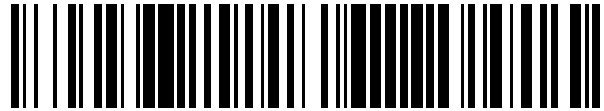


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 415 747**

51 Int. Cl.:

A61K 9/28

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.10.2009 E 09748748 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 2340019**

54 Título: **Polímero insoluble en agua: recubrimientos de película de polisacáridos solubles en agua indigeribles para elegir como objetivo el colon**

30 Prioridad:

27.10.2008 EP 08305740

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

26.07.2013

73 Titular/es:

**ROQUETTE FRERES (100.0%)
62136 Lestrem, FR**

72 Inventor/es:

**HAEUSLER, OLAF;
WILS, DANIEL;
SIEPMANN, JUERGEN y
KARROUT, YOUNESS**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 415 747 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

Polímero insoluble en agua: recubrimientos de película de polisacáridos solubles en agua indigeribles para elegir como objetivo el colon

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a una forma farmacéutica de suministro de liberación controlada para el suministro controlado del ingrediente o los ingredientes activos. La presente invención también se refiere al uso y método para fabricar la misma.

Antecedentes de la invención

- 10 Fijar como objetivo el colon puede ser muy útil para muchos tratamientos con fármacos, incluyendo el tratamiento de enfermedades del intestino inflamado, tales como la Enfermedad de Crohn (CD) y Colitis Ulcerosa (UC) (por sus siglas en inglés).

- 15 Si se administra de manera oral un fármaco que actúe localmente usando una forma farmacéutica convencional, la última se disuelve rápidamente en el contenido del estómago, el fármaco se libera y es probable que se absorba en el torrente circulatorio. Esto conduce a concentraciones de fármaco sistémicas elevadas y, así, un riesgo aumentado de efectos secundarios no deseados y al mismo tiempo a concentraciones bajas de fármaco en el sitio de acción en el colon, dando como resultado una eficacia terapéutica deficiente. Estas restricciones se pueden superar si se suprime la liberación de fármaco en el estómago e intestino delgado y se controla en el tiempo en el colon. Este tipo de suministro de fármaco específico del sitio al colon también puede ofrecer una oportunidad interesante para que se absorban los fármacos de proteínas y péptidos en la circulación sistémica en la administración oral.

- 20 Para permitir fijar como objetivo el colon, se puede embeber el fármaco, por ejemplo, dentro de un formador de matriz polimérica o comprimidos o gránulos cargados de fármaco tales como perlas esféricas, aproximadamente 0,5-1 mm de diámetro; se puede recubrir con una película polimérica. En la región gastrointestinal superior (GIT, por sus siglas en inglés), la permeabilidad de las redes poliméricas para el fármaco debería ser baja, mientras que las barreras macromoleculares deben llegar a ser permeables una vez que se alcanza el colon. Este aumento en la permeabilidad del fármaco de las redes poliméricas en el sitio de acción podía ser inducido por: (i) un cambio en el pH del contenido de la GIT, (ii) un cambio en la calidad y/o cantidad de las enzimas a lo largo de la GIT o (iii) cambios estructurales significativos dentro de la forma farmacéutica que ocurren después de un tiempo de retardo predeterminado (por ej., formación de grietas en los recubrimientos de la película permeables de manera deficiente que proporcionan modelos de liberación de fármacos intermitente). Alternativamente, la liberación de fármaco ya puede empezar en el estómago y continuar por toda la GIT, a una velocidad que sea suficientemente baja para asegurar que el fármaco esté aún dentro de la forma farmacéutica una vez que se alcanza el colon.

- Un intento para resolver el problema de fijar como objetivo el colon se desvela en la patente de EE.UU. 2005220861A que se refiere a una formulación de liberación controlada para el suministro de metasulfobenzoato sódico de prednisolona. La formulación comprende metasulfobenzoato sódico de prednisolona rodeado por un recubrimiento que comprende amilosa vítrea, etilcelulosa y sebacato de dibutilo, en el que la proporción de amilosa a etilcelulosa es de (1:3,5) a (1:4,5) y en el que la amilosa es amilosa de maíz o mijo. Por el contrario a la solicitud de patente americana número EE.UU. 2005220861, el sistema descrito en la presente invención se adapta a la condición patológica de los pacientes. Este es un aspecto muy decisivo, debido a que para permitir que se fije como objetivo el colon la forma farmacéutica debe llegar a ser más permeable para el fármaco una vez que se alcanza el colon. Esto se puede asegurar, por ejemplo, por una degradación preferente de un compuesto que impide la liberación rápida del fármaco en la región gastrointestinal superior. Esta degradación específica del sitio puede basarse en diferencias significativas en la calidad y cantidad de enzimas presentes en la región gastrointestinal superior frente al colon. Este compuesto no se debería degradar en la región gastrointestinal superior (e impedir la liberación de fármaco), sino que se debería degradar en el colon (y, así, permitir la liberación de fármaco). La realización de este tipo de sistemas de suministro de fármacos avanzados depende fundamentalmente de las condiciones ambientales en el colon de los pacientes, en particular de los tipos y las concentraciones de las enzimas presentes en el colon. Es conocido y ha sido documentado en la bibliografía que la condición patológica puede afectar de manera significativa a la calidad y cantidad de la microflora que segrega la enzima en la región gastrointestinal. Esto es verdad en particular para la microflora en el colon de pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado: la calidad y cantidad de las enzimas presentes en el colon de un paciente puede variar significativamente, así, de aquéllas en un individuo sano. Por consiguiente, la realización de este tipo de sistemas de suministro de fármacos puede verse afectada de manera significativa por la condición patológica. Los sistemas que están basados en la degradación preferente por enzimas que no están presentes en concentraciones suficientes en la condición patológica en el colon del paciente, fracasan. La presente invención se refiere por primera vez a formas farmacéuticas que permiten el suministro controlado de ingrediente activo en condiciones fisiopatológicas: en heces de pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado. Así, la realización de estas formas farmacéuticas se asegura en las condiciones fisiopatológicas determinadas in vivo. Esto es decisivo para el éxito y la seguridad del tratamiento.

La patente de EE.UU. 6534549 se refiere a un método para producir una forma farmacéutica de liberación controlada que comprende una mezcla de un polímero formador de película sustancialmente insoluble en agua y amilosa en un sistema disolvente que comprende (1) agua y (2) un disolvente orgánico miscible en agua que por sí mismo puede disolver el polímero formador de película, se pone en contacto con un material activo y se seca la composición resultante. La forma farmacéutica es adecuada en particular para suministrar agentes terapéuticos al colon. Por el contrario a la presente invención, esa descripción estudia sistemas de suministro de fármacos preparados usando un disolvente orgánico. Este no es el caso en la presente invención. El uso de disolventes orgánicos implica varias preocupaciones, incluyendo la toxicidad y preocupaciones ambientales así como peligros de explosión. Además, el uso de amilosa implica la extracción de este polímero y su estabilización. La amilosa se extrae de almidón después de una etapa de hidrólisis y de una purificación. Este procedimiento es complejo y difícilmente utilizable a un nivel industrial. Esta formulación no tiene en cuenta la cinética de liberación del fármaco para pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado. Se tiene que señalar que los tipos y las cantidades de bacterias presentes en el colon de pacientes de la enfermedad del intestino inflamado pueden diferir significativamente de los de individuos sanos. Así, los tipos y las cantidades de enzimas segregadas por estas bacterias y que están en contacto con el sistema de suministro de fármacos pueden diferir significativamente. Por consiguiente, la realización del sistema de suministro de fármacos puede diferir significativamente.

Sumario de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar una forma farmacéutica de suministro para controlar la velocidad y extensión de un ingrediente activo, por ejemplo, sin limitación un ingrediente farmacéutico activo, ingredientes activos biológicos, químicos, nutracéuticos, agrícolas o nutricionales.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar nuevos recubrimientos de película poliméricos que permitan fijar como objetivo de fármacos específicos de sitio al colon y que se puedan usar para pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado así como para pacientes con un colon sano.

Un objeto más de la presente invención es proporcionar nuevos recubrimientos de película poliméricos con una estabilidad mecánica suficiente para resistir la tensión de cizallamiento a que están expuestos en la GIT superior (debido a la motilidad gastrointestinal) y para resistir la presión hidrostática potencialmente significativa desarrollada dentro de las formas farmacéuticas debido a la penetración de agua en los sistemas en contacto con medios acuosos. Por supuesto, con recubrimientos poliméricos conocidos, el problema de formación accidental de grietas puede dar como resultado una liberación prematura del fármaco por canales llenos de agua.

Un objeto más de la presente invención es proporcionar nuevos recubrimientos de película poliméricos ajustables a las necesidades específicas de un tipo particular de tratamiento farmacológico, por ej., actividad osmótica del fármaco y dosis administrada.

La presente invención proporciona una forma farmacéutica de liberación controlada para liberación controlada de un ingrediente activo, que comprende un ingrediente activo recubierto por una mezcla polimérica de:

o al menos un polímero insoluble en agua y

o al menos un polisacárido soluble en agua indigerible.

Preferiblemente, la mezcla polimérica proporciona una liberación de fijación como objetivo del colon, que es la liberación de dicho ingrediente activo en el colon de pacientes con un desequilibrio de la microflora del colon y en el colon de individuos sanos.

Preferentemente, la forma farmacéutica de liberación controlada es una formulación oral y presenta una resistencia gástrica. En una realización preferida, la forma farmacéutica de liberación controlada está en una forma sólida, líquida o semi-líquida. Ventajosamente, la forma farmacéutica de liberación controlada es una dispersión sólida. Según la invención, la mezcla polimérica es una mezcla íntima del polímero insoluble en agua y el polisacárido soluble en agua indigerible, dicho polisacárido soluble en agua indigerible no es oligosacárido no forma materiales en forma de partículas en el polímero insoluble en agua.

En una realización de la presente invención la forma farmacéutica de suministro de liberación controlada que comprende un núcleo, el ingrediente activo dispersado o disuelto en el núcleo.

En una realización más de la presente invención, el polisacárido soluble en agua indigerible se selecciona del grupo que consiste en: xilooligosacáridos, inulina oligofruktosas, fructo-oligosacáridos (FOS), lactulosa, galactomananos e hidrolisatos adecuados de los mismos, polidextrosa indigerible, dextrinas indigeribles e hidrolisatos parciales de los mismos, trans-galacto-oligosacáridos (GOS), xilo-oligosacáridos (XOS), acemananos, lentinanos o beta-glucanos e hidrolisatos parciales de los mismos, polisacáridos-K (PSK), maltodextrinas indigeribles e hidrolisatos parciales de los mismos o su mezcla.

Preferiblemente, la mezcla polimérica contiene adicionalmente un polisacárido tal como una legumbre seleccionada del grupo que consiste en: guisante, judía, haba y haba forrajera o almidón de los cereales.

Según otra forma farmacéutica alternativa ventajosa, la legumbre es una planta, por ejemplo una variedad de guisante o de haba forrajera, que proporciona semillas que comprenden al menos 25%, preferiblemente al menos 40%, en peso de almidón (seco/seco). Ventajosamente, la legumbre es guisante.

5 Según la invención, el polisacárido soluble en agua indigerible es una maltodextrina indigerible o dextrina indigerible que tiene entre 15 y 35% de 1->6 uniones glucósido, un contenido en azúcar reductor menor que 20%, un índice de polimolecularidad menor que 5 y una masa molecular media numérica Mn a lo sumo igual a 4.500 g/mol.

Según una variante, todas o algunas de dichas maltodextrinas indigeribles son hidrogenadas.

Según la invención, el polisacárido soluble en agua indigerible es una maltodextrina ramificada.

10 En una realización más, la relación de polisacárido soluble en agua indigerible:polímero insoluble en agua en la forma farmacéutica de suministro de liberación controlada está entre 1:2 y 1:8, preferentemente 1:3 a 1:6 y más preferentemente 1:4 a 1:5.

Según una variante, la partícula del núcleo tiene un nivel de recubrimiento de 5% a 30%, preferiblemente de 10% a 20%.

15 En una realización más, la mezcla polimérica comprende un plastificante, preferiblemente el contenido en plastificante está entre 25% y 30% p/p referido al contenido en polímero insoluble en agua.

20 Preferiblemente, el polímero insoluble en agua se selecciona del grupo que consiste en: etilcelulosa, derivados de celulosa, polímeros de éster acrílico y/o metacrílico, polímeros o copolímeros de ésteres polivinílicos de acrilato o metacrilato, derivados de almidón, poli(acetatos de vinilo), ésteres de poli(ácido acrílico), copolímeros de butadieno y estireno, copolímeros de éster de metacrilato, acetato-ftalato de celulosa, acetato-ftalato de polivinilo, goma laca, copolímeros de ácido metacrílico, acetato - trimelitato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, ceína, acetato de almidón.

25 Según una realización más, el plastificante es un plastificante soluble en agua. Preferiblemente, el plastificante soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en: polioles (glicerina, propilenglicol, polietilenglicoles), ésteres orgánicos (ésteres de ftalato, sebacato de dibutilo, ésteres de citrato, triacetina), aceites/glicéridos (aceite de ricino, monoglicéridos acetilados, aceite de nuez de coco fraccionado), lecitina de soja sola o como una mezcla entre sí.

En una realización preferida, la forma farmacéutica de liberación controlada es una forma farmacéutica de material en forma de múltiples partículas.

30 La presente invención también proporciona un método para preparar una forma farmacéutica de liberación controlada para liberación controlada de un ingrediente activo en el colon de pacientes con un desequilibrio de la microflora del colon o en el colon de individuos sanos, comprendiendo dicho método:

o formar una mezcla polimérica de:

- al menos un polímero insoluble en agua y
- al menos un polisacárido soluble en agua indigerible,

o recubrir dicho ingrediente activo por la mezcla polimérica.

35 En una realización más, la etapa de recubrimiento del ingrediente activo es una etapa de recubrimiento de un núcleo, estando dispersado el ingrediente activo o disuelto en el núcleo y/o la etapa de recubrimiento del ingrediente activo es una etapa de dispersión o disolución del ingrediente activo en la mezcla polimérica.

40 La presente invención también proporciona un método para preparar una forma farmacéutica de liberación controlada para liberación controlada de un ingrediente activo en el colon de pacientes con un desequilibrio de la microflora del colon o en el colon de individuos sanos, estimulando dicha forma farmacéutica de liberación controlada el crecimiento y/o la actividad de las bacterias en el sistema digestivo, dicho método comprende:

o formar una mezcla polimérica de:

- al menos un polímero insoluble en agua y
- al menos un polisacárido soluble en agua indigerible

45 o recubrir dicho ingrediente activo por la mezcla polimérica.

Estimular el crecimiento y/o la actividad de las bacterias en el sistema digestivo es beneficioso para la salud del cuerpo; este efecto se denomina un Efecto prebiótico. Los prebióticos son ingredientes no digeribles, tales como carbohidratos no digeribles, que tienen un efecto beneficioso sobre la salud. Los carbohidratos no digeribles tales como en particular: xilopolisacáridos, inulina, oligofruktosas, fructo-oligosacáridos (FOS) o Maltodextrinas

ramificadas, se describe que tienen un efecto prebiótico.

En una realización más, la etapa de recubrimiento del ingrediente activo es una etapa de recubrimiento de un núcleo, estando dispersado el ingrediente activo o disuelto en el núcleo y/o la etapa de recubrimiento del ingrediente activo es una etapa de dispersión o disolución del ingrediente activo en la mezcla polimérica.

5 Las condiciones en la región gastrointestinal de los pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado (por ej., Enfermedades de Crohn y Colitis Ulcerosa) pueden diferir significativamente de las de un individuo sano. La variabilidad intra- y inter-individual puede ser sustancial con respecto al pH del contenido de la GIT, los tipos y las concentraciones de bacterias que segregan enzimas así como a los tiempos de tránsito dentro de los diversos segmentos de la GIT. Por ejemplo, generalmente están presentes cantidades considerables de bífido-bacterias en el
10 colon de individuos sanos y pueden degradar polisacáridos complejos debido a múltiples glucosidasas extracelulares. Sin embargo, en la condición patológica su concentración puede ser reducida de manera significativa. Por ejemplo, se mostró que la actividad de la glucosidasa fecal (especialmente la de la β -D-galactosidasas) está disminuida en pacientes que padecen la Enfermedad de Crohn y que la actividad metabólica de la flora del colon está fuertemente alterada en la condición patológica activa. Así, el impacto de la fisiopatología
15 puede ser crucial y puede conducir al fracaso del tratamiento farmacológico.

Para evitar los fracasos en el tratamiento para pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado, el sistema de suministro de fármacos específico del sitio se debe adaptar a las condiciones dadas en el colon de los pacientes. Por ejemplo, los recubrimientos de película poliméricos se pueden usar de manera que sean degradados por las enzimas, que están presentes en las heces de los pacientes con Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa en
20 cantidades suficientes. Sin embargo, aún no está claro que tipo o tipos de polímeros satisfacen estos requisitos previos.

Así, la presente invención también proporciona el uso de una preparación de recubrimiento de fijación como objetivo del colon que comprende un polímero insoluble en agua y polisacáridos solubles en agua indigeribles, en la fabricación de un medicamento para estimular el crecimiento y/o la actividad de las bacterias en el sistema digestivo.
25 Preferiblemente, la invención proporciona el uso de una preparación de recubrimiento de polímeros que comprende un polímero insoluble en agua y un polisacárido soluble en agua indigerible, en la fabricación de un medicamento para una liberación de fijación como objetivo del colon de un ingrediente activo en un tratamiento terapéutico y/o profiláctico de pacientes que padecen un desequilibrio de las bacterias del colon y para estimular el crecimiento y/o la actividad de las bacterias en el sistema digestivo. En una realización preferida, los pacientes que padecen un desequilibrio de las bacterias del colon son pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado. Por supuesto, la preparación del recubrimiento según la invención proporciona simultáneamente una liberación específica de un ingrediente activo en el colon de los pacientes que padecen o no un desequilibrio de la microflora del colon y un efecto prebiótico, esto es, la estimulación de la microflora del colon.
30

Breve descripción de los dibujos

35 La Fig. 1: Contenido en agua de películas delgadas que consisten en diferentes tipos de mezclas de polímeros (indicado en las figuras) en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8. Se muestran películas que consisten sólo en etilcelulosa plastificada por razones de comparación.

Fig. 2: Masa seca de películas delgadas que consiste en diferentes tipos de mezclas de polímeros (indicado en las figuras) en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8. Se muestran películas que consisten sólo en etilcelulosa plastificada por razones de comparación.
40

Fig. 3: Contenido en agua y masa seca de películas delgadas que consisten en maltodextrina ramificada o almidón de guisantes mezclados con etilcelulosa en la exposición a tampón de fosfato pH 6,8 que contienen o no pancreatina o extracto de intestino de rata.

45 Fig. 4: Contenido en agua y masa seca de películas delgadas que consisten en diferentes tipos de polisacáridos mezclados con etilcelulosa en la exposición a un medio de cultivo, medio de cultivo inoculado con heces de individuos sanos y medio de cultivo inoculado con heces de pacientes con Enfermedad de Crohn (CD) y pacientes con Colitis Ulcerosa (UC) (como se indica en las figuras). Se muestran películas que consisten sólo en etilcelulosa plastificada por razones de comparación.

50 Fig. 5: Fotos de la microflora desarrollada en la incubación de películas poliméricas, delgadas de diferente composición (indicado en la figura) con muestras fecales de pacientes con enfermedad del intestino inflamado.

Fig. 6: Absorción de agua de películas delgadas que consisten en mezclas de Maltodextrina ramificada:etilcelulosa (la proporción se indica en las figuras) en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8 (contenido en TEC, referido a la masa de etilcelulosa: 25% p/p).

55 Fig. 7: Pérdida de masa seca de películas delgadas que consisten en Maltodextrina ramificada:etilcelulosa (la proporción se indica en las figuras) en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8 (contenido en TEC, referido a la masa de etilcelulosa: 25% p/p).

- Fig. 8: Efectos de la proporción de mezcla de Maltodextrina ramificada:etilcelulosa y contenido en plastificante inicial sobre la energía requerida para romper películas poliméricas, delgadas, en el estado seco a temperatura ambiente.
- Fig. 9: Cambios en la energía requerida para romper películas de maltodextrina ramificada:etilcelulosa, delgadas (la proporción de mezcla se indica en las figuras) en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8 a 37°C (contenido en TEC, referido a la masa de etilcelulosa: 25% p/p).
- Fig. 10: Cambios en la energía requerida para romper películas delgadas que consisten en maltodextrina ramificada:etilcelulosa (la proporción de mezcla se indica en la parte superior de las figuras) plastificada con diferentes cantidades de TEC (los porcentajes se refieren a la masa de etilcelulosa) en la exposición a HCl 0,1 M durante 2 h (curvas continuas) y tampón de fosfato pH 6,8 durante 8 h a 37°C (curvas de puntos).
- Fig. 11: Efectos del contenido en plastificante (indicado en las figuras, referido a la masa de etilcelulosa) en la absorción de agua y pérdida de masa seca de películas de maltodextrina ramificada:etilcelulosa en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8, respectivamente. Las curvas continuas y de puntos representan los resultados obtenidos en las proporciones de mezcla 1:2 y 1:3.
- Fig. 12: Absorción de agua y pérdida de masa seca de películas delgadas que consisten en mezclas de maltodextrina: etilcelulosa en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8, respectivamente. La proporción de mezcla polimérica se indica en las figuras. Por razones de comparación también se muestra el comportamiento de películas de etilcelulosa (plastificada) pura.
- Fig. 13: Cambios en la energía en la rotura de películas de maltodextrina: etilcelulosa delgadas en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8. La proporción de mezcla polimérica se indica en las figuras. Por razones de comparación también se muestran los resultados obtenidos con películas de etilcelulosa (plastificada) pura.
- Fig. 14: Liberación in vitro de 5-ASA de gránulos recubiertos con mezclas de Maltodextrina ramificada: etilcelulosa (1:2) en condiciones que simulan el tránsito por la GIT superior. El nivel de recubrimiento se indica en la figura así como la presencia (líneas de puntos) y ausencia (líneas completas) de enzimas.
- Fig. 15: Efectos de la proporción de mezcla de Maltodextrina ramificada: etilcelulosa y nivel de recubrimiento (indicado en las figuras) en la liberación in vitro de 5-ASA de los gránulos investigados en condiciones que simulan el tránsito por la GIT superior. Las líneas completas/de puntos indican la ausencia/presencia de enzimas.
- Fig. 16: La liberación de fármacos de gránulos recubiertos con mezclas de Maltodextrina ramificada: etilcelulosa (la proporción se indica en las figuras) a nivel de recubrimiento del 20% en condiciones que simulan el tránsito por la GIT completa (sin muestras fecales). Alta velocidad de inmersión: 30 dpm durante 11,5 h, después 20 dpm. Velocidad de inmersión media: 20 dpm durante 11,5 h, después 10 dpm. Velocidad de inmersión baja: 10 dpm durante 11,5 h, después 5 dpm (Aparato 3 USP).
- Fig. 17: Liberación de 5-ASA de gránulos recubiertos con mezclas de Maltodextrina ramificada: etilcelulosa (la proporción se indica en la figura) a nivel de recubrimiento del 15 ó 20% en condiciones que simulan el tránsito por la GIT completa, con muestras fecales de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado. La velocidad de inmersión fue 10 dpm. Por razones de comparación también se muestra la liberación de fármaco en medio de cultivo sin muestras fecales (líneas de puntos). El dibujo ilustra el principio de la propuesta de fijar como objetivo el colon investigada.
- Fig. 18: Liberación de 5-ASA de gránulos recubiertos con mezclas de Maltodextrina ramificada: etilcelulosa (la proporción se indica en las figuras) a nivel de recubrimiento del 15 ó 20% en condiciones que simulan el tránsito por la GIT completa, con: (a) una mezcla de bifidobacterias, bacteroides y Escherichia coli o (b) Bifidobacterium. La velocidad de inmersión fue 10 dpm.
- Fig. 19: Liberación de 5-ASA de diferentes productos comercialmente disponibles en condiciones que simulan el tránsito por la GIT completa, con muestras fecales de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado. La velocidad de inmersión fue 10 dpm. Por razones de comparación también se muestra la liberación de fármaco en medio de cultivo sin muestras fecales (líneas de puntos).
- Fig. 20: Cinética de la absorción de agua de NUTRIOSE delgado: películas de etilcelulosa en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8. La proporción de mezcla de polímero: polímero (p:p) se indica en los diagramas. Se plastificó etilcelulosa con sebacato de dibutilo al 25%.
- Fig. 21: Cinética de pérdida de masa seca de NUTRIOSE delgado: películas de etilcelulosa en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8. La proporción de mezcla de polímero: polímero (p:p) se indica en los diagramas. Se plastificó etilcelulosa con sebacato de dibutilo al 25%.
- Fig. 22: Liberación de 5-ASA de gránulos recubiertos con NUTRIOSE: etilcelulosa 1:4 (etilcelulosa que se plastifica con sebacato de dibutilo al 25%) en condiciones que simulan el tránsito por la GIT completa, en presencia (curvas

continuas) y ausencia (curvas de puntos) de heces de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado. El nivel de recubrimiento fue del 15%.

5 Fig. 23: absorción de agua de películas delgadas que consisten en mezclas de Maltodextrina ramificada: etilcelulosa (líneas completas) e Inulina:etilcelulosa en las siguientes proporciones 0:1; 1:2; 1:3; 1/4 y 1:5 y en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8 (contenido en TEC, referido a la masa de etilcelulosa: 25% p/p).

Fig. 24: Absorción de agua de películas delgadas que consisten en mezclas de Maltodextrina ramificada: etilcelulosa (líneas completas) y FOS:etilcelulosa en las siguientes proporciones 0:1; 1:2; 1:3; 1/4 y 1:5 y en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8 (contenido en TEC, referido a la masa de etilcelulosa: 25% p/p).

10 Fig. 25: Pérdida de masa seca de películas delgadas que consisten en Maltodextrina ramificada: etilcelulosa (líneas completas) e Inulina: etilcelulosa en las siguientes proporciones 0:1; 1:2; 1:3; 1/4 y 1:5 en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8 (contenido en TEC, referido a la masa de etilcelulosa: 25% p/p).

Fig. 26: Pérdida de masa seca de películas delgadas que consisten en Maltodextrina ramificada: etilcelulosa (líneas completas) y FOS: etilcelulosa en las siguientes proporciones 0:1; 1:2; 1:3; 1/4 y 1:5 en la exposición a: (a) HCl 0,1 M y (b) tampón de fosfato pH 6,8 (contenido en TEC, referido a la masa de etilcelulosa: 25% p/p).

15 Fig. 27: Aspecto macroscópico del colon de ratas, que reciben: (A) vehículo sólo por vía intrarrectal (grupo de control negativo), (B) TNBS por vía intrarrectal (grupo de control positivo), (C) TNBS por vía intrarrectal y gránulos recubiertos de BMD: EC por vía oral o (D) TNBS por vía intrarrectal y gránulos Pentasa® por vía oral. TNBS/el vehículo sólo fue administrado por vía intrarrectal el día 3. La dosis administrada por vía oral de 5-ASA fue 150 mg/kg/día.

20 Fig. 28: Puntuaciones Ameho de ratas, que reciben: (i) TNBS por vía intrarrectal, (ii) TNBS por vía intrarrectal y gránulos Asacol® por vía oral, (iii) TNBS por vía intrarrectal y gránulos Pentasa® por vía oral, (iv) TNBS por vía intrarrectal y gránulos recubiertos de almidón de guisantes: etilcelulosa por vía oral, (v) TNBS por vía intrarrectal y gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa por vía oral. Se administró TNBS por vía intrarrectal el día 3. La dosis administrada por vía oral de 5-ASA fue 150 mg/kg/día.

25 Fig. 29: Secciones histológicas representativas (sección transparietal normal, x 200) de tejidos del colon de ratas. Las diferentes capas se indican: M - mucosa; SM - submucosa; Mu - capa muscular.

Tabla 1: Concentraciones de bacterias [log CFU/g] en las muestras fecales investigadas de individuos sanos y pacientes con la enfermedad del intestino inflamado.

30 Tabla 2: Efectos del tipo de polisacárido mezclado con etilcelulosa y de la proporción de mezcla de polisacárido:etilcelulosa en las propiedades mecánicas de películas delgadas en el estado seco a temperatura ambiente.

Tabla 3: Medio de disolución usado para simular el aumento gradual en el pH a lo largo de la GIT.

Descripción detallada de la invención

35 En la descripción y reivindicación de la presente invención, se usará la siguiente terminología según las definiciones indicadas en la presente memoria.

40 Como se usa en la presente memoria, el término "ingrediente activo", "fármaco" o "ingrediente farmacológicamente activo" o cualquier otro término similar significa cualquier material o compuesto químico o biológico adecuado para administración por los métodos conocidos previamente en la técnica y/o por los métodos explicados en la presente invención, que induce un efecto biológico o farmacológico deseado, que puede incluir pero no se limita a: (1) tener un efecto profiláctico en el organismo y evitar un efecto biológico no deseado tal como evitar una infección, (2) aliviar un estado causado por una enfermedad, por ejemplo, aliviar dolor o inflamación causada como resultado de enfermedad y/o (3) aliviar, reducir o eliminar completamente la enfermedad del organismo. El efecto puede ser local, tal como proporcionar un efecto anestésico local o puede ser sistémico.

45 Como se usa en la presente memoria, el término "Disbiosis" también denominada disbacteriosis se desea que signifique, en la presente invención, desequilibrios microbianos como en calidad y en cantidad en la región gastrointestinal. Igualmente la expresión "desequilibrio de la microflora del colon" significa en la presente invención, desequilibrios microbianos como en calidad y en cantidad en la región gastrointestinal, especialmente en el colon. Este fenómeno se refleja por la calidad y cantidad de las enzimas presentes en el colon. En particular, esta microflora alterada se observa en el colon de pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado, tales como Enfermedad de Crohn (CD) y Colitis Ulcerosa (UC).

50 Como se usa en la presente memoria, el término "suministro de liberación controlada" o "liberación controlada" significa que la liberación del ingrediente activo fuera de la composición se controla con respecto al tiempo o con respecto al sitio de suministro.

La expresión "derivados de almidón" significa un almidón que ha sido tratado de manera enzimática o de manera química.

La expresión "almidón modificado" se debería entender extensamente, esta expresión se refiere por ejemplo a almidón reticulado o acetilado o hidroxipropilado o de esterificación.

- 5 El término "recubrimiento" se usa en la presente memoria para incluir recubrimientos para soportes sólidos y también cápsulas que encierran fluidos y/o sólidos y el término "recubierto" se usa de manera similar.

El "nivel de recubrimiento" significa la diferencia en peso entre núcleos no recubiertos y recubiertos que es la ganancia de peso en porcentaje.

- 10 La expresión "polímero insoluble en agua" se debería entender extensamente, esta expresión se refiere a polímeros que no se disuelven completamente en agua, tales como por ejemplo etilcelulosa, algunos derivados de almidón o derivados de ácido acrílico / ácido metacrílico.

- 15 El término "polisacáridos solubles en agua indigeribles" como se usa en la presente invención se refiere a sacáridos que no se digieren o sólo se digieren parcialmente en el intestino por la acción de ácidos o enzimas digestivas presentes en el tubo digestivo superior humano (intestino delgado y estómago) pero que están parcialmente fermentados al menos por la flora intestinal humana. Los polisacáridos solubles en agua indigeribles que se pueden emplear en realizaciones preferidas de la invención son: xilooligosacáridos, inulina, oligofruktosas, fructo-oligosacáridos (FOS), lactulosa, galactomanano e hidrosilatos adecuados de los mismos, polidextrosa indigerible, dextrinas indigeribles e hidrolisatos parciales de los mismos, trans-galacto-oligosacáridos (GOS), xilo-oligosacáridos (XOS), acemananos, lentinanos o beta-glucanos e hidrolisatos parciales de los mismos, polisacáridos-K (PSK) y maltodextrinas indigeribles e hidrolisatos parciales de los mismos.
- 20

- 25 El polisacárido-K también es conocido como polisacárido-Krestin (PSK) en Japón y como polisacárido-péptido (PS-P) en China. Los dos tienen las mismas características químicas y estructurales. El PSK es un proteoglicano encontrado en el hongo poliporado *Trametes versicolor* y contiene aproximadamente 35% de carbohidrato (91% de betaglucano), 35% de proteína y los restos son residuos libres tales como azúcares, aminoácidos y humedad. El PSK es una mezcla de polisacáridos unidos mediante enlaces covalentes a diversos péptidos con un peso molecular promedio de 100 kilodaltons. El componente polisacárido está en una clase de beta-glucanos que está constituida por unidades glucopiranosas. El análisis estructural mostró que el PSK tiene una configuración de 1, 4-glucano como la principal porción de glucósido con ramificaciones en las posiciones 3 y 6 a una frecuencia de una ramificación por varios grupos residuales de enlaces 1 - 4.

- 30 Como se usa en la presente memoria, el término "cereal" se desea que signifique, en la presente invención, cualquier planta que pertenezca a las Gramineae, preferiblemente trigo, arroz, centeno, avena, cebada, maíz, sorgo y mijo.

- 35 El término "legumbre" se desea que signifique, en la presente invención, cualquier planta que pertenezca a las familias de las Caesalpinoaceae, Mimosaceae o Papilionaceae y en particular cualquier planta que pertenezca a la familia Papilionaceae, tal como, por ejemplo, guisante, judía, haba, haba forrajera, lentejas, alfalfa, trébol o altramuç.

Esta definición incluye en particular todas las plantas descritas en una cualquiera de las tablas presentes en el documento por R. Hoover et al. titulado "Composition, Structure, Functionality and Chemical Modification of Legume Starches: A Review".

El término "guisante" en este caso se considera en su sentido más amplio e incluye en particular:

- 40 ■ todas las variedades naturales de guisante liso y
- todas las variedades mutantes de guisante liso y de guisante arrugado, siendo este el caso cualquiera que sea el uso que se destine en general a dichas variedades (alimento para el hombre, nutrición animal y/u otros usos).

- 45 Dichas variedades mutantes son en particular las referidas como "mutantes r", "mutantes rb", "mutantes rug 3", "mutantes rug 4", "mutantes rug 5" y "mutantes lam" como se describe en el documento por C-L Heydley et al. titulado "Developing Novel Pea Starches", Libros de actas del Simposio del Grupo de Bioquímica y Biotecnología Industrial de la Asociación Bioquímica, 1.996, págs. 77-87.

- 50 El término "almidón de legumbre" se entiende que significa cualquier composición extraída, siendo este el caso en cualquier manera, de una legumbre como se definió anteriormente y con un contenido en almidón mayor que 40%, preferiblemente mayor que 50% y más preferiblemente aún mayor que 75%, estando expresados estos porcentajes en peso seco con respecto al peso seco de dicha composición.

Además, es posible usar almidones que presenten de manera natural un contenido en amilosa dentro del intervalo seleccionado según la invención. En particular, el almidón que resulta de legumbres puede ser adecuado. Según la presente invención, este almidón de legumbre presenta un contenido en amilosa menor que 45%, más específicamente entre 25 y 45%, preferiblemente entre 30 y 44% y más preferiblemente aún entre 35 y 40%.

5 Para el fin de la invención, el término "maltodextrina que puede ser ingerida" significa maltodextrina que contiene enlaces glucosídicos indigeribles que confieren a esas maltodextrinas propiedades adicionales idénticas a las fibras dietéticas tales como "maltodextrinas ramificadas". Como se usa en la presente memoria, el término "maltodextrinas ramificadas" se desea que signifique las maltodextrinas que pueden ser ingeridas descritas en la patente europea EP 1 006 128, de la que la compañía solicitante es la propietaria.

Según una variante preferida, dichas maltodextrinas ramificadas tienen un contenido en azúcar reductor de entre 2% y 5% y una masa molecular media numérica Mn de entre 2.000 y 3.000 g/mol.

Las maltodextrinas ramificadas tienen un contenido en fibra total mayor que o igual a 50% sobre una base seca, determinada según el método AOAC N° 2.001-03 (2.001).

10 La invención proporciona nuevos recubrimientos de película poliméricos para fijar como objetivo el colon que se adaptan a la condición patológica de los pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado.

15 Las nuevas películas poliméricas según la invención sirven como sustratos para bacterias del colon para pacientes sanos en cuanto a los pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado y es probable que presenten efectos beneficiosos en el ecosistema de la GIT de los pacientes. La película polimérica se adapta especialmente a las condiciones en el sitio fijado como objetivo, también en la condición patológica y puede suministrar ingredientes farmacológicamente activos específicamente al colon.

En lo siguiente, la invención se ilustrará por medio de los siguientes ejemplos así como las figuras.

Ejemplo 1:

A. Materiales y Métodos

20 A.1. Materiales

25 Maltodextrina ramificada (BMD, por sus siglas en inglés) [una maltodextrina ramificada con enlaces glicósido no digeribles: α -1,2 y α -1,3, NUTRIOSE® FB 06 Roquette Frères], Almidón de guisante (almidón de guisante N-735), un almidón de guisante hidroxipropílico pregelatinizado (PS HP-PG) (LYCOAT® RS 780), una maltodextrina (MD) (GLUCIDEX® 1, Roquette Frères), EURYLON® 7 A-PG (un almidón de maíz con alto contenido en amilosa acetilado y pregelatinizado (70% de amilosa) (Roquette Frères, Lestrem, Francia), EURYLON® 6 A- PG (un almidón de maíz con alto contenido en amilosa acetilado y pregelatinizado) (60% de amilosa) (Roquette Frères, Lestrem, Francia) y EURYLON® 6 HP-PG (un almidón de maíz con alto contenido en amilosa hidroxipropilado y pregelatinizado (60% de amilosa) (Roquette Frères, Lestrem, Francia); dispersión acuosa de etilcelulosa (Aquacoat® ECD 30; FMC Biopolymer, Filadelfia, USA); citrato de trietilo (TEC; Morflex®. Greensboro, USA); pancreatina (de páncreas de mamífero = mezcla que contiene amilasa, proteasa y lipasa; Fisher Bioblock, Illkirch, Francia); extracto de intestino de rata (polvo intestinal de rata, que contiene amilasa, sacarasa, isomaltasa y glucosidasa; Sigma-Aldrich, Isle d'Abeau Chesnes, Francia); agar sangre Columbia, extractos de ternera y levadura así como triptona (= producto de la digestión pancreática de caseína) (Becton Dickinson, Sparks, USA); hidrocloreuro de L-cisteína hidratado (Acros Organics, Geel, Bélgica); agar McConkey (BioMerieux, Balme-les-Grottes, Francia); disolución de Ringer cisteinada (Merck, Darmstadt, Alemania).

A.2. Preparación de la película

30 Se prepararon películas poliméricas delgadas por moldeado de mezclas de diferentes tipos de polisacáridos acuosos y dispersión acuosa de etilcelulosa en moldes de Teflón y posterior secado durante 1 d a 60°C. El polisacárido soluble en agua se disolvió en agua purificada (5% p/p) y se mezcló con dispersión de etilcelulosa plastificada (25% de TEC, agitando durante la noche; 15% p/p de contenido en polímero) a una proporción de 1:3 (polímero: polímero p:p). La mezcla se agitó durante 6 h previamente a moldeado.

A.3. Caracterización de la película

45 Se midió el espesor de las películas usando un calibrador de espesor (Minitest 600; Erichsen, Hemer, Alemania). El espesor medio de todas las películas estaba en el intervalo de 300-340 μ m. La absorción de agua y la cinética de pérdida de masa seca se midieron de manera gravimétrica en la exposición a:

(i) fluido gástrico simulado (HCl 0,1 M)

(ii) fluido intestinal simulado [tampón de fosfato pH 6,8 (USP 30) con o sin 1% de pancreatina o 0,75% de extracto de intestino de rata]

(iii) medio de cultivo inoculado con heces de individuos sanos

50 (iv) medio de cultivo inoculado con heces de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado

(v) medio de cultivo exento de heces por razones de comparación.

El medio de cultivo fue preparado por disolución de 1,5 g de extracto de ternera, 3 g de extracto de levadura, 5 g de triptona, 2,5 g de NaCl y 0,3 g de hidrocloreto de L-cisteína hidratado en 1 l de agua destilada (pH 7,0 ± 0,2) y posterior esterilización en un autoclave. Se diluyeron heces de pacientes con Enfermedad de Crohn o Colitis Ulcerosa así como heces de individuos sanos, 1:200 con disolución de Ringer cisteinada; 2,5 ml de esta suspensión se diluyeron con medio de cultivo a 100 ml. Se pusieron trozos de película de 1,5 x 5 cm en envases de vidrio de 120 ml llenos con 100 ml de medio precalentado, seguido por agitación horizontal a 37°C (GFL 3033, Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel, Alemania). La incubación con muestras fecales se realizó en condiciones anaerobias (5% de CO₂, 10% de H₂, 85% de N₂). Se retiraron muestras en instantes de tiempo predeterminados, se retiró el agua en exceso, se pesaron con precisión las películas (masa húmeda) y se secaron a peso constante a 60°C (masa seca). El contenido en agua (%) y masa de película seca (%) al tiempo t se calcularon como sigue:

$$\text{contenido en agua (\%)} (t) = \frac{\text{masa húmeda (t)} - \text{masa seca (t)}}{\text{masa húmeda (t)}} \cdot 100 \% (1)$$

$$\text{masa de película seca (\%)} (t) = \frac{\text{masa seca (t)}}{\text{masa seca (t = 0)}} \cdot 100 \% (2)$$

A.4. Análisis bacteriológico

Para el análisis bacteriológico de muestras fecales, se diluyó 1:10 lo último con disolución de Ringer cisteinada. Se prepararon ocho diluciones de diez veces más en disolución de Ringer cisteinada y se pusieron 0,1 ml de cada dilución sobre agar sangre Columbia modificado, no selectivo (para recuentos cultivables totales) y en agar McConkey (que es selectivo para enterobacterias). Se incubaron placas de agar sangre Columbia durante 1 semana a 37°C en condiciones anaerobias (5 % de CO₂, 10 % de H₂, 85% de N₂). Se superaron en número las colonias, se subcultivaron colonias predominantes y se identificaron basándose en criterios de identificación fenotípica. Se incubaron 25 placas de agar McConkey durante 48 h a 37°C al aire. Las colonias se superaron en número y se identificaron usando el sistema API 20E (BioMerieux, Balme-les-Grottes, Francia). Los recuentos se expresaron como log CFU/g (Unidades de Formación de Colonias por gramo, por sus siglas en inglés) de heces recientes.

Para el análisis bacteriológico de la microflora desarrollada en la incubación de películas con muestras fecales, se tomaron fotomicrografías después de tinción de Gram con un microscopio Axiostar plus (Carl Zeiss, Jena, Alemania), provisto de cámara (Unit DS-L2, DS camera Head DS-Fi 1; Nikon, Tokyo, Japón). La incubación se realizó en un medio de cultivo sin glúcidos que contenía sólo pequeñas cantidades de polipéptidos (así, favoreciendo el uso de los polisacáridos investigados como sustratos) en condiciones anaerobias.

B. Resultados y discusión

B.1. Propiedades de la película en la GIT superior.

La permeabilidad de un sistema polimérico para un fármaco depende enormemente de su contenido en agua y masa seca, que determina la densidad y movilidad de las macromoléculas. Por ejemplo, en comprimidos de matriz a base de hidroxipropilmetilcelulosa (HP-MC) seca el coeficiente de difusión aparente de un fármaco se aproxima a cero, mientras que se pueden alcanzar difusividades en gel de HPMC completamente hidratado, que están en el mismo orden de magnitud que en disoluciones acuosas. Con contenido en agua creciente la movilidad macromolecular aumenta de manera significativa y, así, el volumen libre disponible para difusión. En algunos sistemas, el polímero experimenta una transición de fase vítrea a cauchoide tan pronto como se alcanza un contenido en agua crítico. Esto conduce a un aumento escalonado, significativo, en la movilidad del polímero y el fármaco. Así, el contenido en agua de un revestimiento de película polimérica puede proporcionar un conocimiento importante en la movilidad macromolecular y, por lo tanto, la permeabilidad para un fármaco. Las Figuras 1a y 1b muestran la cinética de absorción de agua de películas delgadas que consisten en diversos tipos de mezclas de polisacárido: etilcelulosa en HCl 0,1 N y tampón de fosfato pH 6,8, respectivamente. La presencia de etilcelulosa en todas las películas permite evitar la disolución prematura en la GIT superior. Los polisacáridos investigados son todos solubles en agua e intentan proporcionar la sensibilidad de la permeabilidad del fármaco de los recubrimientos al entorno circundante: Una vez que se alcanza el colon, los polisacáridos tienen que ser degradados de manera enzimática y tiene que empezar la liberación de fármaco. La proporción de mezcla polisacárido: etilcelulosa en la Figura 1 es constante: 1:3. Claramente, las velocidades y extensiones de absorción de agua dependen de manera significativa del tipo de polisacárido. El recubrimiento de película ideal que permite fijar como objetivo el colon debería absorber sólo pequeñas cantidades de agua a una velocidad baja en los dos medios para evitar la liberación prematura de fármaco en la GIT superior. Como se puede ver, las mezclas de etilcelulosa y BMD o almidón de guisantes son lo más prometedoras para este fin. Las películas de etilcelulosa plastificadas sin polisacárido soluble en agua absorben sólo cantidades minoritarias de agua (círculos vacíos).

Además de la cinética de absorción de agua también el comportamiento de pérdida de masa seca de películas poliméricas delgadas sirve como indicador para la permeabilidad de los recubrimientos para el fármaco, y, por lo tanto, potencial para suprimir la liberación prematura dentro de la GIT superior. Si las películas pierden cantidades significativas de masa seca en la exposición al medio de liberación, se puede esperar que los recubrimientos lleguen a ser permeables para muchos fármacos, en particular aquéllos con un peso molecular bajo tal como ácido 5-aminosalicílico (5-ASA, 153,1 Da). Las Figuras 2a y 2b ilustran la pérdida de masa seca determinada de manera experimental de películas delgadas que consisten en diversas mezclas de polisacárido: etilcelulosa (proporción constante= 1:3) en la exposición a HCl 0,1 N y tampón de fosfato pH 6,8, respectivamente. La película ideal pierde sólo cantidades minoritarias de masa seca a una velocidad baja (o ninguna masa en absoluto), que asegura redes poliméricas densas que son deficientemente permeables para el fármaco incorporado en estas condiciones. Como se puede ver, la pérdida de masa seca de películas que contienen almidón de guisantes - y BMD es muy baja, incluso después de hasta 8 h de exposición a estos medios de liberación. La disminución observada en masa seca puede ser atribuida al menos parcialmente a la lixiviación del plastificante soluble en agua citrato de trietilo (TEC (por sus siglas en inglés), usado para plastificar la dispersión acuosa de etilcelulosa) en el fluido voluminoso. Además, partes de los polisacáridos solubles en agua podrían lixivarse de las películas. Las películas de etilcelulosa plastificadas sin polisacárido soluble en agua sólo liberan cantidades muy pequeñas de agua, con independencia del tipo de medio de liberación (círculos vacíos). Sin embargo, se sabe que la permeabilidad de las películas intactas de etilcelulosa es muy baja para muchos fármacos, que puede ser atribuido al menos parcialmente a las bajas velocidades y extensiones de absorción de agua de estos sistemas. Por esta razón, las películas intactas de etilcelulosa también se usan como recubrimientos protectores de la humedad. Obsérvese que se puede esperar que la pérdida del plastificante TEC soluble en agua en los fluidos volumétricos sea mucho más pronunciada en las películas que contienen 25% (p/p) de polisacáridos solubles en agua comparado con películas de etilcelulosa pura (plastificada), debido a que las velocidades y extensiones de la absorción de agua aumentadas (Figura 1) de los sistemas mezclados conduce a una movilidad de las cadenas poliméricas mucho mayor y, así, también movilidad de TEC aumentada.

Se tiene que señalar que los resultados mostrados en la Figura 2 se obtuvieron en ausencia de enzimas. Se sabe que las enzimas pancreáticas pueden degradar algunos polisacáridos y, así, inducen de manera potencial una pérdida de masa y absorción de agua significativas en condiciones in vivo, dando como resultado permeabilidad de película aumentada para el fármaco. Para aclarar la importancia de este fenómeno, también se midieron la cinética de absorción de agua y el comportamiento de pérdida de masa seca de las películas delgadas en presencia de pancreatina (= mezcla que contiene amilasa, proteasa y lipasa) y de un extracto de intestino de rata (que contiene amilasa, sacarasa, isomaltasa y glucosidasa) en tampón de fosfato pH 6,8 (Figura 3). Claramente, la adición de estas enzimas no afectó de manera significativa a la absorción de agua y cinética de pérdida de masa seca resultantes de las películas investigadas. Así, lo último no sirve como sustratos para estas enzimas.

B.2. Propiedades de la película en el colon

Una vez que se alcanza el colon, los recubrimientos de película poliméricos deberían llegar a ser permeables para el fármaco. Esto se puede inducir, por ejemplo, por degradación enzimática (parcial). En gran medida, las concentraciones de algunas enzimas son mucho mayores en el colon que en la GIT superior. Esto incluye enzimas, que se producen por la microflora natural del colon (esta parte de la GIT contiene muchas más bacterias que el estómago e intestino delgado). Sin embargo, se debe prestar gran atención cuando se usa este tipo de propuesta de fijar como objetivo el colon, debido a que la microflora de los pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado pueden ser significativamente diferentes de la microflora de individuos sanos. Así, el sistema de suministro de fármacos se debe adaptar a la condición patológica del paciente. La Tabla 1 muestra, por ejemplo, las concentraciones de las bacterias determinadas en las muestras fecales de los individuos sanos así como de los pacientes con Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa incluidas en este estudio. En gran medida, hubo diferencias significativas, en particular con respecto a las concentraciones de *Bifidobacterium* (que pueden degradar polisacáridos complejos debido a múltiples glucosidasas extracelulares) y *Escherichia coli*, que estaban presentes a concentraciones mucho mayores en las heces de individuos sanos comparado con las heces de los pacientes con la enfermedad del intestino inflamado. Por el contrario, las muestras fecales de los pacientes con Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa contenían *E. coli* negativa en lactosa, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Enterobacter cloacae*, que no se detectaron en individuos sanos. Así, hay diferencias fundamentales en la calidad y cantidad de la microflora, que se debe tener en cuenta: Los recubrimientos de película poliméricos, que permiten fijar como objetivo el colon en condiciones fisiológicas en un voluntario sano, deberían fracasar en las condiciones fisiopatológicas en la condición patológica de un paciente. Para estudiar este muy crucial punto, que con frecuencia es muy descuidado, se determinaron la absorción de agua y la pérdida de masa seca de películas delgadas que consisten en diversos tipos de mezclas de polisacárido: etilcelulosa en la exposición a muestras fecales de pacientes con Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa así como a las heces de individuos sanos y a medio de cultivo puro por razones de comparación (Figura 4). Las películas apropiadas deberían absorber cantidades considerables de agua y mostrar pérdida de masa seca significativa en la exposición a las heces de los pacientes para inducir la liberación de fármaco en el sitio de inflamación en el colon. Como se puede ver en las Figuras 4a y 4b, las películas a base de etilcelulosa: BMD y etilcelulosa: almidón de guisantes (que son los dos tipos más prometedores de mezclas poliméricas basadas en los resultados descritos anteriormente obtenidos en medios que simulan el contenido de la GIT superior) muestran absorción de agua y pérdida de masa seca significativas en la

exposición a las heces de pacientes con Enfermedad de Crohn, pacientes con Colitis Ulcerosa así como de individuos sanos. Obsérvese que también otros tipos de mezclas de polímeros parecen prometedoras con respecto a la absorción de agua y al comportamiento de pérdida de masa seca de las películas presentadas en la exposición a muestras fecales (o incluso más apropiado que las mezclas de etilcelulosa: BMD y etilcelulosa: almidón de guisantes). Sin embargo, estos sistemas ya absorben considerables cantidades de agua y liberan notablemente masa seca en el contacto con medios que simulan el contenido de la GIT superior (Figuras 1 y 2).

El hecho de que las películas poliméricas investigadas sirvan como sustratos para las bacterias en las heces de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado se podía confirmar además por el análisis de la microflora desarrollada en la exposición de la película a muestras fecales en condiciones anaerobias a 37°C (Figura 5). Claramente, tipos específicos de bacterias proliferadas en la incubación con las películas mezcladas. En gran medida, se puede esperar que este fenómeno sea muy beneficioso para el ecosistema de la GIT de los pacientes en la condición patológica, normalizándose la microflora en el colon. Este efecto prebiótico, muy positivo, viene además del efecto de fijar como objetivo el fármaco. Las muestras biológicas incubadas sin ninguna película polimérica o con películas de etilcelulosa pura (plastificadas) mostraron mucho menos crecimiento bacteriano (Figura 5).

Los nuevos recubrimientos de película poliméricos identificados para fijar como objetivo el colon constan de polímero : polisacáridos insolubles en agua en particular mezclas de etilcelulosa: BMD, etilcelulosa: almidón de guisante, etilcelulosa: MD, etilcelulosa: EURLON® 6 A- PG, etilcelulosa: EURLON® 6 HP-PG y etilcelulosa: EURLON® 7 A-PG, que se adaptan a la condición patológica de los pacientes. En gran medida, las bajas velocidades y extensiones de absorción de agua y pérdida de masa seca en medios que simulan el contenido de la GIT superior se pueden combinar con absorción de agua y pérdida de peso seco elevadas en el contacto con heces de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado. Los cambios en la composición de la flora en el colon de los pacientes indican que estos polisacáridos sirven como sustratos para las bacterias del colon en la condición patológica y es probable que presenten efectos beneficiosos en el ecosistema de la GIT de los pacientes. El nuevo conocimiento obtenido, así, proporciona la base para el desarrollo de nuevos recubrimientos de película polimérica capaces de suministrar fármacos de manera específica al colon. En gran medida, estas barreras poliméricas se adaptan a las condiciones en el sitio fijado como objetivo en la condición patológica.

Ejemplo 2:

A. Materiales y Métodos

A.1. Materiales

Maltodextrina ramificada (BMD) (una maltodextrina ramificada soluble en agua, con alto contenido en fibra obtenida de almidón de trigo; NUTRIOSE® FB 06, Roquette Freres, Lestrem, Francia); una maltodextrina (GLUCIDEX® 1, Roquette Frères); dispersión acuosa de etilcelulosa (Aquacoat ECD 30; FMC Biopolymer, Filadelfia, USA); citrato de trietilo (TEC; Morflex, Greensboro, USA).

A.2. Preparación de películas poliméricas, delgadas.

Se prepararon películas poliméricas delgadas por moldeado de mezclas de diferentes tipos de polisacáridos y dispersión acuosa de etilcelulosa en moldes de Teflón y posterior secado durante 1 d a 60°C. El polisacárido soluble en agua se disolvió en agua purificada, se mezcló con dispersión acuosa de etilcelulosa plastificada (25,0; 27,5 ó 30,0% p/p de TEC, referido al contenido en etilcelulosa agitando durante la noche; 15% p/p de contenido en polímero) a una proporción de 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 (polímero: polímero p:p), como se indica. Las mezclas se agitaron durante 6 h previamente a moldeado.

A.3. Caracterización de la película

Se midió el espesor de las películas usando un calibrador de espesor (Minitest 600; Erichsen, Hemer, Alemania). El espesor medio de todas las películas estuvo en el intervalo de 300-340 µm. La absorción de agua y la cinética de pérdida de masa seca de las películas se midieron de manera gravimétrica en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8 (USP 30) como sigue: Se pusieron trozos de 1,5 x 5 cm en envases de plástico de 120 ml llenos con 100 ml de medio precalentado, seguido por agitación horizontal a 37°C (8 rad/s (80 rpm), GFL 3033; Gesellschaft fuer Labortechnik, Burgwedel, Alemania). Se retiraron muestras en instantes de tiempo predeterminados, se retiró agua en exceso, se pesaron con precisión las películas (masa húmeda) y se secaron a peso constante a 60°C (masa seca). El contenido en agua (%) y la masa de película seca (%) en el tiempo t se calcularon como sigue:

$$\text{Contenido en agua (\%)} (t) = \frac{\text{masa húmeda}(t) - \text{masa seca}(t)}{\text{masa húmeda}(t)} \cdot 100 \% (1)$$

$$\text{Masa de película seca (\%)} (t) = \frac{\text{masa seca (t)}}{\text{masa seca (t = 0)}} \cdot 100 \% \quad (2)$$

A.4. Propiedades mecánicas de películas delgadas

Las propiedades mecánicas de las películas en el estado seco y húmedo se determinaron con un analizador de textura (TAXT.Plus, Winopal Forschungsbedarf, Ahnsbeck, Alemania) y el ensayo de punción. Se montaron las muestras de película sobre un soporte de películas (n= 6). La sonda de punción (extremo esférico: 5 mm de diámetro) se fijó sobre la célula de carga (5 kg) y se dirigió hacia abajo con una velocidad de corredera de 0,1 mm/s al centro del agujero del soporte de la película. Las curvas de carga frente a desplazamiento se registraron hasta la ruptura de la película y se usó para determinar las propiedades mecánicas como sigue:

$$\text{Resistencia a la punción} = \frac{F}{A} \quad (3)$$

Donde F es la carga requerida para perforar la película y A el área transversal del borde de la película situada en el camino.

$$\% \text{ elongación a la rotura} = \frac{\sqrt{R^2 + D^2} - R}{R} \cdot 100 \% \quad (4)$$

Aquí, R indica el radio de la película expuesto en el agujero cilíndrico del soporte y D el desplazamiento.

$$\text{Energía en la rotura unidad de volumen} = \frac{ABC}{V} \quad (5)$$

Donde ABC es el área bajo la curva de carga frente a desplazamiento y V el volumen de la película situada, en la cavidad de la boquilla del soporte de la película.

B. Resultados y discusión

B.1. Mezclas de BMD:etilcelulosa

a) Absorción de agua y pérdida de masa seca de películas delgadas

La permeabilidad de un recubrimiento de película polimérica depende enormemente de su contenido en agua. En un sistema seco, los coeficientes de difusión se aproximan a cero. Con el contenido en agua creciente, la movilidad de las macromoléculas aumenta y, así, también la movilidad de las moléculas de fármaco incorporadas. Las Figuras 6a y 6b muestran la absorción de agua medida de manera gravimétrica de películas poliméricas, delgadas, basadas en diferentes mezclas de BMD: etilcelulosa en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8 a 37°C. Claramente, la proporción de mezcla polimérica afecta de manera significativa a las velocidades y las extensiones de penetración del agua resultantes. Al aumentar el contenido en BMD la cantidad de absorción de agua así como la velocidad de esta etapa de transporte de masa aumentan. Este fenómeno se puede atribuir a la naturaleza más hidrófoba de la etilcelulosa comparado con los polisacáridos BMD solubles en agua. Así, se puede esperar que la movilidad de un fármaco dentro de este tipo de películas poliméricas aumente de manera significativa con el contenido en BMD creciente. Notablemente, las velocidades y las extensiones de la absorción de agua de las películas investigadas fueron mayores en tampón de fosfato pH 6,8 que en HCl 0,1 N (Figura 6b frente a Figura 6a). Esto se puede atribuir a la presencia del emulsionante dodecilsulfato de sodio (SDS, por sus siglas en inglés) en la dispersión acuosa de etilcelulosa Aquacoat ECD. A pH bajo, el SDS está protonado y neutro, mientras que a pH 6,8 está desprotonado y se carga de manera negativa. Así, la capacidad para disminuir las tensiones superficiales interfaciales es más pronunciada a pH 6,8, dando como resultado la penetración facilitada de agua en el sistema. En gran medida, incluso las velocidades y extensiones de absorción de agua más altas de los sistemas investigados (hasta una proporción de mezcla de BMD: etilcelulosa 1:2) son relativamente bajas (Figura 6). Así, se puede esperar que la liberación prematura del fármaco dentro de la GIT superior esté limitada con este tipo de películas poliméricas, con independencia de la proporción de mezcla de polímero: polímero en el intervalo investigado.

Además de la cinética de absorción de agua, también el comportamiento de pérdida de masa seca de películas poliméricas delgadas ofrece un conocimiento importante en la capacidad de la última para suprimir o permitir la liberación de fármaco. Los efectos de la proporción de mezcla BMD: etilcelulosa sobre la pérdida de masa seca resultante de películas delgadas en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8 se ilustran en la Figuras 7a y 7b, respectivamente. Claramente, ambas, la velocidad y la extensión de la pérdida de masa seca aumentaron con el contenido en BMD creciente. Esto se puede atribuir al menos parcialmente a la lixiviación de este compuesto soluble en agua en los fluidos volumétricos. Sin embargo, se puede esperar que también la difusión del plastificante

TEC soluble en agua (que se usa para facilitar la fusión de las nanopartículas de etilcelulosa durante la formación de la película) en el medio de liberación se facilite de manera significativa: Debido al contenido creciente en agua de los sistemas (Figura 6), la movilidad de las cadenas poliméricas aumenta y, así, también la movilidad del plastificante de bajo peso molecular. Obsérvese que la pérdida de masa seca de películas de etilcelulosa pura (plastificadas) se puede atribuir principalmente a dicha lixiviación de TEC y que se observa una dependencia del pH (ligera) de este fenómeno (debido al efecto de SDS discutido anteriormente). En gran medida, la pérdida de masa seca se limita en todos los casos y la presencia de la etilcelulosa insoluble en agua en las películas impide eficazmente la lixiviación de los polisacáridos solubles en agua en los fluidos volumétricos. De nuevo, la liberación prematura de fármaco dentro de las partes superiores de la GIT es probable que esté limitada, con independencia de la proporción de mezcla polímero: polímero en el intervalo investigado (hasta BMD: etilcelulosa 1:2).

b) Propiedades mecánicas de películas delgadas

Además de absorción de agua y pérdida de masa seca limitadas en la GIT superior, un recubrimiento de película polimérica que proporciona suministro de fármaco específico del sitio al colon debe ser suficientemente estable (de manera mecánica) para evitar la formación accidental de grietas debido a la tensión de cizallamiento encontrada en el estómago e intestino delgado in vivo. Además, la presión hidrostática significativa se podía reforzar dentro de una forma farmacéutica recubierta debido a la penetración de agua en el sistema en contacto con fluidos corporales acuosos. La presencia/ausencia de fármacos y/o excipientes osmóticamente activos en la formulación del núcleo puede afectar enormemente a la importancia de este fenómeno. Los recubrimientos de película frágiles son susceptibles de ruptura debido a tales fuerzas de cizallamiento desde fuera (causadas por la motilidad de la GIT) y se exponen a presiones hidrostáticas del interior (causadas por penetración de agua). Para poder estimar el riesgo de dicha formación accidental de grietas, la energía requerida para romper las películas de BMD: etilcelulosa investigadas se midió usando un analizador de textura y el ensayo de punción antes de, y en la exposición a HCl 0,1 N y tampón de fosfato pH 6,8, respectivamente. Las barras blancas en la Figura 8 indican la estabilidad mecánica de las películas de BMD: etilcelulosa (plastificadas con 25% p/p de TEC, referido al contenido en etilcelulosa) en el estado seco a temperatura ambiente como una función de la proporción de mezcla polimérica. Claramente, la energía en la rotura de las películas aumenta de manera significativa con el contenido en etilcelulosa creciente, que indica que este compuesto contribuye principalmente a la estabilidad mecánica del sistema en estas condiciones. En gran medida, todas las películas investigadas muestran una estabilidad mecánica que es susceptible de ser suficiente para resistir la tensión de cizallamiento y la presión hidrostática a que están expuestas dentro de la GIT superior a niveles de recubrimiento apropiados. Esto se confirmó por la resistencia a la perforación determinada experimentalmente y el % de elongación a la rotura de las películas (datos no mostrados). Sin embargo, se debe señalar que la penetración de agua en los sistemas poliméricos cambia de manera significativa la composición de las películas (Figuras 6 y 7) y, así, sus propiedades mecánicas. En particular el hecho de que el agua actúe como un plastificante para muchos polímeros y que el TEC y los polisacáridos solubles en agua lixivien (al menos parcialmente) de las redes poliméricas se puede esperar que conduzca a cambios dependientes del tiempo en la estabilidad mecánica de las películas. Además, los resultados mostrados en la Figura 8 fueron obtenidos a temperatura ambiente y no a temperatura corporal de 37°C. Se sabe que la temperatura de una red polimérica puede afectar enormemente a sus propiedades mecánicas, por ej., debido a transiciones de fase vítrea a caudoide.

Por estas razones la energía requerida para romper las películas de BMD: etilcelulosa investigadas también se midió en la exposición a HCl 0,1 N durante hasta 2 h y en la exposición a un tampón de fosfato pH 6,8 durante hasta 8 h a 37°C (Figura 9). Como se puede ver, la estabilidad mecánica de las redes poliméricas disminuyó con el tiempo, con independencia de la proporción de mezcla polimérica y el tipo de medio de liberación. Esto se puede atribuir al menos parcialmente a la lixiviación del plastificante TEC soluble en agua y de los polisacáridos en los fluidos volumétricos. En gran medida, incluso los valores observados más bajos indican que la formación accidental de grietas debido a tensión de cizallamiento externa y/o presión hidrostática interna encontradas in vivo es improbable (a niveles de recubrimiento apropiados). De nuevo, esto fue consistente con la resistencia a la perforación determinada de manera experimental y el % de elongación de las películas, con independencia de la proporción de mezcla polimérica, el tiempo de exposición y el tipo de medio de liberación (datos no mostrados).

c) Efectos del contenido en plastificante

Se sabe que el contenido en plastificante puede afectar de manera significativa a las propiedades mecánicas de las películas poliméricas. Para evaluar la importancia de este fenómeno para las mezclas de BMD:etilcelulosa investigadas, el porcentaje de TEC incorporado se aumentó de 25 a 30% p/p (referido al contenido en etilcelulosa). El contenido en TEC por debajo de 25% p/p haría difícil la fusión de las nanopartículas de etilcelulosa durante la formación de la película, siendo crucial la movilidad de las cadenas poliméricas durante esta etapa. El contenido en TEC mayor que 30% p/p aumenta de manera significativa la tendencia a la adherencia durante el recubrimiento y curado y, así, se debería evitar. Como se puede ver en la Figura 8, la estabilidad mecánica de las películas de BMD: etilcelulosa aumentó de manera significativa con el contenido en TEC creciente, con independencia de la proporción de mezcla polimérica. Esto fue consistente con la resistencia a la perforación y el % de elongación de las películas determinados de manera experimental (datos no mostrados). Así, en caso de formulaciones de núcleo osmóticamente muy activas (dando como resultado presión hidrostática significativa reforzada dentro de las formas farmacéuticas en la penetración de agua), los niveles de recubrimiento requeridos (evitando la formación accidental de grietas) se pueden disminuir por aumento del contenido en TEC. De nuevo, fue importante vigilar los efectos de

los cambios dependientes del tiempo en la composición de las redes poliméricas en la exposición a HCl 0,1 N y tampón de fosfato pH 6,8 así como del aumento en la temperatura a 37°C. Como se puede ver en la Figura 10, la energía requerida para romper las películas disminuyó en la exposición al medio de liberación por las razones discutidas anteriormente, con independencia de la proporción de mezcla polimérica, el contenido inicial en plastificante y el tipo de medio de liberación. En gran medida, en todos los casos un incremento en el contenido inicial en TEC de 25 a 30% p/p (referido al contenido en etilcelulosa) condujo a estabilidad mecánica aumentada en todos los instantes de tiempo.

Sin embargo, cuando aumenta el porcentaje del plastificante TEC soluble en agua en las películas poliméricas, también se puede esperar que aumenten las velocidades y extensiones de la absorción de agua y pérdida de masa seca de los sistemas en la exposición a medios acuosos. Esto podría conducir de manera potencial a aumentar de manera significativa la permeabilidad del fármaco de las películas poliméricas, dando como resultado la potencial liberación prematura del fármaco dentro de la GIT superior. Para estimar la importancia de estos fenómenos, la absorción de agua y la cinética de pérdida de masa seca de las películas investigadas se vigilaron en la exposición a HCl 0,1 N durante 2 h y en la exposición a tampón de fosfato pH 6,8 durante 8 h. Se seleccionó el contenido en TEC más alto (30%) así como las dos proporciones de mezcla de BMD: etilcelulosa más críticas: 1,2 y 1:3 (Figura 11). En gran medida, los cambios que resultan en la absorción de agua y la cinética de pérdida de masa seca sólo fueron minoritarios cuando aumenta el contenido inicial en TEC de 25 a 30%, con independencia de la proporción de mezcla polimérica y el tipo de medio de liberación. Así, la estabilidad mecánica de películas de BMD: etilcelulosa se puede mejorar eficazmente por aumento del nivel de plastificante, sin pérdida de la capacidad de los sistemas para suprimir la liberación de fármaco dentro de la GIT superior.

Las mezclas de BMD: etilcelulosa son materiales de recubrimiento de películas para sistemas de suministro de fármacos avanzados que permiten fijar como objetivo el colon. En gran medida, las propiedades deseadas del sistema, que se adaptan a las necesidades específicas de un tratamiento particular (por ej., actividad osmótica y dosis del fármaco) se pueden ajustar fácilmente por variación de la proporción de mezcla polímero: polímero hasta 1:2., preferentemente entre 1:2 y 1:8 además preferentemente 1:3 a 1:6, véase 1:4 a 1:5, así como el contenido en plastificante entre 25% y 30% p/p referido al contenido en polímero insoluble en agua.

B.2. Mezclas MD: etilcelulosa

Se ha mostrado en ejemplos previos que las mezclas de etilcelulosa y los diferentes tipos de polisacáridos en particular MD (maltodextrina no ramificada) permiten suministro del fármaco específico del sitio al colon para mejorar el tratamiento local de enfermedades del intestino inflamado. En gran medida, dichas películas sirven como sustratos para la microflora en la condición patológica de los pacientes que padecen Enfermedades de Crohn y Colitis Ulcerosa. Sin embargo, aún no está claro cuánto puede afectar la proporción de mezcla polímero: polímero a las propiedades de los sistemas resultantes, en particular su absorción de agua y cinética de pérdida de masa seca así como su resistencia mecánica a tensión interna y externa presentada in vivo.

La Figura 12 muestra los efectos de la composición de películas de MD: etilcelulosa sobre la cinética de absorción de agua y el comportamiento de pérdida de masa seca resultantes en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8, respectivamente. Por razones de comparación también se muestran los resultados obtenidos con películas de etilcelulosa pura (plastificada). Claramente, las velocidades y las extensiones de absorción de agua aumentaron de manera significativa cuando aumentó la proporción de mezcla MD:etilcelulosa de 1:5 a 1:2. Esto se puede atribuir al hecho de que MD es una maltodextrina y mucho más hidrófila que la etilcelulosa. A altos contenidos iniciales en MD, el contenido en agua llega a ser significativo, por ej., aproximadamente la mitad de las películas consistió en agua en el caso de mezclas 1:2 después de 1 h de exposición a tampón de fosfato pH 6,8. Esto se puede esperar que haga una supresión eficaz de la liberación de fármacos de bajo peso molecular, libremente solubles en agua en la exposición de la GIT superior, debido a que la movilidad de las macromoléculas aumenta de manera significativa con el contenido creciente en agua, dando como resultado una movilidad del fármaco creciente. Son susceptibles de requerirse niveles elevados de recubrimiento. Sin embargo, la permeabilidad para moléculas de fármaco más grandes (por ej., proteínas) puede ser baja en redes poliméricas, incluso a contenidos elevados en agua. En este caso, la movilidad del fármaco depende esencialmente de la proporción "tamaño de la molécula de fármaco: tamaño de malla medio de red macromolecular". Los sistemas de suministro de fármacos avanzados con suministro específico del sitio al colon podían ser atractivos, por ejemplo, para permitir el suministro sistémico de proteínas después de administración oral: Si las proteínas están protegidas eficazmente contra el bajo pH y la degradación enzimática en la GIT superior, se podían absorber en la liberación en el colon. Además, la velocidad de liberación relativa de un fármaco deficientemente soluble en agua podía ser muy baja, incluso si el recubrimiento de película contiene cantidades significativas de agua, siempre que la forma farmacéutica permanezca intacta.

Notablemente, ambas, las velocidades y las extensiones de absorción de agua fueron mayores en tampón de fosfato pH 6,8 que en HCl 0,1 M, con independencia de la proporción de mezcla polimérica (Figura 12, fila superior). Esto se puede atribuir a la presencia de dodecilsulfato de sodio (SDS) en la dispersión acuosa de etilcelulosa (que actúa como un estabilizante) usada para preparación de la película. A pH bajo, este emulsionante es protonado y neutro, mientras que a pH 6,8 está desprotonado y cargado de manera negativa. Así, su capacidad para disminuir las tensiones interfaciales aumenta, facilitando la penetración de agua en las redes poliméricas.

Además, las velocidades y extensiones de pérdida de masa de las películas secas aumentó de manera significativa con el contenido creciente en MD (Figura 12, fila del fondo). Esto se puede explicar al menos parcialmente por la lixiviación de esta maltodextrina soluble en agua en los fluidos volumétricos. Sin embargo, también la lixiviación (parcial) del plastificante TEC soluble en agua en los medios de liberación es responsable de este fenómeno. Se requiere TEC para la plastificación de las nanopartículas de etilcelulosa para permitir la formación de películas a partir de dispersiones acuosas. Incluso las películas sin MD pierden alguna masa seca, en particular a pH 6,8. El considerable contenido en agua de los sistemas poliméricos que contienen alto contenido inicial en MD se puede esperar que facilite la lixiviación del plastificante TEC soluble en agua, de bajo peso molecular. De nuevo, los efectos observados fueron más pronunciados en la exposición a tampón de fosfato pH 6,8 que a HCl 0,1 M (Figura 12), debido a la presencia de SDS.

Cuando se comparan películas de MD: etilcelulosa (figura 12) y películas de BMD: etilcelulosa (figuras 6 y 7) sobre su absorción de agua y pérdida de masa seca parece claro que BMD es más eficaz que MD en conferir resistencia al agua a las películas.

Además de absorción de agua y cinética de pérdida de masa seca, apropiadas, los recubrimientos de película poliméricos que se destinan a permitir suministro de fármaco específico del sitio al colon también deben proporcionar estabilidad mecánica suficiente para resistir las diversas tensiones mecánicas encontradas in vivo. Esto afecta en particular a: (i) las fuerzas de cizallamiento que resultan de la motilidad de la GIT superior y (ii) la presión hidrostática que actúa frente al recubrimiento de la película del núcleo de la forma farmacéutica, causada por la afluencia de agua conducida de manera osmótica al sistema en contacto con fluidos corporales acuosos. Para estimar la capacidad de las mezclas de MD: etilcelulosa investigadas para resistir dichas tensiones externas e internas, las propiedades mecánicas de las películas delgadas se midieron con un analizador de textura y el ensayo de punción. La resistencia a la perforación, el % de elongación a la rotura así como la energía requerida para romper las películas en el estado seco a temperatura ambiente se muestran en la Tabla 2. Claramente, la estabilidad mecánica de los sistemas aumentó con el contenido creciente en etilcelulosa. Así, el último compuesto es el agente de estabilización en estas redes poliméricas.

Se tiene que señalar que las propiedades mecánicas mostradas en la Tabla 2 fueron obtenidas con películas secas a temperatura ambiente. Se sabe que el agua actúa como un plastificante para muchos polímeros y como se puede ver en la Figura 12, cantidades significativas de agua penetran en las películas en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8. Además, la composición de los sistemas poliméricos cambia de manera significativa en contacto con los medios de liberación, debido a lixiviación de MD y TEC (parcial). Además, la resistencia mecánica de las películas poliméricas podía depender significativamente de la temperatura. Los polímeros pueden experimentar, por ejemplo, transiciones de fase vítrea a cauchoide cuando aumenta la temperatura a 37°C. Por estas razones, las propiedades mecánicas de las mezclas de MD: etilcelulosa investigadas también se determinaron en hasta 2 h de exposición a HCl 0,1 M y durante hasta 8 h de exposición a tampón de fosfato pH 6,8. Como se puede ver en la Figura 13, la estabilidad mecánica de las películas poliméricas disminuyó con el tiempo debido a lixiviación parcial de MD y TEC, con independencia de la proporción de mezcla polimérica y el tipo de medio de liberación. En gran medida, se pueden ajustar eficazmente las estabilidades mecánicas apropiadas por variación de la proporción de mezcla polímero: polímero (y eventualmente por variación del espesor del recubrimiento).

En gran medida, las estabilidades deseadas del sistema se pueden ajustar de nuevo de manera eficaz variando la proporción de mezcla polimérica.

Las propiedades clave de las películas poliméricas delgadas que constan de mezclas de polisacárido: polímero insoluble en agua que presentan un potencial interesante para proporcionar suministro de fármaco específico del sitio al colon (y que se adaptan a la fisiopatología de los pacientes con enfermedad del intestino inflamado) se pueden ajustar eficazmente por variación de la proporción de mezcla polimérica y el tipo de polisacáridos. Esto incluye la absorción de agua y cinética de pérdida de masa seca así como las propiedades mecánicas de las películas antes de y en la exposición a medios acuosos que simulan el contenido de la GIT superior. Así, se pueden proporcionar fácilmente amplios intervalos de propiedades de recubrimiento de películas, que se adaptan a las necesidades del respectivo tratamiento con fármacos (por ej. actividad osmótica de la formulación del núcleo y dosis administrada).

Ejemplo 3

A. Materiales y Métodos

A.1. Materiales

Maltodextrina ramificada (NUTRIOSE® FB 06; Roquette Freres, Lestrem, Francia); dispersión acuosa de etilcelulosa (Aquacoat ECD 30; FMC Biopolymer, Filadelfia, USA); citrato de trietilo (TEC; Morflex, Greensboro, USA); ácido 5-aminosalicílico (5-ASA; Sigma-Aldrich, Isle d'Abeau Chesnes, Francia); celulosa microcristalina (Avicel PH 101; FMC Biopolymer, Bruselas, Bélgica); bentonita y polivinilpirrolidona (PVP, Povidona K 30) (Cooperation Pharmaceutique Francaise, Melun, Francia); pancreatina (de páncreas de mamífero = mezcla de amilasa, proteasa y

lipasa) y pepsina (Fisher Bioblock, Illkirch, Francia); extractos de ternera y levadura así como triptona (= producto de la digestión pancreática de caseína) (Becton Dickinson, Sparks, USA); hidrocloreuro de L-cisteína hidratado (Acros Organics, Geel, Bélgica); disolución de Ringer cisteinada (Merck, Darmstadt, Alemania). Pentasa®, Asacol® y Lialda son productos comercialmente disponibles producidos por Ferring, Meduna y Shire, respectivamente.

5 A.2. Preparación de núcleos de gránulos cargados con fármaco

Se prepararon núcleos de gránulos cargados con fármaco (diámetro: 710-1.000 μm ; 60% de 5-ASA, 32% de celulosa microcristalina, 4% de bentonita, 4% de PVP) por extrusión y esferonización. Se mezclaron los polvos en un granulador de alta velocidad (Gral 10; Collette, Antwerp, Bélgica) y se añadió agua purificada hasta que se consiguió una masa homogénea. La mezcla de polvo húmeda se hizo pasar por un cilindro extrusor (SK M/R; Alexanderwerk, Remscheid, Alemania). Se esferonizaron los extruidos con posterioridad a 54 rad/s (520 rpm) (Spheronizer Model 15; Calveva, Dorset, R.U.) y se secaron en un lecho fluidizado (ST 15; Aeromatic, Muttenz, Suiza) a 40°C durante 30 min.

15 A.3. Preparación de gránulos recubiertos

Se disolvió BMD en agua purificada (5% p/p), mezclado con dispersión acuosa de etilcelulosa plastificada (25% de TEC, agitando durante la noche; 15% p/p de contenido en polímero) a una proporción de 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 (p/p) y se agitó durante 6 h previamente a recubrimiento. Los núcleos de gránulos cargados con fármaco se recubrieron en una máquina de recubrimiento de lecho fluidizado provista de un inserto Wurster (Strea 1; Aeromatic-Fielder, Bubendorf, Suiza) hasta que se consiguió una ganancia de peso de 5, 10, 15 y 20% (p/p). Los parámetros del procedimiento fueron como sigue: temperatura de entrada = $39 \pm 2^\circ\text{C}$, temperatura del producto = $40 \pm 2^\circ\text{C}$, velocidad de pulverización = 1,5-3 g/min, presión de atomización = $1,2 \times 10^2$ kPa (1,2 bar), diámetro de la boquilla = 1,2 mm. Después de recubrimiento, las perlas se fluidizaron además durante 10 min y con posterioridad se curaron en una estufa durante 24 h a 60°C.

20 A.4. Liberación de fármaco in vitro

La liberación de fármaco de los gránulos recubiertos se midió usando 3 diferentes montajes experimentales, que simulaban las condiciones en la:

(i) GIT superior: Los gránulos se pusieron en envases de plástico de 120 ml, cargados con 100 ml de medio de disolución: HCl 0,1 M (que contiene opcionalmente 0,32% de pepsina) durante las primeras 2 h, después cambio de medio completo a tampón de fosfato pH 6,8 (USP 30) (que contiene opcionalmente 1% de pancreatina). Se agitaron los matraces en un agitador horizontal (8 rad/s (80 rpm); GFL 3033; Gesellschaft fuer Labortechnik, Burgwedel, Alemania). A instantes de tiempo predeterminados, se retiraron muestras de 3 ml y se analizaron de manera espectrofotométrica con luz ultravioleta ($\lambda = 302,6$ nm en HCl 0,1 M; $\lambda = 330,6$ nm en tampón de fosfato pH 6,8) (Shimadzu UV-1650, Champs sur Marne, Francia). En presencia de enzimas, se centrifugaron las muestras durante 15 min a 1.152 rad/s (11.000 rpm) y con posterioridad se filtró (0,2 μm) previamente a las medidas con luz ultravioleta. Cada experimento se realizó por triplicado.

(ii) GIT completa, sin heces: Para simular el aumento gradual en el pH a lo largo de la GIT, la liberación de fármaco se midió usando el Aparato 3 USP (Bio-Dis; Varian, París, Francia). Se pusieron los gránulos en recipientes de 250 ml cargados con 200 ml de HCl 0,1 M. La velocidad de inmersión fue 10, 20 ó 30 dpm (como se indica). Después de 2 h se transfirieron los gránulos a tampón de fosfato pH 5,5 (Eur. Pharm). La Tabla 3 indica los cambios posteriores y los tiempos de exposición para los diferentes medios de liberación. A instantes de tiempo predeterminados, se retiraron muestras de 3 ml y se analizaron de manera espectrofotométrica con luz ultravioleta ($\lambda = 306,8/328,2/330,6/330,2/330,2$ a pH = 5,5/6,0/6,8/7,0/7,4) como se describió anteriormente.

(iii) GIT completa, con heces: para simular el tránsito por la GIT superior, se expusieron los gránulos a HCl 0,1 M durante 2 h y con posterioridad a tampón de fosfato pH 6,8 ó 7,4 (USP 30) durante 9 h en un Aparato 3 USP (Bio-Dis). Después, se transfirieron los gránulos a matraces de 120 ml cargados con 100 ml de medio de cultivo inoculado con heces de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado, medio de cultivo inoculado con un tipo específico de bifidobacterias, medio de cultivo inoculado con una mezcla de bifidobacterias, bacteroides y E-coli o medio de cultivo exento de heces y bacterias por razones de comparación. Se incubaron las muestras a 37°C en condiciones anaerobias (5% de CO₂, 10% de H₂, 85% de N₂) y agitación suave. El medio de cultivo fue preparado por disolución de 1,5 g de extracto de ternera, 3 g de extracto de levadura, 5 g de triptona, 2,5 g de NaCl y 0,3 g de hidrocloreuro de L-cisteína hidratado en 1 l de agua destilada (pH 7,0 \pm 0,2) y posterior esterilización en un autoclave. Se diluyeron heces de pacientes con Enfermedad de Crohn o Colitis Ulcerosa así como heces de individuos sanos 1:200 con disolución de Ringer cisteinada; se diluyeron 2,5 ml de esta suspensión con medio de cultivo a 100 ml. A instantes de tiempo predeterminados, se retiraron muestras de 2 ml, se centrifugaron a 1.361 rad/s (13.000 rpm) durante 5 min, se filtró (0,22 μm) y se analizó el contenido en fármaco usando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC; ProStar 230; Varian, París, Francia). La fase móvil consistió en 10% de metanol y 90% de una disolución acuosa de ácido acético (1% p/v) [i]. Se inyectaron muestras en columnas Pursuit C18 (150 x 4,6 mm; 5 μm), el caudal fue 1,5 ml/min. El fármaco se detectó de manera espectrofotométrica con luz ultravioleta a $\lambda=300$ nm.3.

B Resultados y discusión

B.1. Liberación de fármaco en la GIT superior

Un recubrimiento de película ideal que permite el suministro específico del sitio de un fármaco al colon debería suprimir completamente la liberación de fármaco en la GIT superior. Sin embargo, una vez que se alcanza el colon, la liberación de fármaco debería ser controlada en el tiempo (esto puede incluir liberación rápida y completa). Mezclas del polisacárido BMD y etilcelulosa se han mostrado en el ejemplo precedente como nuevas películas poliméricas prometedoras, que muestran bajas velocidades y extensiones de absorción de agua y pérdida de masa seca en la exposición a medios de liberación que simulan el tránsito por el estómago e intestino delgado. Sin embargo, una vez que se alcanza el colon, sirven como sustratos para la microflora en pacientes con la enfermedad del intestino inflamado y pierden una masa seca significativa y absorben considerables cantidades de agua. Aún, era desconocido si estas nuevas películas poliméricas pueden controlar de manera adecuada la liberación de fármaco de formas farmacéuticas sólidas recubiertas.

La Figura 14 muestra la velocidad de liberación de fármaco in vitro de 5-ASA de gránulos recubiertos con mezclas de BMD: etilcelulosa 1:2 a diferentes niveles de recubrimiento en la exposición a HCl 0,1 M durante 2 h y cambio posterior de medio completo a tampón de fosfato pH 6,8 (USP) en matraces agitados a 37°C (curvas continuas). Claramente, la velocidad de liberación de fármaco relativa disminuyó con un nivel de recubrimiento creciente, debido a la longitud creciente de las rutas de difusión. Sin embargo, incluso a 20% p/p de nivel de recubrimiento, la liberación de fármaco fue aún significativa en estas condiciones, liberándose aproximadamente 20% del 5-ASA después de 11 h. Se tiene que señalar que estos resultados se obtuvieron en medios de liberación exentos de enzimas. Esto no refleja de manera apropiada las condiciones in vivo: La presencia de enzimas digestivas modifica de manera potencial las propiedades de recubrimiento de las películas y podía dar como resultado una liberación de fármaco mucho más rápida. Para estimar la importancia de este fenómeno, se añadió 0,32% de pepsina al HCl 0,1 M y 1% de pancreatina al tampón de fosfato pH 6,8. Las curvas de puntos en la Figura 14 muestran la cinética de liberación de fármaco medida experimentalmente, respectiva, en estas condiciones. En gran medida, sólo hubo un ligero incremento/ningún efecto en todos los casos, que indica que las enzimas no pueden degradar esta película polimérica que recubre una extensión considerable en estas condiciones (por ej., en presencia de etilcelulosa). No obstante, las velocidades de liberación de fármaco observadas incluso a niveles de recubrimiento superiores fueron demasiado altas.

Para disminuir la velocidad de liberación de 5-ASA de los gránulos investigados, se aumentó el contenido inicial en etilcelulosa en el recubrimiento de la película. Como se mostró previamente, las velocidades y las extensiones de la absorción de agua así como las velocidades y extensiones de pérdida de masa de película seca disminuyeron con la disminución del contenido inicial en BMD, si se exponían las películas libres a HCl 0,1 N y tampón de fosfato pH 6,8, respectivamente. La Figura 15 muestra los efectos de la proporción de mezcla de BMD: etilcelulosa sobre la cinética de liberación de 5-ASA resultante de los gránulos investigados. Claramente, la velocidad de liberación de fármaco relativa disminuyó de manera significativa cuando disminuía la proporción de mezcla polímero: polímero de 1:2 a 1:5. Además, en todos los casos la velocidad de liberación disminuyó con un nivel de recubrimiento creciente. Como se puede ver en la Figura 15, un nivel de recubrimiento de 15-20% a una proporción de mezcla de BMD: etilcelulosa de 1:4 ó 1:5 es suficiente para suprimir casi completamente la liberación de fármaco en estas condiciones, que simula el tránsito por la GIT superior. Obsérvese que todos los tiempos de tránsito se eligieron de tal manera que se puede esperar que estén por encima del tiempo de tránsito real in vivo (las peores condiciones del caso) [ii, iii]. Así, la realización in vivo de los gránulos se puede esperar que sea incluso mejor. En gran medida, se observó poco a ningún efecto cuando se añadió 0,32% de pepsina y 1% de pancreatina a los medios de liberación, con independencia del nivel de recubrimiento y la proporción de mezcla polimérica (curvas de puntos en la Figura 15). Sin embargo, en estos experimentos el aumento gradual en el pH del medio de liberación por toda la GIT superior fue mucho más simplificado. Además, la tensión mecánica a que se expusieron los gránulos no fue muy importante (agitación horizontal en matraces a 8 rad/s (80 rpm)). In vivo, fuerzas de cizallamiento mecánicas significativas (causadas por la motilidad de la GIT superior) podía inducir la formación de grietas dentro de los recubrimientos de la película polimérica, dando como resultado velocidades de liberación de fármaco mucho mayores. Para simular mejor estos dos aspectos importantes, los gránulos recubiertos con 20% de BMD: etilcelulosa a una proporción de mezcla de 1:4 y 1:5 también se liberaron en un aparato 3 USP usando los medios de liberación y los tiempos de tránsito indicados en la Tabla 3. Se estudiaron tres velocidades de inmersión diferentes: (i) alta: 30 dpm durante 11,5 h, después 20 dpm, (ii) media: 20 dpm durante 11,5 h, después 10 dpm y (iii) baja: 10 dpm durante 11,5 h, después 5 dpm. Claramente, la liberación de 5-ASA se suprimió eficazmente también en estas condiciones más rigurosas, en particular a la proporción de mezcla BMD: etilcelulosa 1:5 (Figura 16). De nuevo, obsérvese que los periodos de liberación elegidos son condiciones no fisiológicas y representan condiciones extremas (el peor caso). Se puede esperar que la realización in vivo de estas mezclas poliméricas sea mejor. Así, la estabilidad mecánica de estos recubrimientos de película es suficiente incluso en la exposición a unas fuerzas de cizallamiento considerables durante periodos de tiempo prolongados.

B.2. Liberación de fármaco en el colon

Una vez que se alcanza el colon, el recubrimiento de la película polimérica (que suprime de manera eficaz la liberación de fármaco en la GIT superior) debería llegar a ser permeable para el fármaco. La Figura 17 muestra la

liberación de 5-ASA de los gránulos investigados recubiertos con 15% y 20% p/p de BMD: etilcelulosa a las siguientes tres relaciones de mezcla: 1:3, 1:4 ó 1:5. El medio de liberación fue HCl 0,1 M durante las primeras 2 h, que con posterioridad se reemplazaron completamente mediante tampón de fosfato pH 6,8 durante 9 h. Durante las últimas 10 h se expusieron los gránulos a heces de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado y se incubaron en condiciones anaerobias (curvas continuas). Claramente, la liberación de 5-ASA en los medios que simulan el tránsito por la GIT superior se suprimió de manera eficaz, mientras que se observó un aumento significativo en la velocidad de liberación una vez que se expusieron los gránulos a las heces de los pacientes. Este aumento repentino de la permeabilidad del fármaco se puede atribuir al hecho de que la BMD: etilcelulosa sirve como sustrato para las enzimas segregadas por la microflora en pacientes que padecen Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa (dibujo en la Figura 17). Obsérvese que la viabilidad de esta microflora está limitada in vitro. Así, es probable que la actividad enzimática esté subestimada en las condiciones experimentales determinadas. Las bacterias in vivo producen de manera continua las enzimas respectivas, que pueden degradar el polisacárido en los recubrimientos de la película. Así, la igualación de los efectos de la liberación de fármaco por debajo de 100% como se observa en este estudio es improbable que tenga lugar in vivo.

Por razones de comparación, la liberación de 5-ASA también se midió en la exposición a los medios de liberación que simulan las condiciones en la GIT superior seguido por exposición a un medio de cultivo sin heces del paciente en condiciones anaerobias (curvas de puntos en la Figura 17). En gran medida, no se observó aumento repentino en la velocidad de liberación de fármaco después de 12 h. Esto confirma la hipótesis de que el aumento significativo en la permeabilidad de los recubrimientos de películas está causado por la degradación enzimática (parcial) de este tipo de sistemas poliméricos por las enzimas presentes en las heces de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado.

Se tiene que señalar que sólo se pueden usar muestras fecales recientes para las mediciones de liberación de fármaco in vitro (debido a la viabilidad limitada de la microflora compleja). Como la disponibilidad de dichas muestras es probable que esté restringida en la práctica, en particular para aplicaciones en el uso rutinario, las bacterias más importantes en las muestras fecales se tenían que identificar y se tenían que desarrollar dos medios de liberación alternativos que simulaban las condiciones en el colon de un individuo. La Figura 18 muestra las velocidades de liberación de 5-ASA determinadas experimentalmente de gránulos recubiertos con 15 ó 20% de BMD: etilcelulosa a una proporción de mezcla de 1:3, 1:4 ó 1:5, respectivamente. Se expusieron los gránulos a HCl 0,1 M durante las primeras 2 h, con posterioridad a tampón de fosfato pH 6,8 durante 9 h y finalmente a cualquier medio de cultivo que contenía una mezcla de bifidobacterias, bacteroides y Escherichia coli (Figura 18a) o a un medio de cultivo que contenía Bifidobacterium (Figura 18b). Claramente, el aumento repentino en la velocidad de liberación relativa en la exposición a estos medios de liberación de fármaco "alternativos" que simulan las condiciones del colon fue similar al observado en heces de pacientes con la enfermedad del intestino inflamado (Figura 18 frente a Figura 17). Así, estos medios podían ser buenos sustitutos para muestras fecales reales.

La Figura 19 ilustra la cinética de liberación de 5-ASA determinada de manera experimental de tres productos comercialmente disponibles: gránulos de Pentasa®, cápsulas Asacol® cargadas con gránulos recubiertos y comprimidos Lialda. Los gránulos Pentasa® consisten en núcleos de iniciadores cargados con 5-ASA recubiertos con etilcelulosa. Como se puede ver, la liberación de fármaco ya empieza en la GIT superior, que es consistente con informes en la bibliografía [iv]. Las cápsulas Asacol® se cargan con gránulos cargados con 5-ASA, que se recubren con Eudragit S: un poli(metacrilato de acrílo), que es insoluble a pH bajo, pero llega a ser soluble a pH > 7. Para poder proporcionar condiciones de inmersión usando el aparato de liberación Bio-Dis y el plan de tiempo seleccionado para cambios de medios, se abrieron cápsulas de gelatina dura y se pusieron 0,05 g de gránulos en cada recipiente. Como se puede ver en la Figura 19, la liberación de 5-ASA ya es significativa en la GIT superior en las condiciones investigadas. Obsérvese que la realización de este tipo de sistema de suministro de fármacos depende esencialmente del pH del entorno de los gránulos a que se exponen. Los comprimidos Lialda son matrices que constan de compuestos hidrófilos y lipófilos [carmelosa de sodio, carboximetilalmidón sódico (tipo A), talco, ácido esteárico y cera de carnauba], en que se incorpora el fármaco. Estos comprimidos de matriz de liberación controlada están recubiertos con una mezcla de Eudragit L y Eudragit S: dos poli(metacrilatos de acrílo). Como se puede ver en la Figura 19, la liberación de 5-ASA es suprimida de manera eficaz en los medios de liberación que simulan el contenido de la GIT superior en las condiciones investigadas. Una vez que los sistemas se exponen a los medios del colon, empieza la liberación de fármaco. Notablemente, la presencia /ausencia de muestras fecales en estas condiciones no mostró un efecto muy pronunciado en ninguna de las formulaciones investigadas.

Los gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa recién desarrollados proporcionan la principal ventaja: (i) ser una forma farmacéutica de múltiples unidades, permitiendo menos variabilidad en los tiempos de tránsito gástrico, una distribución más homogénea por todo el contenido de la GIT y evitar el efecto "todo o nada" de las formas farmacéuticas de una sola unidad, (ii) suprimir con eficacia la liberación de fármaco en la GIT superior, (iii) proporcionar liberación de fármaco controlada en el tiempo en el colon, el comienzo de la cual se induce por enzimas que están presentes en el colon de enfermedades del intestino inflamado, (iv) contener el polisacárido BMD, cuya actividad prebiótica no está inhibida de manera sorprendente cuando se mezcla con la etilcelulosa, normalizándose la microflora en el colon de los pacientes.

Las mezclas BMD: etilcelulosa de los nuevos recubrimientos poliméricos de las películas permiten según la invención, el suministro específico del sitio de fármacos (por ej., 5-ASA) al colon. En gran medida, estas nuevas

barreras poliméricas se adaptan a las condiciones en el sitio fijado como objetivo, especialmente con respecto a la microflora de la condición patológica y el pH del entorno. Además, el segundo efecto de este nuevo recubrimiento de películas poliméricas son los efectos prebióticos significativos del BMD, normalizando la microflora en el colon, que es en particular beneficioso para pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado.

5 Ejemplo 4

Se obtienen gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa, usando el mismo protocolo que el ejemplo 2 y 3 con sebacato de dibutilo al 25% como plastificante. Se estudian la cinética de absorción de agua (figura 20) y la Cinética de pérdida de masa seca (figura 21) que muestran los mismos resultados que los gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa usando TEC como plastificante. Por supuesto, los gránulos recubiertos característicos no dependen del plastificante. Se estudia la liberación de 5-ASA usando los gránulos recubiertos con BMD: etilcelulosa 1:4 (etilcelulosa que se plastifica con sebacato de dibutilo al 25%) en condiciones que simulan el tránsito por la GIT completa, en presencia y ausencia de heces de los pacientes con la enfermedad del intestino inflamado según el mismo protocolo que en el ejemplo 3. El nivel de recubrimiento fue 15% (figura 22). De manera similar al ejemplo 3 precedente, la liberación de 5-ASA no se observa en el medio de liberación que simula el contenido de la GIT superior en las condiciones investigadas. Una vez que los sistemas se exponen a los medios del colon, empieza la liberación de fármaco.

Ejemplo 5

A. Materiales y Métodos

A.1. Materiales

20 Maltodextrina ramificada (BMD) (una maltodextrina ramificada, soluble en agua, con alto contenido en fibra obtenida de almidón de trigo; NUTRIOSE® FB 06, Roquette Freres, Lestrem, Francia); Inulina, FOS; dispersión acuosa de etilcelulosa (Aquacoat ECD 30; FMC Biopolymer, Filadelfia, USA); citrato de trietilo (TEC; Morflex, Greensboro, USA).

A.2. Preparación de películas poliméricas, delgadas

25 Se prepararon películas poliméricas delgadas como se ve en el ejemplo 2.

A.3. Caracterización de la película

Se midió el espesor, la absorción de agua y la cinética de pérdida de masa seca de las películas como se ve en el ejemplo 2.

B Resultados y discusión

30 Absorción de agua y pérdida de masa seca de películas delgadas

Se comparó la absorción de agua y la cinética de pérdida de masa seca de inulina y FOS con BMD en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8 a 37°C. Claramente, la proporción de mezcla polimérica afecta de manera significativa a las velocidades y extensiones de penetración de agua resultantes para el FOS e Inulina como se observa para BMD. Como se vio previamente, este fenómeno se puede atribuir a la naturaleza más hidrófoba de la etilcelulosa comparado con los polisacáridos indigeribles solubles en agua Inulina, FOS y BMD. Notablemente, las velocidades y las extensiones de la absorción de agua de las películas investigadas fueron mayores en tampón de fosfato pH 6,8 que en HCl 0,1 N (Figura 23b frente a Figura 23a y Figura 24b frente a Figura 24a) atribuido previamente a la presencia del emulsionante dodecilsulfato de sodio (SDS) en la dispersión acuosa de etilcelulosa Aquacoat ECD.

40 Comparando las velocidades y las extensiones de la absorción de agua de las películas en la exposición a HCl 0,1 M y tampón de fosfato pH 6,8 en las Figuras 23 a 26, se puede ver que el tipo de segundo polisacárido tiene un impacto significativo. Por ejemplo, las mezclas BMD: etilcelulosa (líneas completas) muestran las más bajas velocidades de absorción de agua y pérdida de masa seca, con independencia del tipo de medio de liberación. Incluso si la Inulina y FOS son menos eficaces que BMD a la hora de conferir a las películas un comportamiento de resistencia al agua, la liberación prematura de fármaco dentro de la GIT superior se puede esperar que se limite con las películas poliméricas que contienen Inulina y FOS, con independencia de la proporción de mezcla polímero:polímero en el intervalo investigado.

Ejemplo 6

A. Materiales y métodos

50 A.1 Materiales

Ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico (TNBS) (Sigma-Aldrich, Isle d'Abeau Chesnes, Francia); disolución de Ringer

cisteinada (Merck, Darmstadt, Alemania); BMD (NUTRIOSE® FB 06; Roquette Freres, Lestrem, Francia); Almidón de guisantes N-735 (almidón de guisantes; Roquette Freres, Lestrem, Francia); dispersión acuosa de etilcelulosa (Aquacoat ECD 30; FMC Biopolymer, Filadelfia, USA); citrato de trietilo (TEC; Morflex, Greensboro, USA); ácido 5-aminosalicílico (5-ASA; Sigma-Aldrich, Isle d'Abeau Chesnes, Francia); celulosa microcristalina (Avicel PH 101; FMC Biopolymer, Bruselas, Bélgica); polivinilpirrolidona (PVP, Povidona K 30) (Cooperation Pharmaceutique Francaise, Melun, Francia); Pentasa® (gránulos recubiertos, Ferring, número de lote: JX 155), Asacol® (gránulos recubiertos, Meduna, número de lote: TX 143).

A.2 Preparación de gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa y almidón de guisantes: etilcelulosa

Se prepararon núcleos de iniciadores de gránulos cargados con ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) (diámetro: 0,7-1,0 mm; 60% de 5-ASA, 32% de celulosa microcristalina, 4% de bentonita, 4% de PVP) por extrusión y posterior esferonización como sigue: Se mezclaron los respectivos polvos en un granulador de alta velocidad (Gral 10; Collette, Antwerp, Bélgica) y se añadió agua purificada hasta que se consiguió una mezcla homogénea (41 g de agua para 100 g de mezcla de polvo). Se hizo pasar la mezcla húmeda por un cilindro extrusor (SK M/R, agujeros: 1 mm de diámetro, 3 mm de espesor, velocidad de rotación: 10 rad/s (96 rpm); Alexanderwerk, Remscheid, Alemania). Se esferonizaron los extruidos con posterioridad a 54 rad/s (520 rpm) durante 2 min (Spheroniser Model 15; Calveva, Dorset, R.U.) y se secaron en un lecho fluidizado (ST 15; Aeromatic, Muttentz, Suiza) a 40°C durante 30 min. La fracción de tamaños 0,7-1,0 mm se obtuvo por tamizado.

Los núcleos de iniciador cargados con fármaco obtenidos se recubrieron con posterioridad en una máquina de recubrimiento de lecho fluidizado, provista de un inserto Wurster (Strea 1; Aeromatic-Fielder, Bubendorf, Suiza) con mezclas BMD:etilcelulosa 1:4 (gránulos recubiertos de BMD:EC) o con mezclas de almidón de guisantes: etilcelulosa 1:2 (gránulos recubiertos de almidón de guisantes: EC) hasta que se consiguió una ganancia de peso de 15% (p/p) (gránulos recubiertos de BMD:EC) o 20% (p/p) (gránulos recubiertos de almidón de guisantes: EC).

Se disolvió BMD en agua purificada (5% p/p), mezclado con dispersión acuosa de etilcelulosa plastificada (25% de TEC, agitando durante la noche; 15% p/p de contenido en polímero) a una proporción de 1:4 (p/p, basado en la masa seca de polímero no plastificado) y se agitó durante 6 h previamente a recubrimiento. Los núcleos de gránulos cargados con fármaco se recubrieron en una máquina de recubrimiento de lecho fluidizado provista de un inserto Wurster (Strea 1; Aeromatic-Fielder, Bubendorf, Suiza) hasta que se consiguió una ganancia de peso de 15% (p/p). Los parámetros del procedimiento fueron como sigue: temperatura de entrada = $39 \pm 2^\circ\text{C}$, temperatura del producto = $40 \pm 2^\circ\text{C}$, velocidad de pulverización = 1,5-3 g/min, presión de atomización = $1,2 \times 10^2$ kPa (1,2 bar), diámetro de la boquilla = 1,2 mm. Después de recubrimiento, se fluidizaron además las perlas durante 10 min y con posterioridad se curaron en una estufa durante 24 h a 60°C.

Se dispersó almidón de guisantes en agua purificada a 65-75°C (5% p/p). Se plastificó dispersión acuosa de etilcelulosa (15% p/p de contenido en sólidos) durante 24 h con 25% de TEC (p/p, referido al contenido en sólidos de la dispersión). Las dispersiones de almidón de guisantes y etilcelulosa se mezclaron a temperatura ambiente a la siguiente proporción: 1:2 (polímero: polímero, p:p). La mezcla se agitó durante 6 h previamente a recubrimiento. Los núcleos de gránulos cargados con fármaco se recubrieron en una máquina de recubrimiento de lecho fluidizado provista de un inserto Wurster (Strea 1; Aeromatic-Fielder, Bubendorf, Suiza) hasta que se consiguió una ganancia de peso de 20% (p/p). Los parámetros del procedimiento fueron como sigue: temperatura de entrada = $39 \pm 2^\circ\text{C}$, temperatura del producto = $40 \pm 2^\circ\text{C}$, velocidad de pulverización = 1,5-3 g/min, presión de atomización = $1,2 \times 10^2$ kPa (1,2 bar), diámetro de la boquilla = 1,2 mm. Después, los gránulos se fluidizaron además durante 10 min y con posterioridad se curaron en una estufa durante 24 h a 60°C.

A.3 Inducción de colitis y diseño del estudio

Se usaron ratas Wistar macho (250 g) durante el estudio in vivo, que se realizó en un centro acreditado al Institut Pasteur de Lille (A 35009), según las directrices gubernamentales (86/609/CEE). Se encerraron cuatro animales por jaula, todas las ratas tuvieron acceso libre a agua del grifo.

Al principio del experimento (día 0), se dividieron las ratas en seis grupos (5-8 animales/grupo). Dos grupos recibieron pienso estándar (grupos de control negativo y positivo). Los otros grupos recibieron alimento con gránulos Pentasa® (n=8), gránulos Asacol® (n=8), gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa (n=8) o gránulos recubiertos de almidón de guisantes: etilcelulosa (n=8). Estos cuatro piensos diferentes se prepararon usando la técnica de "mezcla de alimentos". Todos los sistemas se añadieron para obtener una dosis de 5-ASA de 150 mg/kg/día.

El día 3, se indujo colitis como sigue: Se anestesiaron las ratas durante 90-120 min usando pentobarbital (40 mg/kg) y recibieron una administración intrarrectal de TNBS (250 µl, 20 mg/rata) disuelta en una mezcla 1:1 de una disolución acuosa al 0,9% de NaCl con etanol al 100%. Las ratas de control (control negativo) recibieron una administración intrarrectal del vehículo sólo (mezcla 1:1 de una disolución acuosa al 0,9% de NaCl con etanol al 100%). Se sacrificaron los animales 3 días después de administración intrarrectal de TNBS o de vehículo (día 6).

A.4 Valoración macroscópica e histológica de la colitis

Se valoraron los indicios macroscópicos e histológicos de la colitis de manera ciega por dos investigadores. Se usó

una muestra de colon situada precisamente 4 cm por debajo del canal anal para evaluación histológica según el criterio Ameho. Esta graduación en una escala de 0 a 6 tiene en cuenta el grado de infiltrado de inflamación, la presencia de erosión, ulceración o necrosis y la profundidad y extensión de la superficie de las lesiones.

A.5 Estadística

- 5 Se analizaron todas las comparaciones usando el ensayo no paramétrico (Mann-Whitney). Se juzgaron las diferencias estadísticamente significativas si el valor de P era < 0,05.

B Resultados y discusión

Se mejoró la colitis inducida por TNBS mediante el tratamiento con gránulos recubiertos de BMD:etilcelulosa y gránulos recubiertos de almidón de guisantes:etilcelulosa. Se caracterizó el desarrollo de colitis en animales sometidos a administración intrarrectal de TNBS. Las ratas de control (grupo de control negativo), sacrificadas 3 días después de administración intrarrectal del vehículo sólo (una mezcla 1:1 de una disolución acuosa al 0,9% de NaCl con etanol al 100%), no presentaron lesiones macroscópicas en el colon (Figura 27A). Por el contrario, se indujo una fuerte colitis tan pronto como 3 d después de la administración de TNBS (Figura 27B). En el nivel histológico, no se observaron anomalías en las ratas de control (Figura 29: control = grupo de control negativo). Por el contrario, 3 días después de las administraciones de TNBS, se caracterizó la histología del colon por grandes áreas de ulceración con un infiltrado neutrófilo, extendiéndose la necrosis profundamente en la capa muscular (Figura 29: TNBS). El colon de animales tratados con gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa mostraron una reducción significativa de la lesión (Figura 27). Los resultados fueron similares para ratas tratadas con gránulos recubiertos de almidón de guisantes: etilcelulosa (datos no mostrados). Además, los efectos de los tratamientos con gránulos Pentasa®, gránulos Asacol®, gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa y gránulos recubiertos de almidón de guisantes: etilcelulosa en lesiones de colon inducidas por TNBS se estudiaron usando la puntuación Ameho (Figura 28). Se investigaron ratas con colitis no tratadas por razones de comparación. Se obtuvieron efectos óptimos con gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa y con gránulos recubiertos de almidón de guisantes: etilcelulosa. Tres días después de inducción de colitis, se observó una disminución significativa en la puntuación de la lesión macroscópica en ratas que habían recibido gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa y gránulos recubiertos de almidón de guisantes: etilcelulosa de manera profiláctica comparado con ratas con colitis no tratadas. Paralelo a la inflamación macroscópica, el análisis histológico también confirmó diferencias principales entre animales tratados con: (i) TNBS por vía intrarrectal, (ii) TNBS por vía intrarrectal y gránulos Pentasa® por vía oral, (iii) TNBS por vía intrarrectal y gránulos Asacol® por vía oral, (v) TNBS por vía intrarrectal y gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa por vía oral y (v) TNBS por vía intrarrectal y gránulos recubiertos de almidón de guisantes: etilcelulosa por vía oral (Figura 30). Esto se reflejó por una disminución significativa de la puntuación de la inflamación Ameho 3 d después de administración de TNBS (Figura 28). Claramente, la administración de gránulos recubiertos de BMD: etilcelulosa y gránulos recubiertos de almidón de guisantes: etilcelulosa redujo las lesiones inflamatorias que consistían en infiltrados inflamatorios polimórficos más pequeños, edema limitado y lesiones de necrosis focales pequeñas (Figura 29). El engrosamiento de la pared del colon con un infiltrado inflamatorio predominante en la propia lámina y la extensión profunda de la necrosis en la capa muscular y serosa son evidentes en el caso de tratamiento con TNBS, TNBS y gránulos Pentasa® y TNBS y gránulos Asacol®.

Estos resultados prueban claramente la eficacia de los nuevos recubrimientos de película propuestos para fijar como objetivo el colon in vivo.

40 Tabla 1:

	Individuos sanos	Enfermedad de Crohn	Colitis Ulcerosa
Número	10	11	5
Edad media	40 +/-15	32+/-12	36+/-20
Recuentos totales medios [log UFC/g]	9,88+/-0,48	9,15+/-1,30	9,88+/-0,57
Número de cepas	28	34	14
Media	2,8	3,1	2,8

ES 2 415 747 T3

(continúa)

	Individuos sanos	Enfermedad de Crohn	Colitis Ulcerosa
Anaerobios			
<i>Bacteroides</i>	9	10	3
<i>Prevotella</i>	2	2	2
<i>Fusobacterium</i>	3	3	2
<i>Veillonella</i>	0	0	1
<i>Clostridium</i>	0	5	1
<i>Bifidobacterium</i>	9	3	1
Otros bacilos Gram +	3	2	2
Cocos Gram +	1	2	0
Aerobios			
Enterobacterias	1	3	2
<i>Escherichia coli</i>	1	2	1
<i>Citrobacter freundii</i>	0	2	1
<i>Lactobacillus</i>	0	2	0
<i>Streptococcus</i>	0	2	0
Recuentos medios agar McConkey	6,30+/-1,19	7,16+/-1,48	8,01+/-1,06
Número de cepas	10	14	8
<i>Escherichia coli</i>	10	6	4
<i>E. coli lac-</i>	0	1	0
<i>Citrobacter freundii</i>	0	3	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	1	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	2	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	1	0
Otros bacilos Gram -	0	0	1

Tabla 2:

	Proporción de mezcla	Resistencia a la perforación ± (s), MPa	Elongación a la rotura ± (s), %	Energía en la rotura ± (s), MJ/m ³
MD	1:2	0,34 ± (0,05)	0,43 ± (0,08)	0,012 ± (0,005)
	1:3	0,36 ± (0,09)	0,57 ± (0,05)	0,014 ± (0,006)
	1:4	0,43 ± (0,07)	0,53 ± (0,04)	0,011 ± (0,003)
	1:5	0,42 ± (0,11)	0,58 ± (0,07)	0,015 ± (0,009)
PS HP-PG	1:2	0,45 ± (0,04)	0,55 ± (0,09)	0,016 ± (0,008)
	1:3	0,40 ± (0,03)	0,53 ± (0,07)	0,012 ± (0,007)
	1:4	0,42 ± (0,09)	0,60 ± (0,09)	0,016 ± (0,008)
	1:5	0,50 ± (0,08)	0,60 ± (0,05)	0,020 ± (0,004)
MS7 A-PG	1:2	0,78 ± (0,09)	0,63 ± (0,02)	0,061 ± (0,005)
	1:3	0,84 ± (0,05)	0,67 ± (0,08)	0,065 ± (0,009)
	1:4	0,85 ± (0,04)	0,66 ± (0,07)	0,070 ± (0,011)
	1:5	0,87 ± (0,05)	0,75 ± (0,02)	0,073 ± (0,006)
MS6 A-PG	1:2	0,60 ± (0,01)	0,50 ± (0,07)	0,052 ± (0,002)
	1:3	0,52 ± (0,05)	0,75 ± (0,10)	0,068 ± (0,008)
	1:4	0,76 ± (0,02)	0,82 ± (0,04)	0,077 ± (0,006)
	1:5	0,77 ± (0,03)	0,81 ± (0,06)	0,075 ± (0,010)
MS6 HP-PG	1:2	0,53 ± (0,07)	0,72 ± (0,05)	0,053 ± (0,010)
	1:3	0,64 ± (0,03)	0,81 ± (0,07)	0,066 ± (0,009)
	1:4	0,63 ± (0,02)	0,82 ± (0,07)	0,062 ± (0,009)
	1:5	0,87 ± (0,03)	0,77 ± (0,05)	0,070 ± (0,010)

Tabla 3:

Segmento GI simulado	Tiempo de exposición	Medio de liberación	pH
Estómago	2 h	HCl 0,1 M	1,2
Duodeno	0,5 h	Tampón de fosfato (Eur, Pharm, 5)	5,5
Yeyuno-Ileo	9 h	Tampón de fosfato (USP 30)	6,8
Ciego	0,5 h	Tampón de fosfato (USP 30)	6,0
Cólon Proximal	6 h	Tampón de fosfato (USP 30)	7,0
Cólon Distal	18 h	Tampón de fosfato (USP 30)	7,4

REIVINDICACIONES

1. Una forma farmacéutica de suministro de liberación controlada para liberación controlada de un ingrediente activo, que comprende un núcleo, estando dispersado un ingrediente activo o disuelto en dicho núcleo, recubierto por una mezcla polimérica de:
- 5 o al menos un polímero insoluble en agua y
o al menos un polisacárido soluble en agua indigerible.
2. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según la reivindicación 1, en la que el polisacárido soluble en agua, indigerible, se selecciona del grupo que consiste en: xilooligosacáridos, inulina, oligofruktosas, fructo-oligosacáridos (FOS), lactulosa, galactomananos e hidrolisatos adecuados de los mismos, povidona indigerible, dextrinas indigeribles e hidrolisatos parciales de las mismas, trans-galacto-oligosacáridos (GOS), xilooligosacáridos (XOS), acemananos, lentinanos o beta-glucanos e hidrolisatos parciales de los mismos, polisacáridos-K (PSK), maltodextrinas indigeribles e hidrolisatos parciales de los mismos o su mezcla.
- 10 3. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según la reivindicación 2, que comprende al menos una maltodextrina indigerible o una dextrina indigerible que tiene entre 15 y 35% de 1->6 enlaces glucósido, un contenido en azúcar reductor menor que 20%, un índice de polimolecularidad menor que 5 y una masa molecular media numérica Mn a lo sumo igual a 4.500 g/mol.
- 15 4. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la proporción de polisacárido soluble en agua indigerible: polímero insoluble en agua está entre 1:2 y 1:8.
- 20 5. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según la reivindicación 4, en la que la proporción de polisacárido soluble en agua indigerible: polímero insoluble en agua está entre 1:3 y 1:6.
6. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según las reivindicaciones 1 a 5, en la que el núcleo tiene un nivel de recubrimiento de 5% a 30%.
7. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según la reivindicación 6, en la que el núcleo tiene un nivel de recubrimiento de 10% a 20%.
- 25 8. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la mezcla polimérica comprende un plastificante, preferiblemente en un contenido entre 25% y 30% p/p referido al contenido en polímero insoluble en agua.
9. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el polímero insoluble en agua se selecciona del grupo que consiste en: polímeros de éster acrílico y/o metacrílico, polímeros o copolímeros de ésteres polivinílicos de acrilato o metacrilato, poli(acetatos de vinilo), ésteres de poli(ácido acrílico) y copolímeros de butadieno y estireno, copolímeros de éster de metacrilato, etilcelulosa, acetato-ftalato de celulosa, poli(acetato-ftalato de vinilo), goma laca, copolímeros de ácido metacrílico, acetato - trimelitato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, ceína, acetato de almidón.
- 30 10. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en la que el plastificante es un plastificante soluble en agua, seleccionándose el plastificante preferiblemente del grupo que consiste en polioles, ésteres orgánicos, aceites o glicéridos, lecitina de soja sola o como una mezcla entre sí.
- 35 11. La forma farmacéutica de suministro de liberación controlada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que dicha composición farmacéutica de liberación controlada es una forma farmacéutica de material en forma de múltiples partículas.
- 40 12. Un método para preparar una forma farmacéutica de suministro de liberación controlada para liberación controlada de un ingrediente activo en el colon de pacientes con un desequilibrio de la microflora del colon o en el colon de individuos sanos, comprendiendo dicho método:
- o formar una mezcla polimérica de:
- al menos un polímero insoluble en agua y
 - al menos un polisacárido soluble en agua indigerible,
- 45 o recubrir dicho ingrediente activo por la mezcla polimérica.
13. Fijar como objetivo la preparación de recubrimiento que comprende un polímero insoluble en agua y un polisacárido soluble en agua indigerible, para uso en la fabricación de un medicamento para estimular el crecimiento y/o la actividad de las bacterias en el sistema digestivo en pacientes que padecen un desequilibrio de bacterias del colon.
- 50

14. Fijar como objetivo la preparación de recubrimiento según la reivindicación 13, en la que los pacientes que padecen un desequilibrio de las bacterias del colon son pacientes que padecen enfermedades del intestino inflamado.

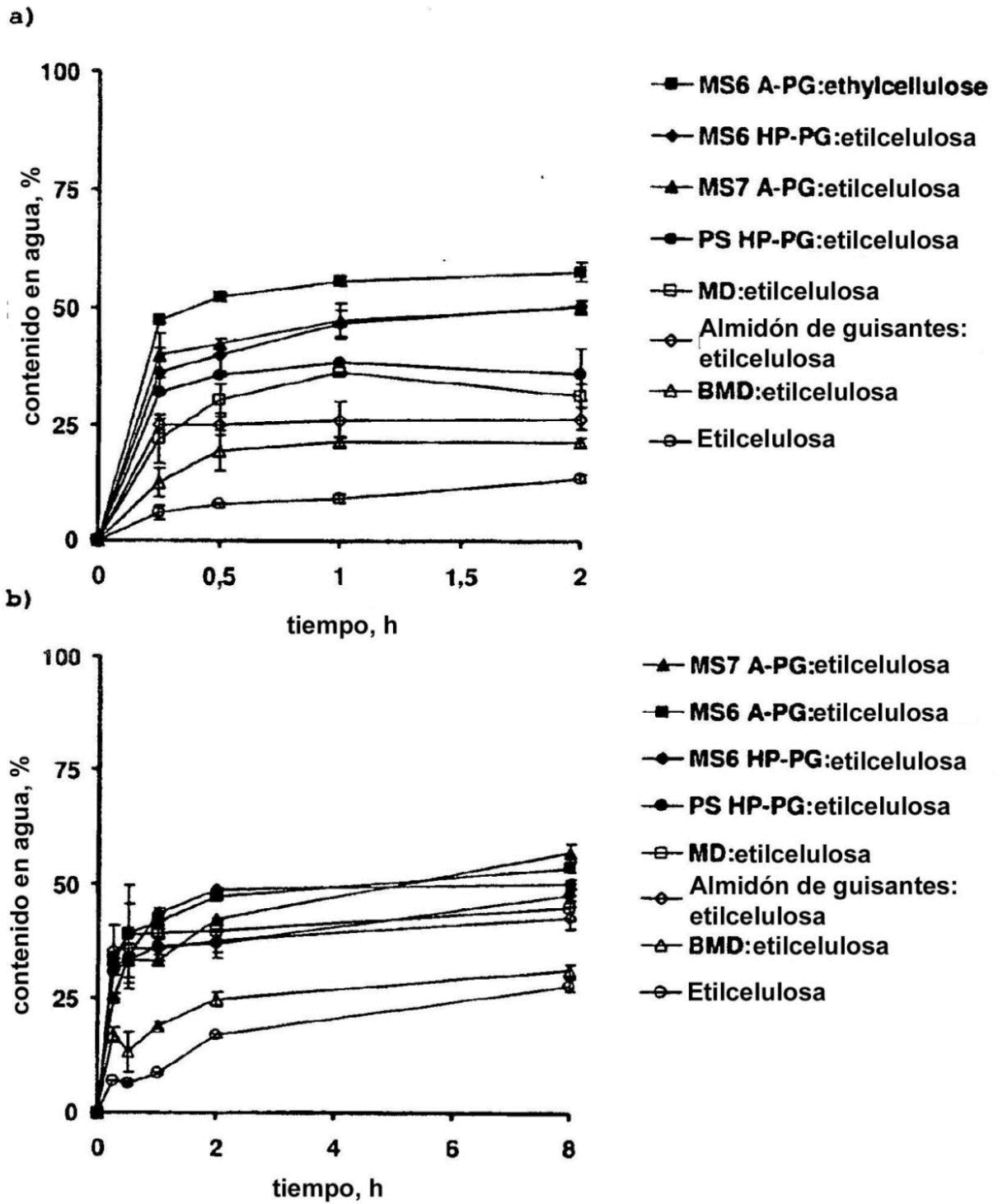


Figura 1

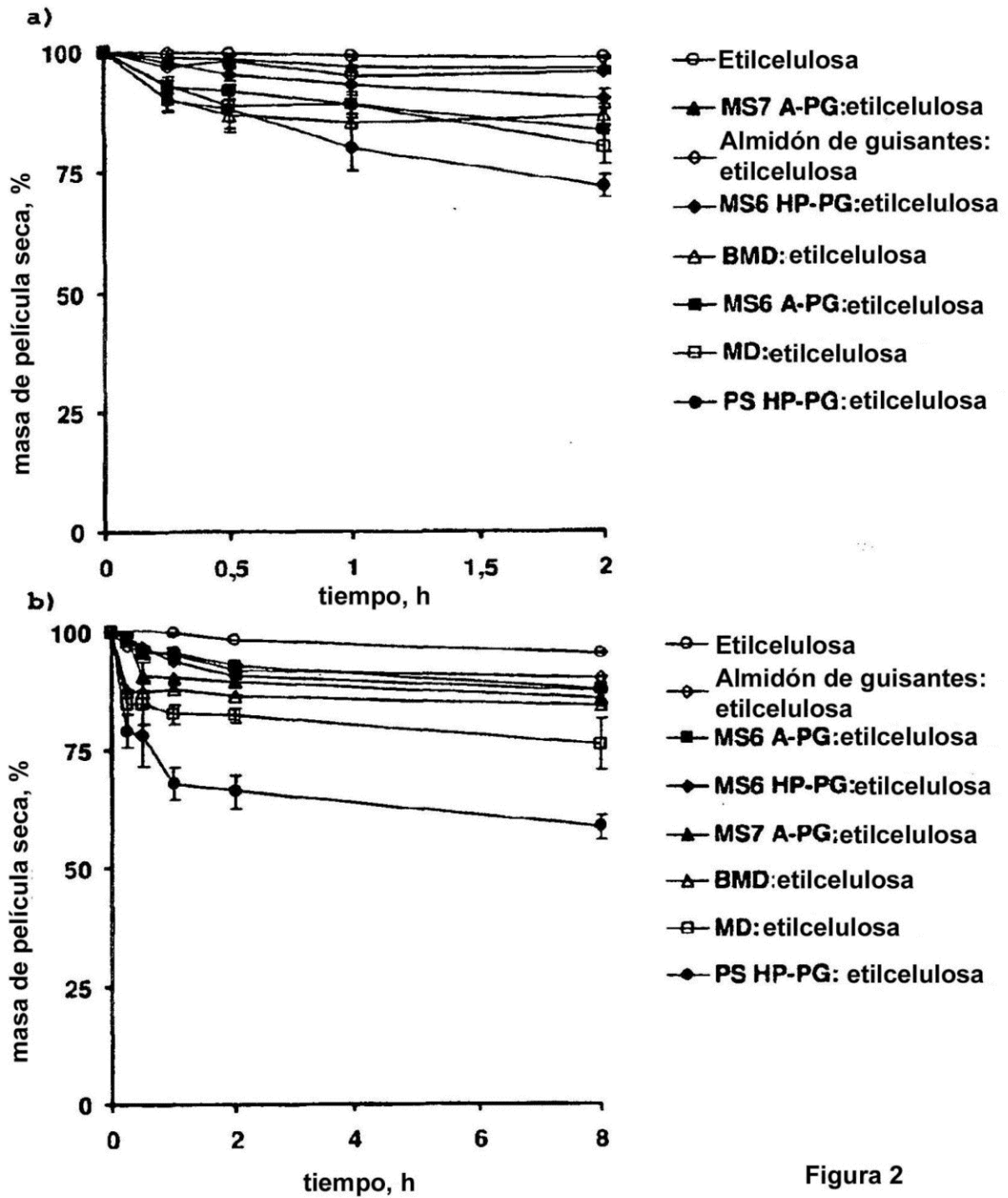


Figura 2

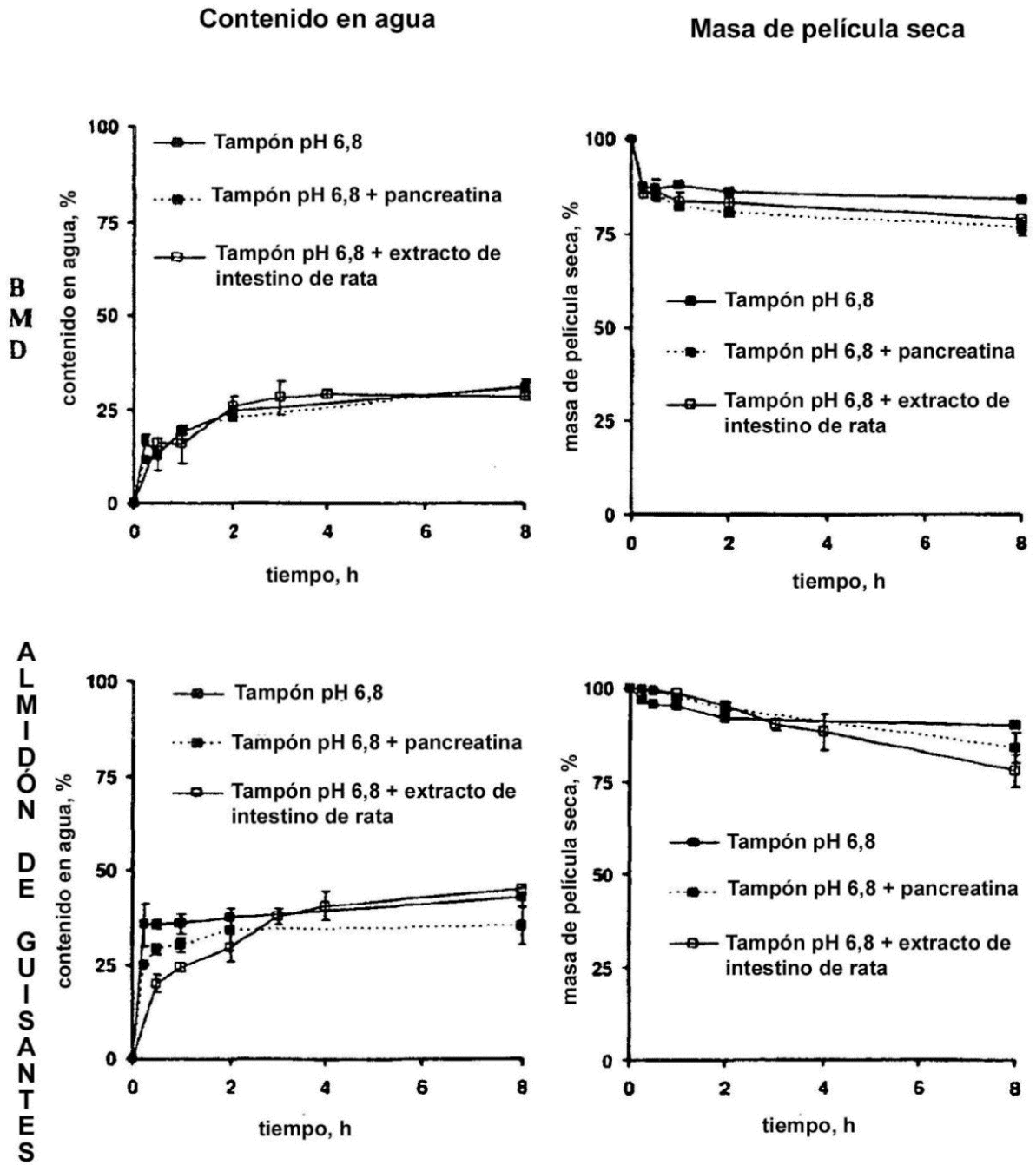


Figura 3

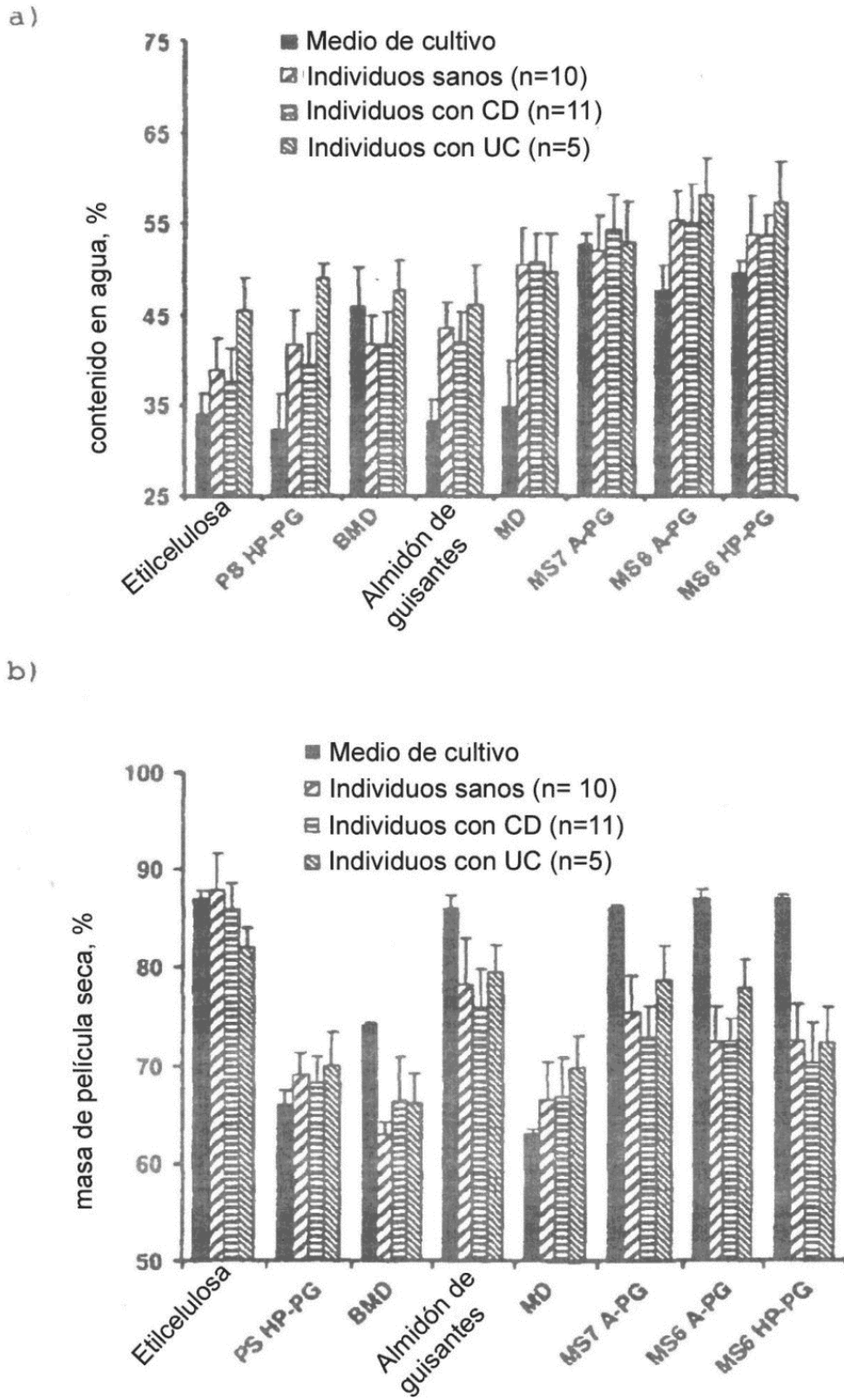
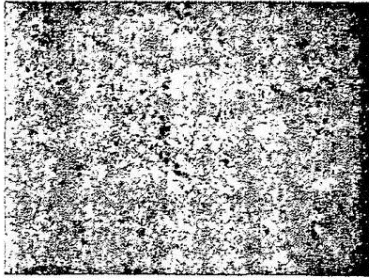
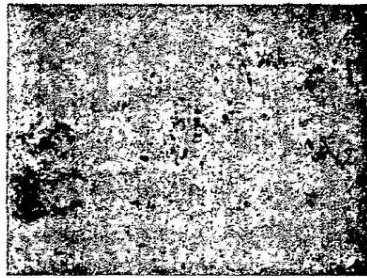


Figura 4

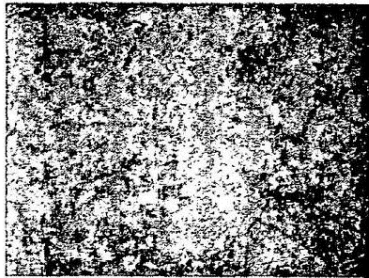
Sin película



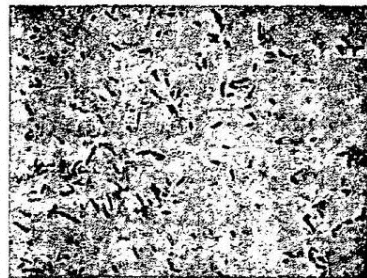
Etilcelulosa



BMB : etilcelulosa



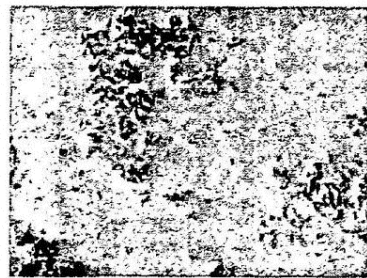
Almidón de guisantes:etilcelulosa



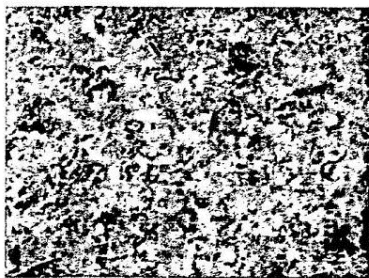
PS HP-PG : etilcelulosa



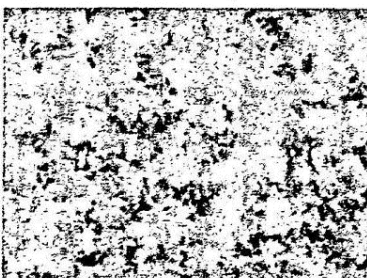
MD : etilcelulosa



MS7 A-PG : etilcelulosa



MS6 A-PG : etilcelulosa



MS6 HP-PG : etilcelulosa



Figura 5

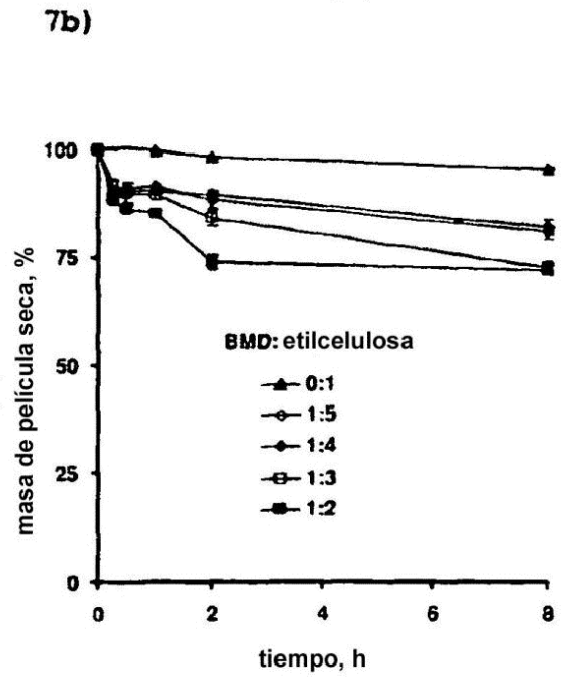
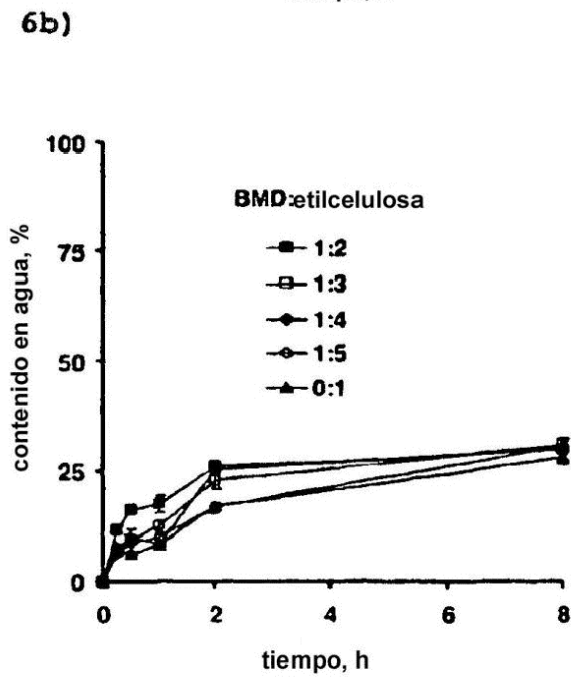
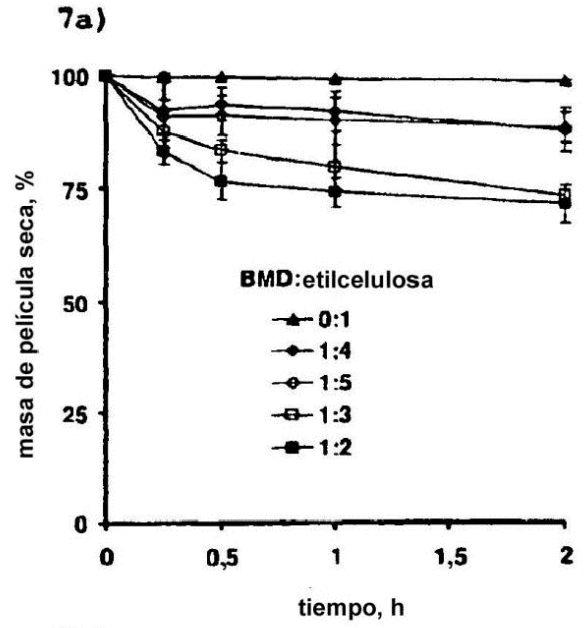
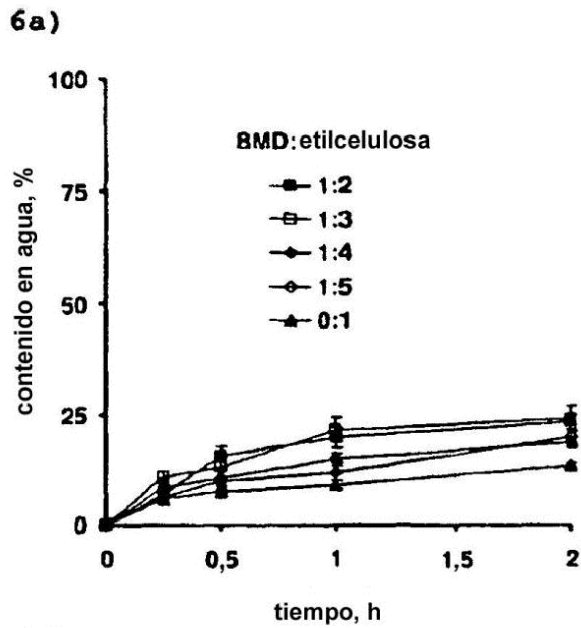


Figura 6

Figura 7

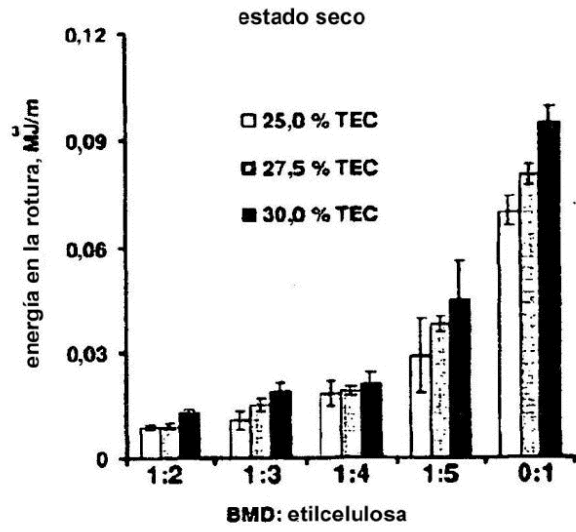
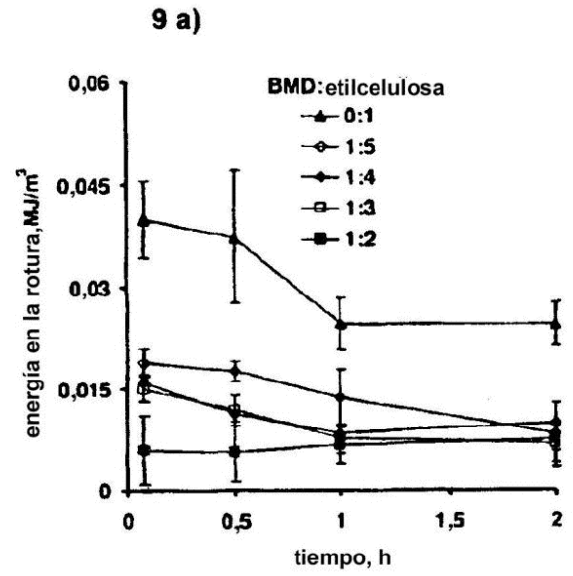


Figura 8



9 b)

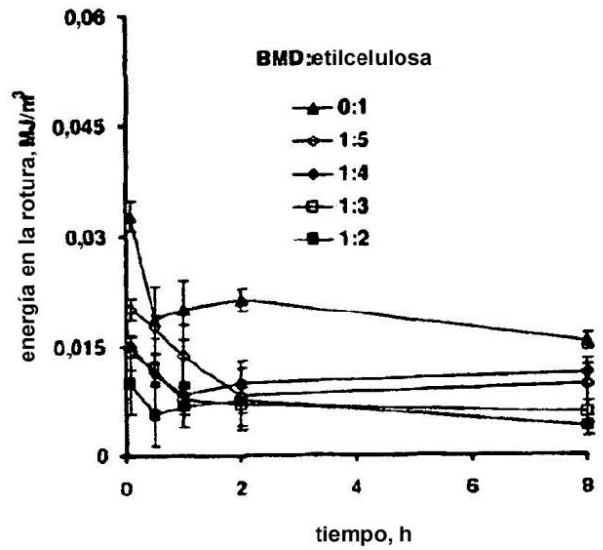


Figura 9

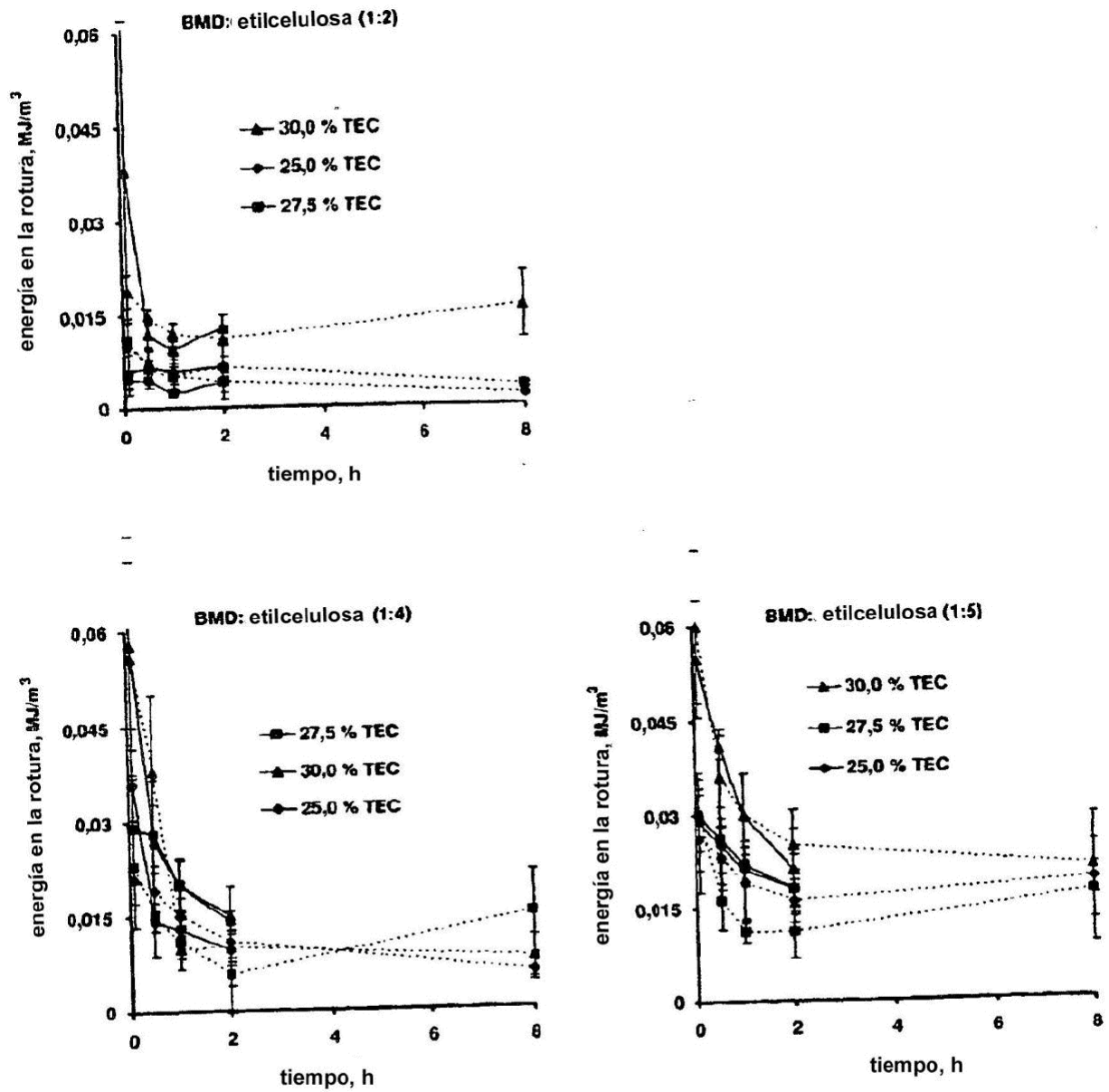


Figura 10

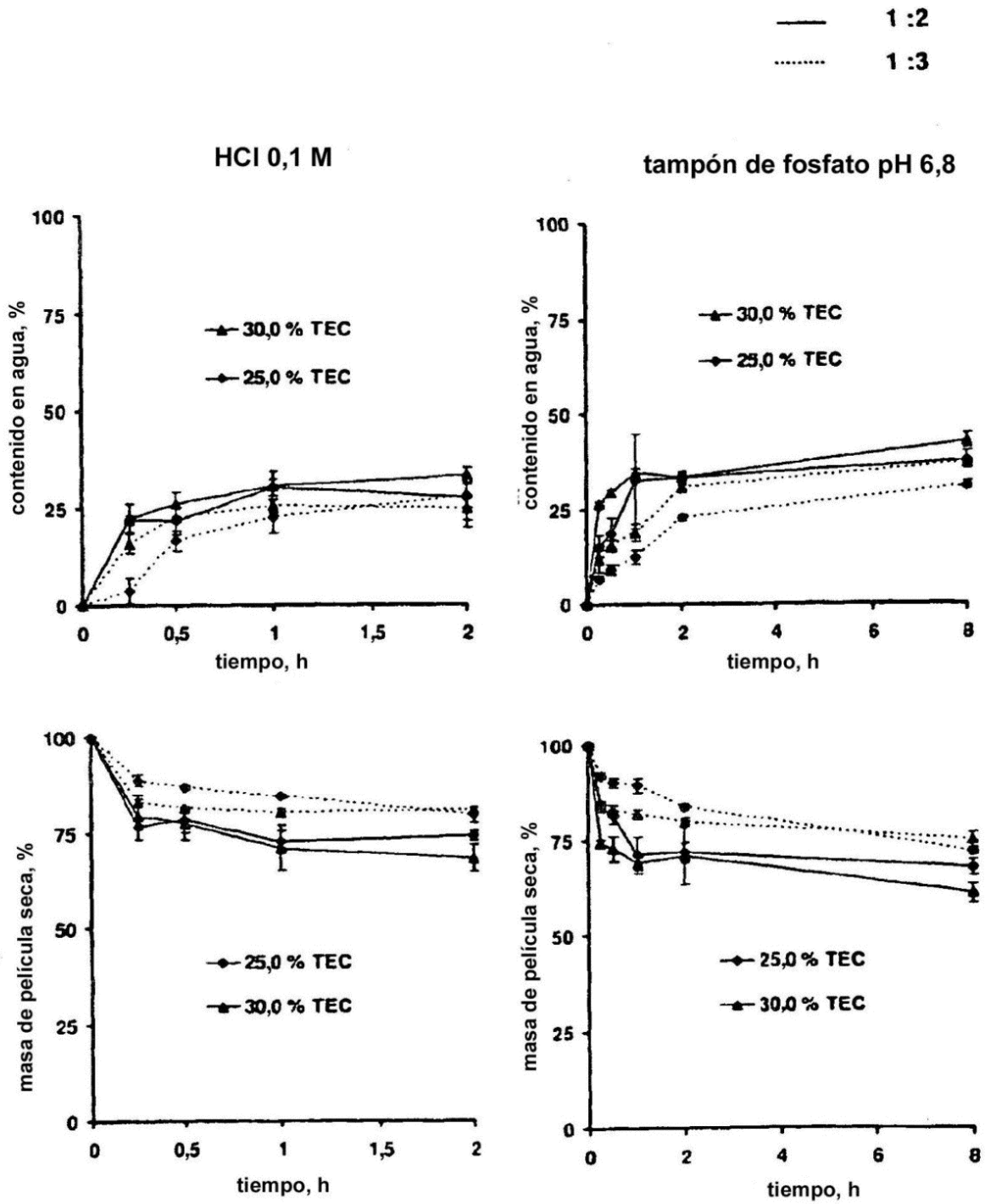


Figura 11

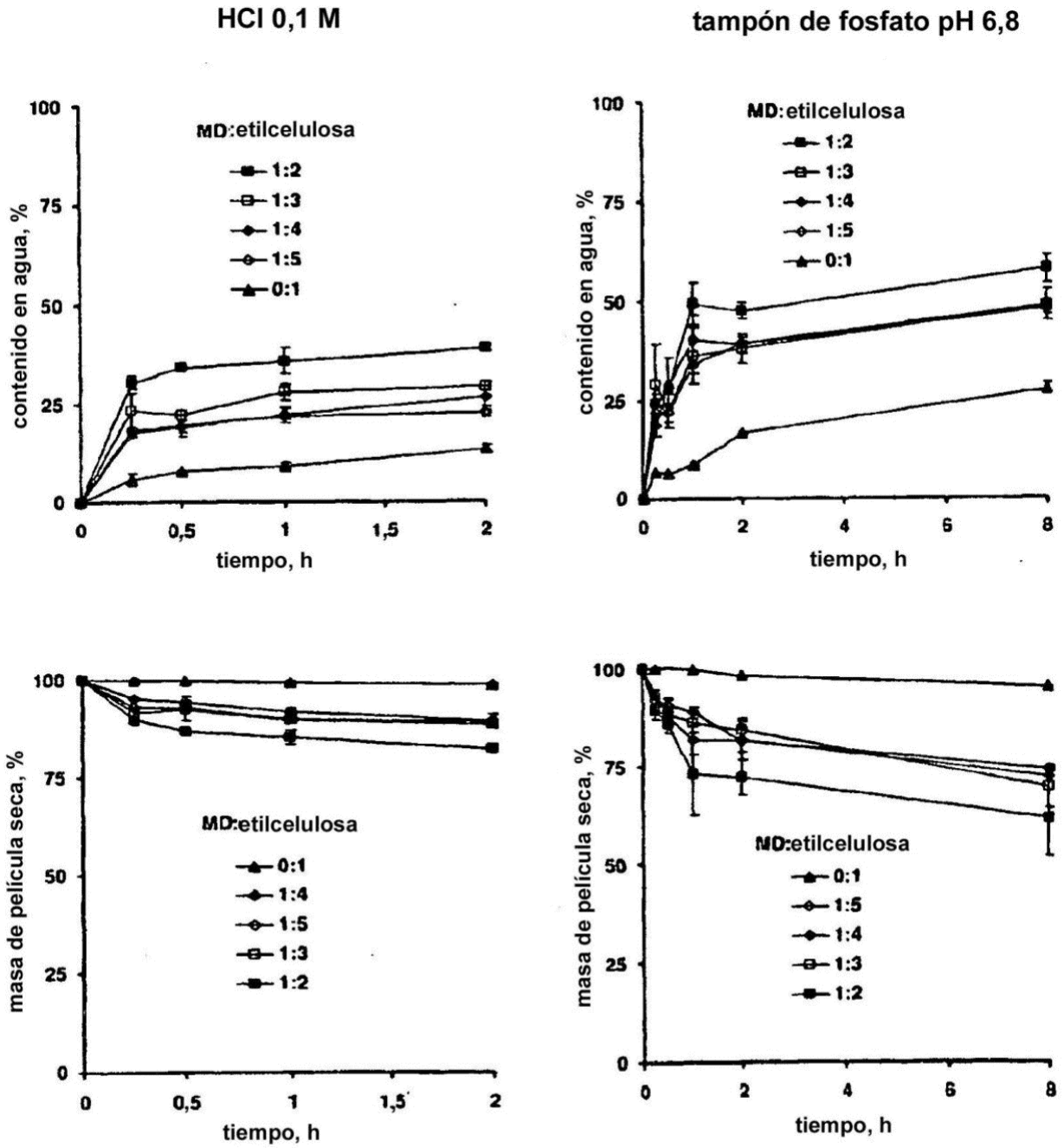
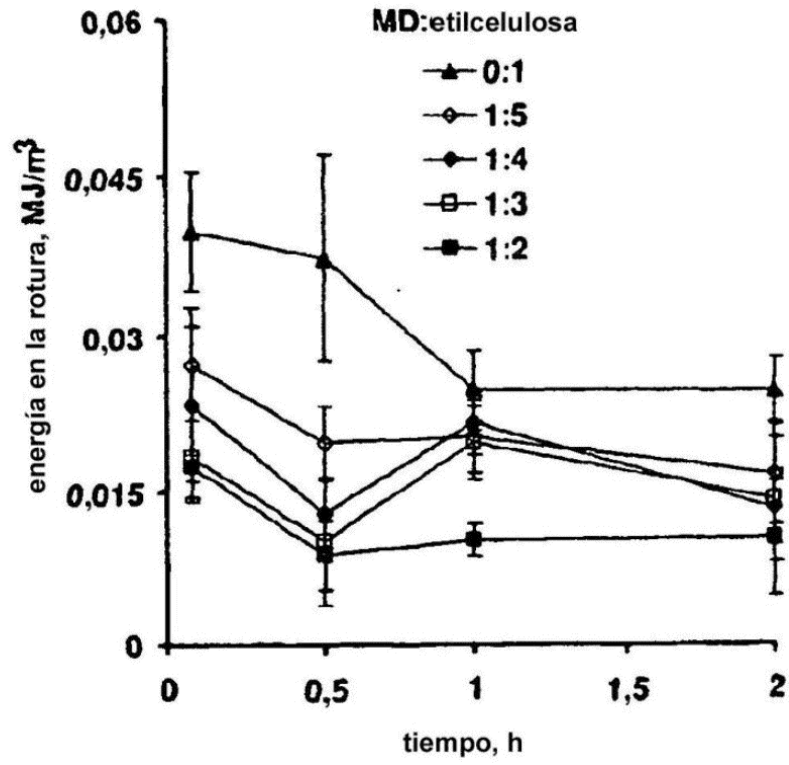


Figura 12

a)



b)

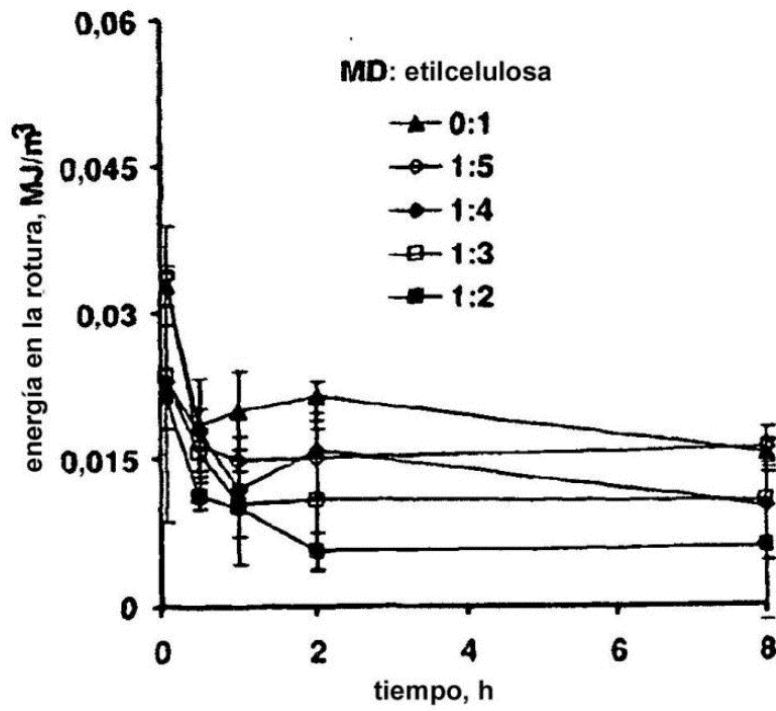


Figura 13

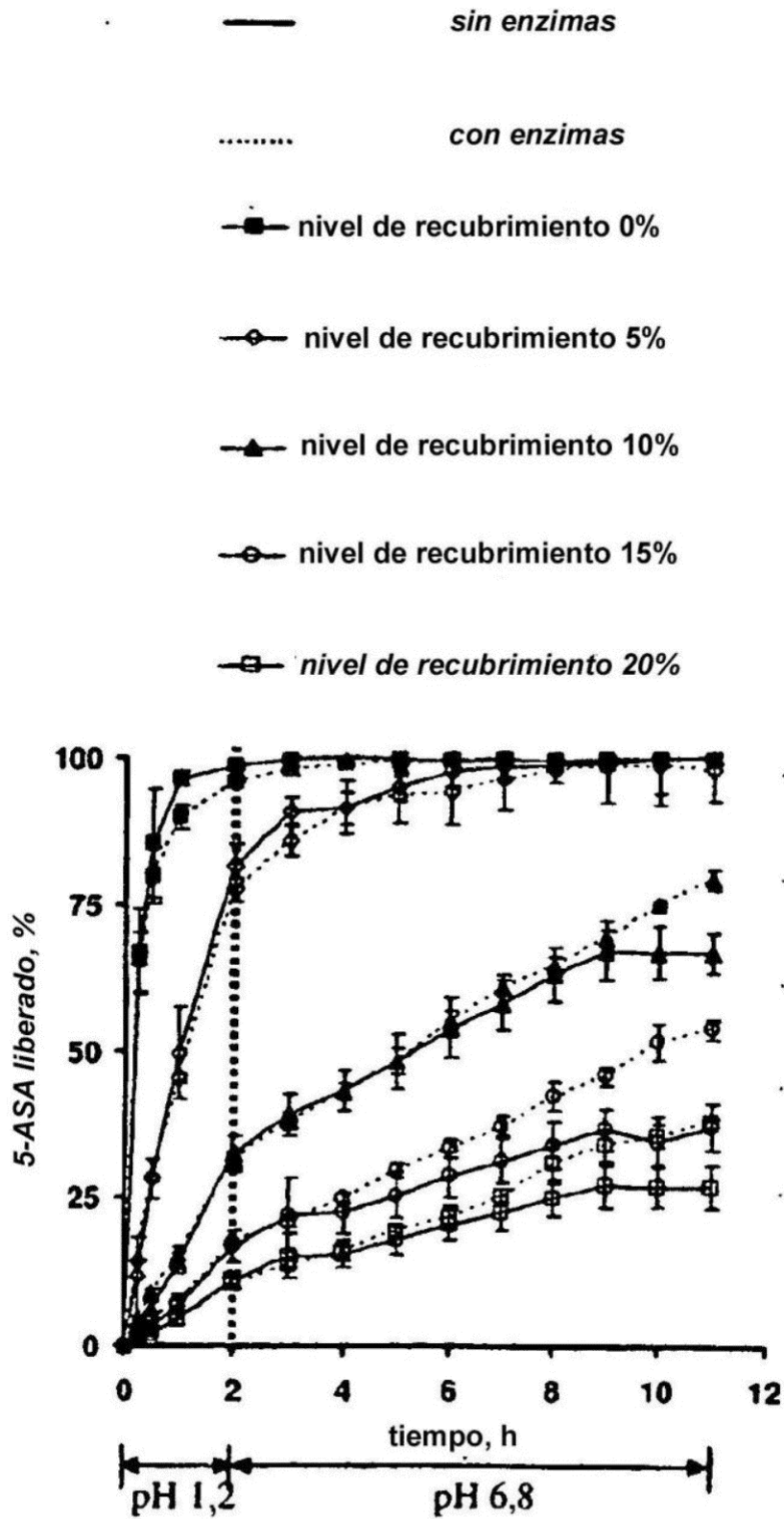


Figura 14

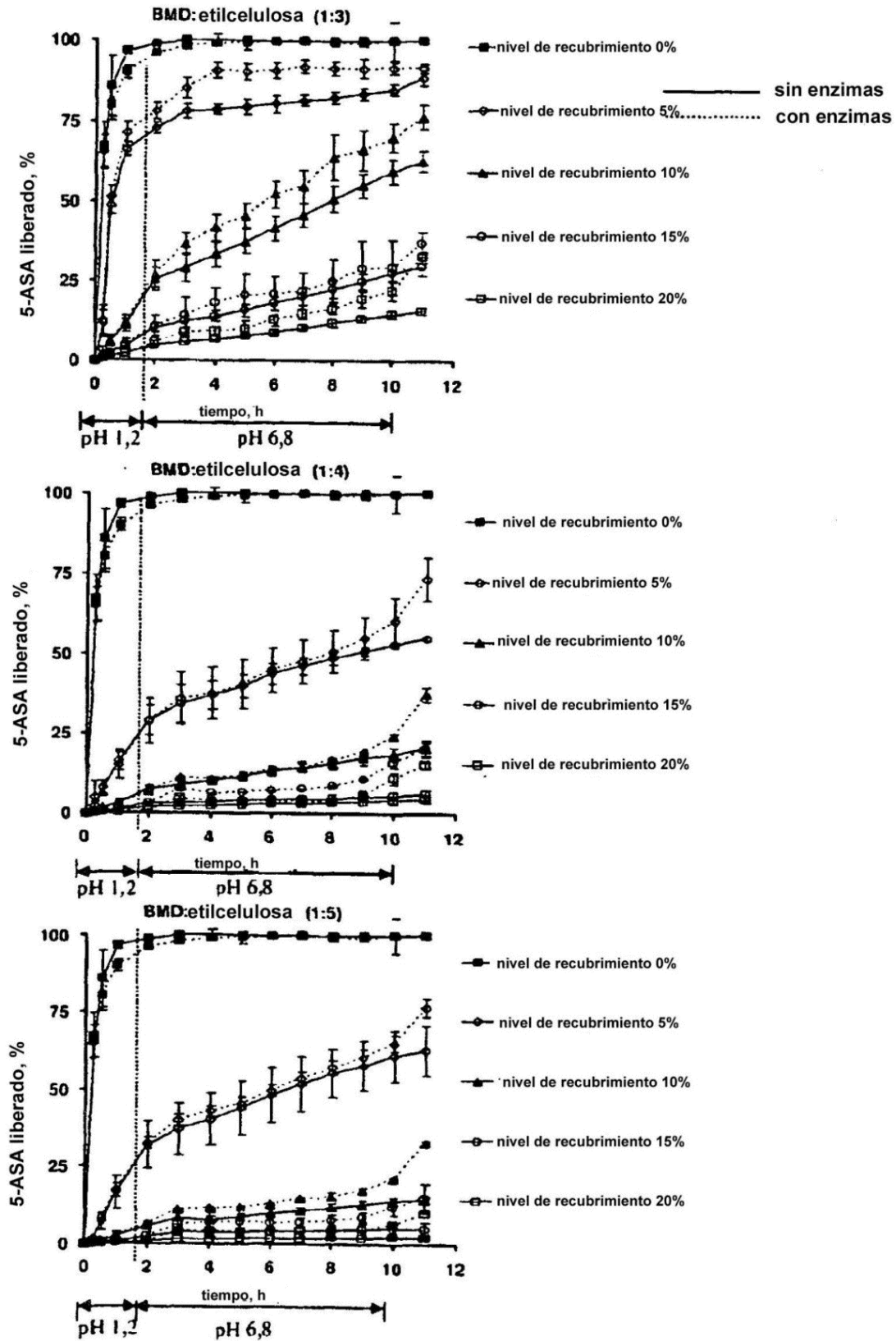


Figura 15

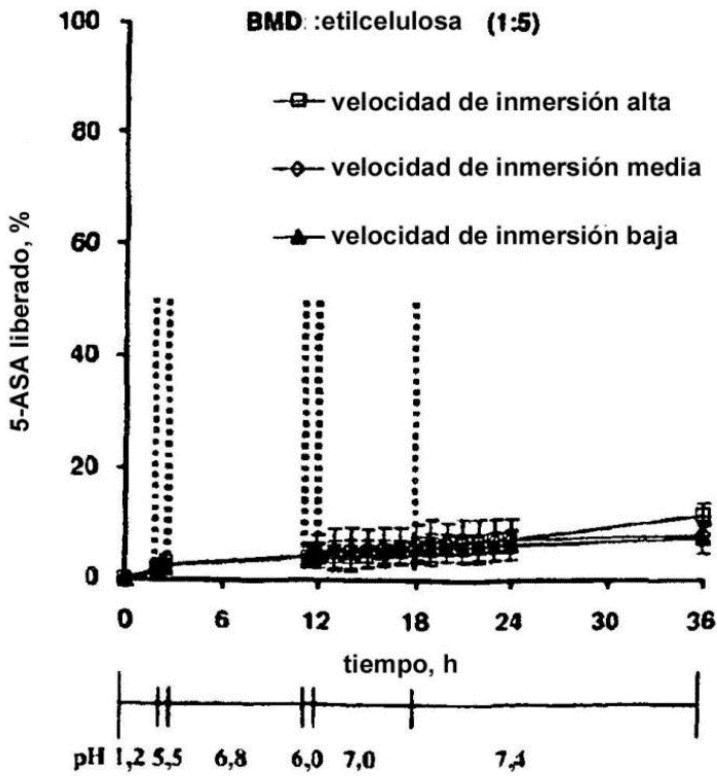
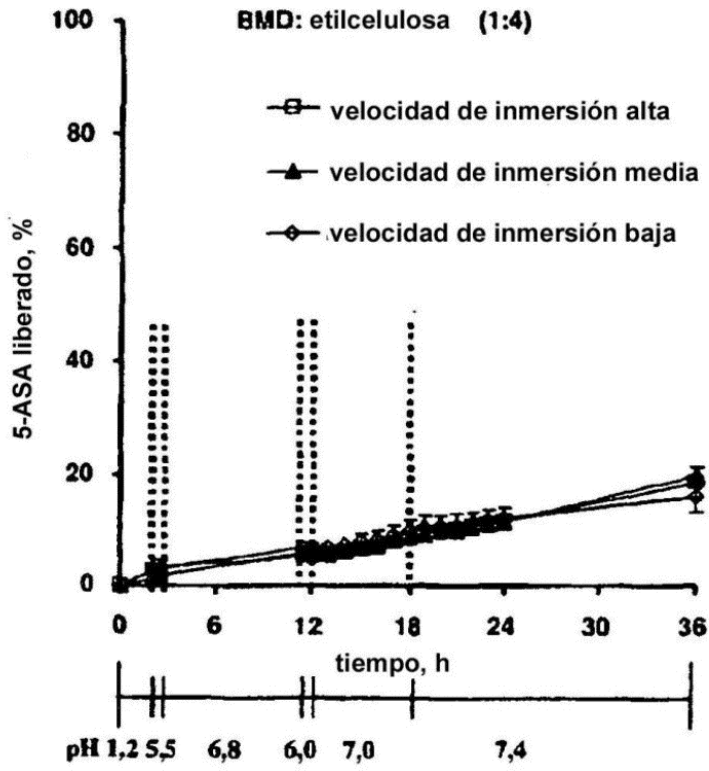


Figura 16

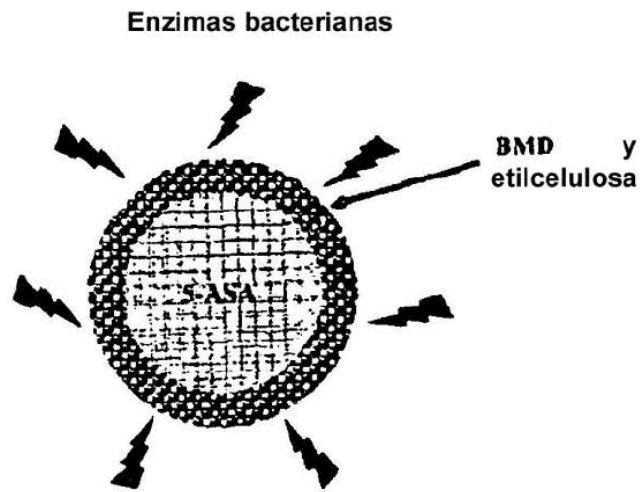
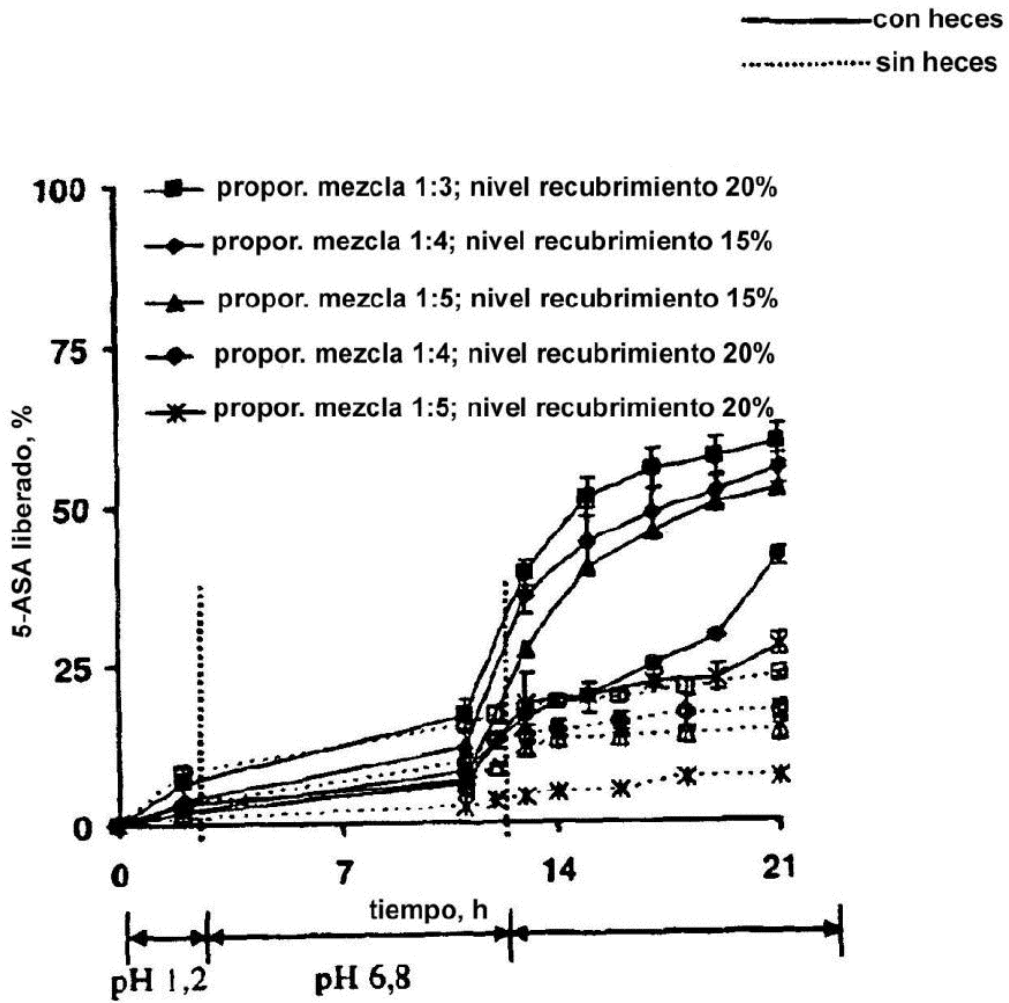


Figura 17

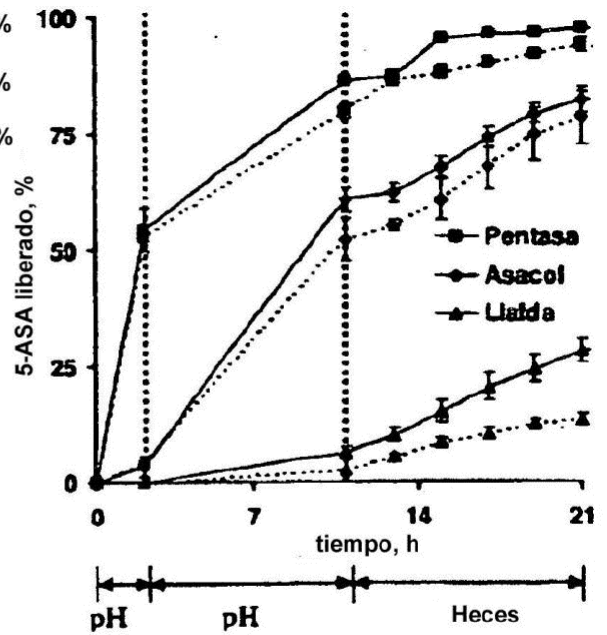
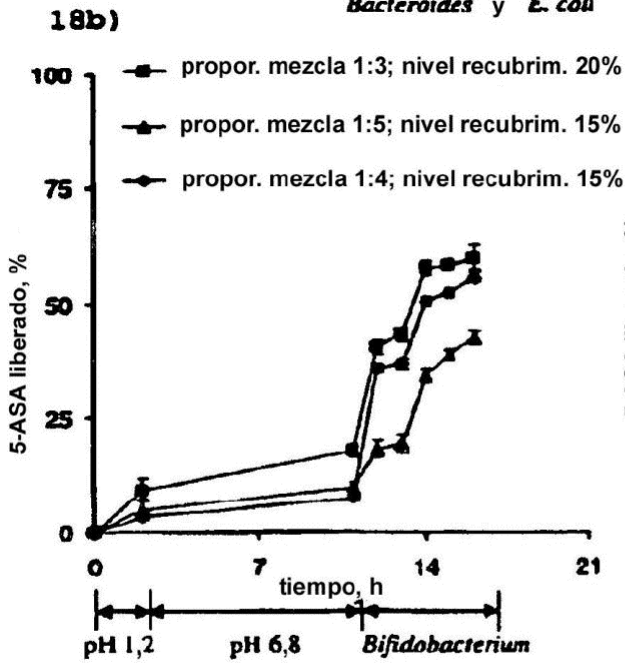
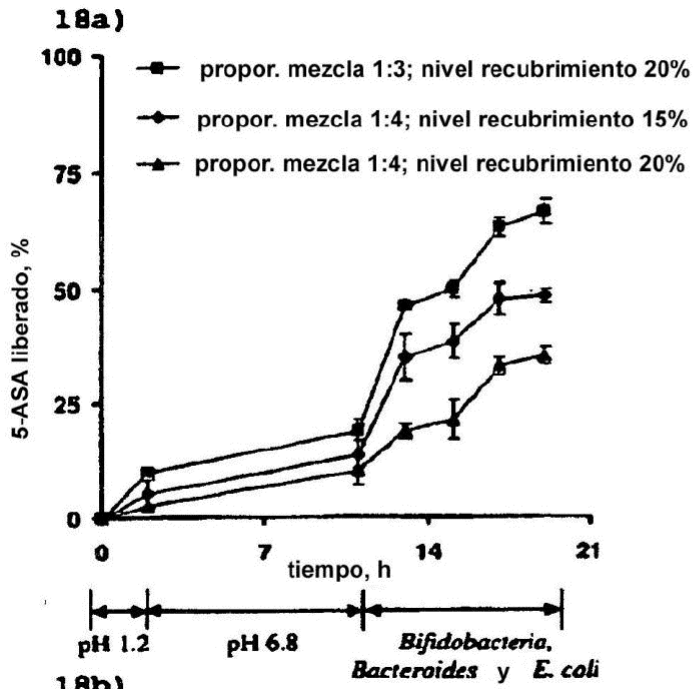
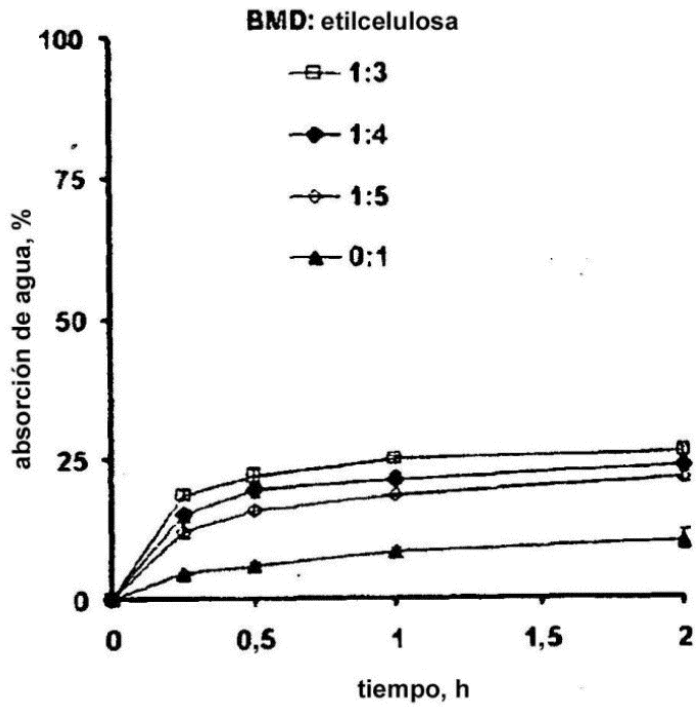


Figura 18

Figura 19

a)



b)

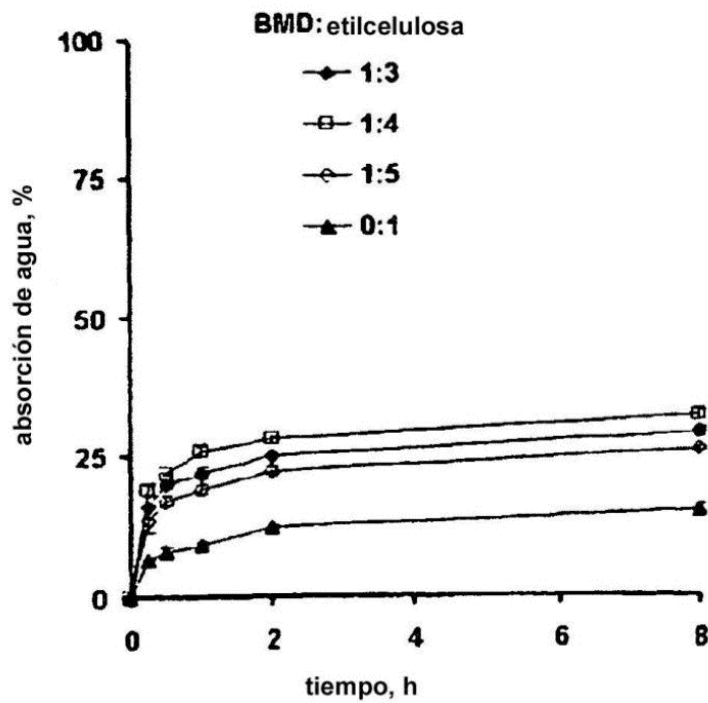


Figura 20

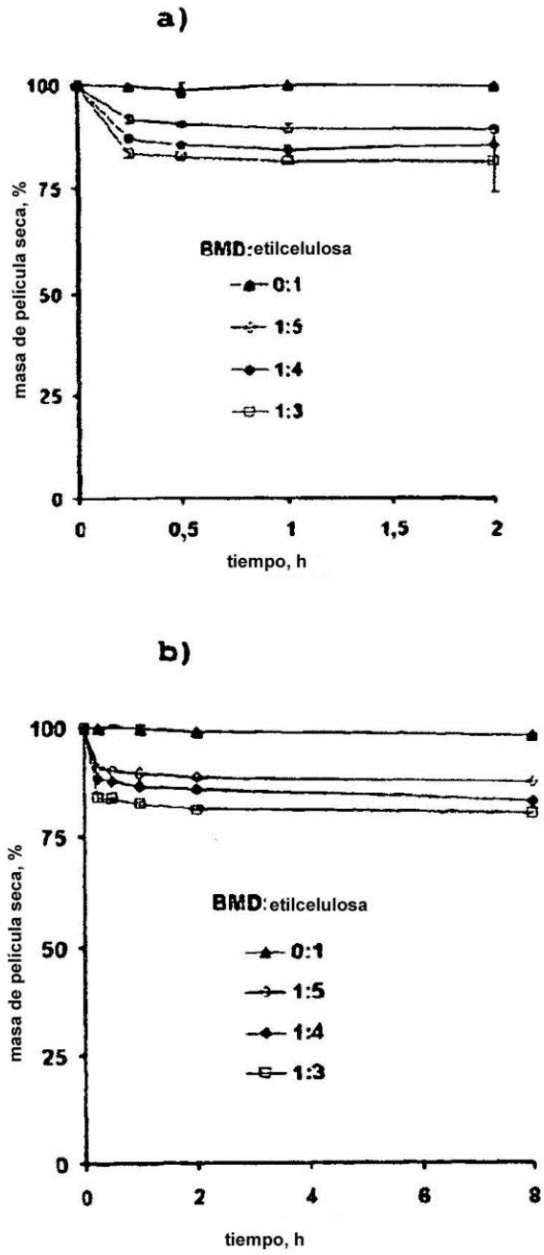


Figura 21

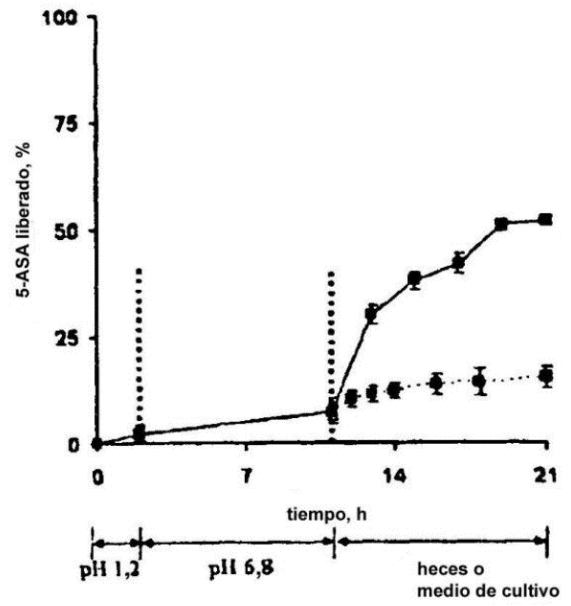


Figura 22

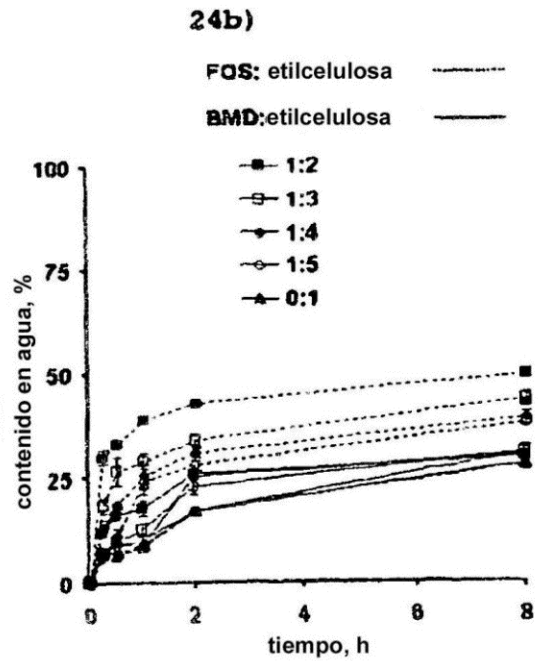
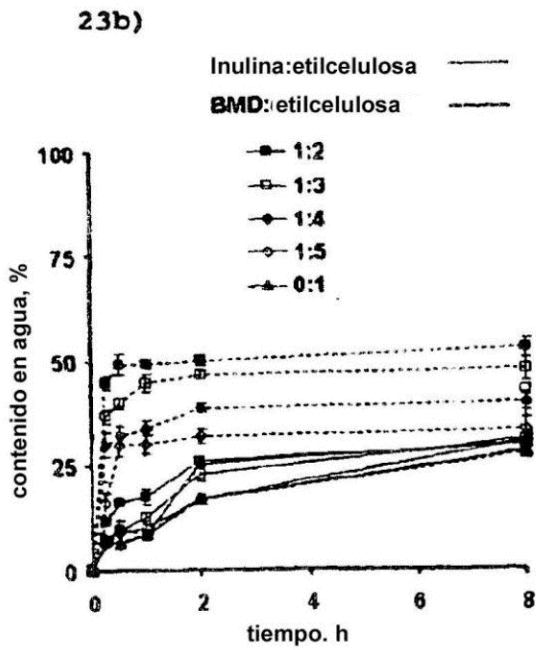
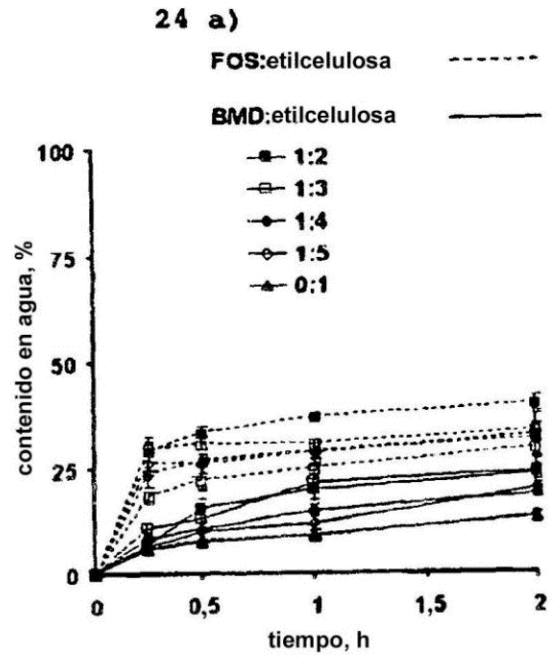
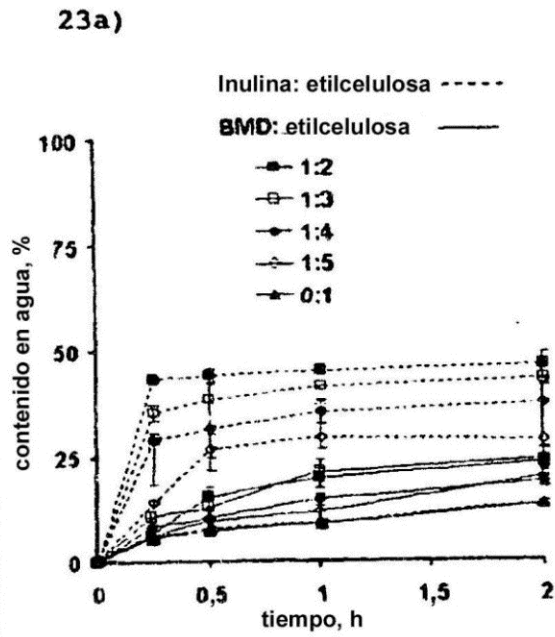


Figura 23

Figura 24

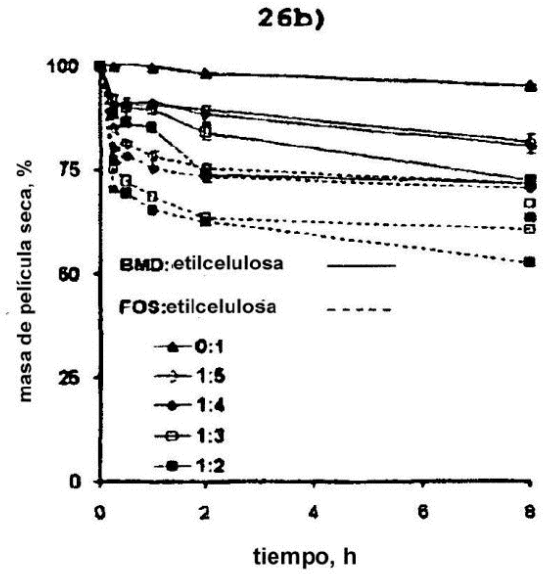
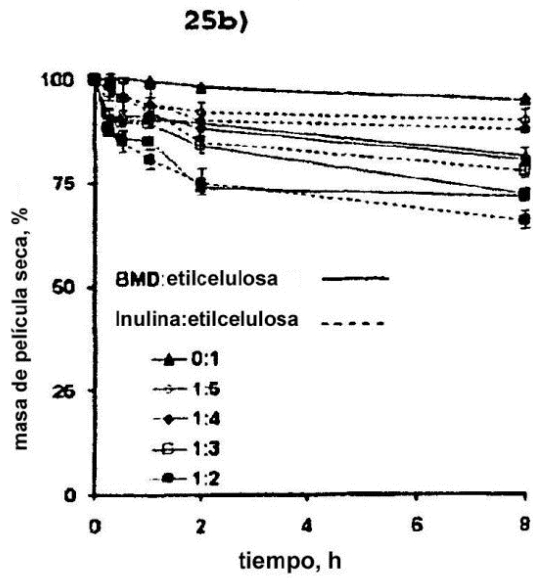
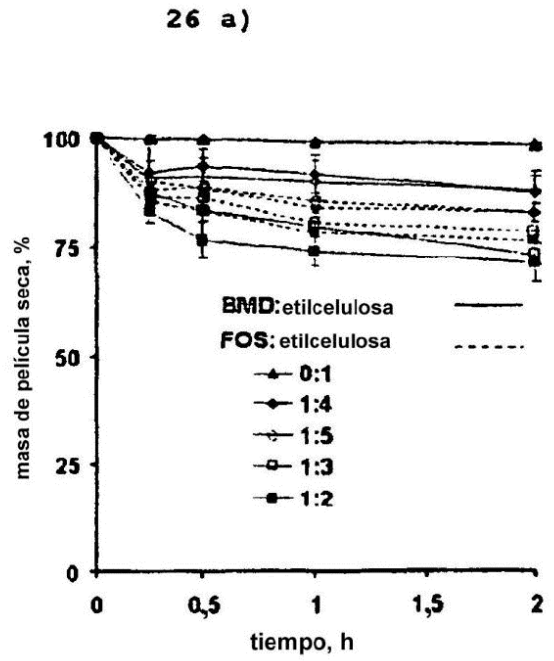
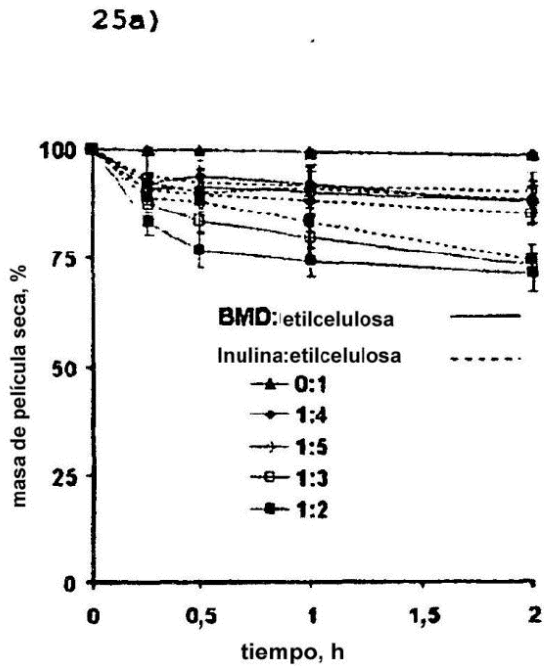
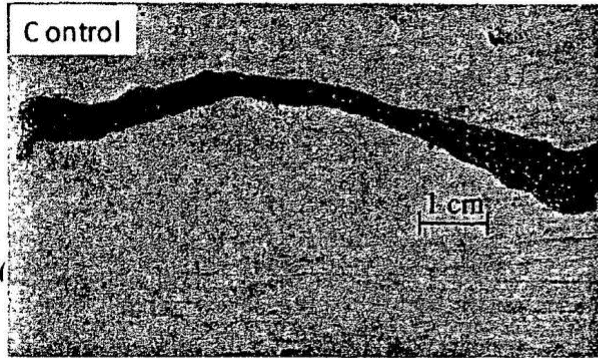


Figura 25

Figura 26

(A)



(B)

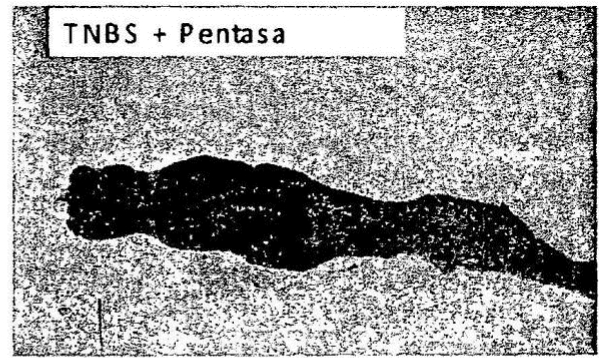
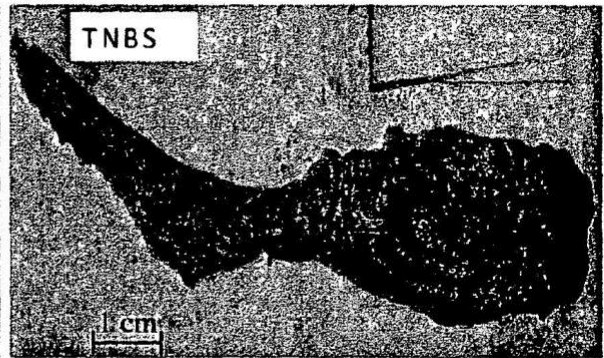


Figura 27

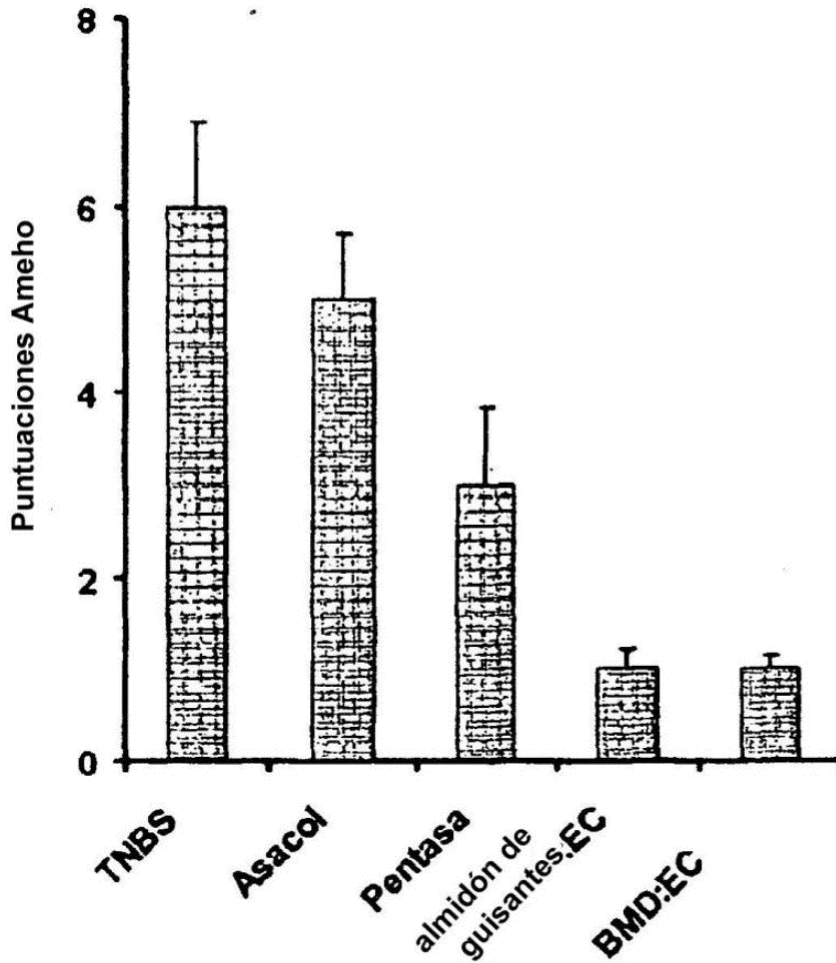


Figura 28

Puntuación Ameho

Indica un $p=1$ entre Asacol® y colitis inducida por TNBS.

Indica un $p = 0,57$ entre Pentasa® y colitis inducida por TNBS.

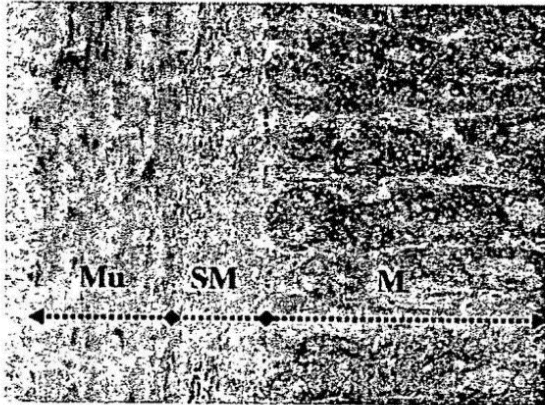
Indica un $p = 0,0038$ entre gránulos recubiertos con BMD:EC y colitis inducida por TNBS.

Indica un $p = 0,024$ entre gránulos recubiertos con almidón de guisantes:EC y colitis inducida por TNBS.

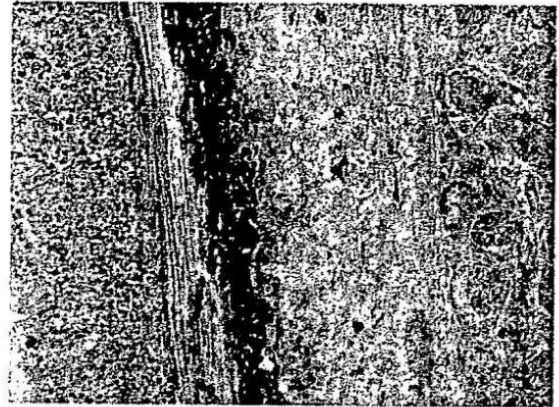
Indica un $p=0,006$ entre gránulos recubiertos con BMD : EC y Pentasa®.

Indica un $p=0,016$ entre gránulos recubiertos con almidón de guisantes:EC y Pentasa®

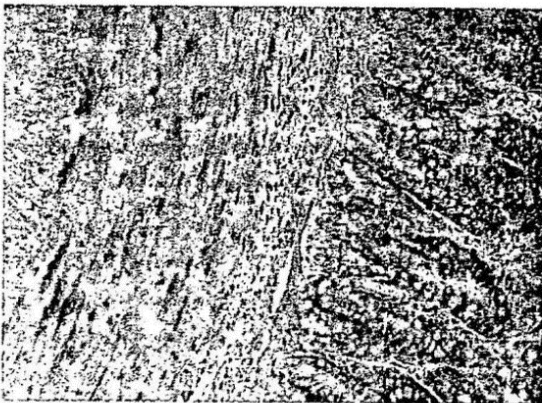
Control



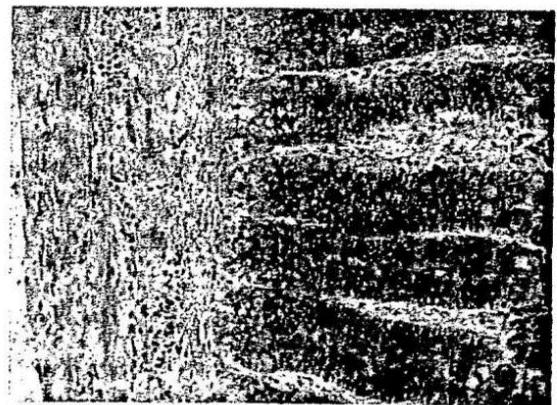
TNBS



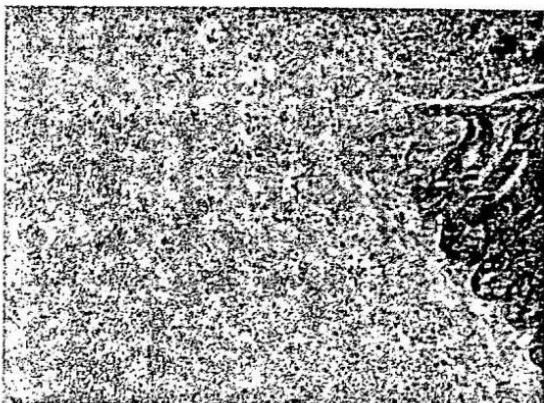
Gránulos recubiertos con NUTRIOSE:EC



recubiertos con almidón de guisantes:EC



Pentasa®



Asacol®



Figura 29