

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 907 875**

51 Int. Cl.:

A61K 31/715 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61K 9/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2006 E 18179968 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.12.2021 EP 3403657**

54 Título: **Uso de oligouronatos para el tratamiento de hiperviscosidad mucosa**

30 Prioridad:

06.10.2005 GB 0520375

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

26.04.2022

73 Titular/es:

**NORWEGIAN UNIVERSITY OF SCIENCE AND
TECHNOLOGY (NTNU) (100.0%)
Sem Sælands vei 14
7491 Trondheim, NO**

72 Inventor/es:

**TAYLOR, CATHERINE;
DRAGET, KURT INGAR y
SMIDSRØD, OLAV ÅSMUND**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 907 875 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

Uso de oligouronatos para el tratamiento de hiperviscosidad mucosa

5 Esta invención se refiere al tratamiento de pacientes de fibrosis quística humanos para combatir la viscosidad mucosa elevada en el tracto digestivo, por ejemplo, para facilitar la eliminación de heces, por ejemplo, para combatir el estreñimiento.

10 La fibrosis quística es la enfermedad genética mortal más común en poblaciones europeas. La enfermedad está causada por una mutación en el gen que codifica el regulador transmembrana de fibrosis quística (CFTR), un canal de cloruro que está presente en células secretoras y otras células del organismo. La enfermedad se caracteriza por la presencia de secreciones de moco espeso, intratable en el organismo que puede dar lugar a enfermedad pulmonar, sinusitis, problemas digestivos e infertilidad. El patrón normal de eliminación mucociliar en los pulmones no logra eliminar el moco excesivamente viscoso que queda colonizado por microorganismos, que a su vez aumenta la viscosidad del moco y puede dar lugar a inflamación pulmonar crónica y obstrucción. La enfermedad pulmonar, por tanto, es el mayor problema de salud para la mayoría de los pacientes con CF y es la causa principal de muerte.

20 El moco es una secreción normal de todo el sistema respiratorio, incluyendo los pulmones. Su función principal es como parte del sistema de eliminación mucociliar que mantiene los pulmones limpios y protege contra infecciones. El sistema de eliminación mucociliar tiene tres componentes principales: moco; cilios; y el líquido de la superficie respiratoria. La superficie epitelial, por tanto, comprende células globulares que secretan moco y células epiteliales ciliadas con una capa superpuesta de líquido de la superficie respiratoria y por encima de esa una capa de moco, en que sobresalen las puntas de los cilios. El moco es un material gelatinoso adherente compuesto principalmente por agua (aproximadamente un 95 % en peso) y mucinas, moléculas que forman gel, responsables de las propiedades físicas del moco. Los cilios son proyecciones similares a capilares pequeños de la superficie de las células epiteliales, que se sacuden rítmicamente en el líquido de la superficie respiratoria no viscosa acuosa con sus puntas sumergidas en la capa mucosa. La capa mucosa forma una cobertura adherente en la superficie pulmonar que atrapa bacterias, virus, partículas inhaladas, contaminantes ambientales y desechos celulares. El golpeteo de los cilios sirve para impulsar esta cobertura mucosa y cualquier cosa atrapada en ella hacia la boca y desde los pulmones. En condiciones normales, el sistema de eliminación mucociliar funciona de forma eficaz y los pulmones se mantienen limpios y sin infección. Si el sistema se sobrecarga, existe una segunda línea de defensa: tos. Por tanto, cuando se secretan niveles aumentados de moco en respuesta a irritación o inflamación, por ejemplo, debido a partículas inhaladas o infección, el moco se proyecta desde los pulmones por el reflejo de tos.

35 En pacientes con CF, el moco en el pulmón es más espeso y más viscoso de lo normal, y este moco más espeso no se transporta tan fácilmente por los cilios. Como resultado, el sistema de eliminación mucociliar está comprometido y los pulmones son más vulnerables a infección. Además, los pulmones de pacientes con CF parecen estar en un estado hiperinflamatorio con un nivel bajo continuo de inflamación y una respuesta aumentada a agentes que normalmente causan inflamación. Esto es problemático ya que parte de la respuesta a la inflamación es producción aumentada de moco. El moco aumentado se acumula si es demasiado espeso para eliminar por el sistema de eliminación mucociliar o la tos, se reduce la capacidad pulmonar y se disminuye el intercambio de oxígeno a través de la mucosa. Esto proporciona un entorno ideal para colonización bacteriana, un grave problema para pacientes con CF ya que también causa inflamación y activa la respuesta inmunitaria. Esto da lugar no solamente a secreción aumentada de moco, sino también a una presencia aumentada de células de respuesta inmunitaria y agentes tales como macrófagos y lisozimas. Según mueren las bacterias y los macrófagos, sus contenidos celulares se liberan al moco y estos incluye moléculas viscosas tales como el ADN. Además, algunas de las bacterias, por ejemplo, *Burkholderia sp.* y *Pseudomonas aeruginosa*, también secretan polisacáridos altamente viscosos, en el último caso alginatos. Estas moléculas aumentan además la viscosidad del moco, en el caso de los alginatos aparentemente por interacción con la matriz de mucina del moco, pero en el caso del ADN aparentemente aumenta la viscosidad de la fase de sol dentro de la matriz de mucina.

50 El mantenimiento del moco en una forma que pueda transportarse por los cilios es, por tanto, un objetivo clave del tratamiento de CF. Los agentes que simplemente descomponen su estructura de tipo gel producirían líquido que sería tan poco transportable como el moco hiperviscoso del paciente con CF. Es importante, por lo tanto, que cualquier agente de tratamiento no descomponga la matriz de gel formada por las mucinas glucoproteicas.

Los pacientes con CF, especialmente los bebés y los ancianos en general, padecen particularmente estreñimiento. Reduciendo la hiperviscosidad mucosa en el intestino también puede abordarse este problema.

60 El documento US 2003/0013678 sugiere el uso de poligalacturónidos (obtenibles de la pectina) como un aditivo alimentario, y enseña que tales moléculas tienen un "efecto de fibra celulósica" que es beneficioso en la prevención o el tratamiento de varias afecciones colónicas incluyendo estreñimiento, diverticulosis y carcinoma de colon.

65 Los presentes inventores han descubierto que la hiperviscosidad mucosa puede reducirse usando un oligouronato, en particular uno que contiene de dos a treinta restos monoméricos.

Visto desde un aspecto la invención proporciona un oligoguluronato fisiológicamente tolerable que tiene un peso molecular en el intervalo de 350 Da a 6000 Da para su uso en un método de tratamiento de un sujeto humano que padece fibrosis quística, en donde dicho tratamiento es para reducir la hiperviscosidad mucosa en el sistema digestivo y dicho método comprende la aplicación de dicho oligoguluronato a una superficie mucosa en el sistema digestivo de dicho sujeto. Visto desde un aspecto adicional la invención proporciona el uso de un oligoguluronato fisiológicamente tolerable que tiene un peso molecular en el intervalo de 350 Da a 6000 Da en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la hiperviscosidad mucosa en el sistema digestivo de un sujeto humano que padece fibrosis quística, en donde dicho tratamiento comprende la aplicación de dicho medicamento a una superficie mucosa en el sistema digestivo de dicho sujeto.

La aplicación del oligoguluronato puede ser por cualquier medio que lo suministre a una superficie de secreción de moco o de transporte de moco en el sistema gastrointestinal del paciente. La introducción del oligoguluronato puede ser oral o rectal, por ejemplo, en forma de soluciones, suspensiones, dispersiones, jarabes, polvos, comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas o supositorios. Cuando tiene que combatirse el estreñimiento puede usarse el oligoguluronato como un aditivo o complemento alimenticio o puede estar presente en una píldora de vitaminas o minerales. El oligoguluronato para su uso de acuerdo con la invención puede proporcionarse por lo tanto en el contexto de un producto alimenticio o aditivo alimenticio que comprende un material nutritivo, por ejemplo, un material que contiene proteína y/o carbohidrato, y el oligoguluronato fisiológicamente tolerable.

Los contraiones para el oligoguluronato pueden ser cualquiera de los iones fisiológicamente tolerables habitualmente usados para sustancias farmacológicas cargadas, por ejemplo, sodio, potasio, amonio, cloruro, mesilato, meglumina, etc. Los iones que promueven la gelación de alginato, por ejemplo, metales del grupo 2, sin embargo, preferentemente no se usarán.

Aunque el oligoguluronato puede ser un material sintético, es preferentemente un derivado de un polisacárido de origen natural. Es preferentemente de 3 a 28 monómeros, por ejemplo, de 4 a 25 monómeros, de 6 a 22 monómeros, de 8 a 15 monómeros o de 10 monómeros, por ejemplo, que tiene una masa molecular en el intervalo de 750 a 4500 Da. Puede ser compuesto único o puede ser una mezcla de oligoguluronatos, por ejemplo, de una gama de grados de polimerización. Además, los restos monoméricos en el oligoguluronato, es decir, los grupos de monosacárido, puede ser iguales o diferentes.

Los oligoguluronatos están fácilmente accesibles de fuentes naturales ya que muchos polisacáridos naturales contienen restos de ácido gulurónico.

La escisión de polisacárido en oligosacárido para producir oligoguluronatos usables de acuerdo con la presente invención puede realizarse usando técnicas de lisis de polisacáridos convencionales tales como digestión enzimática e hidrólisis ácida. Los oligoguluronatos pueden separarse después de los productos de descomposición del polisacárido de forma cromatográfica usando una resina de intercambio iónico o por precipitación fraccionada o solubilización.

Los ejemplos de polisacáridos que contienen guluronatos incluyen polisacáridos de origen natural (tales como alginatos) y polisacáridos modificados químicamente, incluyendo, aunque sin limitación, polisacáridos modificados para añadir grupos cargados (tales como glucanos carboxilados o carboximetilados), y polisacáridos modificados para alterar la flexibilidad (por ejemplo, por oxidación con peryodato). Los polisacáridos adecuados se analizan, por ejemplo, en "Handbook of Hydrocolloids", Ed. Phillips y Williams, CRC, Boca Raton, Florida, EE.UU., 2000. El uso de alginatos, sin embargo, es especialmente preferido ya que estos se producen de forma natural como copolímeros de bloque de ácido manurónico (M) y gulurónico (G) y pueden producirse fácilmente oligómeros en bloque-G a partir de materiales de fuente de alginato.

Cuando se usan alginatos como material de partida para la preparación del oligoguluronato, el contenido de ácido gulurónico puede aumentarse, si se desea, por epimerización con manuronano C-5 epimerasas de *A. Vinelandii*.

Los ácidos oligogulurónicos adecuados para su uso de acuerdo con la invención pueden producirse convenientemente por hidrólisis ácida de ácido algínico de *Laminaria hyperborea*, disolución a pH neutro, adición de ácido mineral para reducir el pH hasta 3,4 para precipitar el ácido oligogulurónico, lavado con ácido débil, resuspensión a pH neutro y liofilización.

El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con la invención puede proporcionarse en forma de una composición farmacéutica que comprende el oligoguluronato fisiológicamente tolerable junto con un vehículo o excipiente fisiológicamente tolerable y preferentemente también un agente reductor de la viscosidad mucosa fisiológicamente tolerable adicional, por ejemplo, una enzima de escisión de ácido nucleico (por ejemplo, una DNasa tal como DNasa I), gelsolina, un agente reductor de tiol, una acetilcisteína, cloruro de sodio, un polisacárido de baja masa molecular sin cargar (por ejemplo, dextrano), arginina (u otros precursores o estimuladores de la síntesis de óxido nítrico) o un poliaminoácido aniónico (por ejemplo poli ASP o poli GLU). El uso de una DNasa se prefiere especialmente. El oligoguluronato puede administrarse normalmente en dosis de 1 a 10 000 mg, especialmente de 10 a 1000 mg para un adulto humano. La dosis óptima puede determinarse fácilmente por experimentos rutinarios de

intervalo de dosificación, opcionalmente después de la investigación inicial de un modelo animal, por ejemplo, un modelo de perro.

Dichas composiciones pueden producirse usando vehículos y excipientes farmacéuticos convencionales, por ejemplo, disolventes (tales como agua), modificadores de la osmolalidad, aromas, reguladores del pH, etc. Pueden contener componentes activos adicionales, por ejemplo, agentes que sirven para descomponer los biopolímeros no implicados en la matriz de mucina del moco (por ejemplo, DNasa, particularmente rhDNasa), agentes antibacterianos y antiinflamatorios. La terapia de combinación usando un agente adicional de estos y el oligoguluronato, administrado por separado o conjuntamente, es un aspecto particularmente preferido de la invención. Dichos agentes adicionales pueden usarse en sus dosis normales o incluso a dosis inferiores, por ejemplo, un 50 % de la dosis normal.

La invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes y los dibujos adjuntos, en que:

Las Figuras 1a a 1f son diagramas de modulo complejo en el tiempo para un gel de mucina-alginato y para el mismo gel dosificado con dextrano, polietilenglicol, ADN, oligómero de galacturonato de sodio y oligómero de guluronato de sodio, respectivamente;

Las Figuras 2 y 3 son diagramas de barras que muestran el modulo complejo (G^*) y el ángulo de fase de los mismos geles al final de la gelación como un porcentaje del control;

La Figura 4 es un diagrama de barras que muestra la tensión de flujo de los mismos geles, de nuevo como un porcentaje del control; y

Las Figuras 5a a 5c son fotomicrografías de mucina no tratada y tratada con alginato y/u oligómeros de guluronato de sodio.

Ejemplo 1

Se ensayó el efecto de cinco materiales oligoméricos en un modelo de gel de mucina-alginato:

- a) Dextrano de bajo peso molecular (6000 Da)
- b) PEG de bajo peso molecular (3350 Da)
- c) ADN de bajo peso molecular
- d) Oligómeros de galacturonato de sodio
- e) Oligómeros de guluronato de sodio (bloques G)

El oligómero de guluronato de sodio se preparó como se describe anteriormente y tenía las siguientes características: F_G 0,87, F_M 0,13, F_{GG} 0,83, $F_{GM}=F_{MG}$ 0,05, F_{MM} 0,08, $F_{GGM}=F_{MMG}$ 0,04, F_{MGM} 0,02, F_{GGG} 0,79, DP 19.

Materiales

El gel de control consistía en 18 mg/ml de mucina + 0,6 mg/ml de alginato en NaCl 0,05 M.

Los geles de prueba consistían en 18 mg/ml de mucina + 0,6 mg/ml de alginato + 4 mg de material de ensayo en NaCl 0,05 M

Ensayos reológicos

Gelación: inmediatamente después de mezclar la muestra se cargó en el reómetro a 37 °C. La temperatura se enfrió hasta 10 °C (0,5 grados/minuto) y después se mantuvo a 10 °C durante 18 horas. Se midió de forma continua el comportamiento de la muestra y el desarrollo de gel.

Barrido de frecuencia: después de la gelación, se elevó la temperatura de la muestra hasta 37 °C y se controló el comportamiento reológico como una función de la frecuencia.

Barrido de tensión: a 37 °C, se controló el comportamiento del gel como una función de una tensión aplicada de forma creciente.

Gelación

Los estudios demostraron que los oligómeros de guluronato de sodio (bloques G) pueden desplazar el alginato en interacciones de mucina-alginato, como se observa por la disminución en el módulo complejo del gel (G^*) en el tiempo después de la gelación inicial. Para los cinco geles de ensayo y el gel de control, esto se muestra en las Figuras 1a a 1f, respectivamente.

De los otros materiales oligoméricos ensayados, únicamente los oligómeros de galacturonato de sodio tuvieron un efecto similar, que muestra una disminución en los valores de módulo en el tiempo. Los otros materiales (ADN, PEG, dextrano) causaron un retardo en la gelación, pero el gel siguió desarrollándose en el tiempo como se muestra por el aumento en el módulo complejo.

El módulo complejo y el ángulo de fase de los geles al final del periodo de gelificación se representan en las Figuras 2 y 3. El módulo complejo es una medida de la respuesta total y la resistencia del sistema y el ángulo de fase se refiere al equilibrio entre el comportamiento de tipo líquido y el comportamiento de tipo sólido, indicando un mayor ángulo de fase mayor comportamiento de tipo líquido. Los oligómeros de guluronato de sodio (bloques G) causaron el mayor descenso en G^* y el mayor aumento en el ángulo de fase.

Comportamiento de gel a partir del barrido de frecuencia

Todos los geles mostraron un comportamiento de barrido de frecuencia típico de geles viscoelásticos débiles.

Tensión de flujo a partir del barrido de tensión

Se usó un barrido de tensión para determinar la tensión necesaria para inducir flujo en el sistema. Esto se representa en la Figura 4 como un porcentaje de la tensión necesaria para inducir flujo en el gel de control. Esto da una indicación de cuánto ha debilitado la matriz de gel el material añadido. Los bloques G (oligómeros de guluronato de sodio) tuvieron el efecto más pronunciado sobre la tensión de flujo seguidos por los oligómeros de galacturonato de sodio.

Ejemplo 2

Helechificación

Se prepararon composiciones de mucina de la siguiente manera:

- a) 18 mg de mucina por ml de NaCl acuoso 0,05 M;
- b) 18 mg de mucina y 1 mg de alginato por ml de NaCl acuoso 0,05 M; y
- c) 18 mg de mucina, 0,4 mg de alginato y 0,6 mg oligómero de guluronato de sodio (como en el Ejemplo 1) por ml de NaCl acuoso 0,05 M.

Las composiciones se secaron al aire y se registraron fotomicrografías. Estas, al mismo aumento, se muestran en las Figuras 5a a 5c para las composiciones (a) a (c), respectivamente. Puede observarse claramente que el oligómero de guluronato promueve la helechificación.

Ejemplo 3

Medicamento para el estreñimiento

Una dosis oral de 5-50 ml de un líquido acuoso consiste en un 5-30 % de la sal sódica de un bloque de ácido gulurónico con una pureza de al menos un 75 % de guluronato y un grado de polimerización entre 5 y 20, y si fuera necesario, un agente conservante. El líquido también puede combinarse con otros compuestos que tienen beneficios saludables adicionales, por ejemplo, vitaminas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un oligoguluronato fisiológicamente tolerable que tiene un peso molecular en el intervalo de 350 Da a 6000 Da para su uso en un método de tratamiento de un sujeto humano que padece fibrosis quística, en donde dicho tratamiento es para reducir la hiperviscosidad mucosa en el sistema digestivo y dicho método comprende la aplicación de dicho oligoguluronato a una superficie mucosa en el sistema digestivo de dicho sujeto.
- 10 2. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho oligoguluronato es de 3 a 28 monómeros.
3. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicho oligoguluronato es de 4 a 25 monómeros.
- 15 4. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho oligoguluronato tiene un peso molecular en el intervalo de 750 Da a 4500 Da.
- 20 5. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en forma de una dosis oral de un líquido acuoso que comprende un 5-30 % de la sal sódica de un oligoguluronato que comprende al menos un 75 % de guluronato y que tiene un grado de polimerización entre 5 y 20.
- 25 6. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho oligoguluronato tratamiento es para el estreñimiento.
7. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde en dicho método dicho oligoguluronato se introduce en el intestino por administración oral o rectal.
- 30 8. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicho oligoguluronato está contenido en una composición farmacéutica que comprende dicho oligoguluronato y un vehículo o excipiente fisiológicamente tolerable.
- 35 9. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dicha composición farmacéutica comprende además un agente reductor de la viscosidad mucosa fisiológicamente tolerable adicional seleccionado de una enzima de escisión de ácido nucleico, gelsolina, un agente reductor de tiol, acetilcisteína, cloruro de sodio, un polisacárido de bajo peso molecular no cargado, un precursor o estimulador de la síntesis de óxido nítrico o un poliaminoácido aniónico.
- 40 10. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en donde dicha composición farmacéutica comprende además un agente antibacteriano o antiinflamatorio.
- 45 11. El oligoguluronato fisiológicamente tolerable para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicho oligoguluronato se administra en forma de un aditivo o complemento alimenticio o en una píldora de vitaminas o minerales.
- 50 12. Uso de un oligoguluronato fisiológicamente tolerable como se define en la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de hiperviscosidad mucosa en el sistema digestivo de un sujeto humano que padece fibrosis quística, en donde dicho tratamiento comprende la aplicación de dicho oligoguluronato a una superficie mucosa en el sistema digestivo de dicho sujeto.
13. El uso de la reivindicación 12, en donde dicho oligoguluronato, afección, administración o composición es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11.

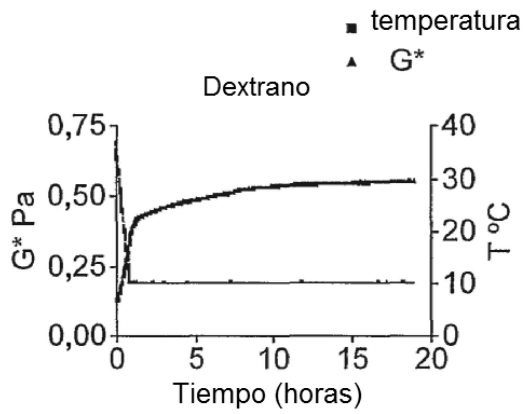


FIG. 1a

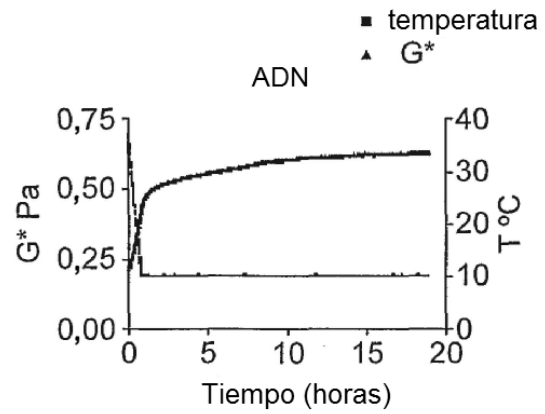


FIG. 1c

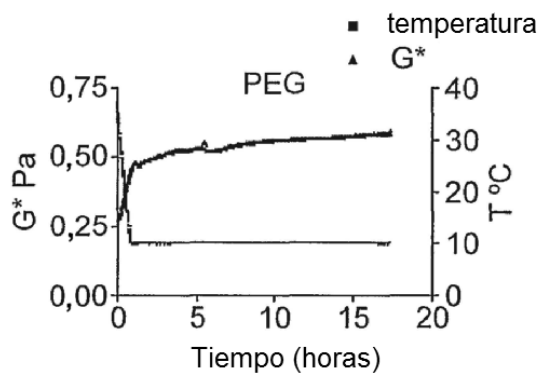


FIG. 1b

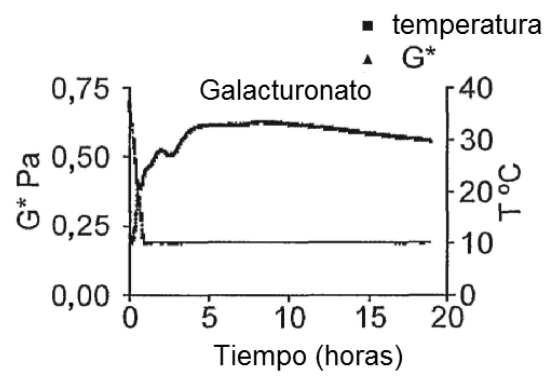


FIG. 1d

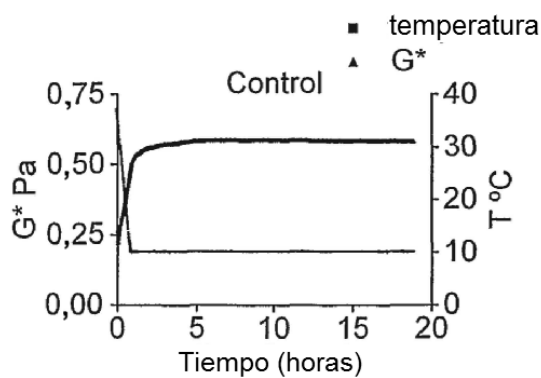


FIG. 1f

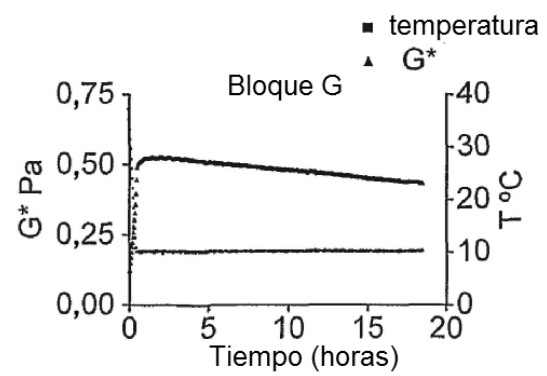


FIG. 1e

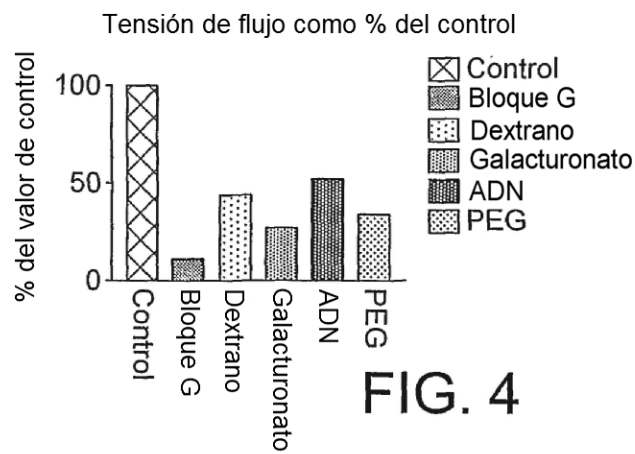
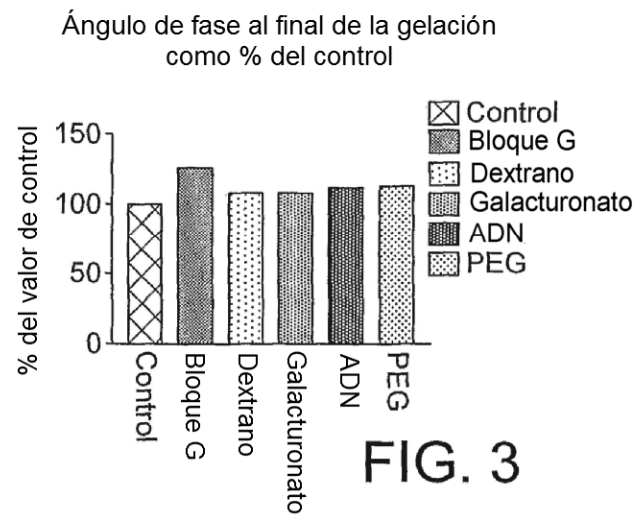
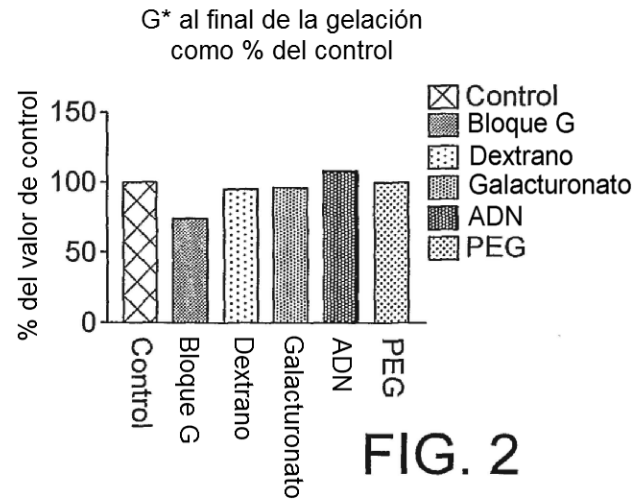
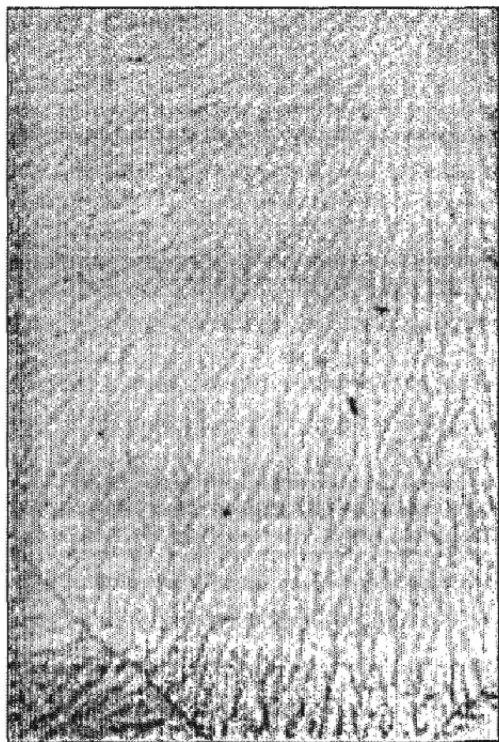


FIG. 5



A



B



C