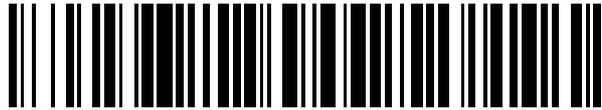


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 393 814**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/50** (2006.01)

**A61K 31/436** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08719898 .2**

96 Fecha de presentación: **04.04.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2066309**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.06.2009**

54 Título: **Una composición farmacéutica oral**

30 Prioridad:

**04.04.2007 US 907490 P**

**16.01.2008 US 6498 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

**28.12.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

**28.12.2012**

73 Titular/es:

**SIGMOID PHARMA LIMITED (100.0%)  
INVENT CENTRE DUBLIN CITY UNIVERSITY  
DUBLIN 9, IE**

72 Inventor/es:

**COULTER, IVAN**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 393 814 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

Una composición farmacéutica oral.

La presente invención se refiere a las composiciones de liberación modificada en múltiples minicápsulas o miniesferas.

5 **Introducción**

Un principio fundamental que subyace en la intervención farmaco-terapéutica es la necesidad de una molécula farmacológica que interactúe con un receptor específico. Al abordar esta necesidad, la tecnología de formulación farmacéutica ha desarrollado métodos para aumentar la solubilidad de los fármacos y para mantener las moléculas farmacológicas solubilizadas como entidades moleculares individuales.

10 Los contenidos y el medio de tracto gastrointestinal (TGI) tienen principalmente naturaleza acuosa. La solubilidad de los fármacos en el TGI depende de sus propiedades fisicoquímicas y está afectada por el pH, las sales biliares, bacterias y contenido acuoso, entre otros factores. Generalmente, dependiendo del pH local los fármacos solubles en agua o hidrofílicos son fácilmente solubles a lo largo del TGI, mientras que los fármacos hidrofóbicos o lipofílicos, poco solubles en agua, son insolubles o tienen una solubilidad limitada en el TGI.

15 Se han desarrollado varias tecnologías para abordar la mejora de la solubilidad de los fármacos hidrofóbicos o lipofílicos. Se han desarrollado tecnologías adicionales para aumentar o mantener la solubilidad de los fármacos sensibles al pH para evitar la precipitación en medios ácidos, neutros o básicos.

20 Usando tecnologías tradicionales de administración oral de fármacos, la liberación en el colon ha demostrado ser difícil, en particular para fármacos de moléculas pequeñas en un medio acuoso. Por lo tanto, existe la necesidad de una tecnología que permita la equiparación de la solubilidad de fármacos hidrofílicos, hidrofóbicos o lipofílicos cuando se liberan en un formato administrado oralmente independientemente de donde se libera el fármaco a lo largo del TGI, incluyendo el colon.

25 Las formulaciones de liberación controlada han sido adaptadas principalmente para fármacos solubles en agua que se corresponden con formas de píldora o gránulos y que cuando se liberan de dichos formatos son fácilmente solubles en el medio acuoso del TGI. Sin embargo, las formas convencionales no han facilitado fármacos hidrofóbicos o lipofílicos que sean formulados de forma óptima como sólidos no pulverulentos, tales como los que se formulan como distintos formatos líquidos, semisólidos o sólidos con base lipídica o de otros excipientes mejoradores de la solubilidad. Sería adecuada una tecnología que permita que cualquier compuesto sea liberado en cualquier región del TGI en forma soluble.

30 Se han desarrollado formulaciones con base lipídica para aumentar la solubilidad de compuestos insolubles en agua y tienen invariablemente un aceite, una emulsión, una suspensión, una forma de cera, un coloide, un liposoma u otras formas no pulverulentas o sólidas. Adicionalmente, se han usado formulaciones con base lipídica para aumentar la permeabilidad de los compuestos, incluyendo los compuestos hidrofílicos, que no pasan fácilmente del intestino a la corriente sanguínea. Dichas formulaciones de base lipídica han sido administradas a sujetos como  
35 cápsulas grandes de gel blando. Como las cápsulas grandes de gel blando son blandas y flexibles y tienen una juntura, no son adecuadas para su procesamiento adicional, incluyendo el revestimiento con polímeros de liberación controlada. Incluso si dichos formatos pudieran ser revestidos de forma uniforme y efectiva, una vez que el revestimiento de liberación controlada se rompe, todos los contenidos de la cápsula se liberarían mediante un efecto tipo bolo. Sin revestimiento, el fármaco se libera en el estómago en una cantidad que puede estar por encima del  
40 índice terapéutico, produciendo de este modo efectos secundarios tóxicos a largo plazo. Por lo tanto, es deseable el desarrollo de una tecnología de liberación controlada para superar las cuestiones asociadas con la forma limitante de las cápsulas grandes de gel blando.

45 Otra cuestión asociada con muchos fármacos se refiere al hecho de que se absorben con diferentes eficacias a medida que pasan por el intestino delgado hacia el colon. En algunos casos, un fármaco débilmente soluble en agua, formulado bien en una forma no pulverulenta con base lipídica o bien en una forma pulverulenta de solubilidad aumentada, presenta absorción en el intestino delgado pero no en el colon. En algunos casos, además de aumentar la solubilidad, algunas formulaciones de base lipídica, tales como varias formulaciones con base de emulsión, también aumentan la absorción intestinal tanto de los fármacos solubles en agua como de los fármacos poco  
50 solubles en agua, mediante un aumento de la interacción con las sales biliares y otros emulsionantes endógenos para formar micelas de fármaco que se absorben más fácilmente, principalmente en el intestino delgado superior.

En general, los sistemas dependientes del pH para dirigir una liberación farmacéutica activa en una localización específica en el intestino pueden ser poco fiables debido a varias razones. Por ejemplo, la liberación prematura y la absorción sistémica asociada del compuesto precursor pueden producir un pH intestinal próximo a o por encima del valor de pH crítico desencadenante. Alternativamente, la liberación mínima o incompleta puede producir la existencia  
55 del pH crítico en un lugar distal del área afectada. En el documento Nugent *et al.*, *Gut* 48, páginas 571-577 (2001), se revisan los problemas potenciales del enfoque de la liberación en el intestino distal dependiente del pH, señalando la existencia de variaciones en el pH intestinal de unos sujetos a otros.

La patente estadounidense N° 5.716.648 describe una composición oral que cuenta con un revestimiento soluble dependiente del pH, pero también incluye un material alcalino regulador del pH para intentar compensar en el caso de pacientes con "pH intestinal por debajo de lo normal". Otros enfoques incluyen los descritos en la patente estadounidense N° 5.866.619 que se refiere de forma general a un sistema de liberación de un fármaco en el colon no dependiente del pH que implica un polímero que contiene un sacárido que se degrada enzimáticamente en el colon. Otro ejemplo se proporciona en la patente estadounidense N° 6.506.407 que describe de forma general un sistema de liberación de un fármaco, específicamente en el colon que combina un revestimiento exterior dependiente del pH con la inclusión de un sustrato con sacáridos, el cual mediante la ruptura enzimática por las enterobacterias produce un ácido orgánico que subsiguientemente disuelve un revestimiento interior soluble en ácidos.

Otros ejemplos se describen en la solicitud estadounidense N° 2002/0098235 que describe el uso de varios revestimientos dependientes del pH para reducir el impacto de las fracturas del revestimiento. La solicitud estadounidense N° 2001/0055616 describe una formulación en gránulos para tratar estados del tracto intestinal que usa un revestimiento entérico dependiente del pH para la liberación dirigida de un núcleo de matriz polimérica que contiene el fármaco no formador de gel. La solicitud estadounidense N° 2001/0036473 describe un revestimiento dependiente del pH sobre una cápsula de hidroxipropilmetilcelulosa para la liberación entérica y en el colon. La solicitud estadounidense N° 2001/0026807 describe varios revestimientos, incluyendo materiales dependientes del pH, materiales sensibles a la oxidación-reducción y materiales sometidos a ruptura por acción de las bacterias, en una cápsula de almidón para obtener la liberación en el colon.

Las diferentes estrategias para dirigir los fármacos administrados oralmente al colon incluyen la unión covalente de un fármaco con un vehículo, incluyendo aquellos que mejoran la estabilidad así como, quizás, aumentan la hidrofiliidad; revestimientos con polímeros sensibles al pH; formulación de sistemas de liberación retardada, uso de vehículos que son degradados específicamente por las bacterias en el colon; sistemas bioadhesivos; y sistemas de liberación de fármacos controlados de forma osmótica. Se han desarrollado varios profármacos (sulfasalazina, ipsalazina, balsalazina y olsalazina) que están previstos para liberar ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) para la quimioterapia localizada de la enfermedad intestinal inflamatoria (EII). Se han investigado polímeros degradables por acción de microbios, especialmente polímeros azo-reticulados, para usarlos para dirigir fármacos hacia el colon. Algunos polisacáridos vegetales, tales como amilosa, inulina, pectina y goma de guar no son afectados en presencia de las enzimas gastrointestinales y facilitan la formulación de sistemas de liberación de fármacos dirigidos al colon. Adicionalmente, las combinaciones de polisacáridos vegetales con extractos de crustáceos, incluyendo el quitosán o sus derivados, han demostrado el interés del desarrollo de sistemas de liberación en el colon.

El concepto de usar el pH como activador para la liberación de un fármaco en el colon se basa en las condiciones de pH que varían continuamente a lo largo del tracto gastrointestinal. Se han desarrollado sistemas de liberación de fármacos dependientes del tiempo que se basan en el principio de evitar la liberación del fármaco hasta 3-4 horas después de haber abandonado el estómago. Los polímeros sensibles a la oxidación-reducción y sistemas bioadhesivos también han sido aprovechados para la liberación de fármacos en el colon.

Los sistemas dependientes del pH usan la visión generalmente aceptada de que el pH del TGI humano aumenta progresivamente del estómago (pH 1-2 que aumenta a 4 durante la digestión), el intestino delgado (pH de 6-7) en el lugar de la digestión y aumenta a 7-8 en el íleon distal. El revestimiento de los comprimidos, cápsulas o gránulos con polímeros sensibles al pH proporciona una liberación retardada y protege al fármaco activo del fluido gástrico. El polímero usado para dirigir hacia el colon, sin embargo, debe ser capaz de desintegrarse al pH neutro o ligeramente alcalino del íleon terminal y preferiblemente en la unión ileocecal.

Lorenzo-Lamosa *et al.* (Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery. *J. Control Rel.*, 52: 109-118, 1998) prepararon y demostraron la eficacia de un sistema que combina la biodegradabilidad específica y el comportamiento de liberación dependiente del pH. El sistema consiste en micronúcleos de quitosán atrapados en microesferas acrílicas que contienen diclofenac sódico como fármaco modelo. El fármaco fue atrapado eficazmente en los micronúcleos de quitosán usando secado por pulverización y a continuación se microencapsularon en Eudragit™ L-100 y Eudragit™ S-100 usando un método de evaporación del disolvente de aceite-en-aceite. La liberación del fármaco a partir del sistema multidepósito de quitosán se ajustó para cambiar el peso molecular del quitosán o el tipo de sal de quitosán. Similarmente, la extrusión en estado fundido de un fármaco con varios polímeros de Eudragit, en presencia o en ausencia de quitosán, agentes de gelificación o similares, tiene la capacidad de permitir la liberación específica en el colon.

En los polisacáridos, el polímero de monosacáridos conserva su integridad porque son resistentes a la acción digestiva de las enzimas gastrointestinales. Se supone que las matrices de polisacáridos permanecen intactas en el medio fisiológico del estómago y del intestino delgado, pero que una vez que alcanzan el colon, son atacadas por las polisacaridasas bacterianas y se produce la degradación de las matrices. Esta familia de polímeros naturales tiene interés en el área de la liberación de fármacos ya que comprende polímeros con un número grande de grupos a partir de los que se pueden obtener derivados, un amplio intervalo de pesos moleculares, varias composiciones químicas y, en la mayoría de los casos, una baja toxicidad y biodegradabilidad, pero con una elevada estabilidad. La propiedad más favorable de estos materiales es que ya han sido aprobados como excipientes farmacéuticos. Se ha investigado el uso de un gran número de polisacáridos, tales como amilosa, goma de guar, pectina, quitosán, inulina,

ciclodextrinas, sulfato de condroitina, dextranos y goma de garrofín, así como sus modificaciones, en sistemas de liberación de fármacos dirigida al colon. El hecho más importante en el desarrollo de derivados de polisacáridos para la liberación de fármacos dirigida al colon es la elección de un polisacárido biodegradable adecuado. Como estos polisacáridos son generalmente solubles en agua, pueden hacerse insolubles en agua por reticulación o derivación hidrofóbica.

La goma de guar es de naturaleza hidrofílica y se hincha en agua fría formando dispersiones coloidales viscosas o soles. Esta propiedad gelificante retarda la liberación del fármaco a partir de la forma de dosificación que es susceptible de degradación en el medio del colon. Se incubaron heces de origen humano, homogenizadas y diluidas, con goma de guar para investigar la degradación del polisacárido por acción de la microflora intestinal. Se produjo una rápida disminución de la viscosidad y una caída en el pH, mientras que dichos resultados no fueron observados cuando se incubó con homogenados fecales esterilizados por autoclave. La goma de guar se reticuló con cantidades crecientes de trimetafosfato de trisodio para reducir sus propiedades de hinchamiento para usarla como vehículo en formulaciones para la administración oral. Como resultado del procedimiento de reticulación, la goma de guar perdió su naturaleza no iónica y quedó cargada negativamente. Esto fue demostrado por estudios de absorción de azul de metileno y estudios de hinchamiento en disoluciones de cloruro de sodio con concentraciones crecientes en las que la red de hidrogeles colapsó (Gliko-Kabir, I.; Yagen, B.; Penhasi, A. y Rubinstein, A. "Phosphated crosslinked guar for colon-specific drug delivery. I. Preparation and physicochemical characterization. *J. Control Res.* 63: 121-127, 2000). Los productos de goma de guar reticulada se analizaron para estudiar la eficacia como vehículo de fármacos específico para el colon y se encontró que el producto que se había reticulado con 0,1 equivalentes molares de trimetafosfato de trisodio fue capaz de evitar la liberación de 80% de su carga de hidrocortisona durante al menos 6 horas en PBS (pH 6,4). Cuando una mezcla de  $\alpha$ -galactosidasa y  $\beta$ -mannanasa se añadió a la disolución tampón se observó una liberación aumentada. Los estudios de degradación *in vivo* en ciego de rata mostraron que a pesar de la modificación química de la goma de guar, esta mantuvo sus propiedades degradantes de la enzima en una forma dependiente de la concentración del agente de reticulación. Se ha investigado una nueva formulación de comprimido para la administración oral usando goma de guar como vehículo e indometacina como fármaco modelo para la liberación de fármacos dirigida al colon usando métodos *in vitro*. Los estudios de liberación del fármaco en condiciones que simulan el tránsito gastrointestinal han mostrado que la goma de guar protege el fármaco de ser liberado completamente en el medio fisiológico del estómago y del intestino delgado. Los estudios en PBS de pH 6,8 que contenía ciego de rata han demostrado la susceptibilidad de la goma de guar frente a la acción de la enzima bacteriana del colon con la consiguiente liberación del fármaco (Rama Prasad, Y. V.; Krishnaiah, Y. S. R. y Satyanarayana, S. In vitro evaluation of guar gum as a carrier for colon-specific drug delivery, *J. Control Rel.*, 51: 281-287, 1998).

La liberación del fármaco específica en el colon puede ser posible mediante la aplicación de películas de amilosa seca a las formulaciones farmacéuticas. La amilosa, una de las fracciones principales del almidón, presenta la capacidad de formar películas mediante gelificación, cuando se prepara en condiciones adecuadas. La microestructura de la película es potencialmente resistente a la acción de la  $\alpha$ -amilasa pancreática, pero es digerida por las amilasas de la microflora del colon. Sin embargo, en condiciones gastrointestinales simuladas, los revestimientos hechos solo de amilosa se volverán porosos y permitirán la liberación del fármaco. La incorporación de polímeros insolubles en la película de amilosa, para controlar el hinchamiento de la amilosa, proporciona una solución a este problema. Se evaluaron una serie de copolímeros con base de celulosa y acrilato, entre las que se encontró que una etilcelulosa disponible comercialmente (Ethocel) controlaba el hinchamiento más eficazmente. Se determinó la disolución *in vitro* de varios gránulos revestidos en condiciones simuladas del estómago y del intestino delgado, usando peptina y pancreatina comercialmente disponibles, y se demostró la resistencia del revestimiento amilosa-Ethocel (1:4) en dichas condiciones durante un periodo de 12 horas (Milojevic, S.; Newton, J. M.; Cummings, J. H.; Gibson, G. R.; Botham, R. L.; Ring, S. C.; Stockham, M. y Allwood, M. C., Ammylose as a coating for drug delivery the colon: Preparation an in vitro evaluation using 3-aminosalicylic pellets. *J. Control Rel* 38: 75-84, 1996).

El quitosán es un polisacárido policatiónico de elevado peso molecular obtenido a partir de la quitina natural por desacetilación alcalina. El quitosán presenta propiedades biológicas favorables tales como la no toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad. De forma similar a otros polisacáridos, también experimenta degradación por acción de la microflora del colon y por lo tanto es un candidato para la liberación de fármacos dirigida al colon. Tozaki *et al.* (Tozaki, H.; Odoriba, T.; Okada, N.; Fujita, T.; Terabe, A.; Suzuki, T.; Okabe, S.; Murnishi, S. y Yamamoto, A. Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: enhanced localization of 5-aminosalicylic acid in the large intestine accelerates healing of TNBS-induced colitis in rats. *J. Control Rel.* 82: 51-61, 2002) desarrollaron sistemas de liberación de insulina específica en el colon con cápsulas de quitosán. Los experimentos de liberación de fármacos *in vitro* a partir de cápsulas de quitosán que contenían 5(6)-carboxifluoresceína (CF) se realizaron mediante el método de la cesta giratoria con ligeras modificaciones. La absorción intestinal de la insulina se evaluó midiendo los niveles plasmáticos de insulina y sus efectos hipoglucémicos después de la administración oral de las cápsulas de quitosán que contenían insulina y aditivos. Se observó una liberación pequeña de CF a partir de las cápsulas en jugo gástrico artificial (pH 1) o en jugo intestinal artificial (pH 7). Sin embargo, la liberación de CF aumentó de forma importante en presencia de contenidos de ciego de rata. En este grupo se evaluó adicionalmente la liberación de insulina específica en el colon usando cápsulas de quitosán. Se encontró que estas fueron estables en el estómago y en el intestino delgado pero que fueron degradadas por los microorganismos en contenidos de

ciego de rata al entrar en el colon, lo que demuestra su utilidad como vehículos para la liberación de fármacos dirigida al colon para fármacos peptídicos y no peptídicos.

La pectina, un polímero predominantemente lineal, principalmente de restos de ácido D-poligalacturónico unidos en  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4), ha sido investigada ampliamente como entidad para la liberación de fármacos dirigida al colon. Puede romperse por acción de las enzimas pectinasas producidas por las bacterias anaeróbicas del colon y puede controlar la liberación del fármaco mediante este principio (Atyabi *et al.*, *Carbohydr. Polymers*, 2005, 61: 39-51). Como la pectina es soluble en agua, la liberación eficiente en el colon requiere que se controle la solubilidad. Liu *et al.* (Liu *et al.*, *Biomaterials* 2003, 24: 3333-3343) demostraron una capacidad de liberación de fármacos prometedora cuando se combinó la pectina con polímeros insolubles en agua. Previamente, Wakerly *et al.* (Wakerly *et al.*, *Pharm. Res.* 1996, 13 (8): 1210-1212) identificaron que una combinación de etilcelulosa y pectina podría proporcionar protección para el fármaco en el tracto GI superior permitiendo a la vez la ruptura enzimática y la liberación del fármaco en el colon. Wei *et al.* (Wei *et al.*, *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, Vol. 61, Marzo-Abril 2007, 121-130) demostraron que la liberación controlada específica en el colon del agente anticanceroso soluble en agua, 5-fluororacil, fue posible cuando se incorporó en gránulos que fueron revestidos con varias proporciones de pectina y etilcelulosa (Surelease®).

El potencial redox es una expresión de la actividad metabólica y bacteriana total en el colon y se cree que es sensible a los cambios en la dieta. El potencial redox medio en el intestino delgado proximal es  $-67\pm 90$  mV, en el intestino delgado distal es de  $-196\pm 97$  mV y en el colon es de  $-145\pm 72$  mV. Por lo tanto, los cambios inducidos por la microflora en el potencial redox pueden ser usados como un mecanismo altamente selectivo para el direccionamiento hacia el colon. Bragger *et al.* (Investigations into the azo reducing activity of a common colonic microorganism. *Int. J. Pharm.*, 157: 61-71, 1997) realizaron investigaciones sobre la actividad reductora de los azocompuestos, lo que podría explicar algunos factores que afectan a la reducción bacteriana (escisión) de los azocompuestos. Se usó una bacteria común en el colon, la *Bacteroides fragilis*, como organismo de ensayo y se estudió la reducción del azocolorante de amaranto, Naranja II, tartrazina y un azocolorante modelo, 4,4'-dihidroxiazobenceno. Se encontró que los azocompuestos se redujeron a diferentes velocidades y la velocidad de reducción no pudo correlacionarse con el potencial redox de los azocompuestos. Los compuestos de disulfuro también pueden experimentar degradación debido a la influencia del potencial redox en el colon. Se han sintetizado polímeros no reticulados sensibles a la oxidación-reducción que contienen un grupo azo y/o enlace de disulfuro en la estructura (Schacht E. y Wilding, I. R., Process for the preparation of azo- and/or disulfide-containing polymers. Patente: WO 911175).

#### Polímeros de liberación controlada – Formas de dosificación controlada por membrana

El tiempo de permanencia GI de las formas de dosificación es otro parámetro importante para los sistemas de liberación de fármacos dirigida al colon dependientes del pH que está influenciado por muchos factores fisiológicos y otros; sin embargo, hay algunos valores de permanencia GI generalmente aceptados para varias partes del TGI. Los polímeros de revestimiento dependientes del pH más usados generalmente son copolímeros del ácido metacrílico, conocidos generalmente como Eudragit™ (marca registrada de Evonik AG, Darmstadt, Alemania). Los polímeros Eudragit™ (disponibles en Evonik) son sustancias laca poliméricas basadas en acrilatos y/o metacrilatos. Un polímero adecuado que es totalmente permeable al ingrediente activo y el agua es Eudragit™ RL. Un polímero adecuado que es ligeramente permeable al ingrediente activo y el agua es Eudragit™ RS. Otros polímeros adecuados que son ligeramente permeables al ingrediente activo y el agua y que presentan una permeabilidad dependiente del pH incluyen, pero sin limitarse a ellos, Eudragit™ L, Eudragit™ S y Eudragit™ E.

Eudragit™ RL y RS son resinas acrílicas que comprenden copolímeros de ésteres del ácido acrílico y metacrílico con un pequeño contenido de grupos amonio secundarios. Los grupos amonio están presentes como sales y dan lugar a la permeabilidad de las películas de laca. Eudragit™ RL y RS son totalmente permeable (RL) y ligeramente permeable (RS), respectivamente, independientemente del pH. Los polímeros se hinchan en agua y en los jugos digestivos, de forma dependiente del pH. En el estado hinchado son permeables al agua y a los compuestos activos disueltos.

Eudragit™ L es un polímero aniónico sintetizado a partir del ácido metacrílico y del éster metílico de del ácido metacrílico, Es insoluble en ácidos y en agua pura. Se vuelve soluble en condiciones neutras a débilmente alcalinas. La permeabilidad del Eudragit™ L depende del pH. Por encima de un pH de 5,0, el polímero se vuelve cada vez más permeable.

Eudragit™ L100 y S100 son copolímeros de ácido metacrílico y metacrilato de metilo. La relación entre grupos carboxilo y éster es de aproximadamente 1:1 en el Eudragit™ L100 y de 1:2 en el Eudragit™ S100. Los polímeros forman sales y se disuelven a un pH por encima de 5,5 y se dispersan en agua para formar látex y de esta forma evitar el uso de disolventes orgánicos en el procedimiento de revestimiento. Eudragit™ L30D-55 es una dispersión acuosa lista para ser usada de Eudragit™ L100-55. La solubilidad en agua de Eudragit™ S depende de la relación entre los grupos carboxilo y los grupos éster. El factor crítico que influye en las características de estos polímeros es el valor del pH al que se produce la disolución. Los polímeros con grupos ácido ftálico ionizables se disuelven mucho más rápido y a menor pH que los que tienen grupos con ácido acrílico o metacrílico. La presencia de un plastificante y la naturaleza de la sal en el medio de disolución también influyen en la velocidad de disolución del Eudragit™.

Además, la permeabilidad de la película puede depender del tipo de disolvente usado para disolver el Eudragit™ (Dressman, J. B.; Amidon, C.; Reppas, C. y Shah, V. P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms, *Pharm. Res.* 15: 11-22, 1998). Las combinaciones variables de los polímeros con base acrílica, metacrílica o de etilcelulosa disponibles comercialmente (tal como los de la serie Eudragit™ y Surelease®), así como otros polímeros con polisacáridos naturales incluyendo, pero sin limitarse a ellos, amilosa, pectina y goma de guar, tienen la capacidad de adaptar como, donde y cuando se liberan los fármacos de las formas sólidas, semisólidas o líquidas subyacentes o integradas. Son necesarias formulaciones que permitan el desarrollo de varias combinaciones de polímeros de liberación controlada con formulaciones de fármacos sólidas, semisólidas o líquidas.

- 5 El documento WO 2006/035418 describe una formulación farmacéutica que comprende varias minicápsulas sin juntas que tienen un diámetro de 0,5 mm a 5 mm, conteniendo al menos algunas de las minicápsulas una metilxantina como ingrediente activo y conteniendo algunas de las minicápsulas un corticosteroide como otro ingrediente activo.

### Resumen de la invención

- 15 La invención proporciona una composición oral que comprende minicápsulas, en la que las minicápsulas comprenden una o más sustancias terapéuticas o profilácticas en un núcleo líquido, semisólido o sólido, teniendo las minicápsulas perfiles de liberación para liberar la sustancia en una forma activa en uno o más lugares a lo largo del tracto gastrointestinal, caracterizada porque la composición del núcleo incluye un excipiente que permite la liberación controlada o prolongada junto con o independientemente de la envoltura o del revestimiento y que se elige entre los
- 20 polímeros extruidos en estado fundido o los excipientes a base de lípidos modulados por la temperatura. La expresión compuesto farmacéutico activo como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier sustancia activa adecuada terapéutica y/o profilácticamente. La invención proporciona una composición farmacéutica oral que comprende minicápsulas en la que las minicápsulas comprenden uno o más compuestos farmacéuticos en un formato de minicápsula con núcleo líquido, semisólido o sólido, teniendo las minicápsulas perfiles de liberación para liberar el compuesto activo en uno o más lugares a lo largo del tracto gastrointestinal, donde la absorción se maximiza o la eficacia terapéutica se maximiza. De forma importante, la invención asegura que la molécula, independientemente de sus propiedades fisicoquímicas, cuando se libera de la minicápsula está en forma soluble o es fácilmente soluble en el medio acuoso del TGI.

- 25 El (los) compuesto(s) farmacéuticamente activo(s) puede(n) ser una molécula pequeña, proteína, péptido, ácido nucleico, hidrocarburo, organismo vivo, componente derivado de un organismo, o cualquiera de sus derivados.

La minicápsula puede tener una capa y puede ser completamente sólida. Alternativamente, la minicápsula puede tener dos capas que comprenden una capa de protección exterior sólida encapsulando un núcleo líquido, semisólido o sólido. Por ejemplo, la minicápsula puede tener tres capas que comprenden una capa de envoltura exterior; una capa amortiguadora intermedia sólida, semisólida o líquida; y un núcleo sólido, semisólido o líquido.

- 35 Las minicápsulas pueden ser modificadas para permitir la liberación modificada del (de los) compuesto(s) activo(s). Por ejemplo, se puede aplicar un revestimiento de liberación modificada a la capa exterior de protección de la minicápsula. Alternativamente, se puede modificar la capa exterior de protección de la minicápsula para obtener una liberación modificada. En otros formatos, el núcleo o la totalidad de la minicápsula pueden controlar la tasa de liberación del compuesto activo. Por ejemplo, se pueden usar materiales poliméricos para obtener la liberación modificada, tales como materiales poliméricos que sean sensibles a uno o más entre pH, tiempo, grosor, erosión y ruptura bacteriana.

La minicápsula puede comprender una capa que contiene uno o más agentes farmacéuticos activos y dicha capa controla la liberación de (de los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s).

- 45 El agente farmacéutico activo puede estar en partículas micronizadas o nanonizadas. El (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede estar en forma soluble. Alternativamente el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) estar en forma cristalina o el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) estar en forma amorfa.

- El (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) liberarse a lo largo del tracto intestinal en una forma que maximice la absorción sistémica. Por ejemplo, el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) liberarse a lo largo del tracto intestinal en una forma que maximice la absorción linfática. Alternativamente, el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) liberarse a lo largo del tracto intestinal en una forma que maximice la absorción en la barrera hematoencefálica. Alternativamente, el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) liberarse a lo largo del tracto intestinal en una forma que maximice la absorción presistémica. Alternativamente, el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) liberarse a lo largo del tracto intestinal en una forma que maximice la actividad gastrointestinal local. Alternativamente, el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) liberarse a lo largo del tracto intestinal en una forma que maximice la actividad del lumen gastrointestinal. Alternativamente, el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) liberarse a lo largo del tracto intestinal en una forma que maximice la cronoterapia. En todos los casos, el (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) se libera(n) en forma que sea(n) soluble(s) cuando se libera(n) o que sea(n) fácilmente soluble(s) en el medio local del TGI.

El (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) ser retenido(s) en la región gástrica durante periodos de tiempo prolongados.

Un compuesto farmacéutico activo puede estar en dos o más formatos, una forma de minicápsula sólida soluble en el intestino delgado o estar pre-solubilizado para su liberación en el colon y/o en el íleon.

5 Una composición según la invención puede tener más de un agente farmacéutico activo que se libere en una o más regiones del tracto gastrointestinal. Por ejemplo, un compuesto activo puede estar en forma de una minicápsula sólida soluble en el intestino delgado mientras que otro compuesto activo puede estar pre-solubilizado para su liberación en el colon y/o en el íleon.

10 El (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) estar en un formato de solubilidad aumentada que, cuando se libera en el colon, se absorbe fácilmente.

El (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) ser una molécula pequeña.

El (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) estar conjugado(s) con una molécula pequeña o sus derivados para mejorar la permeabilidad, aumentar la lipofilidad y/o aumentar la hidrofiliidad o similares.

15 El (los) agente(s) farmacéutico(s) activo(s) puede(n) ser un compuesto biofarmacéutico, tal como un péptido, proteína, ácido nucleico, hidrocarburo, sus conjugados o sus derivados para mejorar la permeabilidad, aumentar la lipofiliidad, aumentar la estabilidad, reducir la inmunogenicidad y/o aumentar la hidrofiliidad o similares.

La composición puede contener un protector, tal como un inhibidor de las enzimas proteolíticas.

La composición puede contener una sustancia adhesiva, tal como un muco- o bio-adhesivo.

20 La composición puede contener un(os) antígeno(s) y/o un(os) adyuvante(s) para inducir una respuesta de la mucosa intestinal o una respuesta inmune sistémica.

La composición puede tener liberación controlada como un factor de la(s) capa(s) de protección. Por ejemplo, la liberación controlada puede ser un factor de la composición de la capa de protección. Alternativamente, la liberación controlada puede ser un factor del núcleo. La liberación controlada puede ser un factor de la capa de revestimiento de protección y/o de la composición de la capa de protección y/o de los constituyentes del núcleo.

25 Las minicápsulas pueden ser administradas en una cápsula de gelatina dura, una pulverización, una cápsula o mediante un tubo de alimentación, tal como un tubo nasogástrico o un tubo de alimentación duodenal.

Las minicápsulas pueden comprender adicionalmente excipientes para maximizar la solubilidad del (de los) compuesto(s) farmacéuticamente activo(s).

30 Las minicápsulas pueden comprender adicionalmente excipientes para maximizar la permeabilidad del (de los) compuesto(s) farmacéuticamente activo(s) en el intestino delgado.

35 Las minicápsulas pueden comprender adicionalmente excipientes para maximizar la permeabilidad del (de los) compuesto(s) farmacéuticamente activo(s) en el íleon, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, caprato de sodio, dodecanoato de sodio, palmitato de sodio, SNAC, quitosán y sus derivados, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, poliéteres, sales biliares, inhibidores de la hidroxilasa, antioxidantes y/o dadores de óxido nítrico, incluyendo grupos dadores de óxido nítrico unidos covalentemente a varios ingredientes farmacéuticos activos.

40 La composición puede comprender además excipientes para maximizar la permeabilidad del (de los) compuesto(s) en el colon, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, caprato de sodio, dodecanoato de sodio, palmitato de sodio, SNAC, quitosán y sus derivados, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, poliéteres, sales biliares, inhibidores de la hidroxilasa, antioxidantes y/o dadores de óxido nítrico, incluyendo grupos dadores de óxido nítrico unidos covalentemente a varios ingredientes farmacéuticos activos.

45 La composición puede comprender además excipientes para mejorar el potencial terapéutico de los agentes farmacéuticos activos en el íleon y en el colon, incluyendo pero sin limitarse a ellos, limitantes de la absorción, aceites esenciales tales como aceites omega 3, extractos vegetales naturales tales como del árbol de nim, resinas de intercambio iónico, enlaces de conjugación degradable por bacterias tales como los enlaces azo, polisacáridos tales como amilosa, goma de guar, pectina, quitosán, inulina, ciclodextrinas, sulfato de condroitina, dextranos, goma de guar y goma de garrofín, inhibidores del factor nuclear kappa B, ácidos tales como ácido fumárico, ácido cítrico y otros, así como sus modificaciones.

50 La composición puede comprender además excipientes u otros compuestos farmacéuticos activos u otros ingredientes para aumentar la biodisponibilidad sistémica después de la absorción en el intestino delgado, incluyendo inhibidores de la bomba de reflujo incluyendo, pero sin limitarse a ellos, inhibidores de la bomba PgP, e inhibidores del metabolismo incluyendo, pero sin limitarse a ellos, inhibidores del citocromo P450 3A.

La composición puede comprender además excipientes para reducir los efectos secundarios sistémicos asociados con la absorción en el intestino delgado, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, antioxidantes tales como curcuminoides, flavonoides o incluyendo más específicamente cúrcuma, beta-caroteno,  $\alpha$ -tocoferol, ascorbato o lazaroid.

5 El compuesto farmacéutico activo puede estar en una forma líquida, semisólida o sólida, solubilizada o fácilmente soluble.

El compuesto farmacéutico activo puede ser un inmunosupresor, por ejemplo ciclosporina A o tacrolímús o sirolímús o sus derivados.

10 La composición puede proporcionar liberación prolongada del inmunosupresor, en forma soluble o fácilmente soluble, a lo largo de la longitud completa del tracto gastrointestinal.

La composición puede facilitar la liberación a lo largo de 24 horas, o a diferentes periodos de tiempo durante 24 horas.

La composición puede facilitar la absorción durante 24 horas.

15 La composición puede ser usada en el tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped, por ejemplo en el tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped gastrointestinal.

El compuesto farmacéutico activo inmunosupresor puede ser liberado en el colon y/o en el íleon.

La composición puede usarse en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

El compuesto farmacéutico activo puede ser un inhibidor de una hidroxilasa, por ejemplo un inhibidor de la propil-hidroxilasa o un inhibidor de la asparaginil-hidroxilasa.

20 El compuesto farmacéutico activo puede ser DMOG.

El compuesto farmacéutico activo puede ser hidralazina.

El compuesto farmacéutico activo puede ser FG4095.

La composición puede usarse en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

El compuesto farmacéutico activo puede ser un extracto vegetal.

25 El compuesto farmacéutico activo puede ser un extracto marino.

El compuesto farmacéutico activo puede ser un aceite esencial.

La composición puede usarse en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

La composición puede usarse en el tratamiento del síndrome del intestino irritable.

La composición puede usarse en el tratamiento del estreñimiento.

30 La composición puede usarse en el tratamiento de la diarrea.

El compuesto farmacéutico activo puede ser una vacuna.

El compuesto farmacéutico activo puede modular la tolerancia oral. Por ejemplo, el compuesto activo puede ser gluten o un derivado del gluten.

La composición puede ser usada en el tratamiento de la enfermedad celiaca.

35 El compuesto farmacéutico activo puede modular el síndrome del intestino irritable.

El compuesto farmacéutico activo puede ser un inhibidor de una hidroxilasa.

El compuesto farmacéutico activo puede ser un bloqueante de un canal iónico.

El compuesto farmacéutico activo puede ser un extracto vegetal.

40 El compuesto farmacéutico activo puede ser un opioide, por ejemplo el compuesto farmacéutico activo puede ser morfina o sulfato de morfina.

El opioide puede estar combinado con un modulador del estreñimiento inducido por opioides, por ejemplo un antagonista del receptor opioide periférico. El antagonista del receptor opioide periférico puede ser la metilnaltexona. Alternativamente, el antagonista del receptor opioide periférico puede ser la naltrexona o la naloxona.

5 La combinación del opioide y el receptor opioide periférico puede combinarse con un bloqueador de un canal iónico, por ejemplo un bloqueador del canal del calcio. El bloqueador del canal del calcio puede ser la nimodipina.

La composición puede tener un efecto opioide prolongado y el estreñimiento puede estar limitado.

La combinación del opioide y el receptor opioide periférico puede combinarse con un bloqueador de un canal iónico, por ejemplo un bloqueador del canal del calcio. El bloqueador del canal del calcio puede ser la nimodipina.

10 La composición puede tener un efecto opioide prolongado, el estreñimiento puede estar limitado y el producto puede ser inalterable.

### Breve descripción de los dibujos

La invención se comprenderá más claramente a partir de la siguiente descripción de uno de sus modos de realización, dado únicamente a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

15 la figura 1 es un esquema de una minicápsula rellena de líquido, en el que el compuesto activo está disuelto, con revestimientos de polímero de liberación controlada. La línea discontinua representa la liberación de una molécula de fármaco en el medio externo, en el que es totalmente soluble cuando se libera (formato 1);

20 la figura 2 es un esquema de una minicápsula/miniesfera rellena con un semisólido o un sólido, en el que el compuesto activo está disuelto o en forma de suspensión, con revestimientos de polímero de liberación controlada. La línea discontinua representa la liberación de una molécula de fármaco en el medio externo, en el que es totalmente soluble cuando se libera (formato 2);

25 la figura 3 es un esquema de las sustancias activas, en forma cristalina o amorfa, mezclado con polímeros extruibles u otros que están extruibles en estado fundido, granulados, con el fármaco en capas, esferonizado, o procesados de otra forma, que puedan ser además revestidos para permitir una liberación controlada o dirigida a lo largo del tracto gastrointestinal o, alternativamente, son de liberación inherentemente controlada. La línea discontinua representa la liberación de una molécula de fármaco en el medio externo, en el que es totalmente soluble cuando se libera (formato 3);

la figura 4 es un gráfico que muestra el perfil de disolución de minicápsulas de tacrolímús revestidas con Eudragit™ RS30D al 12,5% seguido por Eudragit™ FS30D al 25% (formato 1);

30 la figura 5 es un gráfico que muestra el perfil de disolución de minicápsulas de tacrolímús revestidas con Eudragit™ RS30D al 15%/Surelease® al 25% (formato 1);

la figura 6 representa las respuestas de IgG sérico después de la inmunización con OVA y OVA y poli I:C después de la serie inicial de inmunizaciones y en particular después de la inmunización de refuerzo. Los puntos se refieren a la valoración del anticuerpo en cada ratón individual y la línea representa la valoración media para el grupo (formato 2);

35 la figura 7 representa las respuestas IgA e IgC en la mucosa intestinal después de la inmunización de los ratones con OVA en disolución o con minicápsulas con o sin revestimiento que contenían OVA y poli I:C. Los puntos se refieren a la valoración del anticuerpo en cada ratón individual y la línea representa la valoración media para el grupo (formato 2);

40 la figura 8 representa las respuestas de células T esplénicas en ratones después de la inmunización de los ratones con minicápsulas con revestimiento o sin revestimiento que contenían OVA con poli I:C, medida por la secreción de citocina IL-17 y la respuesta IFN- $\gamma$  sobre la re-estimulación con antígeno (formato 2);

la figura 9 representa las respuestas de células T esplénicas en ratones después de la inmunización de los ratones con minicápsulas con revestimiento o sin revestimiento que contenían OVA con poli I:C, medida por la secreción de citocina IL-4, IL-5 e IL-10 y la respuesta IFN- $\gamma$  sobre la re-estimulación con antígeno (formato 2);

45 la figura 10 representa las respuestas de células T en ganglios linfáticos mesentéricos en ratones después de la inmunización con minicápsulas con revestimiento o sin revestimiento que contenían OVA con poli I:C, medida por la secreción de citocina IL-4 e IL-5 y la respuesta IFN- $\gamma$  sobre la re-estimulación con antígeno (formato 2);

50 la figura 11 es un gráfico que representa el volumen del concentrado celular (abreviado como %VCA por sus iniciales en inglés: packed cell volume) en ratones con colitis inducida por DSS tratados con DMOG ip (8 mg cada dos días) y oralmente con gránulos de liberación inmediata (gránulos de DSS revestidos con Surelease® al 12,5%-DMOG: 0,25 mg/día) o con gránulos revestidos específicos para el colon (gránulos de DSS-COAT revestidos con Surelease® al 22%-DMOG: 0,25 mg/día) durante 7 días, con 6 ratones en cada grupo (formato 3);

la figura 12 es un gráfico que muestra el Índice de Actividad de la Enfermedad (abreviado generalmente como DAI por sus iniciales en inglés: *d*isease *a*ctivity *i*ndex) en ratones con colitis inducida por DSS tratados con DMOG ip (8 mg de DMOG cada dos días) y oralmente con gránulos de liberación inmediata (gránulos de DSS revestidos con Surelease® al 12,5%-DMOG: 0,25 mg/día) o con gránulos revestidos específicos para el colon (gránulos de DSS-COAT revestidos con Surelease® al 22%-DMOG: 0,25 mg/día) durante 7 días, con 6 ratones en cada grupo (formato 3);

la figura 13 es un gráfico que muestra la longitud media del colon en ratones con colitis inducida por DSS tratados con DMOG ip (8 mg de DMOG cada dos días) y oralmente con gránulos de liberación inmediata (gránulos de DSS revestidos con Surelease® al 12,5%-DMOG: 0,25 mg/día) o con gránulos revestidos específicos para el colon (gránulos de DSS-COAT revestidos con Surelease® al 22%-DMOG: 0,25 mg/día) durante 7 días, con 6 ratones en cada grupo (formato 3);

La figura 1 muestra esquemáticamente una forma de minicápsula o miniesfera que está fuera del alcance de la invención pero que se mantiene como un ejemplo ilustrativo de una minicápsula o una miniesfera.

### Descripción detallada

La liberación controlada de agentes farmacéuticos activos es solo verdaderamente útil si el agente está disponible para interactuar con su receptor o lugar de acción de forma activa. A menos que el agente esté en una forma totalmente soluble, no es probable que interactúe con su receptor previsto o ejerza la acción deseada. La invención es un formato de liberación de fármacos que permite la liberación del (de los) compuesto(s) activo(s) del formato en una forma soluble o fácilmente soluble.

Como la invención permite la liberación del compuesto activo en una forma soluble o fácilmente soluble, permite por lo tanto una verdadera formulación del fármaco en una dosis única diaria, especialmente para un fármaco de molécula pequeña con una solubilidad en agua pequeña, posiblemente con una estabilidad limitada o una vida media corta, ya que el fármaco no solo se absorbe en el intestino delgado sino también en el colon.

La invención proporciona una tecnología de liberación oral de un fármaco que permite la liberación específica en el colon de fármacos pre-solubilizados o fácilmente solubilizados en tándem con una formulación de liberación controlada que permite la liberación y absorción en el intestino delgado, íleon y/o colon de moléculas de fármaco solubles o fácilmente solubles para asegurar formulaciones verdaderas en una dosis única diaria para fármacos de moléculas pequeñas, hidrofílicos, hidrofóbicos o lipofílicos de estabilidad variable.

Como la invención comprende varias minicápsulas separadas, que contiene formulaciones bien líquidas, bien semisólidas o bien sólidas, la invención permite el desarrollo de nuevas terapias de combinación en una única forma de dosificación, teniendo cada componente de la combinación distintos perfiles de liberación y siendo la liberación inherente a la formulación del núcleo, la envoltura o la totalidad de la minicápsula o a algún revestimiento polimérico adicional sobre ella.

Además de permitir la liberación en una dosis única diaria de los tipos de moléculas pequeñas mencionados anteriormente, la liberación en el colon es ventajosa como un mecanismo de liberación de fármacos eficaz para algunos fármacos, incluyendo compuestos biofarmacéuticos y vacunas, fármacos formulados para obtener una absorción linfática mejorada, así como para el tratamiento mejorado de enfermedades del colon (colitis ulcerante, enfermedad de Crohn, enfermedad del injerto contra el huésped gastrointestinal (abreviado generalmente como GI-GVHD por sus iniciales en inglés), síndrome del intestino irritable, estreñimiento, diarrea, carcinomas y otras infecciones) con las que se puede obtener una elevada concentración local minimizando a su vez los efectos secundarios que se producen debido a la liberación de fármacos en el TGI superior o por la absorción sistémica innecesaria. El colon es rico en tejido linfático, la absorción de antígenos en los mastocitos de la mucosa del colon da lugar a una producción local rápida de anticuerpos y esto ayuda en la liberación eficaz de vacunas (Sarasija, S. y Hota, A. Colon-specific drug delivery systems. *Ind. J. Pharm. Sci.* 62: 1-8, 2000). El colon es un lugar en el que una molécula de fármaco, particularmente, pero no exclusivamente, si es hidrofílica o tiene una absorción intestinal limitada, puede tener una biodisponibilidad mejorada. El colon es reconocido por tener un medio en cierto modo menos hostil, con menor diversidad e intensidad de la actividad que el estómago y el intestino delgado. Además, el colon tiene un tiempo de retención más largo y parece ser altamente sensible a agentes que aumentan la absorción de fármacos débilmente absorbidos. Aparte de las formas de dosificación retardadas o dirigidas, una liberación de fármacos en el colon fiable es también importante para la absorción en el colon de fármacos peptídicos aplicados de forma peroral, no digeridos, inalterados y totalmente activos. Como el intestino grueso está relativamente libre de peptidasas, dichos sistemas especiales de liberación tendrán mayores posibilidades de hacer que el fármaco sea suficientemente absorbido después de la aplicación peroral.

Las formas de dosificación tradicionales en las que una forma de dosificación de liberación inmediata (LI), se administra en intervalos periódicos, generalmente dan lugar a perfiles plasmáticos en pulsos, relacionados con el tiempo de ingestión y generalmente en un periodo de tiempo corto después de dicha ingestión. Cuando la liberación de la forma de dosificación es rápida o "inmediata", el pico en la concentración plasmática del fármaco se observa después de la administración de cada dosis LI con senos de concentración plasmática baja obvios entre puntos

temporales de administración consecutivos. Los perfiles plasmáticos pulsátiles que producen dichos regímenes de dosificación pueden afectar al efecto farmacológico y terapéutico, produciendo con ello consecuencias beneficiosas o perjudiciales para algunas terapias farmacológicas. En algunos casos, la caída de la concentración plasmática del ingrediente activo entre picos produce un periodo de lavado y puede contribuir a reducir o evitar la tolerancia del paciente a varios tipos de fármacos. Los formatos de liberación pulsátiles han demostrado ser eficaces para una serie de fármacos, pero muchos otros no aprovechan dichos sistemas de liberación y particularmente no han tenido éxito para las formas específicas para el colon o el desarrollo de formas de verdadera dosificación única diaria de algunos tipos de fármacos, incluyendo los de moléculas pequeñas y baja solubilidad y los compuestos biofarmacéuticos.

Alternativamente, otros fármacos no pueden ser absorbidos en el intestino delgado pero pueden presentar mayores niveles de absorción en el colon. La invención proporciona tecnologías de liberación de fármacos para aumentar la absorción de fármacos hidrofílicos, hidrofóbicos o lipofílicos en el colon. Eludiendo las regiones del estómago y el intestino delgado y liberando el fármaco intacto, y en forma soluble así como permeabilizada, directamente en el colon mejora la absorción del fármaco en el colon.

Los ejemplos de fármacos que han demostrado tener una absorción en el colon reducida incluyen tacrolimús, ciclosporina, carvedilol, budesonida y celecoxib.

El tacrolimús, un agente macrólido, es un inmunosupresor y se usa principalmente en pacientes después del trasplante de órganos para evitar el rechazo del órgano. El tacrolimús se absorbe de forma diferencial en diferentes regiones del tracto gastrointestinal, siendo absorbido óptimamente en el intestino delgado, siendo la eficacia de la absorción en el íleon y en el colon la mitad de la observada para el intestino delgado. Además, se observa un efecto de la alimentación. Después de la absorción en el tracto gastrointestinal, los efectos del fármaco permanecen durante 8-12 horas después de la administración oral de comprimidos de LI convencionales. La dosificación total está generalmente en el intervalo de 2,5-10 mg por día, llegando en casos excepcionales a 20 mg/día. En los regímenes de dosificación convencionales, el tacrolimús se da dos veces al día, dando generalmente una dosis antes del desayuno y una segunda dosis al final de la tarde. Los efectos negativos del tratamiento con tacrolimús incluyen la nefrotoxicidad y el desarrollo de infección en el paciente debido a la inmunosupresión. Es necesario un formato de liberación controlada para evitar los efectos secundarios tóxicos aumentando al mismo tiempo la absorción en el íleon y en el colon.

La ciclosporina es un agente inmunosupresor que es un polipéptido cíclico. Formulada como emulsión está indicada para la prevención del rechazo de órganos en el caso de trasplantes de riñón, hígado y corazón, para el tratamiento de artritis reumatoide (AR) activa grave y psoriasis en placas recalcitrante grave. Otras indicaciones potenciales incluyen la enfermedad de Bechet, anemia, síndrome nefrótico y enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), incluyendo la enfermedad del injerto contra el huésped gastrointestinal (GI-GVHD). La nefrotoxicidad y hepatotoxicidad significativas son un efecto secundario importante asociado con la dosis para el uso a largo plazo de la ciclosporina. Esto es debido probablemente a la liberación tipo bolo del único formato de administración disponible, la cápsula de gel blando grande. En un estudio por Sandborn *et al.* Se determinó la absorción sistémica relativa de la ciclosporina después de la administración oral e intravenosa, así como en enemas con base oleosa y acuosa. En función de las concentraciones despreciables de ciclosporina en plasma encontradas después de la administración del enema, se sugirió que la ciclosporina, incluso aunque esté disuelta, se absorbe muy poco en el colon. A pesar de la falta de absorción en el colon, los enemas presentaron una eficacia considerable en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino. Es interesante señalar que la ciclosporina administrada oralmente presentó una eficacia muy limitada en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino. Esto es debido probablemente al hecho de que la ciclosporina se absorbió sistémicamente en el intestino delgado o se degradó en el intestino con lo que muy poca o ninguna ciclosporina intacta alcanzó el colon para tratar la que se considera como un trastorno inmune mediado por células a nivel de la mucosa intestinal. Por lo tanto, en función de los efectos secundarios asociados, es necesario una formulación de liberación controlada para evitar los efectos secundarios relacionados con la dosis y también es necesario un producto administrado oralmente y liberado específicamente en el colon para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino asociada con el colon sin ningún efecto secundario relacionado con la dosis.

Adicionalmente, para estados que pueden afectar a tracto gastrointestinal en su totalidad, incluyendo el intestino delgado, tales como la enfermedad de Crohn y la GI-GVHD, es necesario un formato de liberación prolongada de ciclosporina presolubilizada que presente una absorción sistémica limitada.

Por otra parte, además de la ciclosporina y el tacrolimús, otros inmunosupresores incluyendo, pero sin limitarse al sirolimús, se pueden beneficiar de una tecnología mejorada para la liberación controlada o dirigida de fármacos. Todos los agentes inmunosupresores, incluyendo pero sin limitarse a ellos, el tacrolimús, la ciclosporina y el sirolimús, tienen el potencial para aprovecharse del desarrollo de un formato de liberación específica en el colon de un fármaco presolubilizado, en el contexto de las enfermedades inflamatorias del intestino, incluyendo la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerativa y la enfermedad del injerto contra el huésped gastrointestinal.

El carvedilol es un antioxidante y alfa- y beta-bloqueante no selectivo usado en el control de la hipertensión esencial, solo o en combinación con otros agentes antihipertensivos, y en el tratamiento de insuficiencia cardiaca leve a grave

de origen isquémico o cardiomiopático. Otras indicaciones recomendadas incluyen la reducción de la mortalidad cardiovascular en pacientes clínicamente estables que han sobrevivido a la fase aguda de un infarto de miocardio y una fracción de expulsión del ventrículo izquierdo menor o igual al 40%. El carvedilol es poco soluble en agua con su mayor solubilidad a un pH de 5,0, se absorbe rápidamente en el intestino delgado, alcanzando su máxima concentración plasmática en dos horas y tiene una vida media de 7-10 horas. Presenta un metabolismo de primer paso importante que produce una biodisponibilidad absoluta de aproximadamente 25%. Aunque se han sugerido efectos debidos a la alimentación, la farmacocinética del producto comercial Coreg™ se relaciona de forma lineal con la dosis. Se ha demostrado que la absorción disminuye en el intestino con una absorción relativa en el yeyuno, el íleon y el colon de aproximadamente 56%, 28% y 7% respectivamente. Como producto BSC de Clase II, se considera que su absorción está limitada por la solubilidad más que por la permeabilidad. Por lo tanto, es necesario un formato de liberación controlada para dirigir la liberación inicial en el yeyuno, seguido por liberación del compuesto activo en forma soluble en el colon, para el desarrollo de una formulación de carvedilol de verdadera dosis única diaria.

La budesonida es un esteroide sintético de la familia de los glucocorticoides débilmente soluble. La hormona natural cuyas acciones emula la budesonida es el cortisol o hidrocortisona que es producida por las glándulas adrenales. Los esteroides glucocorticoides presentan acciones antiinflamatorias potentes. Reformulado como Entocort EC, la budesonida se libera a partir de gránulos en el íleon del intestino delgado y en el colon derecho (proximal), en los que se produce la enfermedad de Crohn. La budesonida actúa directamente por contacto con el íleon y el colon. La budesonida que se absorbe en el cuerpo viaja hacia el hígado donde se rompe y se elimina del cuerpo. Esto evita que la mayor parte del fármaco absorbido sea distribuido al resto del cuerpo. Como resultado, la budesonida produce menos efectos secundarios en el cuerpo que otros corticoesteroides. La eficacia de la budesonida en el tratamiento de la enfermedad de Crohn y de las enfermedades inflamatorias del intestino extensas podría ser mejorada si se desarrolla un formato de liberación del fármaco presolubilizado específico para el íleon o en el colon.

El celecoxib es un inhibidor de la COX-2 oral, desarrollado e indicado para tratar los signos y síntomas de la artritis reumatoide (AR) en adultos, osteoartritis (OA) y espondilitis anquilosante (EA); para controlar el dolor agudo en adultos; para tratar la dismenorrea primaria; y para reducir el número de pólipos colorrectales en la poliposis adenomatosa familiar (PAF) y como adjunto para los cuidados relacionados, incluyendo la cirugía, con aplicaciones potenciales para el dolor post-traumático y dolor por extracción de dientes. En abril de 2005, después de la retirada del Vioxx, un panel de la FDA concluyó que el Celebrex presentaba un riesgo cardiovascular "moderado". El celecoxib, fármaco débilmente soluble, se administra en formato de cápsulas. Centrándonos en la indicación para el tratamiento de la PAF, la liberación específica en el colon sería ventajosa como un sistema de liberación dirigida para reducir cualquier riesgo de efectos secundarios potenciales.

Como los ejemplos de fármacos citados anteriormente han demostrado ser difíciles de formular, se ha demostrado que los formatos de verdadera dosificación única diaria son difíciles de desarrollar. Para superar este problema, son necesarios sistemas mejorados de liberación con la capacidad de combinar cualquier aspecto de mejora de la solubilidad, permeabilidad y estabilidad junto con una liberación dirigida al tracto gastrointestinal.

La invención es particularmente aplicable a la cronoterapéutica. Basándose en los ritmos circadianos naturales del cuerpo, algunos estados de enfermedad mejoran o empeoran dependiendo del momento del día o de la noche. La investigación científica y médica ha demostrado que muchas vías bioquímicas fisiológicas siguen los ritmos circadianos naturales corporales. Como consecuencia, estados cardiovasculares tales como la angina de pecho y el infarto de miocardio son más comunes en las primeras horas de la mañana mientras que el sistema nervioso simpático se relaja durante las horas nocturnas, con lo que disminuye la necesidad de tratamientos terapéuticos que afecten a este sistema, tales como los beta-bloqueantes (Lemmer, *Chronopharmacology*, Marcel Decker, 1989; Lemmer, *Pharmacol. Ther.* 111: 629, 2006). De forma similar, los ataques de alergia y asma son más frecuentes durante las horas nocturnas (Reinberg *et al.*, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 14: 245, 1978). Por otra parte, la absorción y la perfusión en el intestino delgado varían según el tiempo del día o de la noche mientras que el vaciado gástrico y del tracto gastrointestinal varían entre el día y la noche (Lemmer *et al.*, *Chronobiol. Int.* 8: 485, 1991; Lemmer and Nold, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 32: 627, 1991; Goo *et al.*, *Gastroenterology* 93: 515, 1987).

La invención permite la liberación eficaz en el colon. En la invención, un fármaco está protegido de la absorción y/o del medio del tracto gastrointestinal (TGI) superior, pero permite la liberación brusca y/o prolongada en el colon proximal, que es el sitio óptimo para la liberación dirigida en el colon de los fármacos. Dicho direccionamiento en el colon es particularmente valioso para el tratamiento de enfermedades de colon, tales como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerativa, cáncer colorrectal y amebiasis. Las moléculas pequeñas, péptidos, proteínas, anticuerpos incluyendo fragmentos de anticuerpos, oligonucleótidos incluyendo siRNAs y vacunas son candidatos para la liberación de fármacos dirigida al colon.

En varios modos de realización que comprenden una forma de dosificación controlada por membrana, el material polimérico comprende copolímeros del ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de amonio o sus mezclas. Los copolímeros del ácido metacrílico, tales como Eudragit™ S y Eudragit™ L (Evonik), son adecuados para usarlos en las formulaciones de liberación controlada de la presente invención. Estos polímeros son polímeros gastrorresistentes y enterosolubles. Sus películas de polímero son insolubles en agua pura y en ácidos diluidos. Se disuelven a pH mayores, dependiendo de su contenido en ácido carboxílico. Eudragit™ S y Eudragit™ L pueden

usarse como componentes únicos del revestimiento polimérico o combinados en cualquier relación. Usando una combinación de los polímeros, el material polimérico puede presentar una solubilidad a un pH entre los valores de pH a los que Eudragit™ L y Eudragit™ S son solubles de forma separada.

5 El revestimiento de membrana puede comprender un material polimérico que comprende una mayor proporción (por ejemplo, más de 50% del contenido polimérico total) de al menos un polímero soluble en agua farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente una menor proporción (es decir, menos de 50% del contenido polimérico total) de al menos un polímero insoluble en agua farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, el revestimiento de membrana puede comprender un material polimérico que comprende una mayor proporción (es decir, más de 50% del contenido polimérico total) de al menos un polímero insoluble en agua farmacéuticamente aceptable, y  
10 opcionalmente una menor proporción (es decir, menos de 50% del contenido polimérico total) de al menos un polímero soluble en agua farmacéuticamente aceptable.

Los copolímeros de metacrilato de amonio, tales como Eudragit™ RS y Eudragit™ RL (Evonik), son adecuados para el uso en las formulaciones de liberación modificada de la presente invención. Estos polímeros son insolubles en agua pura, en ácidos diluidos, en disoluciones tampón o en fluidos digestivos a los largo del intervalo de pH fisiológico completo. Los polímeros se hinchan en el agua y en los fluidos digestivos independientemente del pH. En estado hinchado son, por lo tanto, permeables al agua y a los agentes activos disueltos. La permeabilidad de los polímeros depende de la relación entre los grupos etilacrilato (EA), metacrilato de metilo (MMA) y cloruro de metacrilato de trimetilamonioetilo (TAMCl) en el polímero. Los polímeros que tienen relaciones EA:MMA:TAMCl de 1:2:0,2 (Eudragit™ RL) son más permeables que las que tienen relaciones 1:2:0,1 (Eudragit™ RS). Los polímeros de Eudragit™ RL son polímeros insolubles con alta permeabilidad. Los polímeros de Eudragit™ RS son películas insolubles de baja permeabilidad.

Los copolímeros de amino-metacrilato pueden combinarse en cualquier relación adecuada y la relación puede ser modificada para modificar la tasa de liberación del fármaco. Por ejemplo, se puede usar una relación de Eudragit™ RS:Eudragit™ RL de 90:10. Alternativamente, la relación de Eudragit™ RS:Eudragit™ RL puede ser de aproximadamente 100:0 a aproximadamente 80:20, o de aproximadamente 100:0 a aproximadamente 90:10 o de cualquier relación entre ellas. En dichas formulaciones, el polímero menos permeable Eudragit™ RS comprendería generalmente la mayoría del material polimérico con el más soluble, RL, permitiendo, cuando se disuelve, crear aberturas a través de las que los solutos pueden entrar en el núcleo y los compuestos farmacéuticos activos pueden escapar de forma controlada.

Los copolímeros de amino-metacrilato se pueden combinar con los copolímeros de ácido metacrílico en el material polimérico con el fin de obtener el retraso deseado en la liberación del fármaco. Se pueden usar relaciones entre el copolímero de metacrilato de amonio (por ejemplo, Eudragit™ RS) y el copolímero de ácido metacrílico en el intervalo de aproximadamente 99:1 a aproximadamente 20:80. Los dos tipos de polímeros también pueden combinarse en el mismo material polimérico o ser proporcionados como revestimientos separados que se aplican al núcleo.

El Eudragit™ FS 30 D es una dispersión polimérica acrílica aniónica con base acuosa que consiste en ácido metacrílico, acrilato de metilo y metacrilato de metilo y es sensible al pH. Este polímero contiene menos grupos carboxilo y, por lo tanto, se disuelve a un pH mayor (> 6,5). La ventaja de dicho sistema es que puede ser fácilmente elaborado a gran escala con un tiempo de procesamiento razonable usando técnicas de recubrimiento en polvo y de revestimiento en lecho fluidizado. En un estudio realizado por Grupta *et al.* (*Int. J. Pharm.*, 213: 83-91, 2001), se demostró que el Eudragit FS 30 D tiene potencial para la liberación en el colon mediante el retraso de la liberación del fármaco hasta un valor de pH de 6,5 y se probó que la combinación de Eudragit™ RL y RS fue eficaz para la liberación prolongada del 5-ASA al pH del colon. Por lo tanto, el Eudragit™ FS 30 D solo o con otros polímeros tiene un gran potencial para permitir la liberación de formulaciones en minicápsulas específicamente en el colon.

Además de los polímeros Eudragit™ descritos anteriormente, se pueden usar otros varios de dichos copolímeros para la liberación controlada de fármacos. Estos incluyen los copolímeros de éster de metacrilato, tales como las series Eudragit™ NE y Eudragit™ NM Información adicional sobre los polímeros Eudragit™ se puede encontrar en "Chemistry and Application Properties of Polymethacrylate Coating Systems" en *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms*, Ed. James McGinity, Marcel Dekker Inc., Nueva York, páginas 109-114.

Varios derivados de la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) también presentan una solubilidad dependiente del pH. Shin-Etsu Chemical Co Ltd. han esterificado la HPMC con anhídrido ftálico para producir ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP) que se disuelve rápidamente en el tracto intestinal superior. Debido a la compatibilidad limitada del HPMCP con algunos tipos de plastificantes, se ha desarrollado el acetato-succinato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS). La presencia de grupos carboxilos ionizables en la estructura del HPMCAS hace que el polímero se disuelva a pH elevado (> 5,5 para el grado LF y > 6,8 para el grado HF). Este polímero presenta una buena compatibilidad con varios agentes plastificantes y está disponible comercialmente en Shin-Etsu Chemical Co. Ltd. con la marca patentada AQOAT® en forma pulverulenta con el que puede volver a formarse una dispersión en agua.

La dispersión Surelease® es una combinación única de un polímero formador de película, un plastificante y estabilizadores. Diseñado para aplicación de liberación prolongada y de enmascaramiento del gusto, el Surelease® es un sistema de revestimiento totalmente acuoso, fácil de usar, que utiliza la etilcelulosa como polímero controlador de la tasa de liberación. La dispersión proporciona flexibilidad para ajustar las tasas de liberación del fármaco con perfiles reproducibles que son relativamente insensibles al pH. El principal medio de liberación del fármaco es la difusión a través de la membrana de dispersión Surelease® y está directamente controlado por el grosor de la película. Aumentando o disminuyendo la cantidad de Surelease® aplicada, se puede modificar fácilmente la tasa de liberación. Con la dispersión Surelease® los perfiles de liberación reproducible del fármaco son consistentes desde el desarrollo hasta el ajuste de escala y los procedimientos de producción.

Además de los polímeros Eudragit™ y Surelease® presentados anteriormente, se pueden usar otros polímeros entéricos o dependientes del pH. Dichos polímeros pueden incluir los grupos ftalato, butirato, succinato y/o melitato. Dichos polímeros incluyen, pero sin limitarse a ellos, el acetato ftalato de celulosa, acetato succinato de celulosa, hidrógeno-ftalato de celulosa, acetato trimelitato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato ftalato de almidón, acetato ftalato de amilosa, acetato ftalato de polivinilo y butirato ftalato de polivinilo. Adicionalmente, si son compatibles, cualquier combinación de polímeros puede mezclarse para proporcionar perfiles de liberación adicionalmente controlados o dirigidos.

La membrana de revestimiento puede comprender además al menos un excipiente soluble para aumentar la permeabilidad del material polimérico. De forma adecuada, al menos un excipiente soluble se elige entre un polímero soluble, un tensioactivo, una sal de metal alcalino, un ácido orgánico, un azúcar y un alcohol de azúcar. Dichos excipientes solubles incluyen, pero sin limitarse a ellos, la polivinilpirrolidona, polietilenglicol, cloruro de sodio, tensioactivos tales como laurilsulfato y polisorbatos de sodio, ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido adípico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido glutárico, ácido málico, ácido succínico y ácido tartárico; azúcares tales como dextrosa, fructosa, glucosa, lactosa y sacarosa; alcoholes de azúcar tales como lactitol, maltitol, manitol, sorbitol y xilitol, goma de xantano, dextrinas y maltodextrinas. En algunos modos de realización se pueden usar polivinilpirrolidona, manitol y/o polietilenglicol como excipientes solubles. El al menos un excipiente soluble puede ser usado en una cantidad que varía de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% en peso, basado en el peso seco total del polímero. El procedimiento de revestimiento se puede realizar por cualquier medio adecuado, por ejemplo, usando un sistema de cubeta perforada tal como GLATT, ACCELACOTA, Vector, Diosna, O'Hara, HICOATER u otros de dichos equipos de procedimiento de revestimiento. Las minicápsulas sin juntura se pueden elaborar usando el método descrito en el documento US 5.882.680 (Freund), cuyos contenidos se incorporan en su totalidad como referencia en la presente memoria.

Las modificaciones en las tasas de liberación, tales como para crear un retraso o una extensión de la liberación, se pueden obtener por varias vías. Los mecanismos pueden ser dependientes o independientes del pH local en el intestino y también pueden basarse en la actividad enzimática local para lograr el efecto deseado. Los ejemplos de formulaciones de liberación modificada son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en las patentes estadounidenses N° 3.845.770, 3.916.899, 3.598.123, 4.008.719, 5.674.533, 5.059.595, 5.591.767, 5.120.548, 5.073.543, 5.639.476, 5.354.556 y 5.733.566.

A continuación se describen varias formas de dosificación modificadas adecuadas para su uso. Una descripción más detallada de dichas formas también pueden encontrarse, por ejemplo, en *The Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, D. L. Wise (ed.), Marcel Decker, Inc., Nueva York (2000); y también en *Treatise on Controlled Drug Delivery: Fundamentals, Optimization, and Applications*, A. Kydonieus (ed.), Marcel Decker, Inc., Nueva York, (1992), cuyos contenidos relacionados se incorporan como referencia en la presente memoria con este objetivo.

Los ejemplos de formulaciones de liberación modificada incluyen, pero sin estar limitados a ellos, sistemas modificados por membrana, matrices, osmóticos y de intercambio iónico. Todos ellos pueden ser formas de dosificación de una sola unidad o de varias unidades, como se ha indicado anteriormente.

Con las formas de dosificación de liberación prolongada modificada por membranas, una membrana semipermeable puede rodear la formulación que contiene la sustancia activa de interés. Las membranas semipermeables incluyen las que son permeables en mayor o menor grado tanto al agua como al soluto. Esta membrana puede incluir polímeros insolubles en agua y/o polímeros solubles en agua, y pueden presentar características de solubilidad dependientes del pH y/o independientes del pH. A continuación se describen detalladamente los polímeros de estos tipos. Generalmente, las características de la membrana polimérica, que pueden determinarse, por ejemplo, por la composición de la membrana determinarán la naturaleza de la liberación de la forma de dosificación.

En particular, la presente invención proporciona formulaciones de minicápsulas o miniesferas en las que la liberación modificada depende de, según sea apropiado, uno cualquiera de los constituyentes de la formulación, la composición de la envoltura o el revestimiento de protección. Las minicápsulas o miniesferas se pueden producir mediante la utilización de la tensión superficial de una o más disoluciones que cuando se eyectan a través de un orificio o boquilla de cierto diámetro y se someten a frecuencias específicas y flujo gravitacional, toman una forma esférica y entran en un flujo de aire de enfriamiento o en una disolución de enfriamiento o de endurecimiento y la disolución de la capa exterior donde se gelifica o se solidifica. Esto describe brevemente la formación de miniesferas

sin juntura. Según la técnica anterior, la disolución del núcleo es principalmente una suspensión o disolución hidrofóbica. La disolución de la capa exterior puede ser cualquier agente formador de gel pero normalmente tiene una base de gelatina o alginato aunque también puede incluir polímeros u otros materiales que permiten la liberación controlada. Sin embargo, una disolución hidrofóbica también puede ser encapsulada con la existencia de una disolución intermedia, lo que puede evitar el contacto directo de la disolución del núcleo hidrofílica con la capa exterior. Si la boquilla tiene un único orificio, se puede procesar una minicápsula o un gránulo de la suspensión mezclada capa exterior/núcleo que puede ser procesada adicionalmente usando una extrusadora en estado fundido. Si la boquilla tiene dos orificios (central y exterior), se puede encapsular una disolución hidrofóbica. Si es apropiado, puede ser posible que tanto el núcleo como la capa exterior puedan comprender un material o materiales compuestos que hayan sido procesados por mecanismos de extrusión húmeda o seca, en estado fundido o en cualquier otra forma fluidizada antes del mezclado o la extrusión. Idealmente, para permitir el contenido en fármaco y la consistencia de la liberación, se prefiere que todos los procedimientos produzcan morfologías bastante uniformes con una superficie relativamente suave para facilitar que las capas de revestimiento bastante regulares puedan añadirse de forma uniforme. Si la boquilla tiene uno o más orificios, se pueden procesar minicápsulas sin juntura para varias aplicaciones usando equipo de procesamiento de minicápsulas facilitado por, pero sin limitarse a ellos, los equipos de procesamiento de Freund Spherez, ITAS/Lambo Globex o Inotex. Como se ha indicado anteriormente, los procedimientos de revestimiento se pueden realizar por cualquier medio adecuado, por ejemplo usando un sistema de cubeta perforada o de lecho fluidizado tal como los sistemas de procesamiento GLATT, Vector, ACCELACOTA, Diosna, O'Hara y/o HICOATER.

El resultado son composiciones de liberación modificada que en operación liberan uno o más ingredientes activos de forma única, bimodal o multimodal. La presente invención se refiere además a formas de dosificación oral sólidas, sobres o supositorios que contienen dichas composiciones de liberación controlada en minicápsulas o miniesferas así como los métodos para liberar uno o más ingredientes al paciente de forma bimodal o multimodal. Además, la invención permite la liberación dirigida de las formulaciones administradas oralmente en regiones específicas del tracto gastrointestinal para maximizar la absorción, conferir protección frente a la carga dañina, optimizar el tratamiento del tejido intestinal enfermo o mejorar la biodisponibilidad oral. Adicionalmente, la invención permite que uno o más compuestos farmacéuticos activos se administren secuencial o simultáneamente para mejorar el tratamiento y el control de la enfermedad y beneficiarse de los ritmos circadianos naturales corporales. La invención también permite la liberación de compuestos farmacéuticos activos en el íleon y el colon para mejorar el tratamiento de enfermedades intestinales locales o para facilitar la absorción de los agentes farmacéuticos activos, incluyendo biofarmacéuticos tales como péptidos y proteínas.

La invención permite que un agente farmacéutico, molécula pequeña o macromolécula, sea clínicamente eficaz por alcanzar su diana prevista en una forma activa, bien como el compuesto natural o como un metabolito activo del compuesto. El uso de revestimientos poliméricos entéricos protege los contenidos de las minicápsulas de la degradación por el ácido gástrico mientras que otros revestimientos específicos para la liberación en el colon, permiten la liberación de los contenidos de la minicápsula solo en el colon, donde el contenido de enzima proteolítica es significativamente menor que en el intestino delgado. Por lo tanto, controlando los revestimientos de minicápsulas, la invención proporciona formulaciones que aseguran que los contenidos activos se liberen intactos en los sitios en los que la absorción o la actividad terapéutica son óptimas.

En la invención, los fármacos en los que la biodisponibilidad sistémica es crítica, se maximiza este transporte del agente activo del lumen intestinal o del colon a la sangre o al sistema linfático. Como las propiedades fisicoquímicas de los fármacos varían ampliamente, los diferentes tipos de fármacos, de hidrofílico o hidrofóbico a lipofílico, se absorben en diferentes grados a medida que pasan a lo largo del tracto gastrointestinal desde el estómago hasta el colon. En general, los agentes más lipofílicos se absorben más fácilmente en el intestino completo que los agentes hidrofílicos. Cuando los agentes lipofílicos presentan una permeabilidad pequeña, a menudo se formulan como microemulsiones o emulsiones de otro tipo para permitir la interacción con las sales biliares, lo que mejora la absorción en el intestino delgado. Para mejorar la permeabilidad intestinal hidrofílica se han adoptado varios enfoques, incluyendo el desarrollo de conjugados con base lipídica que proporcionan al agente activo una naturaleza más del tipo lipídico que permite una permeabilidad mejorada en el intestino delgado y, por lo tanto, una biodisponibilidad sistémica aumentada. Las aplicaciones potenciales incluyen, pero sin limitarse a ellas, agentes anticancerosos para dirigirlos a las células cancerosas metastáticas en el sistema linfático, vacunas, inmunomoduladores incluyendo los inmunoestimulantes, agentes que presentan efectos de primer paso importantes en el hígado, así como para aumentar la semivida relativa de los compuestos activos farmacéuticos en pacientes con intestino corto y en los que la absorción está limitada al intestino delgado intacto. Cuando es necesaria la absorción de moléculas pequeñas con semividas limitadas que se absorben sistémicamente solo a través del intestino delgado, esta invención puede facilitar el desarrollo de sistemas flotantes de liberación controlada en los que el sistema, en este caso varias minicápsulas de liberación controlada, flota en el medio gástrico.

La invención se refiere a la liberación de fármacos en el colon, la cual ha sido ampliamente pasada por alto desde la perspectiva de la liberación de fármacos. Habiendo evolucionado principalmente para regular el equilibrio electrolítico y la ruptura posterior de las estructuras de hidrocarburos complejos, hay un importante flujo de agua del lumen del colon hacia el cuerpo. Además, el colon aloja una flora bacteriana natural que degrada los hidrocarburos complejos para asegurar una excreción eficaz, lo que proporciona una gran necesidad de fibra y cierta absorción de nutrientes. Con una concentración mucho menor de enzimas proteolíticas y otras enzimas que pueblan el colon, es

- un medio mucho más benigno para las proteínas y péptidos así como para otras entidades biológicas tales como hidrocarburos y ácidos nucleicos. Desde la perspectiva de la liberación de fármacos, el colon presenta varias posibilidades interesantes: las bacterias pueden ser aprovechadas para romper los revestimientos de liberación controlada que son resistentes a la ruptura ácida así como a las diferencias de pH; el medio más benigno asegura que sea menos probable que los compuestos activos farmacéuticos, incluyendo los biofarmacéuticos, se degraden si se liberan localmente en el colon; el flujo casi continuo de fluidos del lumen del colon a la corriente sanguínea puede ser aprovechado para transportar las entidades hidrofílicas del intestino al lumen. Finalmente, el largo tiempo de tránsito en el colon, que va de 10-20 horas, proporciona una mayor permanencia y potencial de interacción con la mucosa del colon y las células epiteliales lo que lleva a una absorción aumentada.
- 5
- 10 Tecnológicamente, la invención se basa en varias modificaciones de minicápsulas básicas con una o varias capas, que modulan el núcleo, la envoltura o el recubrimiento para permitir aumentar la solubilidad y permeabilidad del fármaco o de otra entidad activa o no activa, así como proporcionar protección a los fármacos o entidades que son susceptibles de varias formas de degradación intestinal, en la mucosa o sistémica y la liberación dirigida de las entidades activas o inactivas en determinadas regiones del tracto gastrointestinal.
- 15 Además de las modificaciones de la minicápsula mencionadas anteriormente, la presente invención proporciona el revestimiento de minicápsulas o miniesferas con una entidad muco- o bio-adhesiva que asegure que se adhieren a la mucosa antes de liberar la frágil carga útil. Las ventajas facilitadas de esta forma incluyen una mayor protección de las entidades activas, pero también la liberación de los compuestos activos próximos al sitio de absorción. Como la absorción está relacionada, en parte, con el área superficial expuesta a los compuestos activos así como al gradiente de concentración entre la parte luminal del intestino y su parte basal, cuanto mayor sea la concentración local, aunque esté dispersada, mayor es la capacidad de asegurar una absorción aumentada, no solo de los fármacos hidrofílicos sino también de los fármacos lipofílicos o hidrofóbicos.
- 20
- 25 Una barrera para la liberación eficaz en el colon de fármacos hidrofóbicos o lipofílicos es que el colon no evolucionó para solubilizar alimentos y otras entidades, sino más bien para asegurar el equilibrio electrolítico y para maximizar la ruptura y fermentación de la fibra. El colon sigue siendo muy poroso para las entidades hidrofílicas. Administrando los fármacos hidrofóbicos o lipofílicos en el colon en un formato presolubilizado o fácilmente soluble y liberándolos en el colon, se aumenta significativamente el potencial de absorción. La presente invención permite la encapsulación de fármacos presolubilizados o fácilmente solubles como líquidos o sólidos o semisólidos hidrolizables o sólidos en el núcleo de la minicápsula y a continuación la modulación de la envoltura para incluir polímeros de liberación controlada en el intestino o en el colon, o recubrir con ellos la envoltura. El resultado es la liberación de formulaciones optimizadas en lugares específicos a lo largo del tracto intestinal para una eficacia terapéutica o absorción sistémica máximas.
- 30
- 35 De forma similar, la administración de formulaciones que se rompen fácilmente en un medio acuoso o un medio rico en bacterias cuando se recubren con polímeros de liberación controlada específica en el colon o se incluyen entidades que son degradadas por bacterias, tiene la capacidad de proteger las entidades susceptibles del medio gástrico o intestinal, asegurando al mismo tiempo que se liberan intactas en el colon donde, una vez liberadas, se absorberán fácilmente. Las matrices, revestimientos y otras formulaciones de liberación prolongada con base sensible a la oxidación-reducción, a la pectina, el alginato, el quitosán o a bacterias, en estado líquido, semisólido o sólido, pueden ser encapsuladas o aplicadas como revestimiento sobre las minicápsulas con una o varias capas.
- 40 Las formulaciones de la presente invención pueden existir como formulaciones para una sola unidad o varias unidades. La expresión "varias unidades" tal como se usa en la presente memoria significa varias minicápsulas, miniesferas, partículas, gránulos, perlas, comprimidos o sus mezclas, discretas o agregadas, por ejemplo, independientemente de su tamaño, forma o morfología. Las formulaciones de una sola unidad incluyen, por ejemplo, comprimidos, cápsulas de gelatina dura, comprimidos recubiertos y píldoras.
- 45 Los métodos y formulaciones de la presente invención están previstos para incluir todas las combinaciones de componentes que presentan propiedades de liberación inmediata y liberación modificada. Por ejemplo, una formulación y/o método de la invención puede contener componentes que presentan propiedades de liberación inmediata o de liberación prolongada, o tanto de liberación inmediata como de liberación retardada, o una combinación de las tres propiedades. Por ejemplo, una formulación en multi-minicápsulas o multi-miniesferas que incluyen tanto componentes de liberación inmediata como de liberación prolongada, se pueden combinar en una cápsula que a continuación se reviste con un revestimiento entérico para proporcionar un efecto de liberación retardada. O, por ejemplo, un comprimido recubierto de liberación retardada y prolongada puede comprender varias partículas discretas de liberación prolongada mantenidas juntas con un aglomerante en el comprimido recubierto que está revestido con un revestimiento entérico para producir un retraso en la disolución.
- 50
- 55 Como se usa en la presente memoria, la expresión formulación o forma de dosificación de "liberación modificada" incluye las preparaciones farmacéuticas con las que se obtiene la liberación deseada del fármaco de la formulación. Una formulación de liberación modificada puede estar diseñada para modificar la forma en la que el ingrediente activo es expuesto a la diana deseada. Por ejemplo, una formulación de liberación modificada puede estar diseñada para centrar la liberación del agente activo completamente en el intestino grueso distal, comenzando en el ciego y continuando a través del colon ascendente, transversal y descendente para finalizar en el íleon. En aún otros
- 60

ejemplos, las formulaciones de liberación modificada se pueden diseñar para comenzar a liberar el agente activo en el yeyuno y finalizar su liberación en el colon transverso. Las posibilidades y combinaciones son numerosas y evidentemente no se limitan a estos ejemplos.

5 La expresión “liberación modificada” incluye las formulaciones de “liberación prolongada” y de “liberación retardada” así como las formulaciones que tienen tanto características de liberación prolongada como de liberación retardada. Una formulación de “liberación prolongada” puede prolongar el periodo en el que el fármaco es liberado o dirigido al sitio deseado. Una formulación de “liberación retardada” puede ser diseñada para retrasar la liberación del compuesto farmacéuticamente activo durante un periodo especificado. Dichas formulaciones se denominan en la presente memoria como formulaciones o formas de dosificación de “liberación retardada” o “inicio retardado”. Las  
10 formulaciones de liberación modificada de la presente invención incluyen las que presentan tanto liberación retardada como liberación prolongada, por ejemplo, formulaciones que solo comienzan a liberarse después de un periodo fijo de tiempo o después de que se haya producido un cambio fisicoquímico, por ejemplo, continuando liberándose a continuación durante un periodo prolongado.

15 Como se usa en la presente memoria, la expresión “formulación de liberación inmediata” pretende describir las formulaciones en las que más de aproximadamente 50% del ingrediente activo es liberado de la forma de dosificación en menos de aproximadamente 2 horas. Dichas formulaciones también se denominan en la presente memoria “formulaciones convencionales”.

20 Como se usa en la presente memoria, la expresión “perfil de liberación del fármaco que es independiente del pH del medio” significa efectivamente una composición de fármaco que comprende un sistema polimérico que no es entérico o cuyas propiedades de permeabilidad y solubilidad no cambian con el pH del medio, es decir externo. Esto significa una composición de fármaco que tiene características de liberación tales como la disolución que esencialmente no son afectadas por el pH o que son independientes de los cambios de pH en el medio. Esto es en comparación con un perfil de liberación que es dependiente del pH en el que las características de liberación varían según el pH del medio.

## 25 **Aplicaciones**

### Administración en el colon

Además de la administración oral de moléculas pequeñas y macromoléculas, incluyendo proteínas, péptidos, anticuerpos y cualquiera de sus fragmentos o constructos modificados de otra forma, la presente invención también tiene la capacidad de permitir el desarrollo de la administración optimizada en el colon de varios organismos  
30 beneficiosos para la salud vivos o atenuados, incluyendo vacunas, bacterias probióticas o bacterias modificadas genéticamente, modificados para expresar y segregar entidades terapéuticas tales como varias interleucinas.

Como el colon es rico en tejido linfático, la absorción de antígenos en los mastocitos de la mucosa del colon da lugar a una producción local rápida de anticuerpos y esto puede ser explotado mediante el uso de minicápsulas modificadas para desarrollar sistemas eficaces de administración oral de vacunas. Esto implicará la encapsulación de antígenos y adyuvantes en un aceite, emulsión, suspensión de partículas u otro formato adecuado en minicápsulas con envolturas o revestimientos de la envoltura modificados que incluyen polímeros específicos para el colon y/o moléculas muco- o bio-adhesivas. Adicionalmente, la administración dirigida al tejido linfático específica para el colon de fármacos inmunoterapéuticos, incluyendo inmunoestimulantes e inmunosupresores, es atractiva ya que el sistema linfático actúa como un depósito o almacén para el sistema inmunológico.

40 Además, para el aprovechamiento del tejido del colon rico en órganos linfáticos, la presente invención usando formulaciones con base lipídica que son absorbidas fácilmente en la vasculatura linfática y canalizadas hacia la vasculatura sanguínea proporciona un medio potencial para aumentar la liberación de fármacos u otras entidades altamente lipofílicas, incluyendo péptidos, proteínas u otros agentes biofarmacéuticos hidrofóbicos, incluyendo anticuerpos, o cualquiera de sus fragmentos.

45 Se sabe que algunos ácidos grasos de cadena media y larga presentan un efecto epitelial en el intestino que lleva a una permeabilidad aumentada de las membranas intestinales de entidades que de otra forma podrían ser impermeables o presentar una permeabilidad limitada. Los triglicéridos de cadena media, incluyendo pero sin limitarse al caprato de sodio, aumentan la absorción en mayor grado en el intestino delgado que el íleon o el colon (resultados adjuntos). En un estudio realizado para investigar los efectos de los ácidos grasos poliinsaturados de  
50 cadena larga, principalmente ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) sobre la absorción de insulina en las asas intestinales *in situ*, Suzuki *et al.* demostraron que tanto el EPA como el DHA aumentaron de forma importante la absorción de insulina e indujeron hipoglicemia después de dosificación rectal y en el colon. El DHA no indujo cambios morfológicos importantes en la estructura de la mucosa intestinal (Suzuki *et al.*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 87, 10: págs.. 1196-1202, 1998). Por lo tanto, es evidente que los triglicéridos de  
55 cadena media aumentan la permeabilidad intestinal mientras que el DHA es un posible medio de facilitar la absorción intestinal de la insulina, y posiblemente de otras macromoléculas, incluyendo péptidos y proteínas, sin inducir ningún daño importante en las células epiteliales. Combinando entidades poco permeables con ácidos grasos de cadena larga o media y la administración dirigida a regiones locales del intestino o al colon tiene el potencial de

aumentar la absorción de entidades que, de otra forma, son poco permeables. La presente invención pretende facilitar dicha administración mediante la encapsulación de entidades formuladas con ácidos grasos poliinsaturados usando un agente gelificante incluyendo, pero sin estar limitado a ellos, uno o una mezcla entre gelatina, pectina, alginato o quitosán, con o sin un revestimiento adicional específico para el colon.

- 5 Por lo tanto, aunque la principal ventaja de la presente invención se refiere a la administración mejorada en el colon para la absorción por el colon o para el tratamiento de tejido del colon e intestinal enfermo, la invención también permite el desarrollo de la absorción prolongada de fármacos hidrofóbicos y lipofílicos que de otra forma no serían solubles en el colon. Por extensión, la invención también facilita el desarrollo de nuevas terapias de combinación así como cronoterapias creativas que comprenden uno o varios fármacos liberados en diferentes momentos.

#### 10 Liberación dirigida/Absorción prolongada mejorada/Efectos secundarios reducidos

Como es sabido por los expertos en la técnica, el carvedilol es poco soluble en agua con la solubilidad mayor para un valor de pH de 5,0, se absorbe rápidamente en el intestino delgado alcanzando una concentración máxima en plasma en dos horas y tiene una semivida de 7-10 horas. Presenta un metabolismo de primer paso importante que produce una biodisponibilidad absoluta de aproximadamente 25%. Aunque ha sido sugerido un efecto de la alimentación, la farmacocinética del producto comercializado, Coreg<sup>TM</sup>, está relacionada de forma lineal con la dosis. Se ha demostrado que la absorción disminuye en el intestino con una absorción relativa en el yeyuno, el íleon y el colon de aproximadamente 56%, 28% y 7%. Como producto BSC de Clase II, se considera que su absorción está limitada por la solubilidad más que por la permeabilidad. Por lo tanto, es necesario un formato de liberación controlada para dirigir la liberación inicial en el yeyuno, seguido por liberación del compuesto activo en forma soluble en el colon, para el desarrollo de una formulación de carvedilol de verdadera dosis única diaria. Esto se puede obtener mediante el desarrollo de un formato de minicápsula de liberación pulsátil secuencial; el núcleo de dichas minicápsulas contendrá el carvedilol en una forma pre-solubilizada y revestida con polímeros de liberación controlada para asegurar la liberación dos o tres veces en un periodo de 24 horas, por ejemplo liberación inmediata para la absorción intestinal y liberación retardada 12 horas para la absorción en el colon. Alternativamente, el componente de liberación inmediata podría ser formulado en forma de miniesfera sólida.

De forma similar, el tacrolimús y el sirolimús se absorben de forma diferente en las distintas regiones del tracto gastrointestinal, siendo su absorción óptima en el intestino delgado, cayendo la eficacia de la absorción en el íleon y en el colon hasta la mitad de la observada en el intestino delgado. Además, se observa un efecto de la alimentación. Después de la absorción en el tracto gastrointestinal, los efectos del fármaco persisten 8-12 horas después de la administración oral de comprimidos de LI convencionales. La dosificación total está generalmente en el intervalo de 2,5-10 mg por día, llegando en casos excepcionales a 20 mg/día. En regímenes de dosificación convencionales, el tacrolimús se da dos veces al día, dando generalmente una dosis antes del desayuno y una segunda dosis al final de la tarde. Los efectos negativos asociados con el tratamiento con tacrolimús, debidos a la rápida absorción inicial en el intestino delgado que produce las concentraciones terapéuticas en plasma indicadas anteriormente, incluyen la nefrotoxicidad y el desarrollo de infección en el paciente debido a la inmunosupresión. Es necesario un formato de liberación controlada para evitar los efectos secundarios tóxicos aumentando al mismo tiempo la absorción en el íleon y en el colon. Formular el tacrolimús en un formato de minicápsula, cuyo núcleo está presolubilizado, tiene la capacidad de aumentar la absorción del tacrolimús en el colon. Además, mediante el desarrollo de un formato de liberación prolongada, bien mediante la modificación de la formulación del núcleo para permitir la liberación prolongada o bien mediante el revestimiento de la superficie con un polímero de liberación prolongada, reducirá el pico de concentración plasmática del fármaco, reduciendo de este modo los efectos secundarios potenciales relacionados con la dosis incluyendo la nefrotoxicidad y la excesiva inmunosupresión.

#### **Enfermedades intestinales**

Los estados gastrointestinales presentan un problema de salud importante a nivel mundial. Las enfermedades inflamatorias del intestino, cuyo género incluye una serie de enfermedades que incluyen la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, afectan a cerca de 1 millón de persona en los Estados Unidos cada año. Los dos estados inflamatorios del intestino más comunes, la colitis ulcerativa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC) se denominan colectivamente enfermedades inflamatorias del intestino (EII). Estos estados son enfermedades del intestino distal (intestino delgado inferior, intestino grueso y recto) más que del intestino proximal (estómago e intestino delgado superior). Entre los dos, la colitis ulcerosa afecta al colon, mientras que la enfermedad de Crohn afecta también al intestino delgado distal.

#### Enfermedad inflamatoria del intestino (EII)

Aunque hay diferentes estados de EII, generalmente se usan los mismos fármacos para tratar la CU y la EC. Los fármacos usados generalmente en su tratamiento incluyen los esteroides (por ejemplo, la budesonida y otros corticosteroides, y esteroides adrenales tales como la prednisona y la hidrocortisona); las citocinas, tales como la interleucina-10; los antibióticos; los agentes inmunomoduladores tales como la azatioprina, 6-mercaptopurina, metotrexato, ciclosporina y agentes anti-factor de necrosis tumoral (abreviado generalmente como TNF por sus iniciales en inglés: tumoral necrosis factor) tales como el receptor de TNF soluble y los anticuerpos obtenidos a partir del TNF; y también agentes antiinflamatorios tales como el zinc. Los agentes más generalmente prescritos para el

tratamiento de la EII incluyen la sulfasalazina (salicil-azo-sulfapiridina o SASP) y productos relacionados con el ácido 3-aminosalicílico (5-ASA), incluyendo la mesalazina.

La inflamación del íleon (el segmento más alejado del intestino delgado) debido a la enfermedad de Crohn se denomina ileitis. Cuando están implicados tanto el intestino grueso como el intestino delgado, el estado se denomina enterocolitis de Crohn (o ileocolitis). También se pueden usar otros términos descriptivos. La diagnosis se hace generalmente por rayos X o colonoscopia. El tratamiento incluye medicamentos que son antiinflamatorios, inmunosupresores o antibióticos. En los casos graves puede ser necesaria la cirugía. La enfermedad de Crohn es un área de investigación activa en todo el mundo y se están investigando nuevos enfoques de tratamiento que son prometedores para mejorar la vida de los pacientes afectados.

#### 10 Enfermedad del injerto contra el huésped gastrointestinal (GI-GVHD)

La GI-GVHD es un estado con peligro para la vida y una de las causas más comunes de fracaso de los trasplantes de células madre y de médula ósea. Estos procedimientos están siendo utilizados de forma creciente para el tratamiento de pacientes con leucemia y otros cánceres para eliminar la enfermedad residual y reducir el riesgo de recaídas. A diferencia de los trasplantes de órganos sólidos en los que el cuerpo de los pacientes puede rechazar el órgano, en la GVHD son las células del donante las que comienzan a atacar el cuerpo del paciente – lo más frecuentemente el intestino, el hígado y la piel. Los pacientes con GI-GVHD leve a moderada desarrollan generalmente síntomas de anorexia, náuseas, vómitos y diarrea. Si permanece sin tratamiento, la GI-GVHD puede progresar hacia ulceraciones en el revestimiento interior del tracto GI y en su forma más grave puede ser mortal. Los agentes inmunosupresores sistémicos, tales como la prednisona, que son los tratamientos convencionales actuales para la GI-GVHD se asocian con elevadas tasas de mortalidad debido a las infecciones y el debilitamiento. Además, estos fármacos no han sido aprobados para el tratamiento de la GI-GVHD en Estados Unidos ni en la Unión Europea sino que se usan más bien fuera de las indicaciones del prospecto, como terapias de investigación para este caso.

La terapia con inmunosupresores dirigida al colon facilitada con minicápsulas que liberan agentes tales como la ciclosporina A en el colon es una terapia activa oral que actúa localmente con lo que se reduce la necesidad de fármacos inmunosupresores sistémicos, tales como la prednisona, que se usa actualmente para evitar y controlar la GI-GVHD. Los fármacos tales como la prednisona tienen como efectos secundarios no deseados y potencialmente peligrosos el debilitamiento del sistema inmune de los pacientes, dejándoles susceptibles a infecciones oportunistas, así como la inhibición del efecto anticanceroso buscado con los trasplantes de células madre y médula ósea. La terapia con inmunosupresores dirigida al colon facilitada con minicápsulas está diseñada para reducir la necesidad de fármacos inmunosupresores sistémicos y mejorar con ello el resultado del trasplante de médula ósea y de células madre. Por lo tanto, es posible que se pueda obtener la liberación de péptidos o proteínas intactas en el colon.

La ciclosporina, el tacrolímús y el sirolímús están reconocidos como tratamientos habituales, dentro o fuera de las indicaciones del prospecto, para la EII y se usan ampliamente con este propósito. Sin embargo, la terapia con ciclosporina, tacrolímús y sirolímús sigue presentando problemas incluyendo los efectos secundarios mencionados anteriormente. Adicionalmente, presentan una semivida y un perfil de eficacia que es menor que el máximo, reflejado en la necesidad de dosis diarias múltiples y elevadas, respuesta y tasas de remisión bajas, y tasas de recaída mayores, relacionadas con el lugar y mecanismo de acción y con la eficacia de la administración de las células en el intestino distal. La absorción excesiva de ciclosporina y tacrolímús en el intestino delgado reduce su disponibilidad en los sitios distales del intestino, que son los sitios con efecto terapéutico y los sitios preferidos de administración, necesitando por ello que se administren dosis elevadas. Idealmente, el compuesto debería alcanzar el intestino distal (íleon y/o colon) de forma no cargada, pero no ser absorbido desde allí en la circulación sistémica como el compuesto precursor. La absorción del compuesto precursor en la circulación sistémica en los lugares proximales y/o distales produce efectos secundarios asociados con el fármaco absorbido y sus efectos sistémicos. Las formas de dosificación oral existentes para la ciclosporina y el tacrolímús, principalmente cápsulas de gelatina blanda o dura, son inadecuadas para la liberación controlada o dirigida al íleon/colon.

Para evitar los efectos sistémicos y la necesidad de administrar dosis elevadas frecuentemente, la presente invención propone en primer lugar formular la ciclosporina y el tacrolímús como formulaciones solubilizadas, encapsulándolas con un agente gelificante para producir minicápsulas. El agente de encapsulado puede contener polímeros de liberación controlada que permitan la liberación solo en el íleon o en el colon o pueden estar revestidos con un polímero o con otro revestimiento que produzca el mismo resultado. Las ventajas son múltiples, incluyendo: absorción sistémica reducida de la ciclosporina y el tacrolímús activos, que se sabe que producen toxicidad relacionada con la dosis incluyendo nefrotoxicidad, liberación de suficiente dosis de ciclosporina o tacrolímús en forma soluble así como una amplia distribución de la ciclosporina o el tacrolímús a lo largo del colon. Además, al incorporar un agente mucoadhesivo en el envoltura de encapsulamiento o revestir la envoltura de encapsulamiento con un agente mucoadhesivo se puede garantizar que las minicápsulas están en contacto con la capa mucosa del colon antes de la liberación del compuesto activo en un lugar próximo al tejido enfermo. Para algunos subgrupos de pacientes de la enfermedad de Crohn puede ser necesario facilitar la liberación a lo largo del tracto gastrointestinal, incluyendo el intestino delgado. De forma similar, para pacientes con GI-GVHD puede ser beneficioso tener una liberación prolongada a lo largo del tracto gastrointestinal completo, desde el intestino delgado al colon.

Los inhibidores de la propil- y de la asparaginil-hidroxilasa son enzimas clave sensibles al oxígeno que proporcionan sensibilidad a la hipoxia en vías regulatorias transcripcionales clave, incluyendo la HIF-1 y NFκB. La desactivación génica de cualquiera de las vías HIF (o dependiente de IFκB) o NFκB en las células epiteliales intestinales provoca la enfermedad inflamatoria en modelos murinos de colitis. Tanto la vía HIF-1 como la NFκB están moderadas por la acción de las hidroxilasas mediante la hidroxilación de moléculas reguladoras clave.

Cummins *et al.* (Cummins *et al.*, *Gastroenterology* 2008) demostraron que la dimetiloxaliglicina (DMOG) induce ambas actividades HIF-1 y NFκB en cultivos de células epiteliales intestinales y que es un protector importante en la colitis inducida por dextrano-sulfato de sodio de una forma que está en parte reflejada por el desarrollo de un fenotipo antiapoptótico que puede reducir la disfunción epitelial.

Un aspecto negativo de los inhibidores de la propil- y de la asparaginil-hidroxilasa es su potencial actividad proangiogénica y antiapoptótica que pueden conducir sistémicamente a efectos secundarios no deseados. Por lo tanto, un sistema de administración que permitiera administrar los inhibidores de la propil- y de la asparaginil-hidroxilasa tales como, pero sin limitarse a ellos, DMOG, hidralazina, FG-4095 y sus derivados, a las células epiteliales gastrointestinales enfermas en concentraciones menores, y posiblemente sub-tóxicas, es muy deseable. Además la administración local en el íleon o el colon puede reducir la absorción sistémica, reduciendo de este modo el riesgo de efectos secundarios.

La presente invención permite la liberación dirigida de los inhibidores de la propil- y de la asparaginil-hidroxilasa en el tejido enfermo del colon y ha tenido como resultado no solo una reducción demostrada de la inflamación del colon, sino que también puede reducir la concentración sistémica de dichos inhibidores, lo que lleva a tener efectos secundarios limitados. Adicionalmente, la invención permite la liberación dirigida del inhibidor del factor nuclear kappa B cinasa o activadores del NFκB.

Se podrían considerar otros inmunosupresores, bien solos o bien en combinación con la ciclosporina A o el tacrolímús o sus derivados. Esto incluye, pero sin limitarse a ellos, varios glucocorticosteroides; citostáticos tales como el metotrexato y la azatioprina; anticuerpos tales como el receptor de células T dirigido anti-CD3OKT3; el sirolímús unido al receptor de inmunofilina; interferones; opioides; proteínas de enlace al TNF-α, incluyendo, pero sin limitarse a ellas, infliximab, etanercept, adalimumab, cúrcuma y catequinas; y el micofenolato mofetil – ácido que actúa como un inhibidor no competitivo, selectivo y reversible de la inosina monofosfato deshidrogenasa.

Compuestos terapéuticos adicionales con capacidad para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o el síndrome de intestino irritable incluyen, pero sin limitarse a ellos, las composiciones farmacéuticas que comprenden una dosis de un donante de NO, tal como, pero sin limitarse a ellos, NOC5 [3-(2-hidroxi-1-(metiletil)-2-nitrososidrazino)-1-propanamina], NOC12 [N-etil-2-etil-hidroxi-2-nitrososidrazino-etanamina], nitoglicerina y otros compuestos terapéuticos modificados para incluir un donante de NO conjugado.

Aún otras composiciones farmacéuticas incluyen varios bloqueantes del canal del calcio incluyendo, pero sin limitarse a ellos, nimodipina, amlodipina, verapamil, incluyendo varios de sus enantiómeros y sales, así como sus donantes de NO conjugados. Algunos extractos naturales, incluyendo aceite de nim, aloe vera, tripala, cúrcuma y otros aceites esenciales, incluyendo los aceite poliinsaturados con omega, tales como EPA, DHA, ácido linoleico conjugado (CLA) y otros de sus derivados, tienen potencial como tratamientos para mejorar o prevenir la enfermedad inflamatoria del intestino así como otros trastornos intestinales, incluyendo úlceras gástricas, duodenales e intestinales. Adicionalmente, algunos extractos vegetales, incluyendo extractos de bayas tales como arándano, aquí, lípidos resorcinólicos/fenólicos, resveratrol, flavonoides y sus derivados, solos o en combinación, tienen una aplicación potencial para los estados de EII y SII y otros estados intestinales o sistémicos. El modo de acción de los extractos de bayas, tales como el extracto de arándanos, sigue sin ser conocido, pero tiene efectos sobre la motilidad intestinal, la formación de heces y la flora del colon. Otros compuestos terapéuticos adicionales potenciales incluyen, pero sin limitarse a ellos, proteínas, péptidos terapéuticos, vacunas, anticuerpos o sus fragmentos. La administración local en la mucosa evitará la degradación y garantizará que una concentración local elevada esté disponible para aumentar la eficacia terapéutica. La encapsulación de cualquiera de los compuestos anteriores, solos o en combinación, en minicápsulas o miniesferas y dirigir la liberación a las áreas del intestino que están enfermas permite un control mejorado de la enfermedad así como, quizá, la reducción de cualquier efecto secundario sistémico.

Como se ha mencionado anteriormente, los siguientes compuestos terapéuticos son ampliamente prescritos: esteroides (por ejemplo, budesonida y otros corticosteroides y esteroides adrenales tales como prednisona e hidrocortisona, administrados solos o en combinación con un compuesto de xantina o metilxantina); citocinas tales como interleucina-10; antibióticos; agentes inmunomoduladores tales como azatioprina, 6-mercaptopurina, metotrexato, ciclosporina y agentes anti-factor de necrosis tumoral (TNF) como el receptor de TNF soluble y anticuerpos obtenidos a partir del TNF; y también agentes antiinflamatorios tales como el zinc. Los agentes más prescritos generalmente para la EII, incluyendo la sulfasalazina (salicil-azo-sulfapiridina o SASP) y los productos relacionados con el ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), se prescriben generalmente y, debido a sus importantes efectos secundarios, algunos de estos así como de las terapias mencionadas anteriormente se beneficiarían de la administración dirigida al colon y, en algunos casos, de la formulación previa para aumentar la solubilidad y la permeabilidad.

Un enfoque alternativo para tratar la enfermedad del colon o del intestino es administrar organismos vivos, incluyendo varias bacterias tales como probióticos, en regiones específicas del intestino o del colon en las que ejercen sus efectos protectores o terapéuticos. Stediler demostró que es posible en primer lugar desarrollar bacterias genéticamente modificadas para producir proteínas y a continuación dirigir la liberación de dichas proteínas, incluyendo las citocinas antiinflamatorias, en regiones del tracto gastrointestinal en las que ejercerán de forma óptima sus efectos protectores o terapéuticos. Esta invención permite formular las bacterias con estabilidad durante el almacenamiento y dirigir la liberación de dichos agentes en el lugar de acción óptima.

Esta invención es ventajosa para proporcionar métodos y formulaciones para tratar la enfermedad inflamatoria del intestino. La invención propone administrar concentraciones eficaces de ciclosporina, tacrolímús, sirolímús, hidralazina o DMOG presolubilizados, en las áreas afectadas del tracto gastrointestinal, con una absorción sistémica del fármaco precursor minimizada. La invención se refiere a, entre otras cosas, una composición farmacéutica para la administración a un sujeto que lo necesita que comprende una dosis de un compuesto farmacéutico activo y sus sales, ésteres y profármacos farmacéuticamente aceptables, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, donde la composición presenta liberación localizada y presenta:

- Para la colitis ulcerativa y la enfermedad de Crohn: el siguiente perfil de disolución, cuando se ensaya con un dispositivo U.S.P. de tipo II (paletas) a 37°C y 50 rpm, en una disolución tampón de pH 6,8 para el ensayo - hasta 4 horas: menos de o igual a aproximadamente 20% del fármaco liberado; 6 horas: menos de o igual a aproximadamente 35% del fármaco liberado; 8 horas: menos de o igual a aproximadamente 50% del fármaco liberado; 12 horas: menos de o igual a aproximadamente 60% del fármaco liberado; 18 horas: menos de o igual a aproximadamente 75% del fármaco liberado; y 24 horas: de aproximadamente 25% a aproximadamente 100% del fármaco liberado.
- Para la GI-GVHD: el siguiente perfil de disolución, cuando se ensaya con un dispositivo U.S.P. de tipo II (paletas) a 37°C y 50 rpm, en una disolución tampón de pH 6,8 para el ensayo - 1 hora: menos de o igual a aproximadamente 20% del fármaco liberado; 4 horas: menos de o igual a aproximadamente 35% del fármaco liberado; 6 horas: menos de o igual a aproximadamente 50% del fármaco liberado; 12 horas: menos de o igual a aproximadamente 60% del fármaco liberado; 16 horas: menos de o igual a aproximadamente 75% del fármaco liberado; y 24 horas: de aproximadamente 25% a aproximadamente 100% del fármaco liberado.

Esta invención se refiere a formulaciones y métodos para tratar la enfermedad inflamatoria del intestino. La expresión "enfermedad inflamatoria del intestino" incluye, pero sin limitarse a ellas, la colitis ulcerativa, la enfermedad de Crohn y la GI-GVHD. Otras enfermedades contempladas para su tratamiento o prevención mediante la presente invención incluyen la colitis no ulcerativa y carcinomas, pólipos y/o quistes en el colon y/o el recto. Todas estas enfermedades están dentro del alcance de la expresión "enfermedad inflamatoria del intestino" como se usa en la presente memoria, aunque la invención no requiere de la inclusión de cada uno de los miembros enumerados. Por lo tanto, por ejemplo, la invención se puede dirigir al tratamiento de la enfermedad de Crohn, con la exclusión de todos los otros miembros; de la colitis ulcerativa, con la exclusión de todos los otros miembros; o de cualquier enfermedad o estado únicos, o combinación de enfermedades o estados, con la exclusión de cualquier otra enfermedad o estado o combinación de enfermedades o condiciones.

#### Alivio del estreñimiento

El estreñimiento se manifiesta en varios estados de enfermedad o como efecto secundario de algunas terapias. Algunas enfermedades, incluyendo el síndrome del intestino irritable, pueden producir episodios importantes de estreñimiento. Ha sido bien documentado que muchos compuestos terapéuticos incluyendo, pero sin limitarse a ellos, opioides y antibióticos, producen estreñimiento. Los opioides, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, morfina, sulfato de morfina y los opioides sistémicamente activos naltrexona y naloxona, se prescriben ampliamente para el tratamiento eficaz de múltiples estados que requieren la modulación del dolor. A menudo, la etapa limitante de la tasa para el tratamiento eficaz con opioides es el estreñimiento. Para evitar el estreñimiento, se han adoptado varios enfoques, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, agentes osmóticos tales como el polietilenglicol, laxantes tales como la sena natural y el bisacodilo, y antagonistas del receptor 5HT tales como el zelnorm antagonista 5HT4. Aunque dichos agentes adyuvantes pueden ser eficaces para tratar dichos efectos adversos, pueden asociarse con efectos adversos adicionales y a veces son ineficaces. Como alternativa, los antagonistas del receptor opioide mu metilnaltrexona y el alminopán han demostrado tener beneficios positivos en el tratamiento del estreñimiento inducido por opioides.

La metilnaltrexona ha estado desarrollándose desde que se sintetizó por primera vez en 1979 para contrarrestar el efecto astringente de la morfina, pero este uso todavía no ha sido aprobado por la FDA. Como la metilnaltrexona no cruza la barrera hematoencefálica, se creyó que contrarrestaba los efectos astringentes de los opioides sin reducir su eficacia para aliviar el dolor. Todavía quedan algunas cuestiones principales sobre qué dosis es más eficaz y hasta qué punto, y con qué frecuencia, se debe dar el fármaco. Se ha informado de que el alminopán es eficaz para acelerar la recuperación gastrointestinal en pacientes que han sufrido laparotomía. Es un antagonista del receptor opioide mu que actúa periféricamente, diseñado para bloquear los efectos secundarios adversos de los analgésicos opioides sobre el tracto gastrointestinal sin bloquear sus efectos analgésicos beneficiosos. Un análisis agrupado de

3 fases 3 ensayos de eficacia evaluaron el efecto de analgésicos opioides después de la cirugía. El alminopán aceleró la recuperación gastrointestinal manteniendo a la vez la analgesia mediada centralmente medida por el consumo de opioide y las puntuaciones analógicas visuales del dolor.

La presente invención permitirá la liberación controlada de productos que permitirán superar los efectos astringentes de los opioides. Puede ser beneficioso hacer que estos productos se liberen bien a lo largo del tracto gastrointestinal o bien en lugares específicos, bien en el intestino delgado o bien en el íleon o en el colon. Los beneficios pueden incluir menores requisitos de dosis, eficacia mejorada así como facilidad de administración y mayor distribución del producto. Además de superar los efectos astringentes de los opioides, la presente invención también puede convenir a otros estados tales como íleo post-operativo o estreñimiento general. Los productos potenciales incluyen agentes osmóticos de liberación controlada tales como el polietilenglicol, laxantes tales como la sena natural y el bisacodil, antagonistas del receptor 5HT tales como el zelnorm antagonista del 5HT4 así como los antagonistas del receptor opioide mu metilnaltrexona y alminopán.

Hay una necesidad no satisfecha de una forma de dosificación oral que permita la administración una vez diaria de fármacos basados en opioides con efectos secundarios reducidos. La forma de dosificación óptima requiere que el fármaco basado en opioides se libere durante un periodo de 18-24 horas, sea eficaz durante un periodo de 24 horas y presente efectos secundarios negativos reducidos, incluyendo estreñimiento y prurito.

La presente invención permitirá adicionalmente el desarrollo de productos de combinación, incluyendo combinaciones para la administración oral de uno o más opioides calmantes del dolor con uno o más agentes que alivien el estreñimiento. Específicamente, la presente invención propone desarrollar un producto de liberación controlada basado en la morfina, tal como sulfato de morfina, que se libere durante 18-24 horas, en presencia o ausencia de un inhibidor del canal iónico de liberación controlada, tal como, pero sin limitarse a ella, nimodipina, para alargar el periodo analgésico eficaz, en combinación con un antagonista opioide de liberación controlada, tal como naloxina, naltrexona o metilnaltrexona, que puede ser liberado a lo largo del tracto gastrointestinal o solo en el colon o en el recto.

#### Tolerancia oral

El sistema inmune de la mucosa intestinal ha evolucionado una capacidad para mantener una relativa falta de respuesta o tolerancia frente a una amplia variedad de antígenos derivados de fuentes alimentarias y de bacterias comensales. Este fenómeno se denomina tolerancia oral. Friedman *et al.* han propuesto que la tolerancia oral está mediada por la generación de una supresión celular activa o de anergia clonal y que el factor determinante es la dosis de antígeno obtenida oralmente (*PNAS USA* 1994; 91: 6688-92). La tolerancia oral es específica de la dosis y se puede producir pérdida de tolerancia con dosis aumentadas (Nagler-Anderson *et al.*, *PNAS USA* 1986; 83: 7443-6). La administración de dosis bajas de antígeno favorece la inducción de regulación celular activa (Chen *et al.*, 1994 *Science*, 265: 1237-1240). Las dosis elevadas favorecen la inducción de anergia clonal o delección (Chen *et al.*, 1995 *Nature*, 376: 177-180). En otro estudio, dosis elevadas de proteína básica de mielina (PBM) en ratones cuyas células T portan un receptor de células T (RCT) específico para la PBM produjo una activación de las células T y una modulación decreciente del receptor (Benson *et al.*, 2000 *J. Clin. Invest.* 106: 1031-1038). Adicionalmente, se ha demostrado que la tolerancia oral también puede ser aumentada incluyendo en la alimentación adyuvantes inmunes tales como lipopolisacáridos o subunidad B de la toxina del cólera, que parece estimular la poblaciones adicionales de células para la regulación decreciente de las respuestas inmunes (Khoury *et al.*, *J. Exp. Med.* 1992, 176: 1355-64).

Se ha demostrado que la tolerancia oral sirve en la prevención o el tratamiento de varios trastornos autoinmunes mediados por células T. En un ensayo piloto doble ciego que implicó a 30 pacientes con esclerosis múltiple, la administración oral de antígenos de la mielina bovina disminuyeron el número de células T que reaccionaron con la proteína básica de la mielina, con una toxicidad no medible (Werner *et al.*, *Science* 1993; 259: 1321-4). Trentham *et al.* demostraron la eficacia clínica de la tolerancia oral alimentando con colágeno de tipo II a 60 pacientes con artritis reumatoide activa grave (Trentham *et al.*, *Science* 1993, 261: 1727-30). En un modelo animal de ácido trinitrobenzenosulfónico (TNBS), colitis mediada por Th1, se informó de que alimentar extractos de colon haptendados con TNBS evitó el desarrollo de la inflamación de la mucosa (Neurath *et al.*, *J. Exp. Med.* 1996: 183: 2605-16). En un estudio en Fase I para evaluar la seguridad y la eficacia de incluir en la alimentación un extracto de proteína autóloga de colon para el tratamiento de enfermedad de Crohn moderada a grave, Margalit *et al.* demostraron la seguridad y la remisión inducida en 7 de 10 sujetos (*Am. J. Gastroenterol.* 2006, 101). Otros modelos animales de enfermedad, incluyendo ictus, enfermedad de Alzheimer y aterosclerosis así como diabetes del tipo 1 han respondido a la administración de antígenos en la mucosa.

Para aprovechar la tolerancia oral en el tratamiento de enfermedades orales autoinmunes o inflamatorias, será necesario comprender las distintas respuestas que se inducen o se suprimen durante este procedimiento, comenzando cuando el antígeno encuentra en primer lugar el tejido linfático asociado con el intestino (), un sistema inmune bien desarrollado que consiste en nódulos linfáticos (placas de Payer), vellosidades epiteliales, linfocitos intraepiteliales y otros linfocitos diseminados a lo largo de la lamina propia. Los antígenos pueden actuar directamente a nivel del TLAI o pueden ejercer sus efectos después de la absorción. Como la tolerancia oral y la inmunización de la mucosa son parte de un continuo inmunológico relacionado con el antígeno que presenta

interacciones celulares con las células T en el intestino. Por lo tanto, la administración oral de antígenos requerirá un reajuste – además la dosis de antígeno, la naturaleza del antígeno, el sistema inmune innato, los antecedentes genéticos y el estado inmunológico del huésped, y los adyuvantes de mucosa influirán en el resultado inmunológico después de la administración oral del antígeno. El desarrollo de sistemas profilácticos o terapéuticos basados en la inmunización en la mucosa y la tolerancia oral administrados oralmente se puede aprovechar de la administración dirigida en regiones específicas en el tracto intestinal. El recto/colon es una mezcla de sitios inductivos inmunes (tejidos linfáticos organizados) y sitios efectores (lámina propia difusa), mientras que el yeyuno casi no contiene sitios inductivos inmunes. Esto se refleja en la composición linfática de cada tejido: el yeyuno contiene principalmente células T CD4+ de memoria, mientras que el colon contiene una mayor proporción de células T CD4+ naturales (Veazey y Lackner, 2006, *PLoS Medicine* 3:12, 2188-9). Por lo tanto, se puede suponer que durante la ingestión normal los péptidos y proteínas se degradan de forma que el colon ya no activa una respuesta inmune en las células T CD4+ naturales.

La presente invención permitirá el desarrollo de formulaciones que comprenden péptidos antigénicos necesarios, incluyendo cualquiera de sus formatos covalentemente o no covalentemente modificados, para ser formulados con o sin adyuvantes o mejoradores de la permeabilidad, y ser encapsulados en una sola o en múltiples capas, estando las capas o revestimientos poliméricos modificados para garantizar la liberación en la localización más apropiada a lo largo del intestino o en el colon/recto. El resultado será una tecnología de administración basada en la tolerancia oral y la inmunización en la mucosa administrada oralmente optimizada, sintonizable y modular. Además de las enfermedades mencionadas anteriormente que han sido estudiadas, la presente invención también se puede beneficiar de aplicaciones más amplias, tales como, pero sin estar limitadas a ellas, la enfermedad celiaca, alergias alimentarias y alergias más generales.

#### Tratamiento y vacunas del VIH de moléculas pequeñas

En la infección aguda por VIH, se produce una rápida e importante pérdida de células T CD4+ CCR5+ a los días de la infección, mientras que los tejidos linfáticos periféricos tales como la sangre y los nódulos linfáticos, que albergan principalmente células T CD4+ naturales, resultan menos severamente afectados (Brenchley *et al.* 2004, *J. Exp. Med.* 200: 749-759). Este reconocimiento del sistema inmune de la mucosa como principal diana de la infección temprana por VIH tiene implicaciones para el desarrollo de vacunas. Además, Mehandru *et al.* estudiando las poblaciones de linfocitos del intestino y de la sangre periférica obtenidas de pacientes infectados por VIH recientemente y de voluntarios no infectados demostraron que la mayoría de los pacientes que iniciaron una terapia anti-retroviral de alta actividad (TAR) tan pronto como fue posible después de la infección por VIH aún no experimentan el restablecimiento total de las células T CD4+ intestinales a los niveles de la línea base, independientemente de la duración de la terapia. En cambio, la infección por VIH produce un estado continuo de activación en el sistema inmune intestinal que no se refleja en los tejidos linfáticos periféricos (Mehandru *et al.*, 2006, *PLoS Med* 3 (12): e484). Los datos de Mehandru *et al.* proporcionan evidencia de que en los pacientes con TAR se producen inflamación intestinal e infección continua, destrucción y transferencia de las células T CD4+. Esto podría sugerir que los fármacos con una mejor distribución en el tejido intestinal, junto con, quizá, mecanismos para reducir o evitar la activación inmune en los tejidos de la mucosa pueden combatir más eficazmente la infección por VIH.

La presente invención permitirá varios enfoques para la prevención y el tratamiento del VIH/SIDA, incluyendo la liberación controlada de TARs a lo largo del tracto intestinal y colon/recto completo o en sitios pre-especificados a lo largo del mismo. Además, la presente invención permitirá el desarrollo de vacunas o terapias inmunoterapéuticas basadas en la tolerancia oral así como en la mucosa del intestino/colon. Además, con la presente invención, es posible un enfoque de combinación TAR/sistema inmune.

#### Moduladores de la unión estrecha

Existen varias moléculas y péptidos pequeños que están en desarrollo para regular el estado funcional de las uniones estrechas (abreviado generalmente como TJ por sus iniciales en inglés: tight junction). Las moléculas que abren de forma transitoria y reversible las TJ de los tejidos epiteliales y endoteliales, tales como la mucosa intestinal, la barrera hematoencefálica y el epitelio pulmonar. Como el aumento de la permeabilidad celular está implicado como un factor causal en muchos estado de enfermedad, la modulación de la permeabilidad por las vías reguladoras de las TJ representa una oportunidad terapéutica muy importante. La aplicaciones potenciales van del tratamiento de las enfermedades que implican la disfunción en las uniones estrechas y la autoinmunidad a las vacunas y la administración de fármacos. Algunos moduladores de las TJ tales como, pero sin limitarse al acetato de parozotida, tienen potencial en el tratamiento de los trastornos gastrointestinales, incluyendo la enfermedad celiaca y la enfermedad inflamatoria del intestino. La presente invención permitirá la administración local de moduladores de las uniones estrechas y, por lo tanto, aumentará la utilidad de dichos agentes en el tratamiento de una serie de enfermedades o para promover la inducción de la inmunidad sistémica o de la mucosa para facilitar el desarrollo de vacunas orales o enfoques de tolerancia oral.

#### Terapéuticas antialérgicas

Se ha propuesto a partir de la denominada hipótesis de la higiene que la modulación del sistema inmune por la infección con parásitos helmintos, incluyendo los esquistosomas, reducen los niveles de respuestas alérgicas en

individuos infectados. Esta hipótesis propone que un desplazamiento en el sistema inmune hacia la inmunidad de tipo 1 por la exposición temprana a infecciones tales como las infecciones bacterianas y víricas protege frente a enfermedades alérgicas mediante la reducción de la expresión de la citocina Th2 provocada generalmente por los alérgenos. Una explicación alternativa mantiene que algunas infecciones por parásitos helmintos pueden proteger frente a los trastornos alérgicos debido a que las poblaciones humanas con tasas elevadas de infecciones parasitarias por helmintos, que inducen un desplazamiento hacia las respuestas Th2 "alérgicas", tienen una prevalencia reducida de trastornos alérgicos. Las *Schistosoma spp.* son parásitos helmintos tropicales, que se asocian característicamente con ser potentes inductores de las respuestas de citocina Th2 incluyendo las respuestas de eosinofilia e IgE, que han sido postuladas para mejorar los trastornos atópicos en humanos (*The Journal of Immunology*, 2004, 173: 6346-6356).

La evidencia circunstancial sugiere que las *Schistosoma spp.*, parásitos helmintos tropicales, mejoran los trastornos atópicos en humanos. Las esquistosomas se asocian característicamente con ser potentes inductores de las respuestas de citocina Th2 incluyendo las respuestas de eosinofilia e IgE. A pesar de que las respuestas Th2 se consideran necesarias para el desarrollo de alergias, la presencia de infecciones por esquistosomas en humanos puede reducir las respuestas alérgicas en poblaciones infectadas.

Para confirmar la hipótesis de la higiene, niños en edad escolar infectados con *Schistosoma hematobium* en Gabón presentaron una menor prevalencia de reactividad en la piel a ácaros del polvo casero que los que estaban libres de esta infección. Por lo tanto, se ha propuesto que la regulación decreciente crónica del sistema inmune durante la infección con helmintos produce un medio regulador que puede comunicar protección frente a las alergias.

Bashir *et al.* han demostrado el papel de la infección con helmintos en la protección frente al desarrollo de alergia en ratones (Bashir *et al.* (2002) *J. Immunol.* 169: 3284). Evaluaron el efecto de las respuestas Th2 inducidas por la infección intestinal con helmintos (*H. polygyrus*) sobre el desarrollo de una respuesta alérgica al cacahuete alérgeno alimentario Ag, siendo la protección mediada al menos parcialmente por la producción de IL-10.

Aunque se ha demostrado un nuevo mecanismo por el que el parásito helminto puede prevenir la anafilaxia en ratones, puede ser demasiado simplista concebir un mecanismo común por el que diferentes parásitos helmintos pueden prevenir las respuestas alérgicas. En un estudio se ha demostrado que la infección de ratones con un nematodo gastrointestinal (*H. polygyrus*) reduce las respuestas alérgicas, mientras que en otro estudio separado ratones infectados con otro nematodo gastrointestinal (*Trichinella spiralis*) ha agravado la anafilaxia (Strait *et al.*, 2003, *J. Immunol.* 170: 383). Por lo tanto, se sugiere que hay diferencias definidas en la infectividad y en la inmunidad de estos dos parásitos así como en los modelos de alergia usados que podrían explicar las diferencias entre los estudios.

El laboratorio de Fallon ha demostrado que la infección por *S. Mansoni* protege a los ratones de un modelo experimental de anafilaxis sistémica mortal, habiéndose mostrado que la etapa de gusano de la infección media este efecto protector. En este estudio se demostró que los ratones infectados con *S. mansoni* son resistentes a la anafilaxia sistémica experimental. Se estableció que es la etapa de gusano de la infección la que elicit el fenotipo protector de este modelo, con los ratones infectados por el gusano totalmente protegidos frente a la anafilaxia, mientras que los ratones infectados con los huevos del gusano solo fueron parcialmente protegidos. Se ha identificado que la infección de los ratones por gusano de esquistosoma evita la anafilaxia mediante un mecanismo dependiente de las células B y la IL-10 (*The Journal of Immunology* 2004, 173: 6346-6356).

El asma es un trastorno inflamatorio atópico de las vías respiratorias que se caracteriza por una hipersensibilidad de las vías respiratorias aumentada (abreviado generalmente como AHR por sus iniciales en inglés: airways hyperresponsiveness), la infiltración de eosinófilos en las vías respiratorias e hipersecreción de mucus que produce una obstrucción intermitente de las vías respiratorias. La etiología inmune del asma es compleja, pero los análisis genéticos e inmunológicos de individuos atópicos han revelado que las citocinas de tipo Th2 están asociadas causalmente con una respuesta de citocina de tipo 2 que se caracteriza por un desarrollo de células (Th2) aumentado y la producción de IL-4, -5, -9 y -13 que da lugar a la producción de IgE, hiperplasia mucosa y esinofilia.

El laboratorio de Fallon ha demostrado que la infección por *Schistosoma mansoni* protege a los ratones de la anafilaxia mediante un mecanismo regulador inducido por el gusano. En un estudio para evaluar si la infección de *S. mansoni* en ratones, siendo el ratón el modelo animal preferido para los estudios sobre la inmunobiología de la esquistosomiasis, alteró la susceptibilidad de los animales a la AHR inducida por OVA, que también se usa ampliamente como modelo de la inflamación pulmonar humana. Se demostró que la etapa de gusano de la infección por *S. mansoni* moduló los ratones ya que estos fueron resistentes a la AHR. Este es la primera demostración formal de un mecanismo que usa gusanos parásitos humanos para suprimir la inflamación de las vías respiratorias inducida por alérgenos.

La presente invención permitirá el desarrollo de formulaciones que contienen parásitos enteros o sus fragmentos, incluyendo gusanos helmintos tales como *Schistosoma mansoni*, y el nematodo gastrointestinal *H. polygyrus*, incluyendo cualquiera de sus formatos modificados covalente o no covalentemente, para ser formulados con o sin adyuvantes o mejoradores de la permeabilidad, y ser encapsulados en una sola o en múltiples capas, estando las capas o revestimientos poliméricos modificados para garantizar la liberación en la localización más apropiada a lo

largo del intestino o en el colon/recto. El resultado será una tecnología de administración antialérgica administrada oralmente optimizada, sintonizable y modular. Además de las enfermedades mencionadas anteriormente que han sido estudiadas, la presente invención también se puede beneficiar de aplicaciones más amplias, tales como, pero sin estar limitadas a ellas, el asma, la enfermedad celíaca, alergias alimentarias y alergias más generales.

#### 5 Liberación dirigida de ácido linoleico conjugado (CLA)

El ácido linoleico conjugado (abreviado generalmente como CLA por sus iniciales en inglés: conjugated linoleic acid) es un término colectivo usado para describir uno o más isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico, un ácido graso esencial. La reciente atención centrada en el CLA se puede explicar por la abundancia de potenciales beneficios para la salud atribuidos a este ácido graso excepcional.

10 Los productos lácteos y otros alimentos derivados de animales rumiantes son las principales fuentes alimentarias de CLA. El isómero cis-9, trans-11 es el isómero del CLA biológicamente activo predominante en la materia grasa de origen lácteo bovino y en la dieta global de los humanos. Recientemente, se ha demostrado la actividad biológica de otros isómeros, particularmente el isómero trans-10, cis-12.

15 Varios factores, tales como la dieta, pueden influir en el contenido de CLA en la materia grasa de origen lácteo. Como el contenido de CLA de los productos lácteos está relacionado con su contenido en grasa, los niveles de CLA son mayores en productos con mayor contenido en grasa que en los de menor contenido en grasa. El descubrimiento de que varias manipulaciones de la dieta pueden aumentar el contenido de CLA de la materia grasa de origen lácteo puede abrir camino para alimentos lácteos enriquecidos con CLA.

20 Estudios *in vitro* y en modelos experimentales animales permiten documentar un número creciente de potenciales beneficios para la salud del CLA. Estos beneficios incluyen: Efectos anticancerígenos – el CLA inhibe la proliferación de algunos cánceres tales como los cánceres de mama, colorrectal, de próstata y de estómago. Virtualmente todos los estudios han usado mezclas sintéticas de CLA. Por primera vez, se ha demostrado un efecto anticancerígeno del CLA natural en alimentos (mantequilla). Efectos antiaterogénico – el CLA disminuye el colesterol total y el colesterol LDL así como los niveles de triglicéridos y reduce la gravedad de las lesiones ateroscleróticas en las aortas de los animales experimentales. Cambios en la composición corporal – la ingesta de CLA reduce la grasa corporal y aumenta la masa corporal magra en varias especies de animales en crecimiento. Función inmune aumentada – el CLA aumenta las respuestas inmunes selectivas en animales experimentales, protegiéndolos al mismo tiempo frente a la caquexia o debilitamiento corporal de origen inmune. Formación ósea aumentada – la ingesta de CLA por animales en crecimiento aumenta la tasa de formación de huesos por factores influyentes que regulan el metabolismo óseo. Efectos antidiabéticos – el CLA aumenta la utilización de glucosa y revierte síntomas de la diabetes en animales de laboratorio con riesgo genético de padecer esta enfermedad.

35 Aún queda mucho por ser aprendido sobre el (los) mecanismo(s) subyacente(s) por los el CLA ejerce sus diversos efectos fisiológicos. Es probable que haya varios mecanismos implicados. El amplio espectro de los efectos biológicos del CLA puede ser explicado, en parte, por los efectos biológicos singulares de los isómeros específicos del CLA. Aunque el isómero cis-9, trans-11 parece ser responsable de varios beneficios potenciales para la salud atribuidos al CLA, nuevos descubrimientos indican que los efectos del CLA sobre el metabolismo lipídico y la composición corporal se deben en gran medida al isómero trans-10, cis-12.

40 La presente invención permitirá el desarrollo de formulaciones que contienen CLA o sus fracciones o sus derivados, incluyendo cualquiera de sus formatos covalentemente o no covalentemente modificados para ser formulados con o sin adyuvantes o mejoradores de la permeabilidad, y para ser encapsulados en una sola o en múltiples capas, estando las capas o revestimientos poliméricos modificados para garantizar la liberación en la localización más apropiada a lo largo del intestino o en el colon/recto. El resultado será un producto optimizado, sintonizable y modular administrado oralmente para aumentar la absorción sistémica, para la terapéutica sistémica o administrado en regiones específicas del TGI para tratar localmente enfermedades intestinales o del colon.

45 La presente invención proporciona una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas que comprende al menos una población de minicápsulas que, al ser administradas a un paciente, presenta un perfil de liberación sencillo, bimodal o multimodal a través del tracto gastrointestinal completo o en regiones especificadas previamente a lo largo del tracto gastrointestinal.

50 La composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas o miniesferas puede comprender al menos dos poblaciones de minicápsulas que contienen un ingrediente activo que, al ser administradas a un paciente, presentan un perfil de liberación sencillo, bimodal o multimodal que produce un perfil en plasma en los parámetros farmacocinéticos terapéuticamente eficaz.

55 En un caso, la invención proporciona una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas que comprende al menos dos poblaciones de minicápsulas que contienen un ingrediente activo que, al ser administradas a un paciente, presentan un perfil de liberación pulsátil.

En otro caso, la invención proporciona una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas que comprende al menos dos poblaciones de minicápsulas que contienen un ingrediente activo que, al ser administradas a un paciente, producen un perfil pulsátil en plasma.

5 La invención también proporciona una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas que comprende al menos dos poblaciones de minicápsulas que contienen un ingrediente activo que, al ser administradas a un paciente, producen un perfil en plasma esencialmente similar al perfil en plasma producido por la administración de dos o más formas de dosificación LI administradas secuencialmente.

10 La invención también proporciona una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas que comprende al menos dos poblaciones de minicápsulas que contienen un ingrediente activo, en las que la cantidad del uno o más ingredientes activos en la primera población de minicápsulas es una porción menor de la cantidad del uno o más ingredientes activos en la composición, y la cantidad del uno o más ingredientes activos en la una o más poblaciones adicionales de minicápsulas es una porción mayor de la cantidad del uno o más ingredientes activos en la composición.

15 En otro aspecto, la invención proporciona una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas, en la que cada minicápsula contiene uno o más ingredientes activos combinados en el núcleo de la minicápsula, la envoltura o el revestimiento o están presentes separadamente en cada una para permitir un perfil farmacocinético prolongado o de orden cero mediante la modificación de la formulación del núcleo, la envoltura o el revestimiento de la minicápsula.

20 La invención proporciona además una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas que comprende al menos dos poblaciones de minicápsulas que contienen diferentes ingredientes activos en los que los dos o más ingredientes activos se liberan simultáneamente.

Alternativamente, la invención proporciona además una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas que comprende al menos dos poblaciones de minicápsulas que contienen diferentes ingredientes activos en los que los dos o más ingredientes activos se liberan secuencialmente.

25 Todavía otro objetivo de la invención es proporcionar una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas para proteger un compuesto ácido lábil.

La invención proporciona además una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas para proteger los ingredientes activos sensibles a enzimas degradativas y liberarlos proximales a la pared celular epitelial intestinal o en el colon, en el lumen o proximal a la pared epitelial en el intestino delgado o en el colon.

30 En un caso, la invención proporciona además una composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas con la que el ingrediente o ingredientes activos se liberan en el íleon o en el colon, donde el ingrediente activo no se absorbe pero puede ser todavía localmente activo.

35 En la invención, la composición del núcleo de la minicápsula puede incluir excipientes en una forma líquida que permite la liberación controlada o prolongada junto con o independientemente de la envoltura o del revestimiento. Dichas formas pueden incluir varias estructuras de matriz o polímeros extruidos en estado fundido o excipientes a base de lípidos modulados por la temperatura, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, la serie Gattefosse Gelucire® de triglicéridos saturados o la serie Sasol de triglicéridos saturados Witepsol® que han demostrado una liberación prolongada considerable cuando se exponen al medio gastrointestinal.

40 La composición del núcleo de la minicápsula puede incluir excipientes en una forma semilíquida o sólida que permita la liberación controlada o prolongada junto con o independientemente de la envoltura o del revestimiento o donde el núcleo comprende la minicápsula o miniesfera completa.

45 El excipiente farmacéuticamente aceptable puede elegirse entre vehículos, agentes de relleno, aditivos, aglomerantes, humectantes, agentes disgregantes, agentes retardadores de la disolución, aceleradores de la absorción, agentes humectantes, absorbentes, lubricantes, estabilizantes, agentes colorantes, agentes reguladores del pH, agentes dispersantes, conservantes, ácidos orgánicos y bases orgánicas.

Las composiciones de liberación modificada de la invención pueden comprender un núcleo de liberación inmediata y una membrana semipermeable. En algunos modos de realización, la composición de liberación modificada de la invención puede comprender un núcleo semisólido de liberación modificada y una membrana semipermeable.

50 La presente invención también proporciona una liberación prolongada de fármacos, que de otra manera se absorberían fácilmente en el intestino delgado pero presentarían una absorción limitada en el colon, mediante la liberación dirigida de formulaciones en las que el fármaco u otra entidad están presolubilizados. Los ejemplos de dichos fármacos incluyen el tacrolimús, carvedilol, ciclosporina e losartán.

La presente invención permite la liberación prolongada de carvediol de forma simultánea o secuencial con hidralazina para el tratamiento de algunos estados cardiovasculares incluyendo, pero sin limitarse a ellos, la insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión arterial y otros.

5 La presente invención proporciona formulaciones de liberación prolongada de carvediol de forma simultánea o secuencial con hidralazina para la prevención o la reducción del riesgo de algunos estados cardiovasculares incluyendo, pero sin limitarse a ellos, la insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión arterial y otros.

10 La presente invención también permite el desarrollo de liberación prolongada de tacrolimús o ciclosporina combinados con un antioxidante o un inhibidor del factor nuclear kappa B tal como, pero sin limitarse a ellos, los curcuminoides tal como, pero sin limitarse solo a la cúrcuma, para reducir la nefrotoxicidad o aumentar la eficacia en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o para aumentar la eficacia en el tratamiento de los trastornos renales asociados con la diabetes.

La presente invención también permite el desarrollo de liberación prolongada de tacrolimús, sirolimús o ciclosporina en combinación con micofenolato de mofetilo y/u otros inmunomoduladores para aumentar el control del tratamiento posterior a un trasplante.

15 La invención también se refiere a métodos para tratar la enfermedad inflamatoria del intestino que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende una dosis de ciclosporina, sirolimús o tacrolimús, o sus sales, ésteres y profármacos farmacéuticamente aceptables, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Dichas formulaciones se desarrollan preferentemente para asegurar la liberación en el íleon y/o el colon.

20 Todavía otro modo de realización de esta invención se refiere a métodos para tratar la enfermedad inflamatoria del intestino o el síndrome del intestino irritable que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende un inhibidor eficaz de la hidroxilasa, incluyendo inhibidores de PHD como inhibidores de la asparaginil-hidroxilasa, tal como, pero sin limitarse a ellos, hidralazina, DMOG y otros, y entidades activas o inactivas modificadas covalente o no covalentemente, incluyendo donantes de óxido nítrico (donantes de NO).

25 Todavía otro modo de realización de esta invención se refiere a métodos de tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o el síndrome del intestino irritable que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende activadores del factor nuclear Kappa B (NFκB) incluyendo, pero sin limitarse a ellos, DMOG, hidralazina, BAY 117082, cúrcuma u otros y/o sus derivados covalentes o no covalentes incluyendo, pero sin limitarse a ellos, grupos donantes de óxido nítrico unidos covalentemente que también pueden inhibir la apoptosis, con liberación de los mismos dirigida al íleon o al colon.

30 Todavía otro modo de realización de la invención se refiere a métodos para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende tacrolimús o ciclosporina A y un curcuminóide, tal como, pero sin limitarse a la cúrcuma, con liberación de los mismos dirigida al íleon o en el colon.

35 Todavía otro modo de realización de la invención se refiere a métodos para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del TNF $\alpha$ , incluyendo moléculas pequeñas así como anticuerpos u otros compuestos biofarmacéuticos y/o sus derivados covalentes o no covalentes con liberación de los mismos dirigida al íleon o al colon.

40 Un modo de realización más de la invención se refiere a métodos para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o el síndrome del intestino irritable que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la cinasa kappa B alfa (IKκB $\alpha$ ) y/o uno de sus derivados covalentes o no covalentes con liberación de los mismos dirigida al íleon o al colon.

45 Todavía otro modo de realización de esta invención se refiere a métodos para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o el síndrome del colon irritable que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende nicotina y/o sus derivados covalentes o no covalentes con liberación de los mismos dirigida al íleon o al colon.

50 Todavía otro modo de realización de esta invención se refiere a métodos para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o el síndrome del colon irritable que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende una dosis de un donante de NO, tal como, pero sin limitarse a ellos, NOC5 [3-(2-hidroxi-1-(metiletil)-2-nitrosodiazirino)-1-propanamina], NOC12 [N-etil-2-etil-hidroxi-2-nitrosodiazirino-etanamina], nitroglicerina y otros compuestos terapéuticos modificadas para incluir un donante de NO conjugado.

55 Otro modo de realización de la presente invención se refiere a la liberación dirigida de extractos vegetales, marinos y otros extractos, incluyendo aceites esenciales tales como de nim, de aloe vera y la serie omega de los aceites poliinsaturados incluyendo EPA, DHA y CLA, con o sin extractos vegetales tales como, pero sin limitarse a ellos,

extractos de bayas, tripala, cúrcuma, resveratrol, lípidos resorcinólicos/fenólicos, flavanoides y cualquiera de sus derivados naturales o sintéticos.

5 Otro modo de realización de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una combinación de cualquiera de los ejemplos anteriores liberada en cualquier parte a lo largo del tracto gastrointestinal.

En otro modo de realización, esta invención se refiere a métodos para tratar otras enfermedades del colon incluyendo, pero sin limitarse a ellas, carcinomas, pólipos y/o quistes del colon y/o del recto, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica que comprende una dosis de un inhibidor de la COX-II, tal como, pero sin limitarse a, celebrex o un antimetabolito tal como metotrexato.

10 En un modo de realización adicional de la presente invención se incluye la liberación dirigida de formulaciones de moléculas pequeñas o de macromoléculas, incluyendo vacunas y compuestos inmunoterapéuticos, que son absorbidos preferentemente por el tejido linfático en el colon o en cualquier otra parte en tracto gastrointestinal.

15 Un modo de realización adicional de la presente invención se refiere a la liberación dirigida de formulaciones para el tratamiento de la cirrosis hepática u otros estados relacionados con la fibrosis, incluyendo bloqueantes del canal del calcio tales como, pero sin limitarse a, la nifedipina o inhibidores de la hidroxilasa tal como, pero sin limitarse a, hidroxilasa o donantes de óxido nítrico o sus derivados, administrados solos o en combinación. Dichos agentes activos pueden ser formulados con entidades que se dirigen preferentemente al hígado, incluyendo ciclodextrinas conjugadas o sus derivados.

20 Aún otro modo de realización es la co-administración de diuréticos de liberación inmediata en el túbulo proximal y diuréticos de liberación retardada en el túbulo distal, tal como, pero sin limitarse a ellos, manitol, acetazoloamida, furosemida, espironolactona, amilorida, triamtereno, butnetanida, ácido etacrínico o tiazidas, para el tratamiento de la hipertensión y de otros trastornos relacionados con el nefrón.

25 Un modo de realización adicional de la invención es un producto sencillo o combinado para tratar la diabetes o las complicaciones asociadas con la diabetes que incluyen uno u otro entre insulina, sensibilizadores de la insulina, sulfonamidas, péptidos similares a los glucagones o similares, liberados simultánea o secuencialmente según sea necesario.

30 Otro modo de realización de la invención es un producto sencillo o combinado para tratar una o más enfermedades cardiovasculares que comprende una formulación farmacéutica que comprende uno u otro entre estatina, un complejante del ácido biliar, un inhibidor de la absorción del colesterol, un inhibidor de la absorción de lípidos, un antioxidante, aspirina, un fibrato, un inhibidor del ACE, un inhibidor del receptor ATII, un donante de óxido nítrico, un beta-bloqueante, un bloqueador del canal del calcio, etc. liberados simultánea o sucesivamente, según sea necesario.

35 Todavía otro modo de realización adicional de esta presente invención es la liberación gastrointestinal dirigida de formulaciones que contienen anticuerpos, incluyendo sus fragmentos, para maximizar la biodisponibilidad sistémica o aumentar la eficacia intestinal local.

Todavía un modo de realización adicional de esta presente invención es la liberación gastrointestinal dirigida de formulaciones que contienen ácidos nucleicos terapéuticos, incluyendo oligonucleótidos antisentido, siRNAs y constructos de terapia génica, para maximizar la biodisponibilidad sistémica o aumentar la eficacia intestinal local.

40 Todavía un modo de realización adicional de esta presente invención es la liberación gastrointestinal dirigida de formulaciones que contienen péptidos, proteínas o hidrocarburos, incluyendo constructos modificados o conjugados, para maximizar la biodisponibilidad sistémica o aumentar la eficacia intestinal local.

Todavía un modo de realización de la presente invención se refiere a la formación de complejos no covalentes de un fármaco con un vehículo tal como ciclodextrinas, maltodextrinas, dextrinas o sus modificaciones y dirigir su liberación a sitios específicos a lo largo del tracto gastrointestinal.

45 Otro modo de realización particular de la presente invención se refiere a moléculas pequeñas o moléculas biofarmacéuticas, que pueden incluir constructos de siRNA, que han sido conjugados con entidades que sirven bien para aumentar la estabilidad y/o bien para aumentar la naturaleza hidrofílica de la molécula de fármaco activo y dirigir la liberación de dichos conjugados al intestino delgado o al colon.

50 Especialmente, otro modo de realización de la presente invención se refiere a moléculas pequeñas o moléculas biofarmacéuticas, que pueden incluir constructos de siRNA, a las que han sido conjugadas entidades lipofílicas para aumentar la estabilidad y/o aumentar la permeabilidad de la pared intestinal, y dirigir la liberación de dichos conjugados al intestino delgado o al colon.

Todavía un modo de realización adicional de la presente invención es la liberación gastrointestinal dirigida de formulaciones que contienen fármacos conjugados, cuya conjugación evita la absorción en la vasculatura linfática o sistémica aunque manteniendo la eficacia terapéutica intestinal.

5 Todavía un modo de realización adicional de la presente invención es la liberación gastrointestinal dirigida de formulaciones que comprenden compuestos activos poco solubles, incluyendo moléculas pequeñas y compuestos biofarmacéuticos formulados con, entre otros excipientes, mejoradores de la permeabilidad tales como, pero sin limitarse a ellos, dodecanoato (C12) de sodio, caprato (C10) de sodio y/o palmitato (C16) de sodio.

10 Un modo de realización adicional de la presente invención es la liberación gastrointestinal dirigida de formulaciones que contienen organismos vivos u organismos vivos atenuados, incluyendo bacterias o bacterias genéticamente modificadas y/o virus vivos o virus vivos atenuados.

15 En la presente invención, en el desarrollo de tratamientos para la enfermedad inflamatoria del intestino, el ingrediente farmacéutico activo es intercambiable, incluyendo uno cualquiera o una combinación de ciclosporina A, tacrolímús, sirolímús, hidralazina, DMOG, inhibidores de la propil- y/o la asparaginil-hidroxilasa, EPA, DHA, extractos vegetales naturales, extractos marinos naturales u otras entidades biológicas y activas que pueden incluir constructos de siRNA.

En la presente invención en el desarrollo de tratamiento para la enfermedad del injerto contra el huésped, el ingrediente farmacéutico activo es intercambiable, incluyendo uno cualquiera o una combinación de ciclosporina A, tacrolímús, sirolímús, EPA, DHA, extractos vegetales naturales, extractos marinos naturales u otras entidades biológicas y activas que pueden incluir constructos de siRNA.

20 En la presente invención, las entidades moduladoras inmunológicas, incluyendo antígenos, adyuvantes, emulsiones, aceites y moléculas pequeñas, son intercambiables y pueden ser utilizados para el desarrollo de vacunas, moduladores de la tolerancia oral y moduladores alérgenos, los cuales pueden incluir constructos de siRNA.

25 La invención permite el desarrollo de minicápsulas rellenas con un sólido, semisólido o líquido, que comprenden una o más capas y producidas usando procedimientos convencionales para la fabricación de minicápsulas sin juntas, extrusión en estado fundido modificado, revestimiento de *nonpareil*, recubrimiento de fármacos con *nonpareil* y otros procedimientos que permiten la producción de la forma de dosificación deseada.

30 La invención puede ser aplicada a una amplia gama de revestimientos poliméricos de liberación controlada. Los materiales de revestimiento pueden incluir cualquier combinación de los polímeros disponibles comercialmente con base acrílica, metacrílica o de etilcelulosa (tales como, pero sin limitarse a ellos, las series Eudragit<sup>TM</sup> y Surelease<sup>®</sup>), así como otros polímeros con polisacáridos naturales incluyendo, pero sin limitarse a ellos, amilosa, pectina, alginato, amilopectina, quitosán, galactomanán, goma de guar y cualquiera de sus derivados, tiene la capacidad de personalizar como, donde y cuando se liberan los fármacos en las formas sólidas, semisólidas o líquidas subyacentes o integradas. En todos los ejemplos citados en esta especificación, cualquier polímero específico puede ser intercambiado o combinado con cualquier otro polímero para permitir el perfil de liberación requerido según el resultado terapéutico óptimo preferido previsto.

35 La invención proporciona una forma de dosificación oral sólida que comprende la composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas de la presente invención, teniendo dichas minicápsulas una sola capa o varias capas. Si es una minicápsula de dos capas, tiene una envoltura que comprende un agente gelificante con un polímero de liberación controlada u otro revestimiento o comprende un polímero de liberación controlada u otros materiales.

La invención también proporciona un formato de sobre que comprende la composición de liberación modificada en múltiples minicápsulas de la presente invención para su fácil administración en poblaciones pediátricas, geriátricas o de otros pacientes con dificultades para tragar.

La invención se entenderá más claramente a partir de los siguientes ejemplos.

#### 45 Ejemplos

La figura 1 ilustra esquemáticamente una forma de minicápsula o miniesfera que está fuera del alcance de la invención, pero que se mantiene como ejemplo ilustrativo de una minicápsula o una miniesfera.

50 Las figuras 2 y 3 ilustran esquemáticamente las distintas formas de minicápsulas o miniesferas que usa la presente invención. Las sustancias fármaco activas pueden ser formuladas usando una o más poblaciones de dichas estructuras de minicápsula o miniesfera.

Figura 1 – Minicápsula rellena de líquido con revestimientos de polímero de liberación controlada. Este formato comprende una sustancia activa encapsulada usando un agente de gelificación adecuado que posteriormente se recubre para permitir una liberación controlada o dirigida a lo largo del tracto gastrointestinal. La sustancia activa

está en una forma solubilizada o permeabilizada mejorada. La línea discontinua representa la liberación de una molécula de fármaco en el medio externo en el que es totalmente soluble cuando se libera (denominado formato 1).

5 Figura 2 – Minicápsula/miniesfera rellena con un semisólido o un sólido con revestimientos poliméricos de liberación controlada. Este formato comprende una sustancia activa, líquida a la temperatura de procesamiento, encapsulada usando un agente de gelificación adecuado que posteriormente es revestida para permitir la liberación controlada o dirigida a lo largo del tracto gastrointestinal. La sustancia activa está en una forma solubilizada o permeabilizada mejorada. La línea discontinua representa la liberación de una molécula de fármaco en el medio externo en el que es totalmente soluble cuando se libera (denominado formato 2).

10 Figura 4 – las sustancias activas, en forma cristalina o amorfa, mezclada con polímeros extruibles o con otros polímeros que han sido producidos por extrusión en estado fundido, recubrimiento de fármaco, esferonizados o de otra forma, los cuales pueden ser revestidos adicionalmente para permitir la liberación controlada o dirigida a lo largo del tracto gastrointestinal o, alternativamente, presentan inherentemente liberación controlada. La línea discontinua representa la liberación de una molécula de fármaco en el medio externo, en el que es totalmente soluble cuando se libera (denominado formato 3);

15 Los ejemplos 1-3 están fuera del alcance de la invención pero se mantienen como ejemplos ilustrativos de minicápsulas revestidas.

Ejemplo 1

20 Como en la figura 1, el ejemplo 1 representa una minicápsula de liberación controlada rellena con líquido del formato 1. La formulación del núcleo se preparó como se indica a continuación. Se disolvió tacrolimús en un volumen adecuado de etanol. Después de disuelto, la disolución se mezcló con una mezcla adecuada de Labrafil y aceite de oliva. La disolución para la envoltura se preparó como se indica a continuación. Se añadieron cantidades apropiadas de gelatina y de sorbitol en agua y se calentaron a 70°C hasta su disolución. Las minicápsulas se prepararon usando un dispositivo Spherex Labo para elaborar minicápsulas de 2 capas, el núcleo de las cuales comprende tacrolimús en una formulación solubilizada y permeabilizada mejorada. Además, la formulación del núcleo permite un grado de liberación sostenida.

**Tabla 1: Tacrolimús de dosificación una vez diaria**

Ingredientes	% p/p
<b>Composición del núcleo</b>	
Tacrolimús	3,25
Labrafil	36,4
Aceite de oliva	47,65
Etanol	12,7
<b>Composición de la envoltura</b>	
Gelatina	90,0
Sorbitol	10,0

Ejemplo 2

30 Liberación de tacrolimús de minicápsulas como las del ejemplo 1 (formato 1) revestidas con una ganancia en peso de 12,5% de Eudragit™ RS30D seguido por una ganancia en peso de 25% de Eudragit™ FS30D: los perfiles de disolución en la figura 4 demuestran la siguiente liberación de tacrolimús de las minicápsulas expresada como porcentaje del contenido total de la minicápsula: menos de 10% en 1 hora; menos de 30% en 4 horas; menos de 75% en 12 horas y menos de o igual a 100% en 24 horas. Esto es adecuado bien para un producto de absorción sistémica o un producto de específico para el íleon/colon dosificados una vez al día.

Ejemplo 3

35 Liberación de tacrolimús de minicápsulas como las del ejemplo 1 (formato 1) revestidas con una ganancia en peso de 15% de Eudragit™ RS30D seguido por una ganancia en peso de 25% de Eudragit™ FS30D: los perfiles de disolución en la figura 5 demuestran la siguiente liberación de tacrolimús de las minicápsulas expresada como porcentaje del contenido total de la minicápsula: menos de 10% en 1 hora; menos de 30% en 4 horas; menos de 75% en 12 horas y menos de o igual a 100% en 24 horas. Esto es adecuado bien para un producto de absorción sistémica o un producto de específico para el íleon/colon dosificados una vez al día.

Ejemplo 4

5 Como en la figura 2 anterior, el ejemplo 4 representa una minicápsula de liberación controlada rellena con un líquido del formato 2. Para desarrollar una cápsula rellena de un semisólido o un sólido, la formulación del núcleo se preparó como se indica a continuación. Se disolvió ovoalbúmina (OVA) en un volumen adecuado de una mezcla de lecitina y triglicéridos saturados (grasa dura – Witespol® H15) se calentó y se agitó hasta disolución.

La disolución para la envoltura se preparó como se indica a continuación. Se mezclaron cantidades adecuadas de gelatina, hidróxido de sodio, HP-55 y agua, se agitó y se calentó a 70°C hasta disolución.

Las minicápsulas se prepararon usando un dispositivo Spherex Labo para producir minicápsulas de 2 capas, cuyo núcleo comprendía ovoalbúmina en disolución.

10

**Tabla 2: Vacuna oral**

Formulación		Formulación 1
Formulación de la disolución de la envoltura (% en peso)	Agua	82,5
	Gelatina	10,5
	Glicerina	1,75
	Quitosán	1,75
	HP-55	3,15
	NaOH	0,35
<hr/>		
Formulación de la disolución del núcleo (% en peso)	Grasa dura	88
	Lecitina	10
	Ovoalbúmina	2

La ovoalbúmina (antígeno) y el quitosán (adyuvante) se liberan de las minicápsulas sin revestimiento como sigue: 0% liberado en 1 hora y 100% en 8 horas.

Ejemplo 5

15 Como en la figura 2 anterior, el ejemplo 5 representa una minicápsula de liberación controlada rellena con un líquido del formato 2. Para desarrollar una cápsula rellena de un semisólido o un sólido, la formulación del núcleo se preparó como se indica a continuación. Se disolvió ovoalbúmina mezclada con Algel (adyuvante de alúmina) y Poli I:C (Inosina:citocina) metilado – oligonucleótido, disuelto en un volumen adecuado de una mezcla de lecitina y triglicéridos saturados (grasa dura – Witespol® H15) se calentó y se agitó hasta disolución.

20 La disolución para la envoltura se preparó como se indica a continuación. Se mezclaron cantidades adecuadas de gelatina, hidróxido de sodio, HP-55 y agua, se agitó y se calentó a 70°C hasta disolución.

Las minicápsulas se prepararon usando un dispositivo Spherex Labo para producir minicápsulas de 2 capas, cuyo núcleo comprendía ovoalbúmina en disolución. Para permitir la liberación en el intestino delgado y en el colon de las minicápsulas, se revistieron con 12,5% de Surelease®. Para permitir la mucoadhesión, la envoltura de la minicápsula contenía quitosán.

25

**Tabla 3: Vacuna oral con Poli I:C y alúmina como adyuvantes**

Formulación		%p/p
Formulación de la disolución de la envoltura (% en peso)	Agua	82,5
	Gelatina	10,5
	Glicerina	1,75
	Quitósán	1,75
	HP-55	3,15
	NaOH	0,35
Formulación de la disolución del núcleo (% en peso)	Grasa dura	81,45
	Lecitina	9,05
	Ovoalbúmina	1
	Algel	7,5
	Poli I:C	1

La ovoalbúmina (antígeno) y el quitósán (adyuvante) se liberan de las minicápsulas sin revestimiento como sigue: 0% liberado en 1 hora y 100% en 12 horas.

#### Ejemplo 6

- 5 La figura 6 representa la respuesta inmune en ratones inmunizados con minicápsulas como se describe en el ejemplo 4 y en el ejemplo 5. La administración de 100 µg de ovoalbúmina con el adyuvante poli I:C en formulaciones de minicápsulas induce respuestas IgG en suero. Los ratones se inmunizaron en 3 días consecutivos en la semana 0 seguido por idénticas series de inmunizaciones de refuerzo en la semana 2. Las muestras de suero se recogieron antes del refuerzo y una semana después del refuerzo y el IgG específico del antígeno se evaluó por ELISA. La  
10 inmunización con OVA o particularmente con OVA y poli I:C indujo respuestas IgG en suero fuertes después de la serie inicial de inmunizaciones y en particular después de la inmunización de refuerzo.

#### Ejemplo 7

- 15 La figura 7 representa la respuesta inmune en ratones inmunizados con minicápsulas como se describe en el ejemplo 4 y en el ejemplo 5. La administración de ovoalbúmina en formulaciones de minicápsulas revestidas es más eficaz en la inducción de respuestas IgA (inmunoglobina A) en la mucosa que la administración de OVA con el adyuvante poli I:C. Los ratones se inmunizaron en 3 días consecutivos en la semana 0 seguido por idénticas series de inmunizaciones de refuerzo en la semana 2. Los lavados intestinales se recogieron una semana después del refuerzo y el antígeno específico IgA e IgG se evaluaron por ELISA. Esto indica que la protección de la OVA de la proteólisis por medio de la minicapsulación puede aumentar la inducción de la respuesta IgA en la mucosa. La  
20 respuestas del anticuerpo IgG en la mucosa en términos de títulos del antígeno específico IgG en los lavados intestinales. Las respuestas mayores se detectaron en ratones inmunizados con OVA en disolución o con OVA y poli I:C.

#### Ejemplo 8

- 25 La figura 8 representa la respuesta inmune en ratones inmunizados con minicápsulas como se describe en el ejemplo 4 y en el ejemplo 5. La inmunización con OVA, como en los ejemplos 4 y 5, indujo una producción de antígeno específico IFN-γ fuerte por las células esplénicas. Los ratones se inmunizaron en 3 días consecutivos en la semana 0 seguido por idénticas series de inmunizaciones de refuerzo en la semana 2. Las células esplénicas se reestimularon con antígeno 7 días después de la inmunización de refuerzo y se determinaron las concentraciones de IL-17 e IFN-γ por ELISA después de 3 días. La administración de OVA con quitósán indujo una respuesta IFN-γ  
30 fuerte después de la reestimulación con antígeno.

#### Ejemplo 9

La figura 9 representa la respuesta inmune en ratones inmunizados con minicápsulas como se describe en el ejemplo 4 y en el ejemplo 5. La inmunización con OVA, como en los ejemplos 4 y 5, indujo una producción de antígeno específico IL-4 e IL-10 fuerte por las células esplénicas. Los ratones se inmunizaron en 3 días consecutivos

5 en la semana 0 seguido por idénticas series de inmunizaciones de refuerzo en la semana 2. Las células esplénicas se reestimularon con antígeno 7 días después de la inmunización de refuerzo y se determinaron las concentraciones de IL-4, IL-5 e IL-10 por ELISA después de 3 días. Las respuestas en los ratones inmunizados con minicápsulas no revestidas (ejemplo 5) fueron más débiles que en el caso de las minicápsulas revestidas (ejemplo 6), lo que sugiere que el revestimiento entérico protegió la OVA de forma que se indujeron respuestas de células T más potentes.

#### Ejemplo 10

10 La figura 10 representa la respuesta inmune en ratones inmunizados con minicápsulas como se describe en el ejemplo 4 y en el ejemplo 5. La inmunización con OVA en minicápsulas no revestidas (ejemplo 4) induce una producción de antígeno específico IFN- $\gamma$  fuerte por las células de los nódulos linfáticos mesentéricos. Los ratones se inmunizaron en 3 días consecutivos en la semana 0 seguido por idénticas series de inmunizaciones de refuerzo y en la semana 2. Las células esplénicas se reestimularon con antígeno 7 días después de la inmunización de refuerzo y se determinaron las concentraciones de IL-17 y de IFN- $\gamma$  por ELISA después de 3 días. La formulación sin revestimiento (ejemplo 4) fue más eficaz que la formulación con revestimiento (ejemplo 5) en lo que se refiere a la inducción de la secreción de IL-4, IL-5 e IFN- $\gamma$  en células T.

#### 15 Ejemplo 11

20 Como en la figura 3 anterior, el ejemplo 11 es un ejemplo de una suspensión de fármaco en emulsión extruida, en este caso hidralazina que es representativa del formato 3. La gelatina se mezcla con agua, se calienta a 65°C y se agita hasta que se disuelve. La hidralazina se añade a la disolución de gelatina y la mezcla caliente hasta obtener una disolución homogénea (disolución 1). Se calienta y se mezcla esqualeno, gelucire 44/14 y Labrafil MS 1944 CS hasta obtener una disolución homogénea (disolución 2). A continuación se mezclan la disolución 1 y la disolución 2 y se homogenizan para dar una suspensión emulsionada. La suspensión emulsionada se extruye a continuación usando un procesador de minicápsulas o una extrusadora de una sola boquilla a la que se le aplica una fuerza de vibración, y se enfría bien en un baño de enfriamiento o al aire.

**Tabla 5: Suspensión emulsionada de hidralazina extruida**

Ingredientes	Peso (g)
<b>Composición del núcleo</b>	
Hidralazina	0,1
Gelatina	10
Agua	40
Esqualeno	0,16
Gelucire 44/14	0,16
Labrafil MS 1944 CS	0,8

25 Las perlas extruidas esféricas resultantes tienen un contenido analizado de 36 mg/g y un rendimiento del procesamiento de más de 90% de eficacia. Las perlas se disuelven fácilmente y pueden ser revestidas para obtener cualquier perfil de liberación deseado.

#### Ejemplo 12

30 Se indujo colitis en ratones usando DSS al 2,5% en agua potable. Se usaron las minicápsulas de DMOG del ejemplo 11 con dos diferentes revestimientos, concretamente: perlas DSS (0,25 mg – liberación inmediata), y perlas DSS-COAT (perlas DSS-COAT revestidas con 22% de Surelease® - DMOG: 0,25 mg/día) y se compararon ratones con colitis inducida por DSS no tratados y ratones tratados con 8 mg de DMOG ip cada dos días. Las minicápsulas se prepararon usando el método descrito en el ejemplo 11 anterior.

35 Como se sabe que el DMOG aumenta la producción de eritropoietina, se espera que en presencia de DMOG sistémico el volumen celular aglomerado aumente. El volumen celular aglomerado (VCA) es una medida de la proporción de sangre que es elaborada por las células. El valor se expresa como porcentaje o fracción de células en la sangre. El VCA aumenta cuando el número de glóbulos rojos sanguíneos aumenta. La figura 11 demuestra que, en el día 7, cuando se administra ip, que el DMOG aumenta el VCA, a pesar del hecho de que estos ratones presentaban un DAI elevado y que el DSS solo reduce el VCA. Es importante señalar que ni las perlas de DMOG DSS no revestido ni las perlas de DMOG revestidas específicas para el colon aumentaron el VCA, a pesar del hecho de que las perlas de DMOG revestidas específicas para el colon mejoraron la salud de los ratones tratados con DSS y que los ratones mostraron un IAE mejorado. Por lo tanto, se puede concluir que cuando se administran en el lumen

del intestino o del colon actúan localmente a dosis bajas y a concentraciones insignificantes están disponibles sistemáticamente.

#### Ejemplo 13

5 Con respecto a la figura 12, el índice de actividad de la enfermedad (DAI) se calcula como la suma de valores de pérdida de peso, consistencia de la deposición y sangre en las heces. Deposición normal = porciones compactas formadas; deposición suelta = deposiciones semiformadas y pastosas que no se pegan en el ano; diarrea = deposiciones líquidas que se pegan en el ano. Este sistema de puntuación compuesto demuestra claramente que la administración diaria de DMOG específicamente en el colon (perlas DSS-COAT revestidas con 22% de Surelease® - DMOG: 0,25 mg/día) 0,25 mg de DMOG, producen un marcado efecto protector frente a la inducción de la colitis en ratones tratados con DSS. Las minicápsulas se prepararon usando el método descrito en el ejemplo 11 anterior.

#### Ejemplo 14

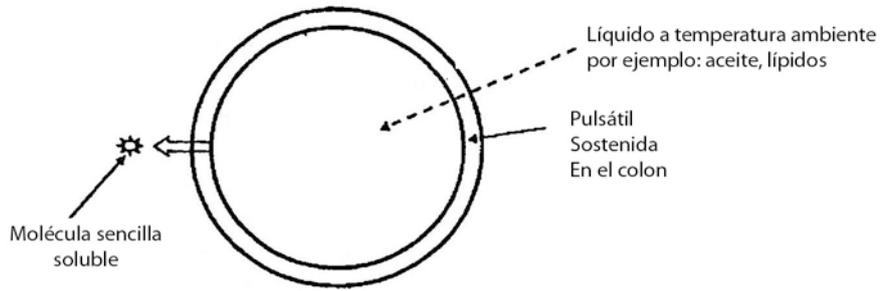
15 Con respecto a la figura 13, después de la remoción del colon de los ratones el 7º día, se observó que mientras que el DSS todavía ejercía un efecto reductor de la longitud del colon, la administración de DMOG ip (8 mg de DMOG cada dos días) y de las perlas de DMOG revestidas específicas para el colon (perlas de DSS-COAT revestidas con 22% de Surelease® - DMOG: 0,25 mg/día) redujo significativamente el acortamiento del colon, sugiriendo con ello que el DMOG está ejerciendo un efecto protector frente a la colitis inducida por DSS. Uno de los síntomas principales de la colitis inducida por DSS es pérdida de peso. De la figura 12 es evidente que cuando se administra ip (DSS-DMOG) cada dos días, 8 mg de DMOG tienen un efecto protector significativo en comparación con los ratones no tratados (DSS). De igual forma, cuando se administran 0,25 mg de DMOG diariamente como perlas específicas para el colon (perlas DSS-COAT revestidas con 22% de Surelease® - DMOG: 0,25 mg/día), el efecto protector es acusado. Los 0,25 mg de DMOG, administrados diariamente en un formato de liberación inmediata (perlas DSS) tienen un efecto protector ligero. Esta serie de datos sugiere que cuando se administra específicamente en el colon diariamente a baja concentración, el DMOG tiene un efecto protector importante sobre la colitis inducida por DSS. Las minicápsulas se prepararon usando el método descrito en el ejemplo 11 anterior.

20

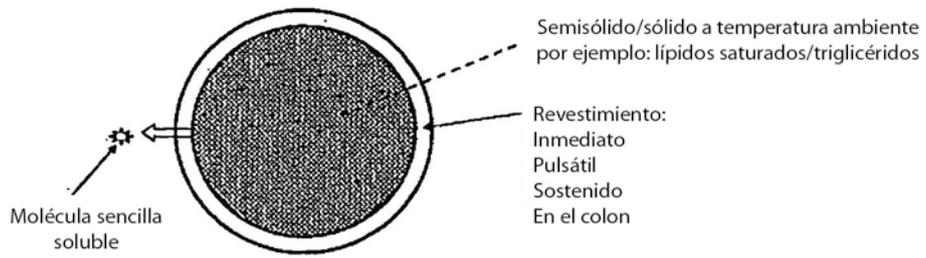
25 La invención no se limita a los modos de realización descritos en la parte anterior de la presente memoria que puede variar en detalles.

## REIVINDICACIONES

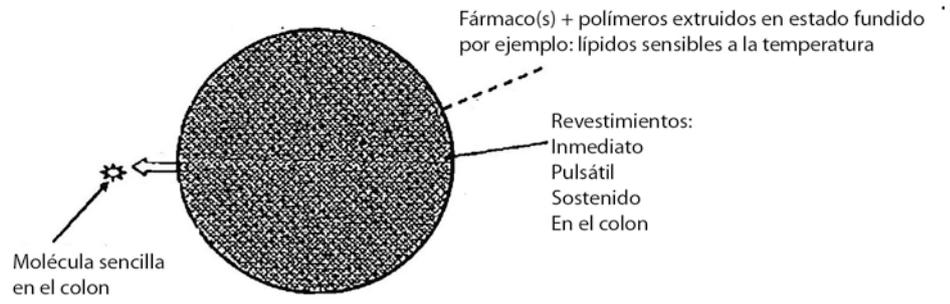
- 1.- Una composición oral que comprende minicápsulas de una o varias capas en la que las minicápsulas comprenden una o más sustancias terapéuticas o profilácticas en un núcleo líquido, semisólido o sólido, teniendo las minicápsulas perfiles de liberación para liberar la sustancia en una forma activa en uno o más lugares a lo largo del tracto gastrointestinal, caracterizada porque la composición del núcleo incluye un excipiente que permite la liberación controlada o prolongada junto con o independientemente de la envoltura o el revestimiento y que se elige entre los polímeros extruidos en estado fundido o los excipientes a base de lípidos modulados por la temperatura.
- 2.- Una composición según la reivindicación 1, en la que la minicápsula tiene una capa y es completamente sólida.
- 3.- Una composición según la reivindicación 1, en la que la minicápsula tiene dos capas que comprenden una capa de envoltura sólida exterior encapsulando un núcleo líquido, semisólido o sólido.
- 4.- Una composición según la reivindicación 1, en la que la minicápsula tiene tres capas que comprenden una capa de envoltura sólida exterior una capa amortiguadora intermedia sólida, semisólida o líquida; y un núcleo líquido, semisólido o sólido.
- 5.- Una composición según la reivindicación 4, en la que la capa amortiguadora de la minicápsula está modificada para obtener una liberación modificada.
- 6.- Una composición según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que se aplica un revestimiento de liberación modificada a la capa de envoltura exterior de la minicápsula.
- 7.- Una composición según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que se usan materiales poliméricos para obtener una liberación modificada, en la que opcionalmente los materiales poliméricos son sensibles a uno o más entre pH, tiempo, grosor, erosión y ruptura bacteriana.
- 8.- Una composición según la reivindicación 1, en la que la minicápsula comprende una capa que contiene una o más sustancias activas y que la capa controla la liberación de la(s) sustancia(s) activa(s).
- 9.- Una composición según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que una o más sustancias terapéuticas o profilácticas están en una forma líquida, semilíquida o sólida solubilizada o fácilmente soluble.
- 10.- Una composición según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la sustancia activa está protegida del medio del tracto gastrointestinal superior pero experimenta una liberación súbita y/o prolongada en el colon proximal.
- 11.- Una composición según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la formulación contiene una entidad adhesiva, tal como un muco- o bio-adhesivo, y/o en la que la formulación contiene un(os) antígeno(s) y/o adyuvante(s) para inducir una respuesta de la mucosa intestinal o una respuesta inmune sistémica.
- 12.- Una composición según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que libera una o más sustancias activas en el íleon o en el colon para usarla en el tratamiento de enfermedades intestinales locales o para facilitar la absorción de agentes farmacéuticos activos, por ejemplo compuestos biofarmacéuticos tales como péptidos y proteínas.
- 13.- Una composición según cualquiera de las reivindicaciones precedentes para usarla en el tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped, por ejemplo en el tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped gastrointestinal, y/o una o más sustancias activas es un inmunosupresor liberado a lo largo del colon y/o el íleon.
- 14.- Una composición según cualquier de las reivindicaciones precedentes, en la que:
- la o las sustancias activas es un inmunosupresor, por ejemplo ciclosporina A o tacrolimús o sirolimús o sus derivados, o
  - la o las sustancias activas es un inhibidor de la hidroxilasa eficaz, incluyendo inhibidores de la PHD e inhibidores de la asparaginil-hidroxilasa, tales como, pero sin limitarse a ellos, hidralazina o DMOG, o
  - es para usarla en la liberación dirigida de un inhibidor de la subunidad beta de quinasa del factor nuclear kappa B o de un activador del NFκB.
- 15.- Una minicápsula o miniesfera producida eyectando una suspensión mezcla de la envoltura/núcleo a través de una boquilla que tiene un solo orificio o eyectando una composición del núcleo hidrofóbica y una composición de la envoltura a través de una boquilla que tiene dos orificios (central y exterior), incluyendo la composición del núcleo un excipiente en forma líquida que permite la liberación controlada o sostenida junto con o independientemente de la envoltura o del revestimiento, concretamente polímeros extruidos en estado fundido o excipientes a base de lípidos modulados por la temperatura.



**Figura 1**



**Figura 2**



**Figura 3**

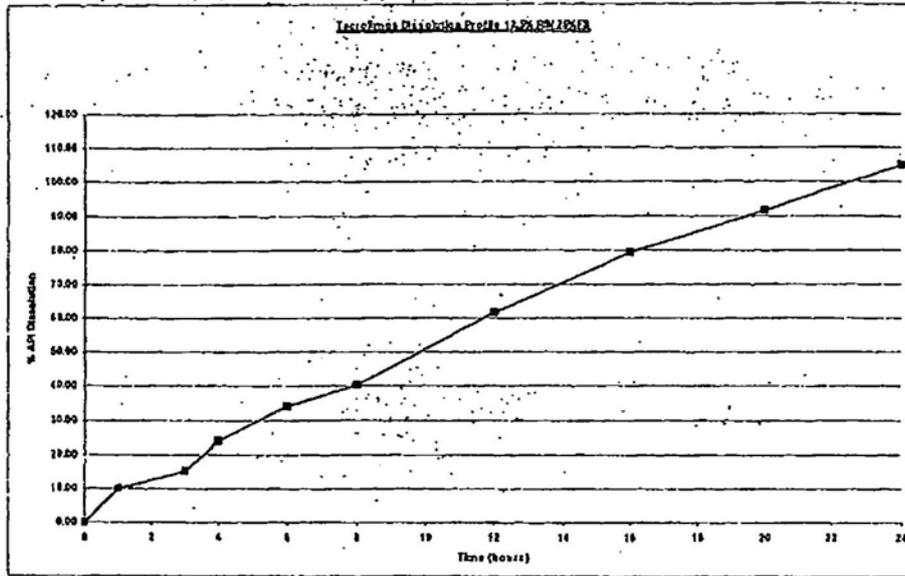


Figura 4

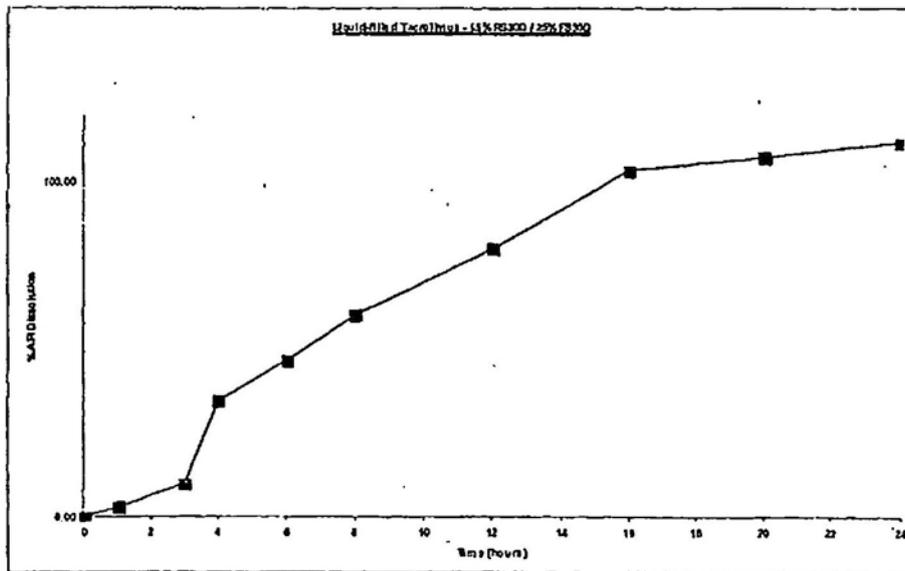


Figura 5

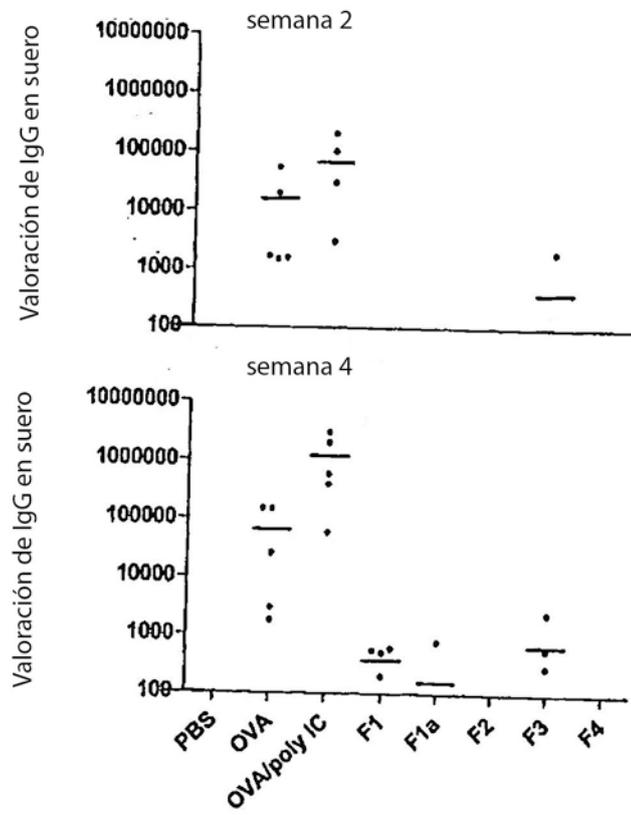


Figura 6

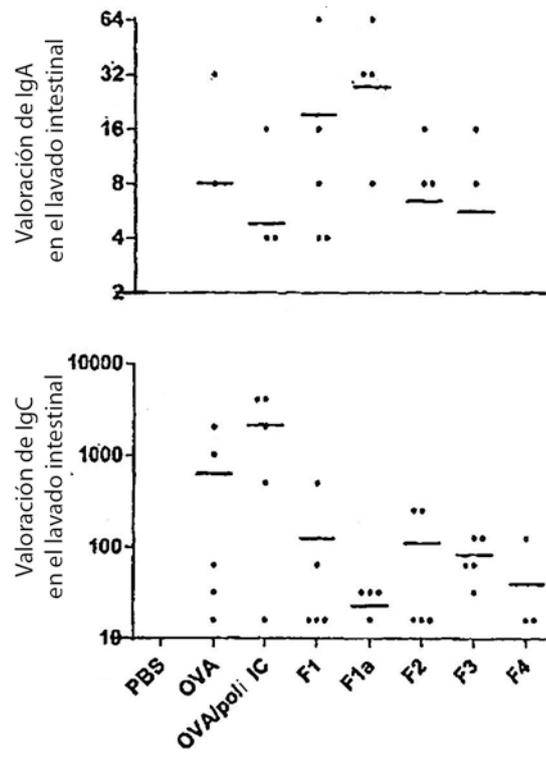


Figura 7

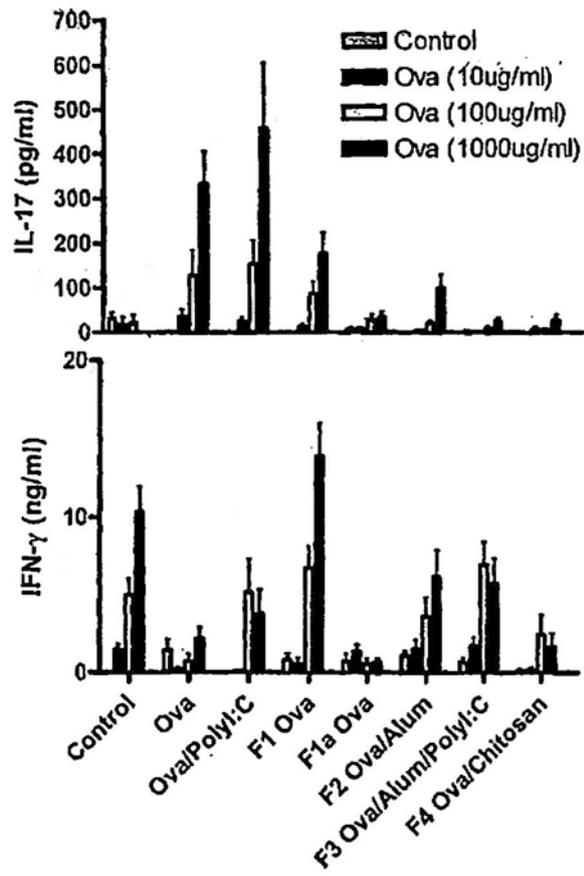


Figura 8

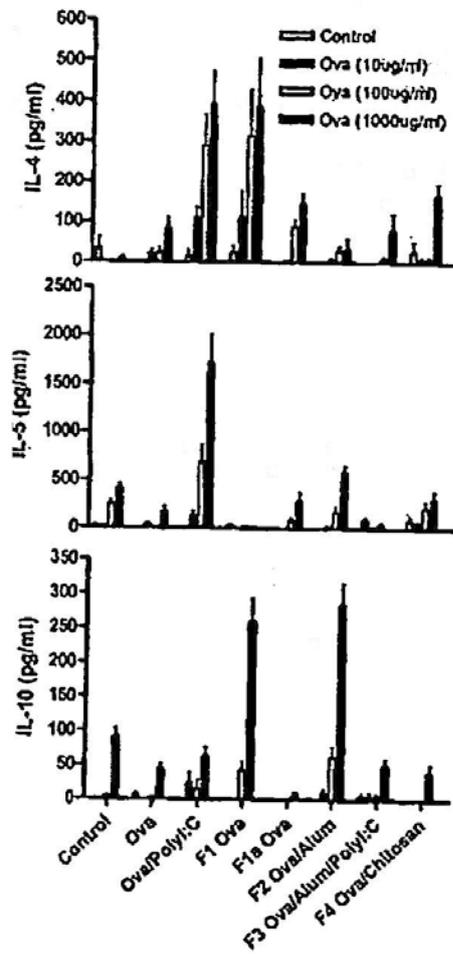


Figura 9

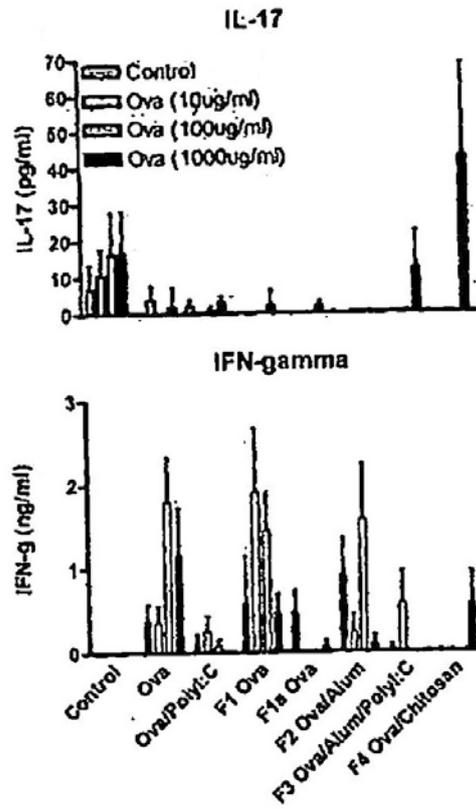


Figura 10

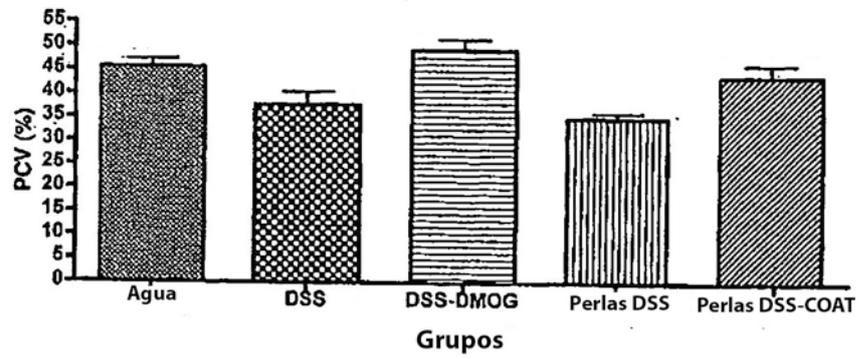


Figura 11

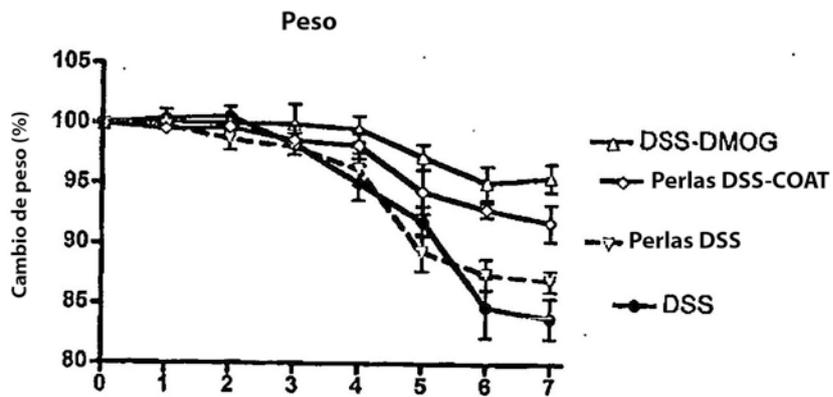
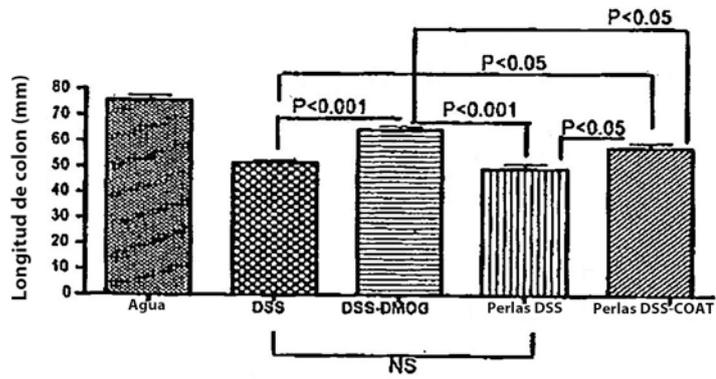


Figura 12



DMGO ip (8 mg) lo días 0, 2, 4 y 6  
 "Perlas" y "Perlas-COAT" x2, diariamente  
 2,5% de DSS los días 0-5, agua 6-7  
 6 ratones por grupo  
 Ratón con PCV extra en el grupo con agua, y  
 un poco de sangre coagulada en los tubos Hct  
 de los otros grupos

**Figura 13**