

(11) Número de Publicação: **PT 1490103 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 39/04 (2007.10) **A61K 39/39** (2007.10)
A61P 11/06 (2007.10)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2003.03.11**

(30) Prioridade(s): **2002.03.13 IN MU02472002**

(43) Data de publicação do pedido: **2004.12.29**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.06.11**
152/2008

(73) Titular(es):
CADILA PHARMACEUTICALS LIMITED
CADILA CORPORATE CAMPUS SARKHEJ-
DHOLKA ROAD BHAT, AHMEDABAD 382 210 IN

(72) Inventor(es):
BAKULESH MAFATLAL KHAMAR IN
RAJIV INDRAVADAN MODI IN

(74) Mandatário:
PEDRO DA SILVA ALVES MOREIRA
RUA DO PATROCÍNIO, N.º 94 1399-019 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE
COMPREENDE MYCOBACTERIUM W NO TRATAMENTO DE ASMA (DOENÇA PULMONAR
OBSTRUTIVA)**

(57) Resumo:

RESUMO

**"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE
COMPREENDE MYCOBACTERIUM W NO TRATAMENTO DE ASMA (DOENÇA
PULMONAR OBSTRUTIVA) "**

A invenção refere-se ao processo para a preparação de formulações compreendendo um microrganismo *Mycobacterium w* para o controlo de Asma brônquica (doença pulmonar obstrutiva).

DESCRIÇÃO

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE COMPREENDE MYCOBACTERIUM W NO TRATAMENTO DE ASMA (DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA)"

A invenção refere-se a um processo para a preparação de formulações compreendendo um microrganismo *Mycobacterium w* para o controlo de Asma brônquica (doença pulmonar obstrutiva).

As doenças pulmonares obstrutivas são caracterizadas por limitação do fluxo de ar. A limitação do fluxo de ar pode ser devida a obstrução mecânica por tumor ou edema ou contracção do músculo liso brônquico. A obstrução mecânica necessita de um controlo ao longo do tempo.

Outras doenças pulmonares obstrutivas são progressivas e/ou episódicas por natureza.

A asma brônquica é uma doença do grupo definido por doença pulmonar obstrutiva. É um dos distúrbios mais comuns encontrado em medicina clínica em crianças e adultos. Mais do que ser uma doença única, a asma é actualmente considerada como sendo um grupo de diferentes distúrbios (síndrome complexo com vários fenótipos clínicos) caracterizados por

1. Grau variável de obstrução de fluxo de ar
2. inflamação da via respiratória

3. bronco-hipersensibilidade.

Este síndrome surge como um resultado da interacção entre múltiplos factores genéticos e ambientais. Alguns doentes também exibem respostas de hipersensibilidade aguda a proteínas inaladas comuns, conhecidas como alergénios. São necessárias quantidades muito pequenas dos mesmos para despoletar degranulação de mastócitos. No entanto, um grande número de doentes não tem um historial pessoal ou familiar de alergia e ensaios de pele negativos.

Constata-se que a inflamação crónica é uma patologia subjacente no síndrome clínico de asma. A histopatologia de pulmões revela hiperinsuflação, bloqueante c/ muco nas vias respiratórias, aglomeração de células epiteliais mortas e um precipitado cristalino de proteínas derivadas de eosinófilo. A mucosa brônquica é edematosa, o nº de células de goblet é acrescido, a membrana basal sofre espessamento e o músculo liso é hipertrofiado.

A contracção do músculo liso brônquico, como verificado na asma brônquica, é um fenómeno recorrente. Ocorre como um incómodo episódico ou crónico ou como exacerbações episódicas de doença crónica.

São dadas várias definições para caracterizar este distúrbio.

A asma é definida como um estado em que existe uma reversibilidade completa ou parcial de disfunção obstrutiva após terapêutica com broncodilatadores.

A asma é, também, definida como distúrbio inflamatório crónico das vias respiratórias que ocorre quando indivíduos com predisposição genética são expostos a factores de despoletamento apropriados conduzindo à disrupção de epitélio da via respiratória, infiltração de células inflamatórias, espessamento de membrana basal, bem como espasmo e hipertrofia do músculo liso.

A asma é uma doença caracterizada por uma sensibilidade acrescida da traqueia e brônquios a vários estímulos resultando em obstrução da via respiratória que é reversível, espontaneamente ou como um resultado de tratamento.

A asma é um distúrbio pulmonar inflamatório crónico que é caracterizado por obstrução reversível das vias respiratórias.

A asma é uma doença obstrutiva crónica caracterizada por hiper-reactividade traqueobrônquica conduzindo a estreitamento paroxístico da via respiratória, que pode ser espontaneamente revertida ou como um resultado de tratamento. É clinicamente caracterizada por pieira, dispneia e tosse. A asma alérgica é a forma mais comum. Outros factores precipitantes incluem infecção, exercício, exposições ocupacionais e ambientais, fármacos, poluição atmosférica e factores emocionais.

A asma é um estado crónico envolvendo pulmões, na qual o estreitamento das passagens dos pulmões para o nariz e boca (vias respiratórias) conduz a dificuldade em respirar. Estas alterações ocorrem normalmente em resposta a variações no ambiente incluindo o tempo, alergénios (tais como pêlo de cão ou gato, bolor ou pó), alimentos ou infecções respiratórias (constipações).

A asma também é definida como dispneia paroxística ou crónica devido a distúrbio pulmonar.

A Asma Brônquica também é definida como uma doença caracterizada por uma sensibilidade acrescida da traqueia e brônquios a vários estímulos e manifestada por estreitamento das vias respiratórias em grande extensão que varia em gravidade, espontaneamente ou como um resultado de tratamento.

Clinicamente, é caracterizada por:

- Pieira, dispneia, tosse e sensação de aperto no peito episódico ou crónico.
- Expiração prolongada e pieira difusa em exame físico.
- Limitação de fluxo de ar em teste de função pulmonar, ou teste de broncoprovocação positivo.
- Reversibilidade completa ou parcial de disfunção obstrutiva após terapêutica broncodilatadora.

Actualmente, a terapêutica de primeira linha preferida de tais estados é corticosteróides inalados. Se tal não é adequado então são adicionados broncodilatadores como agonistas beta, como sambutol, metilxantinas, como teofilina ou anticolinérgicos, como ipratrópio na forma de fármaco inalado ou oral. Os antagonistas de leucotrieno também podem ser adicionados, os quais não possuam actividade broncodilatadora directa, como glucocorticóides.

O controlo de uma crise compreende a utilização de broncodilatadores, corticosteróides e antagonistas de leucotrieno. Podem ser utilizados oralmente, parentericamente ou na forma de aerossóis dependendo da gravidade da doença e outros factores. Os corticosteróides e estabilizadores de mastócitos, como cromolina sódica também são utilizados para prevenir a crise subsequente.

No entanto, não é necessário que cada episódio necessite de ser tratado com broncodilatadores ou cada doente com doença pulmonar obstrutiva crónica necessite de ser tratado com broncodilatadores.

O controlo de crise aguda grave ou exacerbação aguda de doença crónica pode necessitar de dose massiva de glucocorticóides por via parentérica para controlar a crise.

A asma é uma doença pulmonar crónica. Não pode ser curada, apenas controlada. Na asma, as vias respiratórias estão inflamadas. Ou seja, os revestimentos da via respiratória estão inchados e vermelhos. As vias respiratórias estreitam e a respiração torna-se difícil. Este estreitamento melhora (mas não na totalidade em alguns doentes), por vezes por si só, por vezes com tratamento. As vias respiratórias são muito sensíveis. Reagem a várias coisas, tais como fumo de cigarro, pólen ou ar frio. Tosse, pieira, aperto no peito, respiração dificultada ou um episódio de asma pode resultar após exposição ao alergénio.

A prevenção de uma crise compreende eliminar "factores de despoletamento". Inclui medidas para controlar antigénios de ácaros de pó doméstico, pêlos de animal, evitar a exposição a

factores ambientais incluindo alteração do local de trabalho ou residência, tratamento precoce de infecções do tracto respiratório superior e peito, etc.

O que é necessário no controlo de asma é a melhoria da função pulmonar.

A presente invenção descreve as referidas formulações e método do seu fabrico e utilização.

Constata-se que a administração de composição farmacêutica preparada de acordo com a presente invenção resulta na redução da gravidade da doença e frequência de crises asmáticas. A dependência de fármacos é diminuída e a qualidade de vida melhora.

Constata-se que o *Mycobacterium w* é útil no controlo de lepra. Converte indivíduos lepromina negativos ao estado lepromina positivo. Também reduz a duração da terapêutica necessária para curar lepra multibacilar.

O documento GB 2236480 descreve uma vacina para o tratamento de tuberculose, a qual compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de *Mycobacterium w*.

Constata-se que a composição farmacêutica preparada de acordo com a presente invenção é eficaz no controlo de asma (doença pulmonar obstrutiva).

Sumário da invenção

De acordo com a presente invenção, constata-se que a composição farmacêutica preparada a partir de "*Mycobacterium w*" (M_w) é útil no controlo de asma (doença pulmonar obstrutiva).

O *Mycobacterium w* utilizado na presente invenção é uma micobactéria não patogénica, cultivável, atípica, com propriedades bioquímicas e características de crescimento rápido assemelhando-se às pertencentes à classe de Micobactérias do grupo IV de Runyons nas suas propriedades metabólicas e de crescimento, mas não é idêntica às estirpes correntemente catalogadas neste grupo. Assim, julga-se que a (M_w) é uma estirpe totalmente nova.

A identidade da espécie de M_w tem sido definida por determinação da sequência de ADN por reacção em cadeia da polimerase e diferenciada de outras trinta espécies de micobactérias. No entanto, difere das presentemente catalogadas neste grupo num ou noutro aspecto. Por análise sequencial de base da região polimórfica de análise padrão comprovou-se que a M_w é uma espécie única, distinta de muitas outras espécies micobacterianas conhecidas examinadas que são: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. kansasii*, *M. gastri*, *M. gordonae*, *M. shimoidei*, *M. malmoense*, *M. haemophilum*, *M. terrae*, *M. nonchromogenicum*, *M. triviale*, *M. marinum*, *M. flavescens*, *M. simian*, *M. szulgai*, *M. xenopi*, *M. asiaticum*, *M. aurum*, *M. smegmatis*, *M. vaccae*, *M. fortuitum subsp fortuitum*, *M. fortuitum subsp. Peregrinum*, *M. chelonae subsp. Chelonae*, *M. chelonae subsp. Abscessus*, *M. genavense*, *M. tuberculosis*, *M. tuberculosis H₃₇R_v*, *M. paratuberculosis*.

O objectivo da presente invenção é o de proporcionar uma composição farmacêutica contendo "*Mycobacterium w*" (Mw) com ou sem constituintes obtidos a partir de Mw para o controlo de asma (doença pulmonar obstrutiva).

Ainda um outro objecto da presente invenção é o de proporcionar uma composição farmacêutica contendo "*Mycobacterium w*" (Mw) com ou sem constituintes obtidos a partir de Mw para prevenção de crises de asma (doença pulmonar obstrutiva).

Ainda um outro objecto da presente invenção é o de proporcionar uma composição farmacêutica contendo "*Mycobacterium w*" (Mw) com ou sem constituintes obtidos a partir de Mw para retardar crises de asma brônquica (doença pulmonar obstrutiva).

Ainda um outro objecto da presente invenção é o de proporcionar uma composição farmacêutica contendo "*Mycobacterium w*" (Mw) com ou sem constituintes obtidos a partir de Mw, a qual reduz a necessidade de fármacos utilizados para melhorar a função pulmonar no controlo de asma (doença pulmonar obstrutiva).

Ainda um outro objecto da presente invenção é o de proporcionar uma composição farmacêutica contendo "*Mycobacterium w*" (Mw) com ou sem constituintes obtidos a partir de Mw, a qual melhora a função pulmonar na presença/ausência de outros fármacos na asma (doença pulmonar obstrutiva).

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

De acordo com a invenção, são descritos, nos seguintes exemplos, a composição contendo *mycobacterium W*, o método de preparação, características de HPLC, sua segurança e tolerabilidade, métodos de utilização e resultado dos tratamentos. Os seguintes são exemplos ilustrativos da presente invenção.

Exemplo 1. As composições farmacêuticas:

A. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém:

<i>Mycobacterium w.</i> , (morto por calor)	0,50 x 10 ⁹
Cloreto de Sódio I.P.	0,90% p/v
Tween TM 80	0,1% p/v
Tiomersal I.P.	0,01% p/v
(Como um Conservante)	
Água para injeção I.P.	q.b.p. 0,1 mL

B. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém:

<i>Mycobacterium w.</i> , (morto por calor)	0,50 x 10 ⁹
Cloreto de Sódio I.P.	0,90% p/v
Triton TM x 100	0,1% p/v
Tiomersal I.P.	0,01% p/v
(Como um Conservante)	
Água para injeção I.P.	q.b.p. 0,1 mL

C. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém:

<i>Mycobacterium w.</i> , (morto por calor)	0,50 x 10 ⁹
Cloreto de Sódio I.P.	0,90% p/v
Tiomersal I.P.	0,01% p/v
(Como um Conservante)	
Água para injeção I.P.	q.b.p. 0,1 mL

D. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém

Extracto de *Mycobacterium w* após sonicação a partir de
1 x 10¹⁰ *Mycobacterium w*

Cloreto de Sódio I.P.	0,90% p/v
Tiomersal I.P.	0,01% p/v
(Como um Conservante)	
Água para injeção I.P.	q.b.p. 0,1 mL

E. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém

Extracto de Metanol de 1 x 10¹⁰ *Mycobacterium w*

Cloreto de Sódio I.P.	0,90% p/v
Tiomersal I.P.	0,01% p/v
(Como um Conservante)	
Água para injeção I.P.	q.b.p. 0,1 mL

F. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém

Extracto de Clorofórmio de 1×10^{10} <i>Mycobacterium w</i>	
Cloreto de Sódio I.P.	0,90% p/v
Tiomersal I.P.	0,01% p/v
(Como um Conservante)	
Água para injeção I.P.	q.b.p. 0,1 mL

G. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém

Extracto de Acetona de 1×10^{10} <i>Mycobacterium w</i>	
Cloreto de Sódio I.P.	0,90% p/v
Tiomersal I.P.	0,01% p/v
(Como um Conservante)	
Água para injeção I.P.	q.b.p. 0,1 mL

H. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém

Extracto de Etanol de 1×10^{10} <i>Mycobacterium w</i>	
Cloreto de Sódio I.P.	0,90% p/v
Tiomersal I.P.	0,01% p/v
(Como um Conservante)	
Água para injeção I.P.	q.b.p. 0,1 mL

I. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém

Extracto de Liticase de 1×10^{10} *Mycobacterium w*

Cloreto de Sódio I.P. 0,90% p/v

Tiomersal I.P. 0,01% p/v

(Como um Conservante)

Água para injeção I.P. q.b.p. 0,1 mL

J. Cada dose de 0,1 mL de agente terapêutico contém

Mycobacterium w (morto por calor) $0,5 \times 10^7$

Extrato de *Mycobacterium w* obtido de 1×10^3

Mycobacterium w por disrupção, extracção com solvente
ou extracção enzimática.

Cloreto de Sódio I.P. 0,90% p/v

Tiomersal I.P. 0,01% p/v

(Como um Conservante)

Água para injeção I.P. q.b.p. 0,1 mL

Exemplo 2. O Processo de preparação de uma composição farmacêutica

A. Cultura de *Mycobacterium w*.

i) Preparação do meio de cultura.

O *Mycobacterium w* é cultivado em meio sólido, como meio L J, ou meio líquido, como meio de Middlebrook ou meio líquido de Sauton. Para melhor rendimento, o meio de Middlebrook é enriquecido. De um modo preferido,

por ser enriquecido por adição de glucose, bactotripton, e BSA. De um modo preferido, são utilizados em razão de 20:30:2.

O meio de enriquecimento é adicionado ao meio de Middlebrook. De um modo preferido, é realizado numa razão de 15:1 até 25:1, de um modo mais preferido, numa razão de 20:1.

ii) Operação no bioreactor

a) Preparação do vaso:

As zonas de contacto interno do vaso (Juntas, vedações mecânicas, ranhuras de vedantes em O/juntas, etc.) devem estar devidamente limpas para evitar qualquer contaminação. Encher o vaso com NaOH a 0,1 N e deixar tal e qual durante 24 H para remover materiais pirogénicos e outros contaminantes. O vaso é então limpo, primeiro com água acidificada, em seguida, com água corrente. Finalmente, o vaso é enxaguado com água destilada (3 vezes) antes de preparar o meio.

b) Esterilização do bioreactor

O bioreactor contendo 9 L de água destilada é esterilizado com vapor activo (indirecto). De um modo semelhante, o bioreactor é esterilizado uma vez mais com meio Middlebrook. As outras garrafas de adição, filtros de entrada/saída de ar, etc.

são colocados em autoclave (duas vezes) a 121 °C durante 15 minutos. Antes da utilização, estes são secos, num forno, a 50 °C.

c) Parâmetro ambiental

i. Temperatura: $37 \pm 0,5$ °C

ii. pH: 6,7 a 6,8 inicialmente.

B. Colheita e concentração

É normalmente realizada no fim do 6º dia após cultivo sob condição asséptica. A concentração de células (p) é realizada por centrifugação.

C. Lavagem de células

O sedimento assim obtido é lavado no mínimo três vezes com solução salina normal. Pode ser lavado com qualquer outro fluido que é, de um modo preferido, isotónico.

D. Adição de veículo farmacêutico aceitável.

É adicionado ao sedimento solução salina normal isenta de pirogénio. Qualquer outro fluido isotónico isento de pirogénio pode ser utilizado como um veículo

farmacêutico. O veículo é adicionado numa quantidade de modo a conseguir a concentração desejada de activo na forma final.

E. Adição de conservante

Para manter o produto isento de outras bactérias contaminantes, para a sua sustentabilidade própria, é adicionado conservante. O conservante preferido é Tiomersal que é utilizado na concentração final de 0,01% p/v.

F. Esterilização Final

A esterilização final pode ser realizada por vários métodos físicos como aplicação de calor ou radiação ionizante ou filtração esterilizada.

O calor pode ser na forma de calor seco ou calor húmido. Também pode ser na forma de ebulição ou pasteurização.

A radiação ionizante pode ser raios ultravioleta ou gama ou micro-onda ou qualquer outra forma de radiação ionizante.

É preferível colocar o produto final em autoclave.

Isto pode ser realizado antes ou após o enchimento numa embalagem final.

G. Controlo de Qualidade

i. O material é avaliado para pureza, esterilidade.

ii. Os organismos são avaliados da resistência aos ácidos após coloração de gram.

iii. Ensaio de inactivação: Isto é realizado por cultivo do produto em meio L J para encontrar qualquer organismo vivo.

iv. Patogenicidade e/ou contaminação com patogénio.

Os organismos cultivados são infectados em murganhos Balb/c.

Nenhum dos murganhos deveria morrer e todos deveriam permanecer saudáveis e ganhar peso. Não deveria haver quaisquer lesões macroscópicas ou microscópicas visíveis no fígado, pulmão, baço ou quaisquer outros órgãos quando os animais são mortos até 8 semanas após tratamento.

v. Ensaio Bioquímico:

O organismo é submetido aos seguintes ensaios bioquímicos:

a) Urease

b) Hidrólise de TweenTM 80

c) Ensaio de niacina

d) Ensaio de redução de nitrato.

O organismo apresenta resultados negativos em urease, Hidrólise de TweenTM 80 e ensaio de niacina. É positivo por ensaio de redução de nitrato.

H. Preparação dos constituintes de *Mycobacterium w*.

Os constituintes de *Mycobacterium w* podem ser preparados para o propósito da invenção por:

I. Disrupção celular

II. Extracção com solvente

III. Extracção enzimática.

A disrupção celular pode ser realizada por meio de sonicação ou utilização de medidor de fracções de elevada pressão ou por aplicação de gradiente de pressão osmótica.

A extracção com solvente pode ser realizada por qualquer solvente orgânico, como clorofórmio, etanol, metanol, acetona, fenol, álcool isopropílico, ácido acético, ureia, hexano, etc.

A extracção enzimática pode ser realizada por enzimas que podem digerir parede/membranas celulares. São normalmente de natureza proteolítica. A enzima liticase e pronase são as enzimas preferidas. Para o propósito da invenção, podem ser utilizados, por si, constituintes celulares de *Mycobacterium w* em vez de organismos *mycobacterium w* ou podem ser adicionados ao produto contendo *mycobacterium w*.

A adição de constituintes celulares resulta numa eficácia melhorada do produto.

Exemplo 3. Características dos constituintes de *Mycobacterium w* por análise de HPLC.

Os constituintes de *mycobacterium w*. utilizados para o propósito da invenção, quando submetidos a análise de HPLC, proporcionam um único pico a 11 minutos. Além deste, não se constata quaisquer outros picos significativos. O pico é homogéneo e isento de qualquer entalhe sugerindo homogeneidade do material obtido.

A análise de HPLC foi realizada utilizando um aparelho de cromatografia líquida de elevada performance Waters System.

Coluna: Novapak™ c1860A, 4 µm, 3,9 x 150 mm.
A pré-coluna: Novapak c 18
Temperatura da Coluna: 30 °C
Caudal: 2,5 mL/min
Volume de injeção: 25 µL.
Fase móvel:

Solvente A: metanol de grau de HPLC.

Solvente B: cloreto de metileno de grau de HPLC

Gradiente Binário:

O gradiente de HPLC compreendia inicialmente metanol a 98% (v/v) (solvente B).

O gradiente foi incrementado linearmente até 80%.

A e 20% de B a um minuto; 35% de A e 65% de B a 10 minutos, mantido durante 5 segundos e, em seguida, diminuído durante 10 segundos de volta a 98% de A e 2% de B.

Exemplo 4: O efeito de composições farmacêuticas e métodos de utilização.

Um doente sintomático com forma grave de asma, cuja dificuldade de respiração não foi controlada apesar dela estar numa terapêutica médica máxima para asma, foi administrado com *Mycobacterium w* por via intradérmica no intervalo de uma semana. Em quatro semanas, o doente tornou-se assintomático e o número de fármacos foi gradualmente descontinuado. O doente permaneceu apesar disso assintomático. Assim, constata-se que o *Mycobacterium w* é útil no controlo de asma, tornando o doente assintomático quando a terapêutica médica máxima falha em conseguir o mesmo.

Também é útil na redução do número de medicamentos que um doente toma.

Exemplo 5: O efeito de composições farmacêuticas e métodos de utilização.

A um grupo de doentes que estava a experimentar exacerbação da doença, periodicamente, foi administrado *Mycobacterium w.* Foi observado que nenhum deles teve exacerbação da doença.

Assim, constata-se que o *mycobacterium w* é útil na eliminação/retardamento de exacerbação da doença.

Exemplo 6: O efeito de composições farmacêuticas e métodos de utilização.

Num grupo de doentes diagnosticado como tendo asma brônquica foi administrada terapêutica convencional na forma de broncodilatadores e esteróides. Isto resultou numa melhoria da função pulmonar, como determinado por espirometria em termos de FEV₁ e PEF_R. A melhoria com terapêutica foi na gama de 15 a 20% da linha de base, durante um período de três meses de observação e não melhorou mais. No fim dos três meses, foram administrados aos doentes composições farmacêuticas contendo *mycobacterium w.* Foram administrados como 0,1 mL no intervalo de uma semana. Apesar destas composições não serem conhecidas como tendo actividade anti-inflamatória ou broncodilatadora, a sua administração resultou numa melhoria acrescida da função pulmonar, como determinado por valores de FEV₁ e PEF_R. Esta

melhoria foi na gama de 15 a 20% além dos valores máximos já conseguidos por terapêutica convencional.

A melhoria da função pulmonar foi associada com sensação subjectiva de bem estar e melhoria na qualidade de vida. Também melhorou a sua escala de desempenho. Também resultou na melhoria na quantidade de esforço físico que conseguem realizar sem ficar com dificuldade de respiração.

Assim, o *mycobacterium W* é útil na melhoria da função pulmonar, qualidade de vida e desempenho.

Exemplo 7: O efeito de composições farmacêuticas e métodos de utilização.

Num grupo de doentes tendo doença pulmonar obstrutiva e que foram controlados por terapêutica convencional, foram observados durante um período de três meses e, em seguida, foram adicionadas, à terapêutica, composições contendo *mycobacterium W* e observados durante outros três meses. A necessidade média de antibióticos utilizados para tratar infecções e exacerbação da doença associada nos primeiros três meses foi de 3,71. Nos três meses seguintes, quando foi co-administrado *mycobacterium W*, a necessidade baixou de 3,71 para 2. Nenhum deles necessitou de qualquer antibiótico no último mês da terapêutica combinada.

Assim, o *mycobacterium W* é útil na redução da necessidade de antibióticos.

Exemplo 8: O efeito de composições farmacêuticas e métodos de utilização.

Num grupo de doentes tendo doença pulmonar obstrutiva e que foram controlados por terapêutica convencional mas necessitando, mesmo assim, de hospitalização de tempos a tempos para controlo de exacerbações agudas, foram observados durante um período de três meses e, em seguida, foram adicionadas à terapêutica, composições contendo *mycobacterium W* e observados durante outros três meses. Constatou-se que o nº de exacerbações foi três por pessoa na primeira parte do estudo. Na segunda parte, baixou para uma por pessoa.

Assim, o *mycobacterium W* é útil na redução do nº de exacerbações da doença.

Lisboa, 23 de Julho de 2008

REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de *mycobacterium w* ou constituintes de *mycobacterium w* para a preparação de uma composição farmacêutica para utilização no tratamento, controlo ou prevenção de doença pulmonar obstrutiva.
2. Utilização como reivindicado na reivindicação 1, em que a composição farmacêutica é para utilização no tratamento, controlo ou prevenção de asma.
3. Utilização como reivindicado na reivindicação 2, em que a composição farmacêutica é para utilização no retardamento de crises de asma.
4. Utilização como reivindicado na reivindicação 2, em que a composição farmacêutica é para utilização na redução da necessidade de fármacos utilizados para melhorar a função pulmonar durante o controlo de asma.
5. Utilização como reivindicado na reivindicação 2, em que a composição farmacêutica é para utilização na melhoria da função pulmonar, na presença ou ausência de outros fármacos.
6. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 2 a 5 em que a asma é asma brônquica.
7. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a composição farmacêutica

compreende uma mistura de *mycobacterium w* e constituintes de *mycobacterium w* preparados por disrupção celular.

8. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, em que a composição farmacêutica compreende constituintes de *mycobacterium w* preparados por disrupção celular.
9. Utilização como reivindicado na reivindicação 7 ou reivindicação 8, em que os constituintes de *mycobacterium w* são preparados por sonicação ou medidor de fracções de elevada pressão.
10. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, em que a composição farmacêutica compreende constituintes de *mycobacterium w* preparados por extracção com solvente.
11. Utilização como reivindicado na reivindicação 10, em que o solvente é seleccionado de clorofórmio, etanol, metanol, acetona, fenol, álcool isopropílico, ácido acético, ureia e hexano.
12. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, em que a composição farmacêutica compreende constituintes de *mycobacterium w* preparados por extracção enzimática.
13. Utilização como reivindicado na reivindicação 12, em que a extracção enzimática é realizada utilizando liticase e/ou pronase.

14. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a composição farmacêutica compreende ainda um adjuvante.
15. Utilização como reivindicado na reivindicação 14, em que o adjuvante é seleccionado de óleo mineral, óleo mineral e tensoactivo, adjuvante Ribi, Titer-max, formulação de adjuvante de sintaxe, adjuvante de sal de alumínio, antigénio adsorvido em nitrocelulose, complexos imuno-estimulantes, adjuvante Gebru, veículo extra, elvax 40w, L-tirosina, monatanide (composto de manide-oleato), Adju-prime, Esqualeno, Lipopoli-sacárido de ftalilo sódico, fosfato de cálcio, saponina, antigénio de melanoma e muramildipéptido (MDP).
16. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a composição farmacêutica compreende ainda um tensoactivo.
17. Utilização como reivindicado na reivindicação 16, em que o tensoactivo é monooleato de polioxietileno e sorbitano (Tween 80) ou Triton X100.
18. Utilização como reivindicado na reivindicação 16 ou reivindicação 17, em que o tensoactivo está presente na composição farmacêutica numa concentração de até 0,4%.
19. Utilização como reivindicado na reivindicação 18, em que o tensoactivo está presente na composição farmacêutica numa concentração de até 0,1%.

20. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a composição farmacêutica compreende ainda um conservante.
21. Utilização como reivindicado na reivindicação 20, em que o conservante é Tiomerosal e está presente numa concentração de 0,01% p/v.
22. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, em que o *mycobacterium w* é *mycobacterium w* morto.
23. Utilização como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a composição farmacêutica está numa forma de dosagem unitária compreendendo, pelo menos, 10^7 *mycobacterium w*.
24. Utilização como reivindicado na reivindicação 23, em que a composição farmacêutica está numa forma de dosagem unitária compreendendo, pelo menos, 10^7 *mycobacterium w*.
25. Utilização como reivindicado na reivindicação 24, em que a composição farmacêutica está numa forma de dosagem unitária compreendendo entre 10^8 e 10^9 *mycobacterium w*.

Lisboa, 23 de Julho de 2008