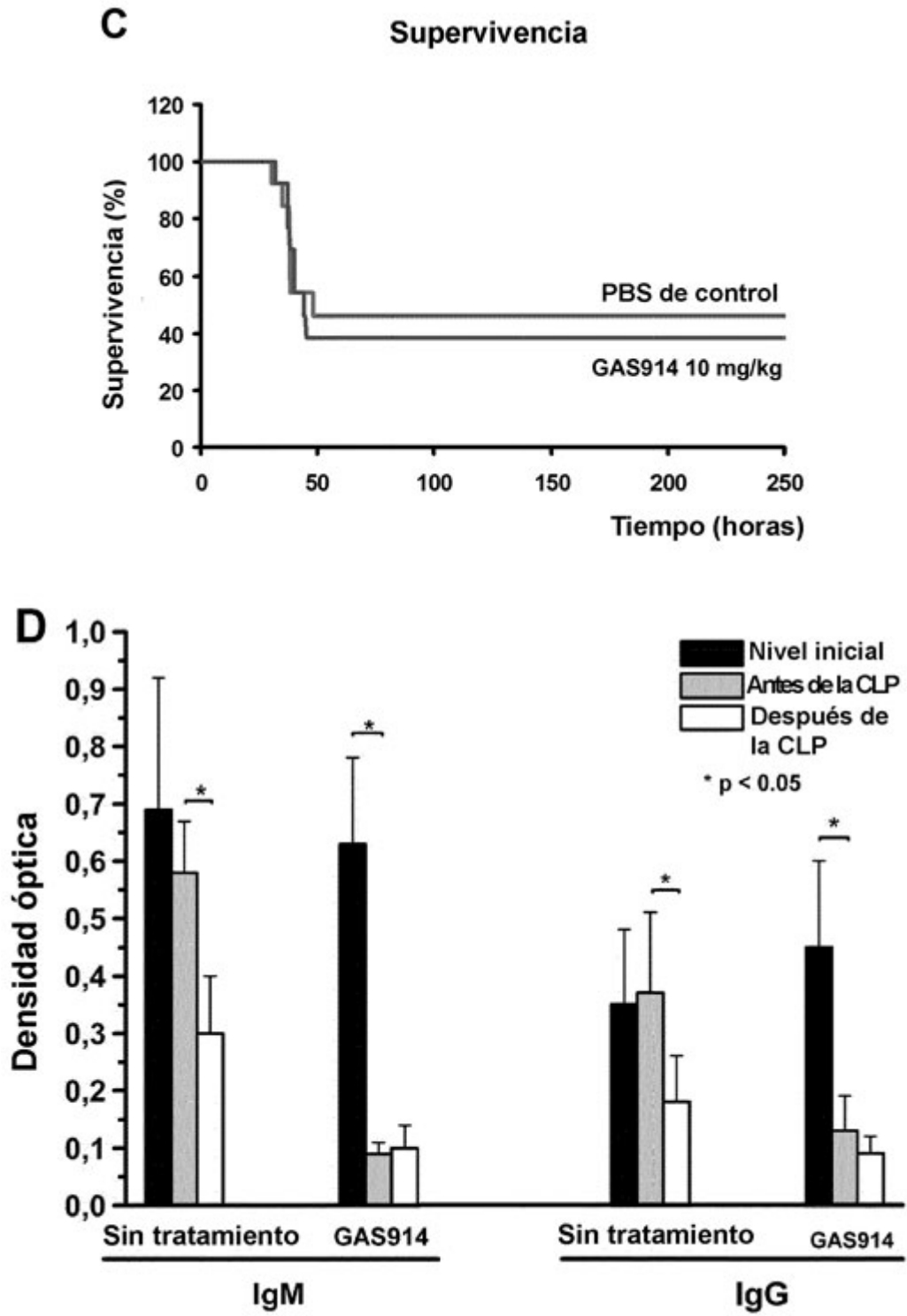


Fig. 1 (cont.)

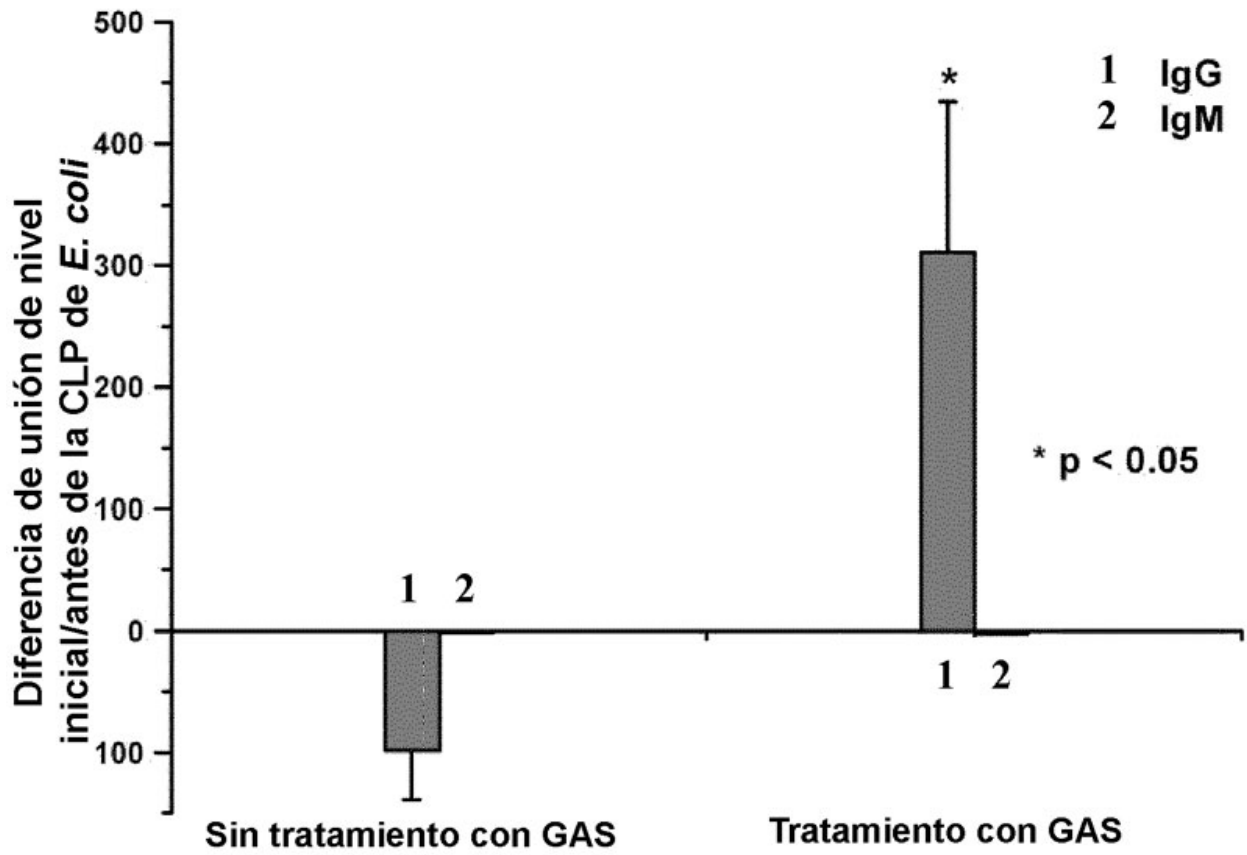


Fig. 2

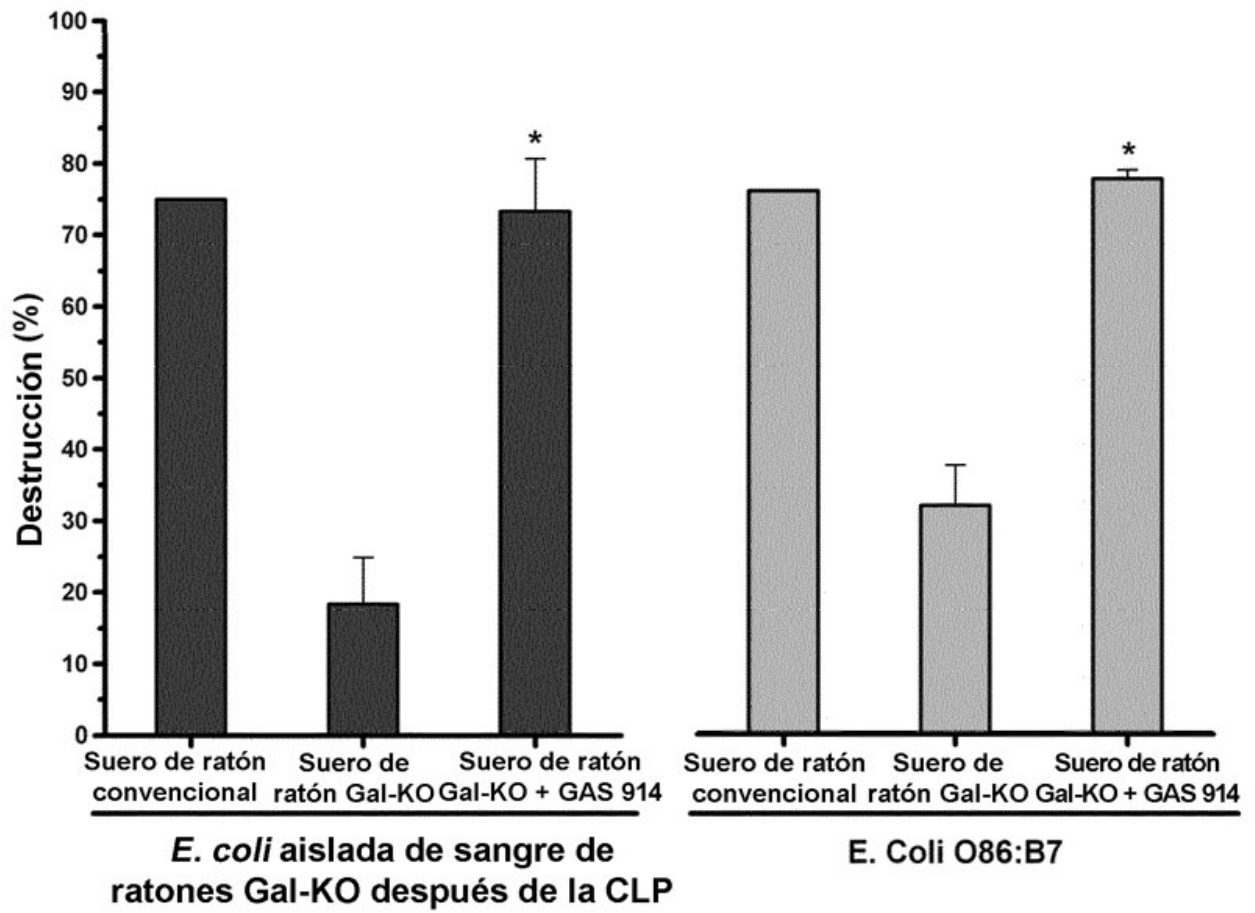


Fig. 3

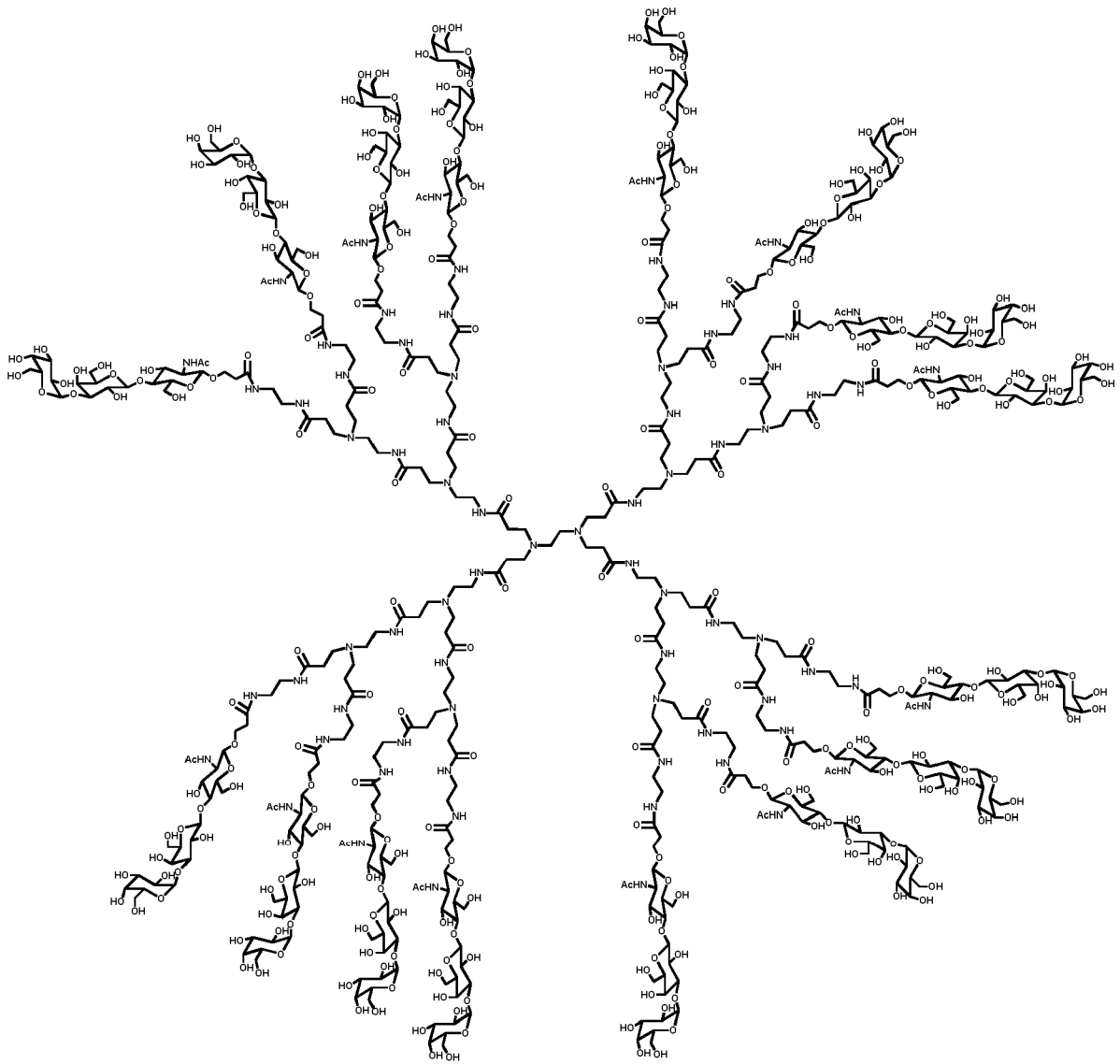


Fig. 4