



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 318 756**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/415 (2006.01)

A61K 31/196 (2006.01)

A61K 31/57 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06754047 .6**

96 Fecha de presentación : **01.06.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1898876**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.03.2008**

54

Título: **Formulaciones mucoadhesivas que contienen xiloglucano útiles en dispositivos médicos y en presentaciones farmacéuticas.**

30

Prioridad: **06.06.2005 IT BO05A0388**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2009

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2009

73

Titular/es: **ALFA WASSERMANN S.p.A.**
Via Enrico Fermi, 1
65020 Alanno, PE, IT

72

Inventor/es: **Bottoni, Giuseppe;**
Maffei, Paola;
Sforzini, Annalisa;
Federici, Mascia;
Caramella, Carla;
Rossi, Silvia y
Viscomi, Giuseppe, Claudio

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 318 756 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

Formulaciones mucoadhesivas que contienen xiloglucano útiles en dispositivos médicos y en presentaciones farmacéuticas.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a formulaciones mucoadhesivas adecuadas para aplicación a membranas mucosas humanas, para uso como agentes humectantes y suavizantes o como sistemas de liberación farmacéutica para uso local y/o sistémico.

La mucosa es una membrana cubriente de la superficie interna de cavidades corporales y canales orgánicos conectados directa o indirectamente con el exterior, es decir la cavidad oral, el tubo gastrointestinal, el tracto respiratorio y la cavidad vaginal. A pesar de algunas diferencias típicas de cada aparato singular, las membranas mucosas están constituidas esencialmente por un epitelio que cubre la cavidad del órgano o el lumen del canal y, más profundamente, de un tejido conjuntivo (*tunica propria* o mucous derma) con la función soportante; este tejido puede ser rico en fibra elástica y linfocitos. Las membranas mucosas están humedecidas por la secreción de glándulas contenidas en su espesor de pared o que se produce directamente por el epitelio glandular que las constituye: Los fluidos de este tipo están constituidos esencialmente por agua, glicoproteínas (mucina), lípidos, sales minerales y enzimas. Las funciones básicas de todos los líquidos segregados son modular las interacciones entre células epiteliales y su entorno por medio de un proceso de lubricación/hidratación, de un proceso de control a nivel físico-químico y microbiológico de las cavidades del “ecosistema” que actúan también como barrera de defensa contra agentes patógenos.

Una secreción reducida de fluidos causa la inevitable aparición de “sequedad”, un síntoma conectado con un gran número de dolencias patológicas. De hecho, la sequedad de mucosas es en la mayoría de los casos el primer síntoma clínico del Síndrome de Sjörgren, una enfermedad sistémica autoinmune que afecta a las glándulas exocrinas causando la pérdida progresiva de su actividad. El cuadro clínico se caracteriza por la reducción de secreciones lacrimales y salivares (sequedad ocular con queratoconjuntivitis, xerostomía, disfagia) y reducción de mucosa vaginal y secreciones del árbol bronquial.

La membrana mucosa vaginal está constituida por un epitelio pavimentoso estratificado no queratinizado. Las capas intermedias del epitelio muestran células ricas en glicógeno. El epitelio yace sobre una *lamina propria* sin glándulas y rica en vasos, la mayoría de ellos venas. La membrana mucosa bajo condiciones fisiológicas está cubierta por un fluido lubricante principalmente producido por endometrio uterino, glándulas endocervicales (moco cervical) y glándulas vestibulares principales (glándulas de Bartolino) (J. R. Berman y col., Eur. Urol., 38, 20-29, 2000).

El fluido vaginal en mujeres fértiles es normalmente ácido (pH 3,5-4,5), mientras que antes de la pubertad así como después de la menopausia las secreciones tienden a ser alcalinas. El fluido vaginal es viscoso, el agua representa el componente principal (90-99%), mientras que la mucina (glicoproteína) asciende a 0,5-5% en peso. La mucina es responsable de las características físico-químicas del fluido vaginal, particularmente viscosidad y propiedades mucoadhesivas. El fluido vaginal también contiene proteínas plasmáticas, enzimas (proteasa, betagluconidasa, fosfatasa y esterasa ácida y alcalina), aminoácidos, colesterol, lípidos, iones inorgánicos, ácido láctico, ácido acético y células epiteliales descamadas. Además del moco vaginal, también está presente en la vagina un trasudado sérico.

La producción de moco y las concentraciones de los diferentes componentes varían durante el período menstrual (M. M. Garrey, “Ginecología Ilustrada”, Ed Il Pensiero Scientifico, 1974).

La producción de moco vaginal está controlada principalmente por esteroides sexuales que afectan a las propiedades biofísicas de la secreción. Las alteraciones hormonales pueden ser la causa de una reducción en la producción de moco con una consiguiente reducción de la lubricación de la mucosa vaginal (sequedad vaginal). Esta dolencia puede a menudo aparecer durante la menopausia cuando, como consecuencia de la reducción de los niveles estrogénicos circulantes, los genitales experimentan modificaciones anatómicas con el consiguiente cambio en características morfológicas y funcionales. Los ovarios se vuelven escleróticos, el endometrio se atrofia, el componente glandular tiende a desaparecer, el canal cervical sufre estenosis y el moco cervical desaparece, la vagina se estrecha y pierde su elasticidad, las paredes vaginales se vuelven más finas, atróficas y secas. La regresión es muy evidente en ambos coriones vaginal y de cuello y la trasudación plasmática desaparece.

La producción reducida de moco expone a la membrana mucosa a una mayor vulnerabilidad frente a infecciones como consecuencia de la abrasión que puede ocurrir durante la relación sexual. La susceptibilidad de este tipo se puede aumentar adicionalmente por alteraciones vaginales (reducción de glicógeno intracelular, modificaciones de pH y microflora) típicas de la menopausia (G. B. Candiani, V. Danesino, A. Gastaldi, La Clinica Ostetrica e Ginecologica, Ed. Masson, 1992). Esta dolencia causa una sintomatología caracterizada por dispareunia, quemazón y eccema con rechazos psicológicos y sexuales no despreciables.

La sequedad vaginal transitoria, periódica o definitiva es un problema común que puede aparecer en cualquier momento de la vida en las mujeres, desde la pubertad hasta la menopausia y a menudo puede hacer que la relación sexual sea dolorosa o incluso imposible.

ES 2 318 756 T3

Además de la menopausia, que evidentemente representa la dolencia más común que causa sequedad vaginal, existen otras muchas causas de naturaleza tanto endocrina (niveles reducidos de estrógenos circulantes) como no endocrina, tales como histerectomía/ovariectomía, uso de anticonceptivos orales, amenorrea, irritación de la membrana mucosa vaginal causada por agentes microbianos o químicos, tratamientos con fármacos particulares, Síndrome de Sjörgren, diabetes mellitus y alteraciones psíquicas.

Siempre que la membrana mucosa de la cavidad oral esté concernida, la sequedad de las fauces puede ser el síntoma de varios cuadros clínicos relacionados con patologías endocrinas, alteraciones psíquicas como ansiedad y depresión, deficiencias nutricionales, lesiones de nervios craneales; o también el efecto lateral adverso de varios fármacos tales como agentes antidepresivos, inhibidores ACE, quimioterápicos/radioterápicos, simpatomiméticos, anti-retrovirales, ansiolíticos, y sedantes, antiarritmicos, antiinflamatorios, antihipertensivos, antihistamínicos, antiulcerosos y neuro-lépticos.

Una reducción de la secreción también implica manifestaciones relacionadas con la alteración del sistema protector y regulador del equilibrio fisiológico. Por ejemplo una producción salivar reducida puede ser responsable de sequedad oral (xerostomía), alteración del gusto, aumento de aparición de caries e inflamación gingival, estomatitis y problemas de masticación.

La sequedad de las fauces también puede ser un síntoma relacionado con dolencias clínicas tales como faringitis subaguda o crónica y laringitis crónica; los agentes etiológicos de estas enfermedades son agentes microbianos patógenos y también agentes irritantes como los contaminantes atmosféricos, humo de tabaco, aire frío y seco, irritación crónica causada por material gástrico ácido (reflujo gastroesofágico), (J. Woodley, Bioadhesion, New possibilities for Drug Administrations, Clin. Pharmacokinetic, 40, 77-84, 2001).

A la luz de las anteriores consideraciones, es útil proporcionar dispositivos médicos y preparaciones farmacéuticas capaces de reducir o eliminar los efectos negativos relacionados directa o indirectamente con la sequedad de las mucosas.

Además, dado que los órganos, en los que están presentes las membranas mucosas, también están sometidos a patologías específicas y además pueden absorber fármacos, es útil poner a disposición medicamentos que liberan fármacos en los sitios de este tipo.

Para los fines de este tipo se pueden usar polímeros bioadhesivos, o sustancias capaces de adherirse íntimamente a las membranas biológicas, según se describe, por ejemplo, en EP 0770384B1 para preparaciones para uso vaginal.

Los xiloglucanos son una clase de polisacáridos estructuralmente similares a celulosa e íntimamente asociados con ella en la pared celular de las plantas superiores. Además los xiloglucanos son unos de los muchos componentes, que actúan lo más probablemente como reserva energética de semillas de plantas tales como *Tamarindus Indica* originaria de India y Asia suroriental, *Detarium Senegalense* Gmelin difundida en África (en particular en Nigeria, *Azelia africana* difundida en África central y oriental y también en sabanas y bosques cerca de la costa de África oriental y Jatoba.

Los xiloglucanos se caracterizan por una cadena principal de (1,4)- β -D-glucano sustituida con cadenas laterales de α -D-xilopiranososa y de β -D-galactopiranosil-(1,2)- α -D-xilopiranososa unidas a restos glicano a través de un enlace α (1,6). La distribución los restos en las cadenas laterales es diferente en los xiloglucanos de tipos diferentes. Se han identificado tres unidades oligómeras en la estructura de los xiloglucanos, es decir monosacáridos, octasacáridos y heptasacáridos que difieren entre ellos en el número de cadenas laterales de galactosa (U. Hiroshi, Trends in Glycoscience and Glycotechnology, 14, 355-376, 2002).

El uso principal de los xiloglucanos está en la nutrición animal y la humana. Además, la harina obtenida de semillas de las plantas anteriormente mencionadas, que contiene xiloglucanos, se usa comúnmente en la industria alimentaria como agente estabilizante, gelificante y espesante.

También se ha reseñado el uso de xiloglucanos en dispositivos médicos o como componente en preparaciones farmacéuticas, aunque menos frecuentemente. Miyazaki y col., describen un gel reversible térmicamente sobre la base de xiloglucano al 1-2% en peso para suministro rectal de fármaco de liberación controlada (Journal of Controlled Release. 56, 1-3, 1998, 75-83). Hafeti y col., hacen referencia a un gel de xiloglucano inyectable biodegradable, estando presente xiloglucano en concentraciones de 0,5, 1, 1,5% en peso (Journal of Controlled Release. 80, 1-3, 2002).

En el documento US 2004/192640 se describe un medicamento intravaginal que contiene uno o más vehículos bioadhesivos o mucoadhesivos, tales como xiloglucanos u otros (hidroxipropilcelulosa, carbómeros, alginatos, pectina).

Adicionalmente, se usan xiloglucanos, por ejemplo, como agentes para aumentar la viscosidad en productos que se usan como sustitutos lagrimales, que muestran un perfil toxicológico seguro incluso cuando se administran a la membrana mucosa oftálmica, que es particularmente sensible a lesiones e irritaciones (M. F. Saettone y col., en US 6.056.950). El documento WO 9729777 (M. Shozo y col.,) describe una preparación de xiloglucano, parcialmente

ES 2 318 756 T3

degradado con una enzima tal como galactosidasa, para uso como ingrediente en la preparación de formulaciones de liberación controlada. Según esta patente, la eliminación parcial de restos galactosa de xiloglucano proporciona propiedades de alta gelificación, de manera que un principio activo incorporado en un gel de este tipo puede ser liberado gradualmente en el sitio de aplicación.

Se ha encontrado ahora, y éste es el objeto de la presente invención, que preparaciones de xiloglucanos adecuadamente purificados, combinados con cantidades apropiadas de glicerol, muestran propiedades mucoadhesivas inesperadas. La presencia de glicerol aumenta inesperadamente la mucoadhesividad de xiloglucano.

Además, el contenido en glicerol está relacionado directamente con el comportamiento de liberación controlada de esta preparación de xiloglucano, y la mucoadhesividad persiste incluso al reducir la viscosidad de la solución.

Descripción de la invención

Son objeto de la invención formulaciones mucoadhesivas y de liberación controlada que están constituidas por soluciones acuosas que contienen 0,05% a 5% en peso de un polímero natural purificado que tiene estructura de xiloglucano y 10% a 70% en peso de glicerol. Estas formulaciones son adecuadas para aplicación sobre membranas mucosas humanas, tales como membranas mucosas nasales, orales y vaginales, como agentes humectantes y suavizantes o como sistema farmacéutico de liberación. A las combinaciones de la invención se pueden añadir principios activos y excipientes conocidos por los expertos en la técnica, para la preparación de preparaciones farmacéuticas o dispositivos médicos para uso humano que son un objetivo adicional de la invención.

Estas preparaciones farmacéuticas o dispositivos médicos se pueden formular como soluciones, óvulos, pulverizadores, colutorios, cremas, pomadas, lavados vaginales y otros sistemas de administración adecuados.

Se puede usar un gran número de principios activos en la presente invención, preferiblemente antibióticos, antimicóticos, antiprotozoarios, antivirales, antiinflamatorios, desinfectantes, quimioterápicos, analgésicos, mucolíticos, antitusivos, descongestionantes, reguladores de absorción de calcio, hormonas y vacunas.

El xiloglucano purificado de la presente invención se obtiene mediante purificación de extractos vegetales de xiloglucanos, o productos sin terminar comercialmente disponibles con diferente grado de pureza para uso en la industria alimentaria.

La purificación se lleva a cabo según el siguiente procedimiento. Se prepara una suspensión del 0,5% al 5%, preferiblemente 1% a 2%, de extracto de xiloglucano en polvo bruto en agua destilada fría. La suspensión se vierte a continuación en cuatro veces su volumen de agua destilada hirviendo y se mantiene la solución a ebullición durante 15 a 30 minutos bajo agitación. Se deja en reposo la solución resultante durante 10 a 20 horas hasta que precipitan las proteínas y fibras contaminantes. A continuación se centrifuga la solución a 4000-8000 rpm durante un tiempo entre 15 y 30 minutos. El material sobrenadante se filtra a través de un filtro de polipropileno de 6 μm y el filtrado se centrifuga adicionalmente a 12000-18000 rpm durante un tiempo entre 30 y 60 minutos. El material sobrenadante se puede esterilizar a continuación bien por filtración a través de un filtro de polipropileno de 0,22 μm o bien en un autoclave a 121°C durante un tiempo entre 20 y 40 minutos. La solución resultante se puede usar directamente como tal o se puede liofilizar. El procedimiento descrito proporciona el xiloglucano purificado con un rendimiento entre 30% y 80%, con respecto al producto de partida.

El procedimiento de purificación de este tipo proporciona xiloglucanos adecuados para uso farmacéutico, proporcionando en particular un perfil de seguridad para uso en seres humanos, más particularmente para la aplicación a membranas mucosas. El procedimiento de purificación de la invención proporciona un producto con propiedades tecnológicas constantes que garantizan reproducibilidad en cuanto a viscosidad y mucoadhesividad. La viscosidad es uno de los parámetros más importantes que caracterizan a un producto diseñado para preparaciones mucoadhesivas. El procedimiento de la invención proporciona un xiloglucano purificado con viscosidad adecuada para los ámbitos de la invención, según se determina sobre una solución acuosa al 2% en peso usando un viscosímetro rotatorio a la temperatura de 25°C operando a una velocidad de formación en cizalla de 200 s^{-1} y un tiempo de descanso de 15 minutos.

Los valores de viscosidad resultantes pueden cambiar dependiendo del producto bruto de partida. Los valores de viscosidad adecuados para uso dentro de los ámbitos de la presente invención oscilan entre 150 y 800 mPa-s.

Además, el procedimiento de purificación proporciona una reducción notable de impurezas de proteínas presentes en el material de partida. Los xiloglucanos exentos de impurezas de proteínas son necesarios puesto que los sitios de mucosas son particularmente sensibles a irritaciones. Por otra parte, la administración a la cavidad oral puede disparar reacciones anafilácticas. Por esta razón, según la invención se ha introducido un límite superior de absorbancia UV a 280 nm, que es una medida indirecta de proteínas residuales. Los xiloglucanos purificados adecuados para la invención deberían tener un valor de absorción a 280 nm inferior a 0,5 unidades abs cuando se mide en una solución acuosa al 2% en peso a la temperatura de 25°C.

ES 2 318 756 T3

La Figura 1 reseña el perfil de moco adhesividad de formulaciones que contienen el xiloglucano purificado a concentraciones crecientes de glicerol, según los datos de la tabla 2 del ejemplo 3. El perfil de este tipo muestra el efecto sinérgico de glicerol y xiloglucano de aumentar la muco adhesividad.

5 La Figura 2 muestra que el aumento de moco adhesividad no está relacionado con los valores de viscosidad de las respectivas soluciones, según los datos de la tabla 2 del ejemplo 3.

Finalmente, la tabla 2 del ejemplo 3 muestra que también se aseguran niveles significativos de muco adhesividad a valores de viscosidad bajos, por ejemplo a valores inferiores a 30 mPa-s.

10

Estas últimas consideraciones son particularmente relevantes a la vista de las aplicaciones que se consideran para la presente invención. Efectivamente, después de administración a la mucosa, las preparaciones de uso tópico podrían ser objeto de dos fenómenos que tienen ambos un impacto potencialmente negativo sobre la muco adhesividad: en realidad cerca de la superficie de la mucosa, la acción combinada de la temperatura y los fluidos biológicos inducirá una reducción de viscosidad y un efecto de dilución de la preparación. En contraposición, la preparación de xiloglucano-glicerol de la invención, mantiene muco adhesividad a concentraciones bajas y a un nivel que no está relacionado con la viscosidad.

15

Según la invención, la adición de glicerol en concentraciones entre 10% y 70% en peso a soluciones de xiloglucano purificado a una concentración entre 0,05% y 5% en peso proporciona una liberación controlada de fármacos de una manera directamente relacionada con el contenido de glicerol y no relacionada con la viscosidad de la solución final.

20

La liberación controlada de fármaco de soluciones, preparadas según se describe en el Ejemplo 2 y se reseña en la Tabla 1, ha sido demostrada midiendo la liberación de fármaco a través de celda de Franz a lo largo del tiempo.

25

La propiedad de liberación controlada combinada con la propiedad de muco adhesividad proporciona la liberación constante, prolongada del ingrediente activo en el sitio de acción, según se reseña en la Tabla 3 para diclofenaco.

30

La formulación de la invención que contiene xiloglucano y glicerol, ha sido evaluada respecto a su seguridad: los resultados obtenidos, reseñados en los Ejemplos 11, 12, 13, prueban buena tolerancia local, ausencia de sensibilización y de propiedades de citotoxicidad.

35

La eficacia y seguridad de la combinación de la presente invención también se muestran mediante el estudio clínico reseñado en el Ejemplo 10, en el que el uso del dispositivo médico en forma de óvulo vaginal proporcionó muy buenos resultados en el tratamiento de dispareunia debida a sequedad vaginal.

40

La muco adhesividad particular junto con las propiedades de liberación controlada de los productos de la invención también es una característica determinante para la preparación de formas farmacéuticas innovadoras para liberación de fármacos. Las ventajas están conectadas con la posibilidad de mantener el ingrediente activo farmacéutico en el sitio de acción durante tiempos más largos, aumentando la biodisponibilidad del fármaco. Además, el tiempo de permanencia prolongado, combinado con la liberación controlada de fármaco, permite disminuir la frecuencia de administración. Las propiedades de este tipo pueden ser útiles para la administración de fármacos a membranas mucosas orales, nasales y vaginales.

45

La presente invención también se refiere a dispositivos médicos y preparaciones farmacéuticas que contienen, además de ingredientes activos farmacéuticos y excipientes, 0,05% a 5% en peso de polímero natural purificado que tiene estructura de xiloglucano y 10% a 70% en peso de glicerol.

50

Según la presente invención se seleccionan principios activos preferidos entre agentes antiinflamatorios, tales como diclofenaco y bencidamina, hormonas tales como progesterona y calcitonina. Formas de formulación preferidas son óvulos, geles, irrigaciones y pulverizadores.

55

Ejemplos de preparaciones farmacéuticas según la invención son un pulverizador orofaríngeo que contiene diclofenaco de sodio, un gel vaginal que contiene progesterona, una irrigación vaginal que contiene hidrocloreto de bencidamina y un pulverizador nasal que contiene calcitonina.

60

Ejemplos de dispositivos médicos según la invención son un óvulo vaginal que tiene propiedades hidratantes y un pulverizador orofaríngeo que tiene propiedades suavizantes.

65

Dichos dispositivos médicos y preparaciones farmacéuticas se describen con más detalles en los siguientes ejemplos.

65

ES 2 318 756 T3

Ejemplo 1

Preparación de xiloglucano purificado

5 Se prepara una suspensión añadiendo 200 ml de agua destilada fría a 20 g de Glyloid® 3S (Dainippon) en forma de polvo. Se vierte la suspensión en 800 ml de agua destilada hirviendo y se mantiene la solución a ebullición durante 20 minutos bajo agitación magnética. La solución resultante se deja reposar durante 12 horas, a continuación se centrifuga a 5000 rpm durante 20 minutos. El material sobrenadante se filtra a través de un filtro de polipropileno de 6 μm y la solución resultante se centrifuga adicionalmente a 15000 rpm durante 30 minutos. A continuación se esteriliza la solución a través de un filtro de polipropileno de 0,22 μm . Finalmente se liofiliza la solución resultante obteniendo 14 g de la preparación de xiloglucano purificado.

15 La viscosidad del producto purificado a la concentración de 2% en peso en solución acuosa es 229 mPa·s., medida a la temperatura de 25°C con una velocidad de formación en cizalla de 200 s^{-1} y un tiempo de descanso de 15 minutos.

La absorbancia de una solución acuosa al 2% en peso a la temperatura de 25°C, medida a 280 nm, es 0,2 unidades abs.

20 Ejemplo 2

Preparación de soluciones que contienen diclofenaco de sodio

25 Se disuelve metil-paraoxibenzoato de sodio en agua a la temperatura de 70°C, a continuación se añaden a la solución enfriada fosfonato monobásico de disodio, diclofenaco de sodio y glicerol. La solución se mantiene bajo agitación hasta la completa disolución.

A continuación se añade xiloglucano purificado y se mantiene la solución bajo agitación durante 8 horas hasta hinchamiento completo, a continuación se lleva a 100 ml con agua.

30 Las composiciones de las soluciones de diclofenaco de sodio se reseñan en la Tabla 1.

35 TABLA 1

Componentes	Solución 1	Solución 2	Solución 3	Solución 4
40 Diclofenaco de sodio (% peso/peso)	0,08	0,08	0,08	0,08
Xiloglucano purificado (% peso/peso)	0	0,4	0,4	0,4
45 Glicerol (% peso/peso)	30	0	10	30
Metil-paraoxibenzoato de sodio (% peso/peso)	0,15	0,15	0,15	0,15
50 Fosfonato monobásico de disodio (% peso/peso)	0,22	0,22	0,22	0,22
55 Agua desionizada a 100 ml				

60

Ejemplo 3

Medición de viscosidad y mucoadhesividad de soluciones de diclofenaco de sodio

65 Se midió la viscosidad de soluciones de diclofenaco de sodio preparadas según el Ejemplo 2 usando un viscosímetro que tenía una geometría de medición con un cono placa C 60/1, “una velocidad de formación en cizalla” de 200 seg^{-1} .

ES 2 318 756 T3

La medición *in vitro* de la mucoadhesividad de las soluciones preparadas según el Ejemplo 2 se llevó a cabo con el método del plano inclinado según se describe por Sandri G. y col., (J. Pharm. Pharmacol., 56, 1083-1090, 2004). La prueba se llevó a cabo deslizando la muestra sobre un soporte inerte inclinado cubierto con una capa de mucina gástrica porcina. La absorción sobre la capa de mucina se evalúa con referencia a la absorción de la misma muestra sobre el soporte inerte inclinado sin cubrir.

500 ml de cada muestra de las soluciones que se reseñan en la Tabla 1 conteniendo el xiloglucano purificado se colocan sobre el punto más alto del plano inclinado a 60°, se recoge la porción de mezcla que se desliza sobre el plano en un tiempo de 2 minutos y se mide por pesada.

Los valores de viscosidad y mucoadhesividad de las soluciones de diclofenaco que se describen en el Ejemplo 2 se reseñan en la Tabla 2.

TABLA 2

Soluciones	Viscosidad (mPa·s.)	% adhesividad a soporte inerte	% adhesividad a mucina
1	n. d.	4,3	18,0
2	7,86	14,0	28,0
3	11,32	17,8	60,0
4	28,83	18,8	58,2

Ejemplo 4

Evaluación de propiedades de liberación controlada de una solución de diclofenaco de sodio

Las propiedades de liberación controlada de una solución que contiene diclofenaco de sodio preparada según el Ejemplo 2, han sido evaluadas midiendo la facilidad de lavado de las soluciones viscosas sobre celda de Franz.

Las soluciones, en el equipo atemperado a 37°C, se lavaron con tampón de fosfato a pH 7,4 y se midió la cantidad de ingrediente activo liberado después de 1, 2, 3 y 4 horas. El porcentaje de diclofenaco de sodio liberado sobre la cantidad total se reseña en la Tabla 3.

TABLA 3

Tiempo (horas)	% diclofenaco de sodio Solución 2	% diclofenaco de sodio Solución 3	% diclofenaco de sodio Solución 4
1	31,6	26,7	6,4
2	46,4	35,5	14,02
3	48,1	38,0	24,8
4	52,7	38,0	28,8

Ejemplo 5

Preparación de un óvulo que contiene xiloglucano purificado que tiene propiedades hidratantes

Se solubiliza extracto criodeshidratado de *Aloe barbadensis*, gelatina de pescado, metil p-hidroxibenzoato de sodio, etil p-hidroxibenzoato de sodio y propil p-hidroxibenzoato de sodio a 70°C en 15 ml de agua. Después de la solubilización completa, se enfría la solución a 25°C y se añade el xiloglucano purificado. La solución se mantiene bajo agitación durante aproximadamente 8 horas y después del hinchamiento completo se lleva a la temperatura de 45°C y se añade glicerol.

ES 2 318 756 T3

Después de homogeneización por mezclado, se añade agua desionizada hasta 30 g de peso total y el producto se distribuye en 10 moldes.

Las cantidades de cada componente para la preparación de 10 óvulos se reseñan en la tabla 4.

TABLA 4

Componente	Peso
Xiloglucano	300 mg
Aloe barbadensis	300 mg
Gelatina de pescado	600 mg
Glicerol	10,5 mg
Metil-parahidroxibenzoato de sodio	9,43 mg
Etil-parahidroxibenzoato de sodio	4,2 mg
Propil-parahidroxibenzoato de sodio	4,81 mg
Agua desionizada hasta 30 g	

Ejemplo 6

Preparación de un gel vaginal que contiene progesterona

Se añade metil parahidroxibenzoato a 70°C a agua. Después de la solubilización completa, y enfriamiento de la solución, se añaden glicéridos de aceite de palma hidrogenado que contienen progesterona previamente solubilizada. Después del mezclado completo, se añade xiloglucano purificado y la mezcla se mantiene bajo agitación durante 8 horas hasta hinchamiento completo del polímero. Por último se añade glicerol y se agita la solución final.

Las cantidades de los diversos componentes para la preparación del gel vaginal se reseñan en la Tabla 5.

TABLA 5

Componente	Peso
Xiloglucano	1 g
Progesterona	8 g
Glicerol	30 g
Glicéridos de aceite de palma hidrogenado	5 g
Metil-parahidroxibenzoato de sodio	0,15 g
Agua desionizada hasta 56 g	

Ejemplo 7

Preparación de una irrigación vaginal que contiene hidrocloreuro de bencidamina

Se solubilizan en agua p-toluenosulfonato de trimetilcetil amonio, fragancia de rosa e hidrocloreuro de bencidamina. Después de la solubilización completa, se añade xiloglucano purificado y se mantiene la solución bajo agitación durante 8 horas hasta hinchamiento completo del polímero. Se añade glicerol y se mezcla la solución final hasta homogeneización completa.

ES 2 318 756 T3

Las cantidades de los diversos componentes se reseñan en la Tabla 6.

TABLA 6

Componente	Peso
Xiloglucano	1 g
Hidrocloruro de bencidamina	100 mg
Glicerol	30 g
p-toluenosulfonato de trimetilcetil amonio	5 g
Fragancia de rosa	100 mg
Agua desionizada hasta 64 g	

Ejemplo 8

Preparación de un pulverizador nasal que contiene calcitonina

Se añaden cloruro sódico, ácido cítrico monohidrato, citrato sódico dihidrato y ácido clorhídrico a 65 ml de agua. Se mantiene la mezcla bajo agitación hasta disolución completa y se añaden a continuación 10 ml de agua que contiene la calcitonina previamente solubilizada. Se añade el xiloglucano purificado manteniendo la agitación durante 8 horas hasta hinchamiento completo del polímero. A continuación se añade glicerol, se mezcla la solución y se añade agua hasta el peso necesario.

Las cantidades de los diversos componentes se reseñan en la Tabla 7.

TABLA 7

Componente	Peso
Xiloglucano	400 mg
Calcitonina	100.000 IU
Ácido clorhídrico 0,1 N	0,15 mg
Cloruro sódico	9 g
Citrato sódico dihidrato	58 mg
Ácido cítrico monohidrato	58 mg
Glicerol	15 g
Agua desionizada hasta 100 g	

Ejemplo 9

Preparación de un pulverizador orofaríngeo que contiene extractos naturales

Se añaden los extractos naturales, sorbato potásico y fosfato monobásico de sodio monohidrato a 65 ml de agua. Se añade el xiloglucano purificado, manteniendo la agitación durante 8 horas hasta disolución completa. A continuación se añade agua hasta el volumen necesario.

Las cantidades de los diversos componentes se reseñan en la Tabla 8.

ES 2 318 756 T3

TABLA 8

Componente	Peso
Xiloglucano	400 mg
Extracto seco de Erysimum	300 mg
Extracto seco de Althea	200 mg
Extracto seco de Noni	300 mg
Fosfato monobásico de sodio monohidrato	220 mg
Sorbato potásico	100 mg
Glicerol	30 g
Agua desionizada hasta 100 g	

Ejemplo 10

Evaluación de la eficacia y tolerabilidad de óvulos que contienen xiloglucano sobre voluntarias

La eficacia y seguridad de óvulos preparados según el Ejemplo 4 han sido evaluadas en el tratamiento de la dispareunia causada por sequedad vaginal en mujeres menopáusicas que no recibían terapia hormonal sustitutiva.

La meta del estudio abierto era evaluar la eficacia del tratamiento con los óvulos del Ejemplo 4 para reducir el conjunto de síntomas, como dispareunia, quemazón y eccema vulvares, conectados con la sequedad vaginal.

Se han alistado en el estudio 8 mujeres con edades entre 45 y 65 años en menopausia durante casi 3 años y sin infecciones vaginales activas. El esquema de tratamiento había previsto la administración del óvulo por vía vaginal dos veces al día durante un período de 8 días.

El punto final clínico se ha evaluado usando una escala de puntuación entre 0 (sintomatología ausente) y 5 (sintomatología muy intensa).

Todas las pacientes han terminado el tratamiento. El fármaco resultó bien tolerado y eficaz a nivel tanto local como sistémico, según se muestra en la Tabla 9. No se han observado reacciones laterales.

TABLA 9

Paciente (Nº)	Dispareunia		Quemazón vulvar		Eccema vulvar	
	Basal	Fin de terapia	Basal	Fin de terapia	Basal	Fin de terapia
1	4	1	5	3	3	1
2	4	2	4	2	2	0
3	5	2	4	1	2	0
4	3	0	4	0	2	0
5	4	1	4	1	1	1
6	2	0	3	0	2	0
7	3	0	2	0	3	1
8	3	1	3	0	3	0
media	3,50	0,88	3,63	0,88	2,25	0,38

ES 2 318 756 T3

Ejemplo 11

Estudio de tolerancia local de una preparación que contiene xiloglucano y glicerol

5 Se determinaron los efectos locales del pulverizador orofaríngeo del Ejemplo 9, sobre membranas mucosas de la cavidad oral examinando los cambios en el tejido local después de la colocación repetida del artículo de prueba en la bolsa de la mejilla del hámster de Siria a lo largo de un período de 7 días.

10 Un grupo de animales constituido por 5 machos y 5 hembras, se trató diariamente con la preparación médica a una dosis de 0,5 ml para cada animal durante un total de 3 veces en el mismo día con 2 horas de intervalo, para dar una dosificación diaria total de 1,5 ml para cada animal.

15 Animales de un grupo de control fueron tratados con agua estéril durante el mismo período de tiempo. No se observaron indicaciones de efecto sistémico de la prueba durante el período de tratamiento. Se observó una ligera irritación de mucosa en animales tratados con la preparación médica aproximadamente 1 hora después de la última aplicación y no se observaron reacciones 24 horas más tarde, probando así la buena tolerabilidad en las membranas mucosas de la cavidad oral del hámster.

20 Ejemplo 12

Estudio de sensibilización dérmica retrasada de una preparación que contiene xiloglucano y glicerol

25 Se usó un modelo de conejillo de indias, con la prueba de Magnusson y Kligman (J. Invest. Dermatol., 268-276, 1969) para inducir y poner de manifiesto sensibilización dérmica retrasada. Para inducir la sensibilización, un grupo de prueba de 20 animales y un grupo de control de 10 animales fueron inyectados intradérmicamente con una emulsión de adyuvante completo de Freund, (sitios anteriores), el artículo de prueba sin diluir (sitios medios) y el artículo de prueba a una concentración del 50% en una emulsión de adyuvante completo de Freund (sitios posteriores). Una semana más tarde esta aplicación fue incrementada mediante una aplicación tópica del artículo de prueba al 100% en los sitios de inyección. Los animales del grupo de control fueron tratados con agua estéril durante el mismo período de tiempo. 30 Dos semanas después de la segunda etapa de inducción, todos los animales fueron provocados mediante aplicación tópica de ambos vehículos.

35 Al final del estudio no hubo respuesta evidente en ningún animal de los grupos de prueba ni de control y no se observó ninguna reacción al vehículo solo en ninguno de los animales.

Ejemplo 13

Ensayo de toxicidad celular de una solución que contiene xiloglucano y glicerol

40 La citotoxicidad *in vitro* de una solución que contiene xiloglucano y glicerol ha sido evaluada sobre células BALB/C3T3 y se realizó la medición de captación de rojo neutro para toxicidad celular sobre cultivos de células BALB/C3T3 tratadas con diferentes concentraciones del artículo de prueba y al final del tratamiento, los cultivos se 45 examinaron a fin de evaluar los cambios en la morfología de las células debidos a los efectos de toxicidad del artículo de prueba. En el experimento se incluyeron controles negativos y positivos.

50 El artículo de prueba se solubilizó en el medio de cultivo y las concentraciones usadas fueron 39,1; 78,1; 156; 313; 625; 1250; 2500 y 5000 microgramos/mililitro. Se analizó citotoxicidad después de un tiempo de tratamiento de 24 horas. No se observó ningún cambio en la morfología de las células ni ninguna reducción relevante en la captación de rojo neutro después del tratamiento con el artículo de prueba en los experimentos y las concentraciones que se probaron.

55

60

65

ES 2 318 756 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Formulaciones mucoadhesivas adecuadas para aplicación a membranas mucosas humanas, que comprenden combinaciones de un polímero natural purificado que tiene estructura de xiloglucano en solución acuosa a concentraciones entre 0,05% y 5% en peso y glicerol a concentraciones entre 10% y 70% en peso.
- 10 2. Formulaciones mucoadhesivas según la reivindicación 1 **caracterizadas** porque el polímero natural purificado que tiene estructura de xiloglucano tiene viscosidad entre 150 mPa·s. y 800 mPa·s. a la temperatura de 25°C operando con una velocidad de formación en cizalla de 200 s⁻¹ y un tiempo de descanso de 15 minutos y un valor de absorbancia a 280 nm inferior a 0,5 unidades abs en una solución acuosa al 2% en peso a la temperatura de 25°C.
- 15 3. Formulaciones mucoadhesivas según las reivindicaciones 1 y 2 **caracterizadas** porque las membranas mucosas humanas son las membranas mucosas nasal, orofaríngea y vaginal.
- 20 4. Formulaciones mucoadhesivas según las reivindicaciones 1 a 3 **caracterizadas** porque pueden contener ingredientes activos farmacéuticos y excipientes adecuados para preparaciones farmacéuticas y dispositivos médicos.
- 25 5. Formulaciones mucoadhesivas según la reivindicación 4 en forma de formulaciones de liberación controlada.
- 30 6. Formulaciones mucoadhesivas de liberación controlada según la reivindicación 5 en las que la liberación controlada se proporciona ajustando el porcentaje de glicerol en la solución de xiloglucano.
- 35 7. Preparaciones farmacéuticas y dispositivos médicos adecuados para el tratamiento de membranas mucosas humanas, que comprenden ingredientes farmacéuticos activos y excipientes junto con 0,05% a 5% en peso de un polímero natural purificado que tiene estructura de xiloglucano y 10% a 70% en peso de glicerol.
- 40 8. Preparaciones farmacéuticas y dispositivos médicos según la reivindicación 5 **caracterizados** porque el polímero natural purificado que tiene estructura de xiloglucano tiene viscosidad entre 150 y 800 mPa·s. a la temperatura de 25°C operando con una “velocidad de formación en cizalla” de 200 s⁻¹ y un tiempo de descanso de 15 minutos y un valor de absorbancia a 280 nm inferior a 0,5 abs en una solución acuosa al 2% en peso a la temperatura de 25°C.
- 45 9. Preparaciones farmacéuticas y dispositivos médicos según las reivindicaciones 5 y 6 **caracterizados** porque los principios activos se seleccionan entre antibióticos, antimicóticos, antiprotozoarios, antivirales, antiinflamatorios, desinfectantes, quimioterápicos, analgésicos, antisépticos, mucolíticos, antitusivos, descongestionantes, agentes de absorción y regulación de calcio, hormonas y vacunas.
- 50 10. Preparaciones farmacéuticas y dispositivos médicos según las reivindicaciones 5 a 7 **caracterizados** porque están en forma de soluciones, geles, óvulos, pulverizadores, colutorios, cremas, pomadas, ungüentos e irrigaciones.
- 55 11. Preparaciones farmacéuticas en forma de un pulverizador orofaríngeo que contiene una formulación mucoadhesiva según las reivindicaciones 1 y 2 junto con diclofenaco ácido y sales del mismo.
- 60 12. Preparaciones farmacéuticas en forma de un gel vaginal que contiene una formulación mucoadhesiva según las reivindicaciones 1 y 2 junto con progesterona.
- 65 13. Preparaciones farmacéuticas en forma de una irrigación vaginal que contiene una formulación mucoadhesiva según las reivindicaciones 1 y 2 junto con hidrocloreto de bencidamina.
14. Preparaciones farmacéuticas en forma de un pulverizador oral que contiene una formulación mucoadhesiva según las reivindicaciones 1 y 2 junto con hidrocloreto de bencidamina.
15. Preparaciones farmacéuticas en forma de un pulverizador nasal que contiene una formulación mucoadhesiva según las reivindicaciones 1 y 2 junto con calcitonina.
16. Dispositivos médicos en forma de un óvulo vaginal que tiene actividad humectante que contiene una formulación mucoadhesiva según las reivindicaciones 1 y 2 junto con excipientes.
17. Dispositivos médicos en forma de un pulverizador orofaríngeo que tiene actividad suavizante que contiene una formulación mucoadhesiva según las reivindicaciones 1 y 2 junto con excipientes.
18. Un polímero natural purificado que tiene estructura de xiloglucano **caracterizado** por valores de viscosidad entre 150 y 800 mPa·s. a la temperatura de 25°C operando con una velocidad de formación en cizalla de 200 s⁻¹ y un tiempo de descanso de 15 minutos y por un valor de absorbancia a 280 nm inferior a 0,5 abs en una solución acuosa al 2% en peso a la temperatura de 25°C.
19. Un polímero natural purificado que tiene estructura de xiloglucano según la reivindicación 18 **caracterizado** porque se obtiene de semillas de tamarindo.

ES 2 318 756 T3

20. Un procedimiento para la purificación de un polímero natural que tiene estructura de xiloglucano, que consiste en suspender 0,5% a 5% en peso de un extracto de xiloglucano bruto en un volumen de agua destilada fría, verter la suspensión obtenida en un volumen cuatro veces mayor de agua destilada hirviendo, mantener a ebullición y con agitación durante 15 a 30 minutos, dejar en reposo durante un tiempo entre 10 y 20 horas, centrifugar a 4000-8000 rpm durante un tiempo entre 15 y 30 minutos, filtrar el material sobrenadante a través de un filtro de polipropileno de 6 μm , centrifugar adicionalmente el filtrado a 12000-18000 rpm durante un tiempo entre 30 y 60 minutos y esterilizar el filtrado a través de un filtro de polipropileno de 0,22 μm o en autoclave a 121°C durante un tiempo entre 20 y 40 minutos.

21. Un procedimiento según la reivindicación 20 **caracterizado** porque el extracto de xiloglucano bruto es un extracto de semillas de tamarindo.

22. Un procedimiento según la reivindicación 20 **caracterizado** porque el extracto de xiloglucano bruto es un extracto de *Detarium senegalense Gmelin*.

23. Un procedimiento según la reivindicación 20 **caracterizado** porque el extracto de xiloglucano bruto es un extracto de *Azzeria africana*.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

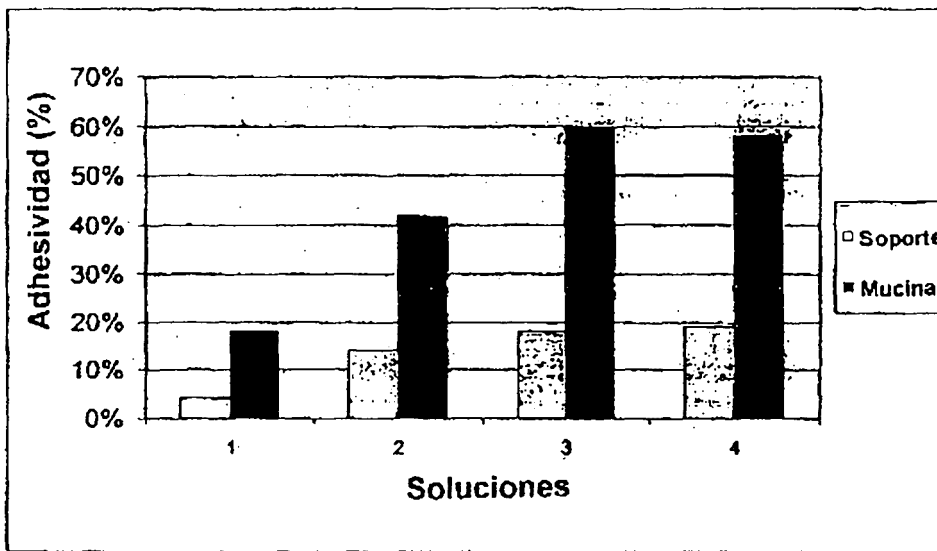


Figura 1

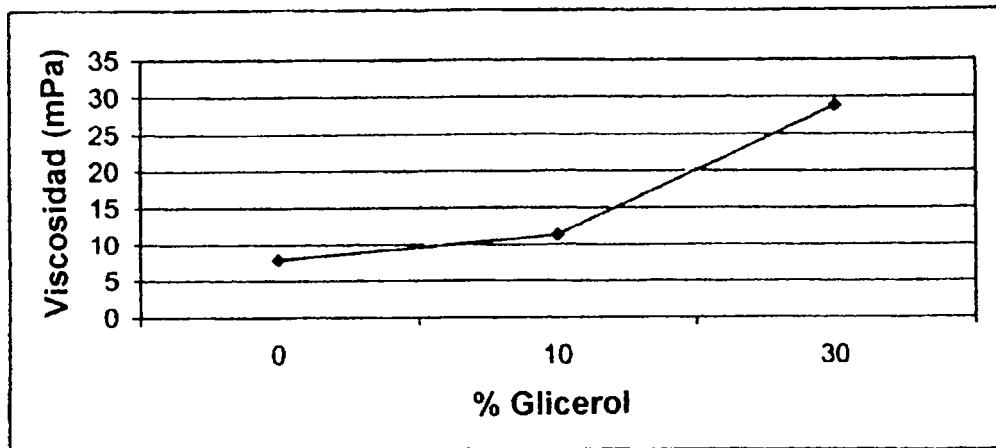


Figura 2