



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 0810179-5 B1**



**(22) Data do Depósito:** 11/04/2008

**(45) Data de Concessão:** 10/12/2019

**(54) Título:** COMPOSIÇÕES DE OLIGOGULURONATO E GALACTURONATO E USOS DOS MESMOS

**(51) Int.Cl.:** A61K 31/715; A61K 45/06; A61P 11/00.

**(30) Prioridade Unionista:** 12/04/2007 GB 07 07096.4.

**(73) Titular(es):** NTNU TECHNOLOGY TRANSFER AS.

**(72) Inventor(es):** CATHERINE TAYLOR; KURT INGAR DRAGET; OLAV ASMUND SMIDSRØD.

**(86) Pedido PCT:** PCT GB2008001287 de 11/04/2008

**(87) Publicação PCT:** WO 2008/125828 de 23/10/2008

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 13/10/2009

**(57) Resumo:** COMPOSIÇÕES DE OLIGOGULURONATO E GALACTURONATO E USOS DOS MESMOS A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo um fármaco macromolecular e um oligoguluronato ou oligogalacturonato, por exemplo, tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18, uma fração de guluronato (ou galacturonato) (FG) de pelo menos 0,80, uma fração de manuronato (FM) de não mais do que 0,20, e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 20. A composição pode ser usada em um método de tratamento que compreende administrar a composição a uma superfície da mucosa em um indivíduo vertebrado humano ou não humano.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para  
**“COMPOSIÇÕES DE OLIGOGULURONATO E GALACTURONATO E  
USOS DOS MESMOS”.**

A presente invenção refere-se às composições de oligo-  
guluronato e galacturonato, e a um método de tratamento de seres humanos  
5 ou animais não-humanos, em particular mamíferos, com oligoguluronatos ou  
oligogalacturonatos, por exemplo, para combater a viscosidade elevada da  
mucosa, por exemplo, para melhorar a limpeza do muco, especialmente do  
trato respiratório, em particular os seios e os pulmões, em particular no  
10 tratamento da fibrose cística (CF) e sinusite. A fibrose cística é a doença  
genética letal mais comum nas populações europeias. A doença é causada  
por uma mutação no gene que codifica o regulador da transmembrana da  
fibrose cística (CFTR), um canal de cloreto que está presente nas células  
secretórias e outras no corpo. A doença é caracterizada pela presença de  
15 secreções de muco espessas, intratáveis no corpo que podem levar à doença  
pulmonar, problemas digestivos e infertilidade. O padrão normal da liberação  
mucociliar nos pulmões deixa de limpar o muco indevidamente viscoso que  
se torna colonizado por microorganismos, que por sua vez aumenta a  
viscosidade do muco e pode levar à inflamação e obstrução pulmonar crônica.  
20 A doença pulmonar é, portanto, o maior problema de saúde para a maioria  
dos pacientes com CF e é a principal causa de morte.

O muco é uma secreção normal do trato respiratório inteiro,  
incluindo os pulmões. Sua função principal é como parte do sistema de libe-  
ração mucociliar que mantém os pulmões limpos e protege contra a infecção.  
25 O sistema de liberação mucociliar possui três componentes principais: muco;  
cílios; e o líquido superficial das vias aéreas. A superfície epitelial assim  
compreende células caliciformes secretoras de muco e células epiteliais  
ciliadas com uma camada sobreposta de líquido superficial das vias aéreas e  
acima desta uma camada de muco, em que as pontas dos cílios salientam. O  
30 muco é um material de gel pegajoso composto principalmente de água (cerca  
de 95 % em peso) e mucinas, moléculas formadoras de gel respon-  
sáveis pelas propriedades físicas do muco. Os cílios são projeções seme-

lhantes a pêlos pequenos da superfície das células epiteliais, que se batem ritmicamente no líquido superficial das vias aéreas não viscoso aquoso com as suas pontas imersas na camada de muco. A camada de muco forma uma manta pegajosa sobre a superfície do pulmão que captura as bactérias, vírus, partículas inaladas, poluentes ambientais e restos celulares. O batimento dos cílios serve para impulsionar esta manta de muco e qualquer coisa capturada no mesmo sentido da boca e para fora dos pulmões. Em condições normais, o sistema de liberação mucociliar funciona eficazmente e os pulmões são mantidos limpos e livres de infecção. Se o sistema estiver sobrecarregado, existe uma segunda linha de defesa – a tosse. Assim, quando os níveis aumentados de muco são secretados em resposta à irritação ou inflamação, por exemplo, devido às partículas inaladas ou infecção, o muco é projetado para fora dos pulmões pelo reflexo da tosse.

Em pacientes com CF o muco no pulmão é mais espesso e mais viscoso que o normal, e este muco mais espesso não é tão facilmente transportado pelos cílios. Como um resultado, o sistema de liberação mucociliar é comprometido e os pulmões são mais vulneráveis à infecção. Além disso, os pulmões de pacientes com CF parecem estar em um estado hiperinflamatória com um nível baixo contínuo de inflamação e uma resposta aumentada aos agentes que normalmente causam a inflamação. Isto é problemática como parte da resposta à inflamação na produção aumentada de muco. O muco aumentado se acumula se ele for demasiado espesso para ser limpo pelo sistema de liberação mucociliar ou tosse, a capacidade pulmonar é reduzida e a troca de oxigênio através da mucosa é diminuída. Isso fornece um ambiente ideal para a colonização bacteriana, um grave problema para os pacientes com CF, uma vez que também provoca inflamação e ativa a resposta imune. Isso leva não apenas ao aumento da secreção de muco, mas também um aumento da presença de células da resposta imune e agentes tais como macrófagos e lisozimas. Quando as bactérias e os macrófagos morrem, seus conteúdos de célula são liberados no muco e estas incluem moléculas viscosas tais como DNA. Além disso, algumas das bactérias, por exemplo, *Burkholderia* sp. e *Pseudomonas aeruginosa*, também se-

cretam polissacarídeos altamente viscosos, neste último caso alginatos. Estas moléculas ainda aumentam a viscosidade do muco, no caso dos alginatos aparentemente pela interação com a matriz de mucina do muco, mas no caso do DNA aparentemente pelo aumento da viscosidade da fase sol dentro da matriz de mucina.

Manter o muco em uma forma capaz de ser transportado pelos cílios é, portanto, um objetivo chave do tratamento da CF. Agentes que simplesmente quebram sua estrutura semelhante a gel devem resultar em fluido que era tão não transportável quanto o muco hiperviscoso do paciente com CF. É importante, portanto, que qualquer agente de tratamento não deve quebrar a matriz do gel formada pelas glicoproteínas mucinas.

Observa-se que isso pode ser alcançado usando oligoguluronatos ou oligogalacturonatos (preferivelmente oligoguluronatos) tendo um grau médio numérico de polimerização ( $DP_n$ ) na faixa de 5 a 30, preferivelmente de 5 a 18.

Em outras partes do corpo, por exemplo, as orelhas, o colo do útero e especialmente o trato respiratório, em particular nos seios, especialmente os seios paranasais, o muco excessivamente viscoso pode apresentar problemas. Os oligoguluronatos e oligogalacturonatos também podem ser usado para resolver estes problemas.

O muco cervical, produzido pelas glândulas do colo do útero, é uma entidade heterogênea contendo diferentes tipos de secreções em diferentes proporções ao longo do ciclo menstrual. A natureza da secreção é tal que fornece uma barreira à migração de esperma através do colo uterino em todos os momentos, exceto durante a "janela fértil" quando a ovulação está ocorrendo e a concepção é possível. Isto atua para proteger o útero, trompas de falópio e ovários da exposição desnecessária aos patógenos.

De modo a sustentar a migração de esperma durante a janela fértil, o muco cervical deve ter características bioquímicas e biofísicas adequadas. As propriedades bioquímicas, tais como o pH e a pressão osmótica, são importantes no fornecimento de condições apropriadas para a sobrevivência do esperma (ver Marriott et al. "Mucus physiology and pathology" in

Bioadhesive Drug Delivery Systems, CRC Press, 1990), embora as propriedades biofísicas, tais como reologia e morfologia da rede macromolecular, afetam a motilidade dos espermatozoides no muco (ver Rutllant et al. *Reprod. Dom. Anim.* 4\_0: 79-86 (2005)).

5                   Clinicamente, a janela fértil pode ser identificada mediante a detecção da onda no hormônio luteinizante antes da ovulação e com o aumento da temperatura corporal basal após a ovulação e mediante o exame das propriedades biofísicas do muco cervical, em particular a seu caráter filamentoso do muco cervical (capacidade de ser elástico), que é essencialmente uma medida de como a elasticidade do muco está e como tal está relacionada com a reologia do muco. A cristalização do muco cervical, isto é, os padrões de cristalização que se formam quando o muco do período ovulatório é deixado secar ao ar livre, também demonstrou estar relacionada com a morfologia da rede macromolecular dentro do muco (ver Menarguez et al. 10                   Human Reproduction 18: 1782-1789 (2003)).

15                   Os padrões de cristalização do muco (e, portanto, a morfologia da rede macromolecular) têm se mostrado ser um fator significativo na chance de conseguir uma gravidez com o uso de inseminação artificial e para um subconjunto de mulheres, o "muco problema" parece ser uma grande barreira para se conseguir a gravidez (ver Boyer et al. *Human Reproduction* 6: 20                   1108-1114 (1991)).

25                   Existe portanto uma necessidade para um método de modular as propriedades biofísicas do muco cervical com relação a motilidade espermática ideal, não só para as mulheres com "muco problema", mas para qualquer mulher que deseja maximizar suas chances de conceber, e também para os criadores de animais que desejam maximizar as chances de gravidez em seus animais.

30                   Observa-se que isso pode ser alcançado usando oligoguluronatos ou oligogalacturonatos (preferivelmente oligoguluronatos) tendo um grau médio numérico de polimerização ( $DP_n$ ) na faixa de 5 a 30, preferivelmente de 5 a 18.

Estes usos de oligoguluronatos e oligogalacturonatos são descri-

tos, por exemplo, nos WO 2007/039754 e WO 2007/039760, cujos conteúdos são por meio desta incorporados por referência.

Os oligoguluronatos e oligogalacturonatos (em seguida "G-blocos") podem ser preparados a partir de polissacarídeos naturais como descritos abaixo e compreendem uma mistura de compostos de diferentes graus de polimerização (DP). Agora tem-se observado que removendo a "extremidade" de peso molecular elevado da mistura de G-bloco, um material com características melhoradas em termos de sua capacidade de modificar a estrutura do muco é obtido.

As reivindicações presentes assim apresentam os valores particularmente preferidos para o grau médio numérico de polimerização ( $DP_n$ ), fração de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ), fração de manuronato ( $F_M$ ) e distribuição de peso molecular.

Também surpreendentemente observa-se que os G-blocos (especialmente oligoguluronatos) podem vantajosamente ser usados para facilitar a absorção das superfícies mucosas de fármacos macromoleculares, isto é, fármacos tendo um peso molecular acima de 2000 Da (preferivelmente acima de 4000 Da, por exemplo de 5 a 2000 kDa) quando eles são co-administrados. Este efeito foi claramente demonstrado usando um modelo celular de rim canino Madin-Darby (MDCK).

Assim, visto de um aspecto, a invenção fornece uma composição farmacêutica compreendendo um oligoguluronato ou oligogalacturonato e um fármaco macromolecular.

Visto de um outro aspecto a invenção fornece um método de tratamento de um indivíduo vertebrado humano ou não humano (por exemplo, mamíferos, aves ou répteis, especialmente mamíferos) que compreende administrar a dito indivíduo uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade eficaz de um fármaco macromolecular, a melhora compreendendo a co-administração de dito fármaco a uma superfície da mucosa de referido indivíduo com uma quantidade eficaz de um oligoguluronato ou oligogalacturonato.

Visto de um outro aspecto, a invenção fornece a utilização de

um oligoguluronato ou oligogalacturonato para a fabricação de um fármaco que ainda compreende um fármaco macromolecular para uso em um método de tratamento que compreende administrar dito fármaco a uma superfície da mucosa em um indivíduo vertebrado humano ou não humano.

- 5 Por superfície da mucosa se entende, por exemplo, o interior do nariz, da vagina, dos pulmões, do revestimento da boca (por exemplo, debaixo da língua) ou do ânus. A administração na boca será geralmente pela inalação de um spray ou colocação sublingual ou pela retenção na boca. A administração por via oral no trato gastrointestinal para absorção de fármaco  
10 no estômago ou intestinos é uma outra opção, mas é menos preferível visto que os fármacos macromoleculares são frequentemente sujeitos à destruição se assim forem administrados.

- Exemplos de fármacos macromoleculares adequados incluem ácidos nucleicos (por exemplo, DNA ou RNA), proteínas, peptídeos, hormônios, anticorpos, etc, mais particularmente insulina, anti-TNF (por exemplo, etanercept, infliximab, adalimumab, etc), interferon (por exemplo, interferon alfa ou beta), fator VII, fator VIIa, fator VIII, fator IX, hormônio estimulante do folículo, eritropoietina, trastuzumab, rituximab, fator estimulante das colônias granulócitas (e equivalentes submetidos a PEG), hormônios do crescimento  
15 tais como somatotropina, apotransferrina (usada no tratamento de atransferrinemia), e beta-glucocerebrosidase. A maioria destes possuem tal absorção biológica fraca das superfícies mucosas que são convencionalmente administradas por injeção, uma via de administração que é menos agradável para o paciente do que a administração na superfície da mucosa. No método da  
20 invenção tais fármacos podem, naturalmente, ser utilizados para suas indicações normais. A dose apropriada pode ser facilmente determinada a partir de modelos animais que trabalham na base em que a quantidade absorvida deve ser comparável à dose convencional injetada. Se desejável, as composições da invenção podem ser administradas por via subcutânea ou por via  
25 intramuscular, no entanto, esta é a menos preferida e a injeção iv é geralmente indesejável.

Exemplos de fármacos macromoleculares adequados para a

incorporação nas composições da invenção incluem os fármacos anti-TNF vendidos sob os nomes comerciais Enbrel e Remicade; o anti-CD20 vendido sob o nome comercial Rituxan, as eritropoetinas vendidas sob os nomes comerciais Procrit, Eprex, Aranesp, Epogen, NeoRecormon e Epogin, o G-CSF vendido sob o nome comercial Neulasta; o ant-EGFR vendido sob o nome comercial Herceptin; os interferons vendidos sob os nomes comerciais Avonex, Rebif, Betaseron, Neupogen e Pegasys, o fator VIII vendido sob o nome comercial Kogenate, o fator VII vendido sob o nome comercial Novo-Seven; o fator IX, vendido sob o nome comercial BeneFix; os hormônios de crescimento vendidos sob os nomes comerciais Genotropin e Nutropin; o tPA vendido sob o nome comercial Activase; o FSH vendido sob o nome comercial Follistim; e o glucocerebrosidase vendido sob o nome comercial Cerezyme. Os websites dos fabricantes fornecem os detalhes das indicações e dosagens.

15 O fármaco macromolecular pode naturalmente ser um ácido nucléico para uso na terapia genética.

O fármaco macromolecular é preferivelmente aquele com um efeito fisiológico desejado além de simplesmente qualquer efeito de redução da infecção, inflamação, viscosidade da mucosa ou outros problemas pulmonares. Em particular, é preferivelmente diferente de uma enzima de clivagem de ácido nucléico, gelsolin, dextrano, poliASP ou poliGLU.

Os fármacos macromoleculares às vezes possuem uma tendência de formar agregados em solução aquosa e, embora não desejando ser limitado pela teoria, acredita-se que parte da absorção melhorada alcançada pela co-administração de G-blocos é um resultado do efeito dos G-blocos na redução da formação de agregados. A invenção é, portanto, especialmente adequada para uso com macromoléculas, como a insulina, que possuem essa tendência de ser agregar. Uma outra parte da absorção melhorada alcançada pela co-administração de G-blocos acredita-se de estar na capacidade dos G-blocos em promover a passagem através de estruturas de glicocalix na superfície celular – isto pode surgir em virtude dos G-blocos que facilitam o acesso pelo fármaco macromolecular aos receptores da superfí-

cie celular apropriados.

O G-bloco usado é preferivelmente um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18 (especialmente de 7 a 15), uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,80 (preferivelmente pelo menos 0,85, especialmente pelo menos 0,92), uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,20 (preferivelmente não mais do que 0,15, especialmente não mais do que 0,08), e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 20 (preferivelmente menor do que 17).

O G-bloco está preferivelmente presente nas composições em 0,1 a 50 mg/ml, especialmente de 0,5 a 25 mg/ml, particularmente de 1 a 10 mg/mL em solução aquosa quando estiver pronto para uso. Alternativamente expresso, o G-bloco e o fármaco macromolecular estão preferivelmente presentes em uma relação de peso relativo de cerca de 0,5:1 a 10:1, particularmente ao redor de 1:1.

Visto de outro aspecto a invenção fornece um método de tratamento de um indivíduo vertebrado humano ou não humano (por exemplo, mamíferos, aves ou répteis, especialmente mamíferos) para reduzir a viscosidade da mucosa sobre uma superfície da mucosa em dito indivíduo e, em particular, para combater a hiperviscosidade da mucosa (por exemplo, para tratar orelha colada, sinusite ou fibrose cística, para aumentar a probabilidade de impregnação após a inseminação artificial ou relações sexuais, para intensificar a liberação de fármaco através das superfícies mucosas), cujo método compreende a aplicação a dita superfície da mucosa de uma quantidade eficaz de um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18, uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,92, uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,08, e tendo pelo menos 95% em mol com um grau de polimerização menor do que 20.

Quando o oligoguluronato ou oligogalacturonato está sendo aplicado a uma superfície da mucosa no trato respiratório (isto é, no nariz, seios e nos pulmões) ou nos ouvidos, preferivelmente será formulado em solução

aquosa a uma concentração de 40 a 140 mg/ml (calculada com base no peso do oligoguluronato ou oligogalacturonato em forma de sal de sódio, em seguida referido como "base de sal de sódio"). Onde for administrado nos pulmões, a dose diária para um ser humano será de 100 a 2000 mg/dia para um adulto (base de sal de sódio), preferivelmente de 120 a 1000 mg/dia, especialmente de 150 a 500 mg/dia. Para uma criança, a dosagem pode ser proporcional ao peso corporal da criança, assumindo um peso corporal de adulto de 70 kg para as faixas de dose acima. Esta dosagem diária preferivelmente será fornecida em 2, 3 ou 4 aplicações temporalmente espaçadas.

Onde o oligoguluronato ou oligogalacturonato está sendo aplicado a uma superfície da mucosa na vagina ou está sendo aplicado no reto, também pode ser apresentado em uma forma diferente de uma solução aquosa. Assim, por exemplo, pode estar na forma de comprimido, comprimido revestido (especialmente comprimido revestido de liberação retardada ou sustentada), cápsula, supositório, pessário, gel, emulsão, xarope, dispersão, suspensão, emulsão, pó, creme, pasta, etc. Para este propósito, pode ser formulado com os veículos e excipientes farmacêuticos convencionais e a forma de dosagem pode ser preparada da maneira convencional.

Para a aplicação vaginal, o oligouronate (isto é, oligoguluronato ou oligogalacturonato) é preferivelmente aplicado na forma de uma composição aquosa estéril, por exemplo, uma solução, gel, emulsão, creme ou pasta, ou como um comprimido, cápsula ou supositório vaginal. No entanto, as formas de gel, especialmente géis lubrificantes aquosos, são preferíveis. Tais composições, que serão livres de espermicida, podem, se desejável, conter outros agentes para reforçar a função do esperma, por exemplo, reguladores de pH e antioxidantes, ou para ajudar a inseminação, por exemplo, relaxantes musculares, lubrificantes, etc. Claramente as composições também podem conter ainda componentes farmacêuticos ou cosméticos fisiologicamente toleráveis tais como são encontrados normalmente em composições para aplicação vaginal, por exemplo, aglutinantes, diluentes, estruturas de cápsula solúveis, perfumes, antibióticos, vitaminas, óleos, emulsificantes, bases de supositórios, etc.

O oligouronato preferivelmente estará presente assim como cerca de 0,1 a 2,5 g por unidade de dose, mais preferivelmente de 0,5 a 2g/unidade de dose para uma fêmea humana adulta. As doses para outras espécies podem ser calculadas de forma análoga, por referência ao tamanho médio do corpo, por exemplo,  $[(0,1 \text{ a } 2,5) / 60]$  g/unidade de dose/kg de peso corporal, etc.

A composição é preferivelmente aplicada antes da inseminação, por exemplo, de 1 a 60 horas antes, preferivelmente de 2 a 48 horas de antecedência, especialmente de 4 a 36, por exemplo, de 20 a 52 horas de antecedência. Isto pode ser alcançado, por exemplo, mediante a ducha vaginal, através da inserção vaginal de um comprimido ou cápsula degradável em água, ou por injeção de um gel ou pasta. O calendário de aplicação pode ser selecionado através da monitorização dos parâmetros indicativos da ovulação ou proximidade da ovulação, por exemplo, temperatura.

Se desejável, a composição pode ser aplicada duas ou mais vezes, por exemplo, bem antes da inseminação e pouco antes (por exemplo, dentro de 1 hora) da inseminação.

Aonde um regulador de pH for incluído na composição, este é preferivelmente tal como para fazer com que o pH vaginal se torne ligeiramente básico, por exemplo, pH 7,1 a 7,6, especialmente ao redor do pH 7,4. Tampões fisiologicamente toleráveis rotineiros podem ser usados a este respeito.

A fêmea tratada de acordo com o método da invenção é preferivelmente uma fêmea humana, em particular uma diagnosticada como tendo problemas de fertilidade devido ao muco problemático. O método, no entanto, pode ser utilizado por outros seres humanos do sexo feminino com idade capaz de engravidar, a fim de aumentar as chances de gravidez. Também pode ser usado por veterinários e criadores de animais, por exemplo, agricultores, para os animais tais como vacas, cavalos, cães, gatos, ovelhas, cabras, porcos, etc.

As composições da invenção para aplicação vaginal são preferivelmente acondicionadas juntamente com as instruções de uso no método

da invenção, particularmente preferível na forma de unidade de dose, e especialmente preferível juntamente com um aplicador, por exemplo, uma seringa. A utilização de seringas pré-carregadas é especialmente preferível. Alternativamente, o aplicador pode assumir a forma de um diafragma cervical, carregado no lado côncavo com a composição, para ser removido antes da inseminação, a não ser que a membrana do diafragma seja de um material permeável a esperma ou solúvel em água. Tais seringas e diafragmas formam outros aspectos da presente invenção.

Para a administração no trato gastrointestinal por via retal, a dosagem diária tipicamente será de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal, mais preferivelmente de 1 a 50 mg/kg, especialmente de 1,5 a 25 mg/kg (base de sal de sódio). A administração é preferivelmente de uma a quatro vezes por dia.

Para a administração nos ouvidos, a dosagem diária tipicamente será de 0,05 a 4 mg/kg de peso corporal (base de sal de sódio), mais preferivelmente de 0,1 a 2 mg/kg. A administração é preferivelmente efetuada uma a quatro vezes por dia.

A dose ideal pode ser facilmente determinada pelas experiências rotineiras de variação de dosagem, opcionalmente após a investigação inicial de um modelo animal, por exemplo, um modelo canino.

As composições da invenção podem ser produzidas utilizando veículos e excipientes farmacêuticos convencionais, por exemplo, solventes estéreis (tais como água, especialmente água para injeções), modificadores da pressão osmótica, aromatizantes, reguladores de pH, etc. Elas podem conter componentes ativos adicionais, por exemplo, agentes que servem para quebrar os biopolímeros que não estão envolvidos na matriz de mucina do muco (por exemplo, DNase, particularmente rhDNase), agentes antibacterianos, anestésicos e anti-inflamatórios.

A terapia de combinação usando um tal outro agente e o oligoguluronato ou oligogalacturonato, administrada separadamente ou em conjunto é uma forma de realização particularmente preferida do método da invenção. Tais outros agentes podem ser usados em suas doses normais ou

até mesmo em doses mais baixas, por exemplo, 50 % da dose normal.

O oligoguluronato ou oligogalacturonato usado de acordo com a invenção preferivelmente possui um grau médio numérico de polimerização ( $DP_n$ ) de 7 a 15, mais preferivelmente de 8 a 12, especialmente ao redor de 10. A distribuição de peso molecular é preferivelmente tal que não mais do que 5 % em mol tenha um grau de polimerização (DP) acima de 17, mais preferivelmente não mais do que 5 % em mol tenha um DP acima de 14, ainda mais preferivelmente não mais do que 5 % em mol tenha um DP acima de 12 (por exemplo, em cada caso, acima de um DP duas vezes mais elevado do que o limite superior correspondente para o  $DP_n$ ). Do mesmo modo, é preferível que não mais do que 5 % em mol tenha um DP abaixo de um número duas vezes menor do que o limite inferior pertinente para  $DP_n$ .

O contra-íon para o oligoguluronato ou oligogalacturonato pode ser qualquer cátion fisiologicamente tolerável, por exemplo, qualquer um dos íons fisiologicamente toleráveis comumente utilizados para substâncias farmacológicas carregadas, por exemplo, sódio, potássio, meglumina, etc. Os íons que promovem a gelificação de alginato, por exemplo, metais do grupo 2, no entanto, preferencialmente não serão utilizados. O sódio é geralmente preferido.

Assim, visto de um outro aspecto, a invenção fornece uma composição líquida aquosa pulverizável estéril compreendendo uma solução aquosa de um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18 (preferivelmente de 7 a 15, mais preferivelmente de 8 a 12, especialmente ao redor de 10), uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,80 (preferivelmente pelo menos 0,85, mais preferivelmente pelo menos 0,90, especialmente pelo menos 0,92, o mais especialmente pelo menos 0,95), uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,20 (preferivelmente não mais do que 0,15, mais preferivelmente não mais do que 0,10, especialmente não mais do que 0,08, o mais especialmente não mais do que 0,05), e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 20 (preferivelmente menor do que 17, mais preferivelmente me-

nor do que 14), dita solução contendo dito oligoguluronato em uma concentração de 40 a 140 mg/ml, preferivelmente de 50 a 100 mg/ml, especialmente de 55 a 75 mg/ml (base de sal de sódio).

5 Visto de um outro aspecto a invenção fornece um aplicador de pulverização que compreende um reservatório e um gerador de gotículas, dito reservatório contendo uma solução aquosa estéril ou a composição de acordo com a invenção. Os aplicadores de pulverização, e de fato os oligoguluronatos ou oligogalacturonatos, podem ser utilizados no tratamento da fibrose cística, sinusite ou obstrução nasal, ou congestão resultante do resfriado comum ou outras razões.

10 As composições destinadas para inalação nos pulmões desejavelmente contêm um outro agente redutor da viscosidade da mucosa fisiologicamente tolerável, por exemplo, uma enzima de clivagem de ácido nucléico (por exemplo, um DNase tal como a DNase I), gelsolina, um agente de redução de tiol, uma acetilcisteína, cloreto de sódio, um polissacarídeo de peso molecular baixo não carregado (por exemplo, dextrano), arginina (ou outros precursores de óxido nítrico ou estimuladores de síntese), ou um ácido aniônico poliamino (por exemplo, poli ASP ou poli GLU). O uso de um DNase é especialmente preferido.

20 Para a administração nos pulmões, o oligouronatos podem estar na forma de pós, por exemplo, de tamanho de partícula de forma nanômetro a micrômetro aproximada (por exemplo, de 10 a 50000 nm).

25 Observado de mais um outro aspecto a invenção fornece oligoguluronatos ou oligogalacturonatos fisiologicamente toleráveis tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 7 a 15 (preferivelmente de 8 a 12), uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,92 (preferivelmente pelo menos 0,95), uma fração de manuronato, ( $F_M$ ) de não mais do que 0,08 (preferivelmente não mais do que 0,05), tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 17 (preferivelmente menor do que 14) para uso na medicina.

30 Visto de mais um outro aspecto a invenção fornece a utilização de um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo

um grau médio numérico de polimerização na faixa de 7 a 15 (preferivelmente de 8 a 12), uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,92 (preferivelmente pelo menos 0,95), uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,08 (preferivelmente não mais do que 0,05), e tendo

5 pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 17 (preferivelmente menor do que 14) para a fabricação de um fármaco para uso em um método de tratamento médico para reduzir a viscosidade da mucosa em uma superfície mucosa mediante a aplicação a dita superfície, por exemplo, no tratamento de fibrose cística, ouvido colado, doença pulmonar

10 obstrutiva crônica (COPD, especialmente suas formas úmidas), bronquite, enfisema, infertilidade piorada, ou para melhorar a liberação de fármaco através de uma superfície da mucosa.

Observado a partir de mais um outro aspecto a invenção fornece a utilização de um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente

15 tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 7 a 15 (preferivelmente de 8 a 12), uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,85 (preferivelmente pelo menos 0,92), uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,15 (preferivelmente não mais do que 0,08), e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização me-

20 nor do que 17 (preferivelmente menor do que 14) para a fabricação de um fármaco contendo dito oligoguluronato ou oligogalacturonato em solução aquosa estéril em uma concentração de 40 a 140 mg/ml (base de sal de sódio) para uso em um método de tratamento médico para reduzir a viscosidade da mucosa em uma superfície da mucosa mediante a aplicação a dita

25 superfície, por exemplo, no tratamento da fibrose cística, ouvido colado, sinusite, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC, especialmente as suas formas úmidas), bronquite, enfisema, fertilidade piorada, ou para melhorar a liberação de fármaco através de uma superfície da mucosa.

Visto de ainda mais um outro aspecto, a invenção fornece um

30 método de tratamento de um indivíduo animal vertebrado humano ou não humano (por exemplo, mamíferos, aves ou répteis, preferivelmente mamíferos) para reduzir a viscosidade da mucosa sobre uma superfície mucosa,

cujo método compreende a administração em dita superfície de uma quantidade eficaz de um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 7 a 15 (preferivelmente de 8 a 12), uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,92 (preferivelmente pelo menos 0,95), uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,08 (preferivelmente, não mais do que 0,05), e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 17 (preferivelmente menor do que 14).

Observado de ainda mais um outro aspecto, a invenção fornece um método de tratamento de um indivíduo animal vertebrado humano ou não humano (por exemplo, mamíferos, aves ou répteis, preferivelmente mamíferos) para reduzir a viscosidade da mucosa sobre uma superfície mucosa, cujo método compreende administrar a dita superfície uma quantidade eficaz de uma solução aquosa estéril contendo, em uma concentração de 40 a 140 mg/ml (base de sódio), um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 7 a 15 (preferivelmente 8 a 12), uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,85 (preferivelmente pelo menos 0,92), uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,15 (preferivelmente não mais do que 0,08), e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 17 (preferivelmente menor do que 14).

Nos métodos da invenção, a administração à superfície da mucosa pode ser direta, por exemplo, pela inserção de um pessário, por injeção de um gel vaginal, por injeção ou administração de gotas no ouvido ou nariz, ou por inalação de gotículas de pulverização no nariz ou pulmões, ou indireta, por exemplo, pela administração de um supositório ou enema para alcançar a extremidade distal do trato gastrointestinal.

Visto de um outro aspecto, a invenção fornece um método de tratamento de um indivíduo animal vertebrado humano ou não humano (por exemplo, mamíferos, aves ou répteis, preferivelmente mamíferos) para combater à hiperviscosidade da mucosa nos ouvidos, seios ou pulmões de dito indivíduo, cujo método compreende a administração nos ouvidos, nariz ou

pulmões de dito indivíduo de uma quantidade eficaz de um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18, uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,92, uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,08, e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 20, preferivelmente em solução aquosa estéril em uma concentração de 40 a 140 mg/ml (base de sal de sódio).

A aplicação do oligouronato neste método pode ser por qualquer meio que o libere a uma superfície que secreta muco ou carrega muco nos ouvidos ou trato respiratório do paciente, por exemplo, nos seios paranasais ou mais preferivelmente nos pulmões. A introdução será tipicamente por inalação, por exemplo, de gotículas líquidas (por exemplo, um aerossol) ou um pó, ou pela administração de gotas no nariz ou ouvidos.

Também observa-se que os oligoguluronatos e oligogalacturonatos podem ser utilizados para acentuar a absorção através de uma superfície da mucosa de um agente fisiologicamente ativo (em seguida uma "substância farmacológica"). Assim, visto de um outro aspecto a invenção fornece uma composição farmacêutica compreendendo uma substância farmacológica e um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18, uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,80, uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,20, e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 20, preferivelmente um dos oligouronatos descritos acima como preferível. Tais composições podem tomar qualquer forma convencional, por exemplo, pós, comprimidos, cápsulas, soluções, supositórios, dispersões, etc, e podem ser produzidas de forma convencional utilizando veículos e excipientes farmacêuticos convencionais. A substância farmacológica é preferivelmente uma molécula carregada, especialmente uma macromolécula (por exemplo, tendo um peso molecular acima de 2 kDa), por exemplo, um poli-electrólito ou anfólito, em particular uma molécula negativamente carregada. Assim, por exemplo, a substância farmacológica pode ser uma macromolécula complexa tal como uma glico-

proteína, por exemplo, transferrina. Visto de um outro aspecto a invenção fornece a utilização de um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18, uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,80, uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,20, e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 20, preferivelmente um dos oligouronatos descritos acima como preferível, para a fabricação de um fármaco que ainda contém uma substância farmacológica para administração a uma superfície da mucosa para a absorção de dita substância farmacológica através dela. Visto de mais um outro aspecto, a invenção fornece um método de tratamento de um indivíduo animal vertebrado humano ou não humano mediante a administração a uma superfície mucosa de uma quantidade eficaz de uma substância farmacológica para combater uma condição responsiva à dita substância farmacológica, a melhor hora compreendendo a administração de dita substância farmacológica com um oligoguluronato ou oligogalacturonato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18, uma fração de guluronato (ou galacturonato) ( $F_G$ ) de pelo menos 0,80, uma fração de manuronato ( $F_M$ ) de não mais do que 0,20, e tendo pelo menos 95 % em mol com um grau de polimerização menor do que 20, preferivelmente um dos oligouronatos descritos acima como preferíveis. Administração será tipicamente nasal, por inalação, retal ou vaginal. A substância farmacológica será tipicamente usada em 50 a 110 % de sua dose normal.

Embora o oligouronato possa ser um material sintético, é preferivelmente um derivado de um polissacarídeo de ocorrência natural. Pode ser um composto isolado ou pode ser uma mistura de compostos de oligouronato, por exemplo, de uma faixa de graus de polimerização.

Os oligouronatos são facilmente acessíveis de fontes naturais, uma vez que muitos polissacarídeos naturais estão na forma de copolímero de bloco contendo blocos de resíduos de ácido gulurônico (os assim chamados G-blocos), frequentemente em conjunto com blocos de resíduos de ácido manurônico (os assim chamados blocos M). Os blocos M ou M/G-blocos

podem ser usados no lugar dos G-blocos de acordo com a invenção; no entanto isto não é preferível.

A clivagem de polissacarídeo em oligossacarídeo de para produzir oligouronatos utilizáveis de acordo com a presente invenção pode ser realizada usando técnicas de lise de polissacarídeo convencionais tais como a digestão enzimática e hidrólise ácida. A utilização da hidrólise ácida, no entanto, é a preferida. Os oligouronatos do  $DP_n$  desejado e a distribuição de peso molecular podem então ser separados dos produtos de degradação do polissacarídeo cromatograficamente usando uma resina de troca iônica, por precipitação ou solubilização fracionada, ou por diálise.

Os polissacarídeos adequados são debatidos, por exemplo, no "Handbook of Hydrocolloids", Ed. Phillips and Williams, CRC, Boca Raton, Florida, USA, 2000. O uso de alginatos, entretanto, é especialmente preferido quando estes ocorrem de forma natural como copolímeros de bloco de ácidos manurônicos (M) e gularônicos (G) e os oligômeros de G-bloco podem ser facilmente produzidos de materiais fontes de alginato.

Onde os alginatos forem utilizados como o material de partida para a preparação do oligouronato, o teor de ácido gularônico pode, se desejável, ser aumentado pela epimerização com mannouronan C-5 epimerases de *A. vinelandii*.

Os oligoguluronatos adequados para uso de acordo com a invenção podem ser convenientemente produzidos pela hidrólise ácida de ácido algínico de *Laminaria hyperborea*, dissolução em pH neutro, adição de ácido mineral para reduzir o pH para 3,4 para precipitar o oligoguluronato, lavagem com ácido fraco, colocar novamente em suspensão em pH neutro e secagem por congelamento.

A invenção será agora descrito com referência aos seguintes Exemplos não limitativos e aos desenhos que acompanham, em que:

As figuras 1A e 1B, 2a e 2b e 3a e 3b mostram mudanças no  $G^*$  (em cima) e  $\eta^*$  (inferior) no escarro de um paciente com COPD com o tempo e como função de oligouronato adicionado;

a figura 4 é um cromatograma Dionex do  $DP_n$  10 material de G-

bloco usado no Exemplo 7 e, a título de comparação, o material DP<sub>n</sub> precursor 19 o qual a extremidade de peso molecular elevado não foi removida; e

a figura 5 mostra o desenvolvimento durante um tempo das propriedades mecânicas de um muco modelo na presença dos materiais de G-bloco da figura 4.

### Exemplo 1

Preparação de oligoguluronato de sódio DP<sub>n</sub> de 5 a 18

1. Um ácido algínico rico em guluronato (pH 2 a 3; 15 a 40 % em peso seco) da estipe de *Laminaria hyperborea* é extensivamente hidrolisado com ácido mineral ou orgânico, preferivelmente HCl, em 70 a 100 °C durante 2 a 12 horas.

2. Após a hidrólise, o pH da mistura de oligossacarídeos é aumentado para 3 a 4 e é lavada com água de intensidade iônica baixa para remover os fragmentos ricos em M e componentes de peso molecular baixo.

3. Se necessário, a mistura de oligossacarídeos purificada é hidrolisada e purificada mais adiante como nas etapas 1 e 2.

4. A mistura de oligossacarídeos purificada é depois neutralizada com álcali, preferivelmente NaOH ou Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, para fornecer G-blocos solúveis e o teor em peso seco é ajustado para 2,5 a 20 %.

5. Para obter um produto com grau médio numérico aceitável de polimerização, assim como distribuição de peso molecular, a solução de G-bloco é filtrada duas vezes. Primeiro através de um filtro com um corte aproximado de 1000 Da para remover oligômeros abaixo do DP 5. O retentado é depois filtrado através de um filtro com um corte aproximado de 4000 Da para remover os fragmentos de G-bloco acima de aproximadamente DP 20.

6. Se necessário, o teor de matéria seca do permeado resultante é ajustado e a solução é secada por pulverização. O pó esbranquiçado a amarelo claro resultante (produto) possui um teor de umidade menor do que 15 %.

### Exemplo 2

Preparação de oligoguluronato de sódio de DP<sub>n</sub> 7 a 15

As etapas de preparação são como se segue:

1. Como no exemplo 1 acima.
  2. Como no Exemplo 1 acima.
  3. Como no Exemplo 1 acima.
  4. Para otimizar o rendimento e a pureza, o teor de matéria seca da mistura de oligossacarídeos é ajustado para 5 a 15 %, a mistura de oligossacarídeos é solubilizada em um tampão de ácido acético (50 a 250 mM) para alcançar um pH final da solução de 3,8 a 5,0.
  5. O oligossacarídeo solubilizado em tampão de acetato é mais homogêneamente hidrolisado em 70 a 100°C durante 1 a 15 horas para diminuir o conteúdo de fragmentos de peso molecular elevado e aumentar os fragmentos de G-bloco fisiologicamente ativos.
  6. Filtração (também incluindo a retirada do sal) e secagem por pulverização são efetuadas conforme descrito nas etapas 5 e 6 do Exemplo 1 acima.
- Os oligoguluronatos também podem ser preparados como descrito na Patente US nº 6121441 e Patente US nº 6407226, cujos conteúdos são por meio desta incorporados por referência. De fato, os produtos dos Exemplos 1 e 2 aqui podem ser vantajosamente produzidos usando uma oligoguluronato produzido de acordo com a Patente US nº 6121441 como o material de partida.

### Exemplo 3

#### Caracterização e controle de qualidade

Para os exemplos 1 e 2, incluindo para verificação os produtos intermédios, as seguintes técnicas são utilizadas:

- A pureza (teor de resíduos de ácido gulurônico) e o grau médio numérico de polimerização são determinados pela espectroscopia de <sup>1</sup>H-NMR, como descrito por Grasdalen et al em Carbohydr. Res. 68 (1) :23-31 (1979).

- A cromatografia aniônica de alta precisão combinada com a detecção amperiométrica de pulso (HPAEC-PAD), comercializado pela Dionex, também é utilizada para a caracterização do material oligomérico. O método a seguir é usado para a caracterização do G-blocos:

1. Amostras de G-bloco são dissolvidos em MQ água, 1 a 2 mg/ml.

2. 0,1 M NaOH (sem carbonato) é utilizado como a fase móvel, e 1,0 M acetato de sódio é usado como eluente. Todas as soluções são isentas de gás com hélio e filtradas através de um filtro de 0,22 micrômetro.

3. Amostras de 20 microlitros são injetadas, e uma pré-coluna AG4A e uma coluna principal IonPac 4x250 AS4A são empregadas.

4. As colunas são submetidas a eluição com um gradiente linear de 0 a 87,5 % NaAcetato em 0,1 M NaOH dentro de 90 minutos. A velocidade de eluição é de 1 ml/min em um regime de pressão de 650-750 psi.

5. Após determinar o fator de resposta como função do comprimento da cadeia, a concentração de cada oligômero pode ser calculada, o que implica que tanto o número quanto o peso molecular médio ponderado, assim como a distribuição de peso molecular podem ser determinados.

Outro possível tratamento do oligossacarídeo: esta consideração, isto é, se os parâmetros relevantes estiverem fora da faixa desejada, é ligado ao rendimento de fabricação do produto. Não é nenhum problema ter qualquer produto hidrolisado de um G alginato superior para ajustar-se dentro das faixas de parâmetro requeridas, mas o rendimento pode ser baixo. A fim de otimizar o rendimento e ainda estar dentro das faixas de parâmetro requeridas, os seguintes conselhos podem ser sugeridos:

a)  $F_G$  muito baixo: outra hidrólise (ligações GG sendo mais estáveis contra a hidrólise ácida) ou/e outra lavagem em valores de pH ligeiramente mais elevados (fragmentos ricos M de ácido mais solúvel do que os fragmentos ricos G).

b)  $DP_n$  "incorreto": se o  $DP_n$  médio for muito baixo, o rendimento será reduzido devido a uma perda maior quando se filtra através do filtro 1 kDa. O rendimento pode, contudo, ser aumentada quando o  $DP_n$  médio for muito alto, aqui, uma hidrólise ácida aumentada resultará em mais moléculas estando dentro da faixa de parâmetro desejada.

#### Exemplo 4

Soluções para administração

Soluções de inalação são preparadas mediante a dissolução de oligoguluronatos de sódio de DP<sub>n</sub> 5 a 18 ou 7 a 15 preparados de acordo com exemplos 1 e 2 respectivamente em água estéril para injeções em concentrações de 6, 8 e 10 % em peso.

- 5                   Alíquotas destas são então carregadas em um aplicador de pulverização para a administração nos pulmões em doses de 1 a 5 ml, preferivelmente de 2 a 3 ml.

Outras alíquotas são carregadas em frascos com tampas que acompanham conta-gotas. As gotas podem ser administradas no nariz ou ouvidos, por exemplo, 2 a 4 gotas por ouvido ou narina.

#### Exemplo 5

##### Gel Vaginal

- 15                   Oligoguluronatos de sódio preparados de acordo com os Exemplos 1 e 2 são misturados a um gel lubrificante vaginal comercial (por exemplo, K-Y Jelly (da Johnson & Johnson) ou Astroglide (da BioFilm Inc)) em concentrações de 5 e 15 % em peso. O gel é aplicado livremente, preferivelmente 2 a 4 horas antes da inseminação artificial ou coito.

#### Exemplo 6

##### Efeito em mucina

- 20                   Amostras de escarro foram coletadas de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (COPD). As amostras foram suavemente agitadas, divididas em porções, congeladas e armazenadas a -40°C.

25                   As amostras de controle e misturadas (escarro e G-bloco) foram suavemente agitadas durante 1 min, isentas de gás em aprox. 1 KPa (10 mBar) durante 2 x 1 minuto e subsequentemente colocadas no refrigerador durante 5 min antes que elas fossem transferidas para o reômetro para teste.

30                   As medidas reológicas do escarro de COPD puro e misturado foram realizadas em placa / cone (40 mm/l° ou 25 mm/l°, dependendo da quantidade da amostra), utilizando um reômetro de propósito geral Rheológica Stress-Tech em 10°C para minimizar o efeito de quaisquer enzimas proteolíticas presentes.

A caracterização reológica do escarro de COPD puro e escarro

misturado com G-blocos foi realizada em quatro diferentes etapas:

1. Controle de tensão oscilante durante 2 min com tensão constante 0,03 e frequência em 1 Hz.

2. Controle de tensão oscilante após a pré-cisalhamento (1 min em taxa de cisalhamento a  $20 \text{ s}^{-1}$ ) durante 60 min com tensão constante em 0,03 e frequência em 1 Hz.

3. Curva de frequência com faixa de 0,01 a 5 Hz em tensão constante 0,03.

4. Curva de esforço com faixa de 0,02 a 20 Pa em 1 Hz.

Tratamento Nº 2 (pré-cisalhamento e medição de 1 hora) representa a base para os resultados experimentais apresentados. Este tratamento foi repetido de 2 a 3 dentro de 0 a 24 h.

Os resultados das três amostras de escarro de COPD ex vivo são aqui relatados. Eles foram reologicamente testados "como tais" (controle), além de serem dosados com adição de G-blocos:

- escarro puro (controle)

- escarro + 75 microlitros de 150 mg/ml (per 0,5 g de amostra de escarro) de oligômeros de guluronato de sódio DP10

O oligômero de guluronato de sódio DP 10 tinha as seguintes características:

$F_G$  0,79,  $F_M$  0,11,  $F_{GG}$  0,76,  $F_{GM}=F_{MG}$ , 0,03,  $F_{MM}$  0,07,  $F_{MGG}=F_{GGM}$  0,02,  $F_{MGM}$  0,01,  $F_{GGG}$  0,74,  $F_G(\text{vermelho})$  0,10,  $F_G(\text{tot})$  0,89,  $DP_n$  10

As figuras 1a, 2a e 3a mostram o desenvolvimento do módulo complexo ( $G^*$ ) para as amostras de escarro de COPD (com e sem oligouronato) após o final do tratamento de pré-cisalhamento e em dados prazos de tempo após a introdução do oligouronato. As figuras 1b, 2b e 3b mostram o desenvolvimento da viscosidade complexa da mesma amostra de escarro como nas figuras 1a, 2a e 3a.

Adição de oligouronato obviamente e durante um tempo reduz as propriedades mecânicas do escarro de COPD ex vivo. Tanto o módulo dinâmico complexo assim como a viscosidade dinâmica complexa são consideravelmente reduzidos. A alteração no ângulo de fase não é, entretanto,

efetuada a um tal ponto como  $G^*$  e  $\eta^*$  (dados não incluídos). Isso é mais importante visto que claramente mostra que as propriedades mecânicas da rede de mucina é preservada.

#### Exemplo 7

##### 5 Cristalização

As composições de mucina foram preparadas como se segue:

a) 18 mg de mucina por ml de 0,05 M NaCl aquoso;

b) 18 mg de mucina e 1 mg de alginato por ml de 0,05 M NaCl

aquoso; e

10 C) 18 mg de mucina e 0,5 mg de oligômero de guluronato ( $DP_n = 10$ , como no exemplo 7) por ml de 0,05 M NaCl

As composições foram secadas ao ar e fotomicrografias foram registradas. Estas (não incluídas aqui) claramente mostraram que o oligômero de guluronato promoveu a cristalização.

##### 15 Exemplo 8

Propriedades mecânicas do muco

Dois materiais de muco modelo foram preparados, o primeiro 18 mg/ml de mucina e 0,6 mg/ml de alginato em água, o segundo apenas 18 mg/ml de mucina. 4 mg/ml de G-bloco  $DP_n = 10$  (como o exemplo 7) ou  $DP_n = 19$  foram adicionados a cada um e o desenvolvimento do módulo complexo dinâmico  $G^*$  durante um tempo foi registrado para cada amostra.  $G^*$  é indicativo das propriedades mecânicas do muco. Os resultados são apresentados na figura 5: a partir da parte de cima mucina/alginato; mucina; mucina/alginato acrescido de  $DP_n 19$ ; e mucina/alginato acrescido de  $DP_n 10$ .  
25 Como pode ser visto, o G-bloco de  $DP_n 10$ , que carece da extremidade de peso molecular elevado, reduz o comportamento semelhante a sólido do muco mais do que o G-bloco de  $DP_n 19$ . A figura 4 é um cromatograma Dionex para os dois G-blocos utilizados. Como pode ser visto, a amostra de  $DP_n 19$  possui um rebaixo para a extrema-direita, indicando a presença da ex-  
30 tremidade de peso molecular elevado.

#### Exemplo 9

Composição de Etanercept

G-bloco de  $DP_n = 10$  (como exemplo 7) é dissolvido em 40 mg/ml com 50 mg/ml de solução aquosa de etanercept para injeções (disponível sob a Marca Comercial Registrada Enbrel da Amgen, CA, USA).

#### Exemplo 10

##### 5 Composição de Infliximab

G-bloco de  $DP_n = 10$  8 mg/ml (como exemplo 7) e infliximab 10 mg/ml (disponível da Centocor, PA, USA sob a Marca Comercial Registrada Remicade) são dissolvidos em água estéril.

#### Exemplo 11

##### 10 Composição de Rituximab

G-bloco de  $DP_n = 10$  (como o exemplo 7) é dissolvido em 10 mg/ml com 10 mg/ml de solução aquosa de rituximab para injeções (sob a Marca Comercial Registrada Rituxan da Genentech, CA, USA).

#### Exemplo 12

##### 15 Composição de Eritropoetina

G-bloco de  $DP_n = 10$  (como o exemplo 7) é dissolvido em 8 mg/ml com 4000 U/ml de solução aquosa de epoetina alfa para injeções (disponível sob a Marca Comercial Registrada Epogen da Amgen, CA, USA).

##### 20 Exemplo 13

##### Composição de G-CSF

G-bloco de  $DP_n = 10$  (como o exemplo 7) é dissolvido em 9 mg/ml com 10 mg/ml de solução aquosa de pegfilgrastin para injeções (disponível sob a Marca Comercial Registrada Neulasta da Amgen, CA, USA).

##### 25 Exemplo 14

##### Composição de Trastuzumab

G-bloco de  $DP_n = 10$  (como o exemplo 7) é dissolvido em 15 mg/ml e trastuzumab (disponível sob a Marca Comercial Registrada Herceptin da Genentech, CA, USA.) com 22 mg/ml em água bacteriostática para injeções.

##### 30 Exemplo 15

##### Composição de Interferon

G-bloco de  $DP_n = 10$  (como o exemplo 7) é dissolvido em 1 mg/ml com 30 microgramas/ml de solução aquosa de interferon beta-1a para injeções (disponível sob a Marca Comercial Registrada Avonex da Biogen Idec, Hoofddorp, NL).

5 Exemplo 16

Composição de Insulina

G-bloco de  $DP_n = 10$  (como o exemplo 7) é dissolvido em 10 mg/ml com 100 U/ml de solução aquosa de insulina para injeções (disponível sob a Marca Comercial Registrada Humulin da Ely Lilly, IN, USA).

10 As composições dos exemplos de 10 a 17 podem ser tipicamente administradas por via nasal, vaginal ou sub-lingual, geralmente em dosagens da ordem de grandeza recomendada pelos fornecedores dos compostos de fármaco comercialmente disponíveis referidos nesses Exemplos.

## REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende (a) um oligoguluronato fisiologicamente tolerável tendo um grau médio numérico de polimerização na faixa de 5 a 18, uma fração de guluronato (F<sub>G</sub>) na faixa de 0,85 a 1, uma fração de manuronato (F<sub>M</sub>) na faixa de 0 a 0,15, e tendo de 95 % a 100% em mol com um grau de polimerização menor do que 20 e (b) um fármaco macromolecular tendo um peso molecular acima de 2000 Da.  
5
2. Composição de acordo com cada uma das reivindicações 1, caracterizada pelo fato de que o referido oligoguluronato fisiologicamente tolerável possui um grau médio numérico de polimerização na faixa de 7 a 15.  
10
3. Composição de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que o referido oligoguluronato fisiologicamente tolerável possui um grau de polimerização médio na faixa de 8 a 12.
4. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o referido oligoguluronato fisiologicamente tolerável tem um grau médio de polimerização de 10.  
15
5. Composição de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que o referido oligoguluronato fisiologicamente tolerável possui uma fração de guluronato (F<sub>G</sub>) na faixa de 0,92 a 1 e uma fração de manuronato (F<sub>M</sub>) na faixa de 0 a 0,08.  
20
6. Composição de acordo com a reivindicação 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que o referido oligoguluronato fisiologicamente tolerável tem uma fração de guluronato (F<sub>G</sub>) na faixa de 0,95 a 1 e uma fração de manuronato (F<sub>M</sub>) na faixa de 0 a 0,05.  
25
7. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizada pelo fato de que o fármaco macromolecular é uma glicoproteína.
8. Composição de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que o fármaco macromolecular é transferrina.  
30
9. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, para uso como medicamento.

10. Composição de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 9, caracterizada pelo fato de que a referida composição é para administração a uma superfície mucosa num indivíduo vertebrado humano ou não humano.

5 11. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizada pelo fato de que a referida composição é para aplicação por inalação.

12. Uso de um oligoguluronato como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento compreendendo ainda um fármaco macromolecular  
10 como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, para uso em um método de tratamento que compreende administrar o referido medicamento a uma superfície da mucosa em um indivíduo vertebrado humano ou não humano.

13. Uso de um oligoguluronato fisiologicamente tolerável como  
15 definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento que contendo ainda um fármaco macromolecular como definido em qualquer uma das reivindicações 1, 7 ou 8, para administração a uma superfície da mucosa para a absorção do referido fármaco através dela para combater uma condição responsiva ao referido  
20 fármaco.

14. Uso de um oligoguluronato fisiologicamente tolerável como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para uso no tratamento de um indivíduo humano ou não humano vertebrado através da administração a uma  
25 superfície mucosa de uma quantidade eficaz de um fármaco macromolecular, como definido em qualquer uma das reivindicações 1, 7 ou 8, em que o referido oligoguluronato é para administração com o referido fármaco macromolecular.

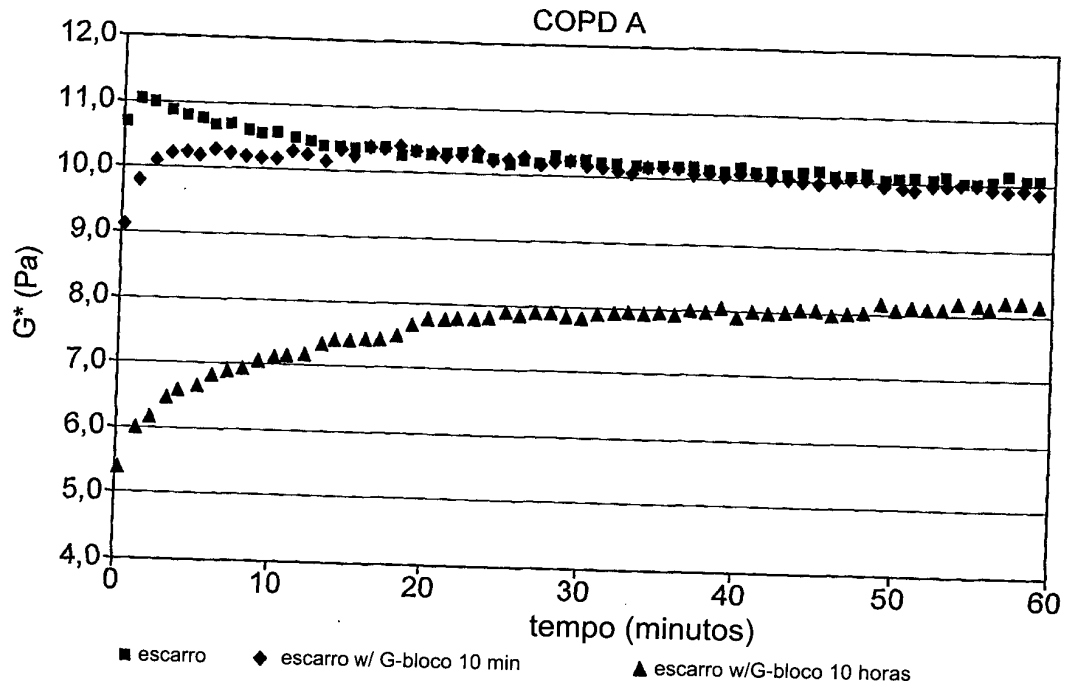


FIG. 1A

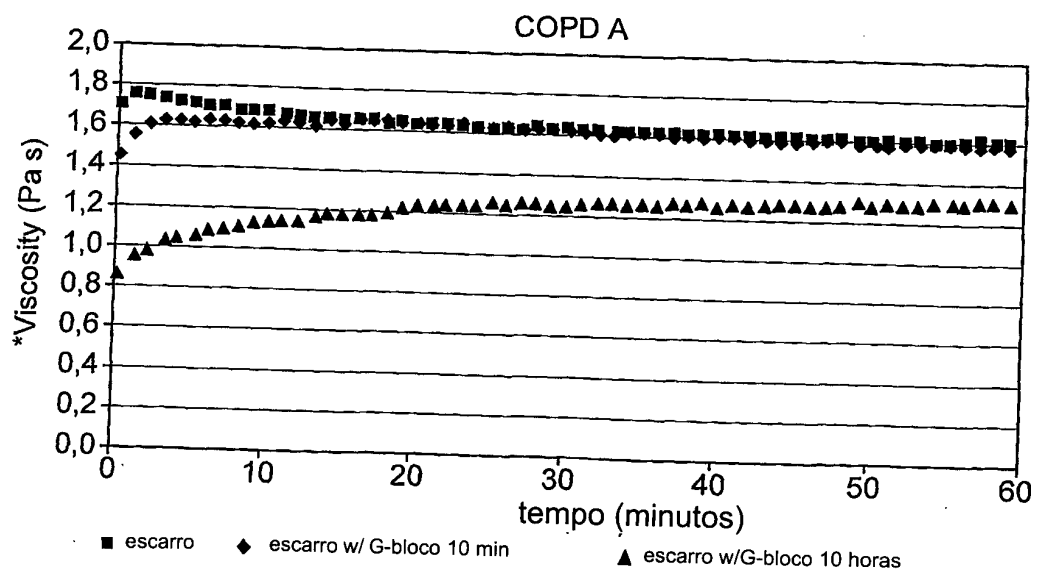


FIG. 1B

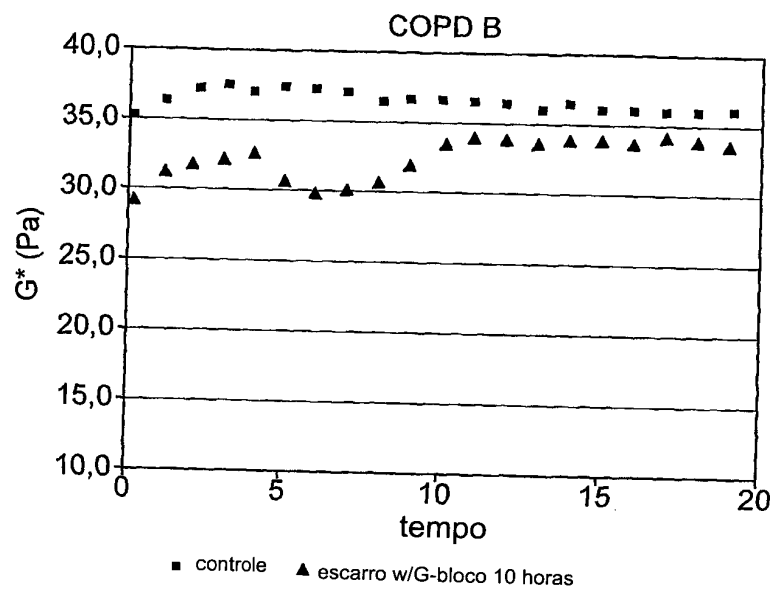


FIG. 2A

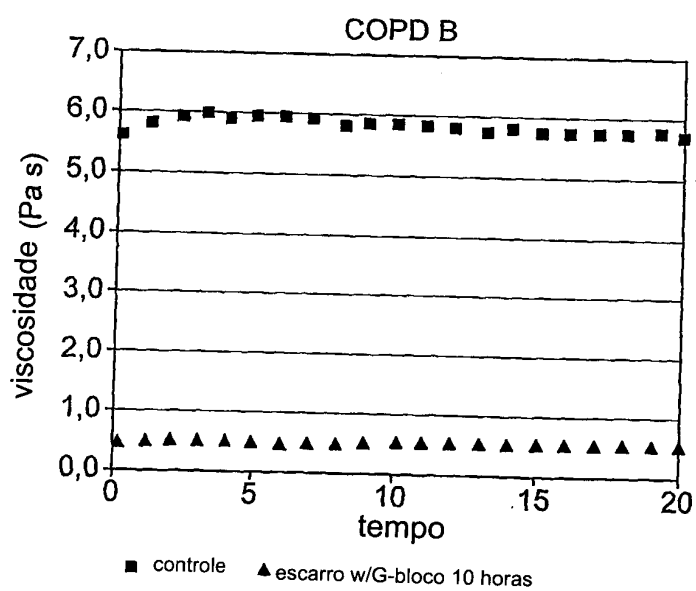


FIG. 2B

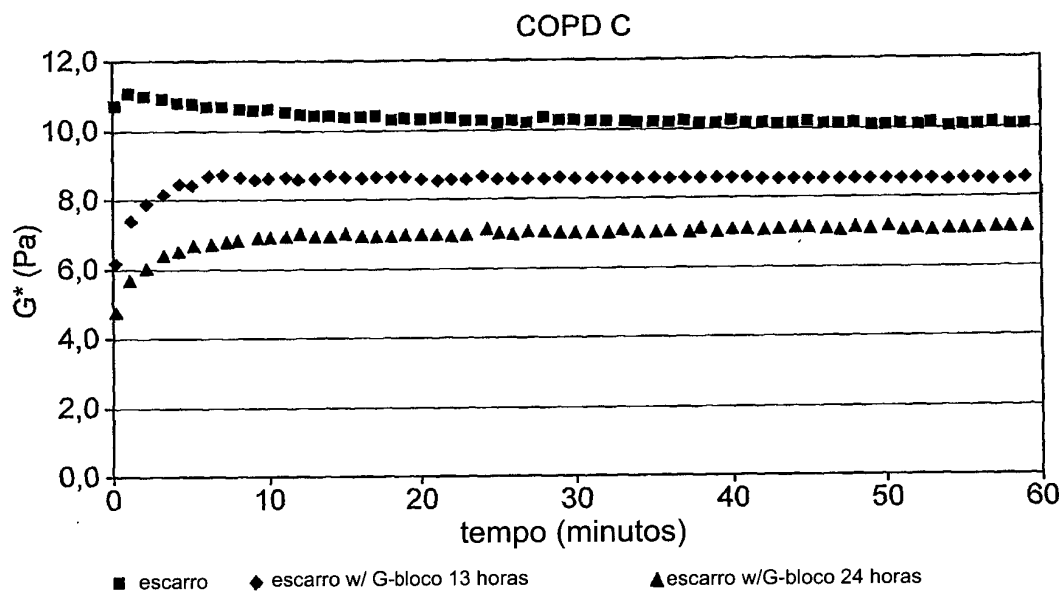


FIG. 3A

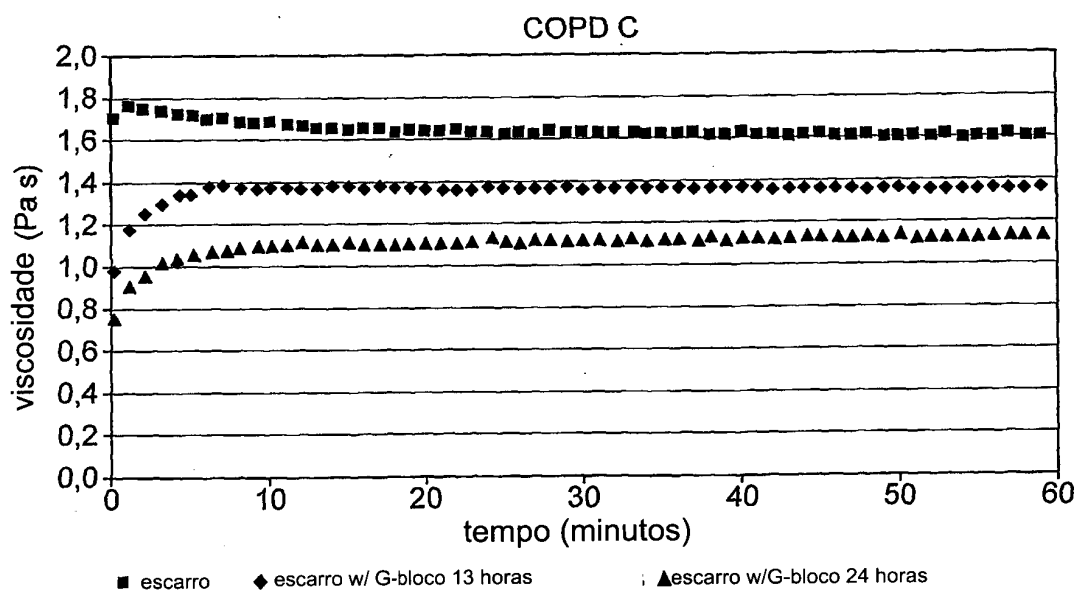


FIG. 3B

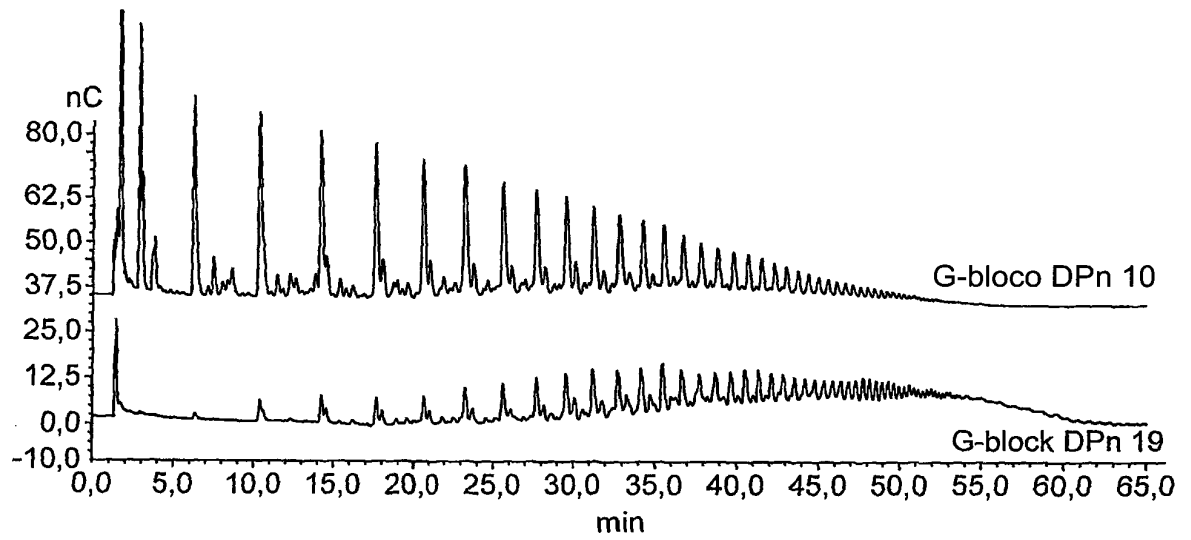


FIG. 4

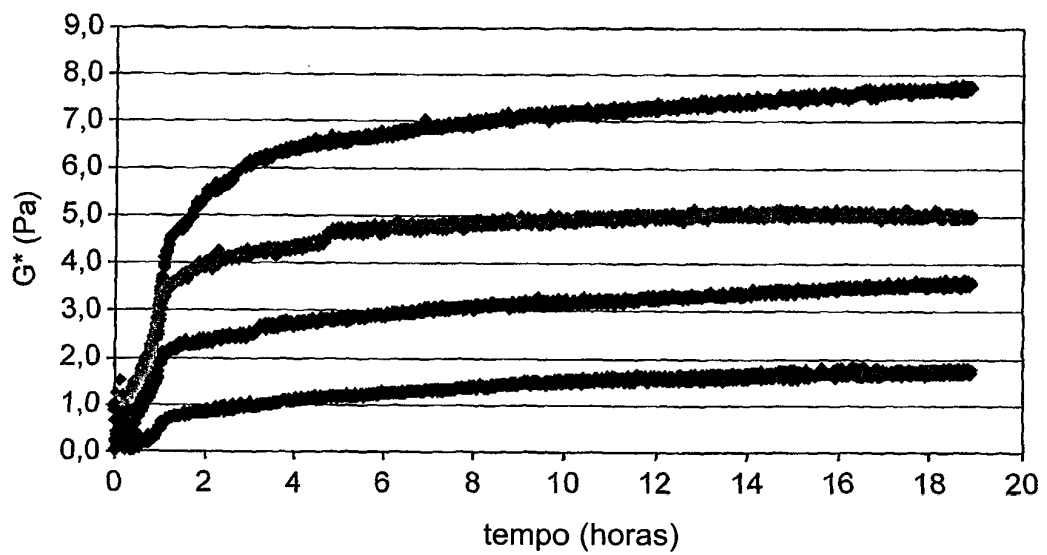


FIG. 5