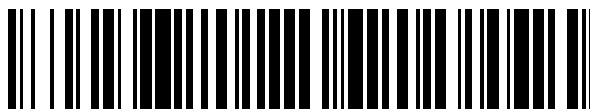


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 592**

51 Int. Cl.:

A61K 31/198	(2006.01) A61K 47/26	(2006.01)
A61P 31/04	(2006.01) A61K 47/38	(2006.01)
A61P 1/04	(2006.01) A61K 9/00	(2006.01)
A23L 1/30	(2006.01) A61K 36/8962	(2006.01)
A23L 1/305	(2006.01)	
A61K 9/08	(2006.01)	
A61K 9/10	(2006.01)	
A61K 9/14	(2006.01)	
A61K 9/20	(2006.01)	
A61K 9/28	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.09.2010 E 10819052 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.08.2015 EP 2480226**

54 Título: **Composición que comprende S-alil-L-cisteína como principio activo para prevenir o tratar lesiones de la mucosa gástrica inducidas por fármacos**

30 Prioridad:

23.09.2009 KR 20090090232

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

10.12.2015

73 Titular/es:

**PHARMAKING CO., LTD (100.0%)
363 Ogung-ri Gangok-myeon
Eumseong-gun, Chungcheongbuk-Do 369-852, KR**

72 Inventor/es:

**KIM, SOON BAE;
KIM, GWANG SOON;
KIM, WAN BAE;
KWAK, WIE JONG y
BANG, SUNG HYE**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 553 592 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

Composición que comprende S-alil-L-cisteína como principio activo para prevenir o tratar lesiones de la mucosa gástrica inducidas por fármacos

5

Campo técnicoReferencia cruzada a la solicitud de patente relacionada

- 10 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente coreana n.º 10-2009-0090232, presentada el 23 de septiembre de 2009, en la Oficina de Propiedad Intelectual Coreana.

Campo de la invención

- 15 La presente invención se refiere a una composición que tiene un efecto protector de la mucosa gástrica, a una composición para prevenir o tratar trastornos gastrointestinales y a un método de uso de las composiciones.

Técnica anterior

- 20 Los trastornos gastrointestinales están provocados por una variedad de factores y se sabe que están provocados por un desequilibrio entre factores agresivos, tales como *Helicobacter pilori*, ácido gástrico, pepsina, exceso de trabajo, estrés y alcohol, y factores defensivos, tales como secreción mucosa, capacidad regenerativa del tejido y actividad anticoagulante. La gastritis provocada por exceso de trabajo, estrés, infección por *Helicobacter pilori*, o similares es un síntoma común que puede dar lugar, si no se trata, a gastritis crónica, úlcera gástrica y, en raras
25 ocasiones, cáncer gástrico. Una lesión de la mucosa gástrica provocada por el alcohol puede curarse en el plazo de varios días al retirarse el factor estimulante pero puede dar lugar a hemorragia gastrointestinal, una perforación gástrica, o similar (Taeyoung Oh, *et al.*, J. Applied Pharmacology, vol. 5, págs. 202-210, 1997). Diversos fármacos tales como cimetidina, ranitidina, famotidina, omeprazol o bismuto se han usado para tratar trastornos gastrointestinales. Sin embargo, la tasa de recaída tras dejar de tomar estos fármacos es muy alta, y por tanto hay
30 una necesidad de desarrollar un fármaco novedoso.

- Helicobacter pilori* es una bacteria Gram-negativa que coloniza el moco o la mucosa gástrica humana. Se reconoce que la infección por *Helicobacter pilori* es un factor contribuyente significativo en el desarrollo de la mayoría de los trastornos asociados al tracto gastrointestinal tales como gastritis aguda/crónica, gastritis atrófica, úlcera gástrica, cáncer gástrico y úlceras duodenales (Crowe, Curr Opin Gastroenterol., 21(1), págs. 32-38, 2005). Además, se ha
35 notificado que la infección por *Helicobacter pilori* es un factor de riesgo para encefalopatía hepática, arteriosclerosis y enfermedades asociadas con el sistema hepatobiliar además de enfermedades asociadas con el sistema digestivo (Karahalil, *et al.*, Curr Drug Saf, 2, págs. 43-46, 2007; Scragg, *et al.*, J. Epidemiol Community Health, 50(5), págs. 578-579, 1996). Según los Centros para el control y la prevención de enfermedades (CDC) estadounidenses, la infección por *Helicobacter pilori* puede provocar fatiga crónica, urticaria, migraña, baja estatura, esterilidad, alergia alimentaria, etc., que son todos síntomas del “síndrome por *Helicobacter* extraño”. En general, se usan antibióticos para destruir *Helicobacter pilori*. Sin embargo, la reinfección por *Helicobacter pilori* es común tras la erradicación de la misma y se requiere un tratamiento de dosis alta durante un largo periodo de tiempo para eliminar completamente *Helicobacter pilori*. Por consiguiente, el uso a largo plazo de antibióticos a dosis alta puede conducir a efectos
40 secundarios y a un aumento de bacterias resistentes a antibióticos.

- Recientemente, están realizándose diversas investigaciones sobre materiales que inhiben el crecimiento de bacterias en alimentos como método seguro para tratar enfermedades asociadas con infección por *Helicobacter pilori*. Se considera que probióticos que usan leche fermentada con *Lactobacillus*, inmunoglobulina derivada de yema de huevo (IgY) que incluye un anticuerpos neutralizante de *Helicobacter pilori* y catequina contenida en vino y té verde son sustancias eficaces frente a la infección por *Helicobacter pilori* (McMahon, *et al.*, Aliment Pharmacol Ther 23(8), págs. 1215-1223, 2006; Sachdeva, *et al.*, Eur J Gastroenterol Hepatol, 21(1), págs. 45-53, 2009; Shin, *et al.*, J Med Microbiol., 53(Pt 1), págs. 31-34, 2004).

- 55 Al mismo tiempo, el ajo (*Allium Sativum* L) que pertenece al género *Allium* tiene propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes y anticancerígenas (Ankri, *et al.*, Microbes Infect. 1(2), págs. 125-129, 1999), previene la trombosis, inflamación y estrés oxidativo de células (Sener, *et al.*, Mol Nutr Food Res., 51(11), págs. 1345-1352, 2007), y por tanto ha atraído atención. El ajo contiene diversos componentes incluyendo saponina esteroidea tal como erubósido-B que tienen propiedades antifúngicas y anticancerígenas (Matsuura H, *et al.*, Chem Pharm Bull (Tokio), 36: 3659-3663, 1988), fracciones de glicósidos que tienen un efecto hipocolesterolemiante (Slowing, *et al.*, J Nutr., 131, págs. 994S-9S, 2001), compuestos no sulfurados tales como β -clorogenina que tienen un efecto de inhibición de la agregación plaquetaria (Rahman K, *et al.*, J. Nutr. 2006) y diversos compuestos organosulfurados. Ejemplos de los compuestos organosulfurados contenidos en plantas que pertenecen al género *Allium* son compuestos organosulfurados solubles en grasa tales como sulfóxidos de S-alil-L-cisteína (aliína), disulfuro de dialilo (DADS) y sulfuro de dialilo (DAS) y compuestos organosulfurados solubles en agua tales como S-alil-L-cisteína (SAC) y S-alilmercaptocisteína (SAMC).

Se ha notificado que SAC, que es un principio activo del ajo maduro, tiene actividad antioxidante que inhibe la arteriosclerosis y la actividad anticancerígena en algunas líneas de células cancerosas (Proceedings of the American Association for Cancer Research, 30, pág. 181, 1989).

El documento DE 3514995 A1 se refiere a compuestos sulfhídricos para su uso en la lucha contra daños en la mucosa gástrica inducidos por fármacos antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos tales como ácido acetilsalicílico e indometacina. Se dan a conocer L-cisteína, L-cistina, acetilcisteína, cisteamina, DL-metionina, tiopropionato de dilauro, butirato de 2-hidroxi-4-metilo, ácido 3,3'-tiodipropiónico, tiosulfato de sodio, biotina y mezclas de estos compuestos como compuestos sulfhídricos.

El documento EP 0195433 A1 se refiere a derivados de amida para su uso en el tratamiento de úlceras en tractos digestivos e inflamación, estando inducidas posiblemente tales úlceras por aspirina y etanol. Estos derivados de amida corresponden a amina que contiene azufre combinada con un ácido alifático insaturado C₅-C₁₈ mediante uno o más enlaces amida.

No se ha notificado que SAC tenga efectos terapéuticos para prevenir o tratar lesiones de la mucosa gástrica inducidas por etanol, aspirina o indometacina.

Exposición

Problema técnico

En general, se usan antibióticos para destruir *Helicobacter pylori*. Sin embargo, la reinfección por *Helicobacter pylori* es común tras la erradicación de la misma y se requiere un tratamiento de dosis alta durante un largo periodo de tiempo para eliminar completamente *Helicobacter pylori*. Por consiguiente, pueden producirse efectos secundarios y pueden aumentar las bacterias resistentes a antibióticos debido al uso de antibióticos. Por tanto, hay una necesidad de un fármaco alternativo distinto de antibióticos. La presente invención proporciona un fármaco que tiene un efecto protector de la mucosa gástrica, tal como se define en las reivindicaciones.

La presente invención también proporciona una composición segura para prevenir, aliviar o tratar trastornos gastrointestinales, tal como se define en las reivindicaciones.

Solución técnica

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición que comprende S-alil-L-cisteína (SAC), que es un compuesto organosulfurado soluble en agua contenido en una planta que pertenece al género *Allium*, como principio activo y que tiene un efecto protector de la mucosa, tal como se define en las reivindicaciones. Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición que incluye SAC como principio activo para prevenir, aliviar o tratar trastornos gastrointestinales, tal como se define en las reivindicaciones.

Efectos ventajosos de la invención

La composición que incluye SAC como principio activo según la presente invención previene y trata lesiones de la mucosa gástrica provocadas por ácido clorhídrico-etanol, aspirina o indometacina, y por tanto puede usarse eficazmente para prevenir, aliviar o tratar trastornos gastrointestinales. La composición que incluye SAC como principio activo según la presente invención puede usarse como composición farmacéutica o composición alimenticia.

Breve descripción de los dibujos

Las características y ventajas anteriores y otras de la presente invención resultarán más evidentes al describir en detalle realizaciones a modo de ejemplo de la misma con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

la figura 10 muestra el efecto de SAC sobre las longitudes de lesiones gástricas de ratas inducidas por ácido clorhídrico-etanol, en la que ** indica una diferencia significativa con respecto a un grupo control con vehículo G1 en p<0,01, G1: grupo control con vehículo (agua destilada), G2: 100 mg/kg de SAC, G3: 200 mg/kg de SAC, G4: 400 mg/kg de SAC y G5: grupo control positivo (55,6 mg/kg de Stillen[®] como principio activo);

la figura 11 muestra las tasas de inhibición de lesión gástrica en ratas en el modelo de lesión gástrica inducida por ácido clorhídrico-etanol, en la que ** indica una diferencia significativa con respecto a un grupo control con vehículo G1 en p<0,01, G1: grupo control con vehículo (agua destilada), G2: 100 mg/kg de SAC, G3: 200 mg/kg de SAC, G4: 400 mg/kg de SAC y G5: grupo control positivo (55,6 mg/kg de Stillen[®] como principio activo);

la figura 12 muestra fotografías de estómagos de ratas en el modelo de lesión gástrica inducida por ácido clorhídrico-etanol, en la que G1: grupo control con vehículo (agua destilada), G2: 100 mg/kg de SAC, G3: 200 mg/kg de SAC, G4: 400 mg/kg de SAC y G5: grupo control positivo (55,6 mg/kg de Stillen[®] como principio activo);

la figura 13 muestra el efecto de SAC sobre un área de lesiones gástricas de ratas inducidas por aspirina, en la que *** indica una diferencia significativa con respecto a un grupo control con vehículo G1 en $p < 0,001$, G1: grupo control con vehículo (agua destilada), G2: 100 mg/kg de SAC, G3: 200 mg/kg de SAC, G4: 400 mg/kg de SAC y G5: grupo control positivo (55,6 mg/kg de Stillen® como principio activo);

la figura 14 muestra tasas de inhibición de lesión gástrica en ratas en un modelo de lesión gástrica inducida por aspirina;

la figura 15 muestra fotografías de estómagos de ratas en un modelo de lesión gástrica inducida por aspirina;

la figura 16 muestra el efecto de SAC sobre las longitudes de lesiones gástricas de ratas inducidas por indometacina, en la que * indica una diferencia significativa con respecto a un grupo control con vehículo G1 en $p < 0,05$, G1: grupo control con vehículo (agua destilada), G2: 100 mg/kg de SAC, G3: 200 mg/kg de SAC, G4: 400 mg/kg de SAC y G5: grupo control positivo (55,6 mg/kg de Stillen® como principio activo);

la figura 17 muestra tasas de inhibición de lesión gástrica en ratas en un modelo de lesión gástrica inducida por indometacina; y

la figura 18 muestra fotografías de estómagos de ratas en un modelo de lesión gástrica inducida por indometacina.

Modo para la invención

Descripción detallada de la invención

A continuación en el presente documento, la presente invención se describirá ahora más completamente con referencia a los dibujos adjuntos, en los que se muestran realizaciones de la invención.

Una composición que incluye S-alil-L-cisteína (SAC) tiene un excelente efecto protector de la mucosa gástrica, tal como se define en las reivindicaciones.

Los presentes inventores han encontrado que SAC tiene un efecto significativo sobre la inhibición de lesiones de la mucosa gástrica que se indujeron en las ratas mediante la administración de un fármaco. En una lesión gástrica inducida en una rata por ácido clorhídrico-etanol, SAC presentó una reducción significativa en la lesión en comparación con un grupo control al que sólo se le administró un vehículo (figuras 10 y 12) y una tasa de inhibición de lesión gástrica (%) de hasta aproximadamente el 66% (figura 11). SAC también presentó una reducción significativa en la lesión gástrica inducida por aspirina (figuras 13-15) o indometacina (figuras 16-18) en comparación con el grupo control negativo. SAC tiene una tasa de inhibición de lesión gástrica (%) de hasta aproximadamente el 85% en la lesión gástrica inducida por aspirina y una tasa de inhibición de lesión gástrica (%) de hasta aproximadamente el 94% en la lesión gástrica inducida por indometacina, que son efectos protectores de la mucosa gástrica similares o mejores en comparación con Stillen® usado como grupo control positivo. Los resultados indican que SAC tiene diversos efectos protectores de la mucosa gástrica sobre la lesión gástrica provocada por diversos factores.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que incluye SAC como principio activo con un portador farmacéuticamente aceptable y que tiene un efecto protector de la mucosa gástrica, tal como se define en las reivindicaciones.

La presente invención proporciona una composición alimenticia que incluye SAC como principio activo y que tiene un efecto protector de la mucosa gástrica, tal como se define en las reivindicaciones.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que incluye SAC como principio activo y un portador farmacéuticamente aceptable para prevenir o tratar trastornos gastrointestinales.

La presente invención proporciona una composición alimenticia que incluye SAC como principio activo para prevenir o aliviar trastornos gastrointestinales.

La composición según la presente invención puede incluir además un agente terapéutico para trastornos gastrointestinales o un agente contra *Helicobacter pylori* además de SAC.

La presente invención proporciona un método de prevención o tratamiento de trastornos gastrointestinales usando una composición que incluye SAC como principio activo y un portador farmacéuticamente aceptable.

Los trastornos gastrointestinales son también comunes en animales, y por tanto la presente invención también proporciona una composición para animales.

Los trastornos gastrointestinales para los que puede aplicarse la composición según la presente realización incluyen

gastritis crónica, gastritis aguda, úlcera gástrica, cáncer gástrico, hemorragia en el tracto gastrointestinal, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE), duodenitis y úlceras de duodeno.

En la composición según la presente realización, puede usarse una sal farmacéuticamente aceptable de SAC como principio activo. La sal puede ser una sal de adición de ácido o una sal de amonio cuaternario. Los ejemplos de la sal de adición de ácido incluyen sales de adición de ácido inorgánico tales como cloruro, bromhidrato, yodhidrato, sulfato y fosfato y sales de adición de ácido orgánico tales como oxalato, maleato, fumarato, lactato, malato, succinato, tartrato, benzoato y metanosulfonato. Ejemplos de las sales de amonio cuaternario son un halogenuro de alquilo de cadena corta tal como yoduro de metilo, bromuro de metilo, yoduro de etilo y bromuro de etilo; un sulfonato de alquilo de cadena corta tal como metanosulfonato de metilo y metanosulfonato de etilo; y un arilsulfonato de alquilo de cadena corta tal como *p*-toluenosulfonato de metilo.

La SAC o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede existir en forma de solvato o hidrato, y por tanto un solvato o hidrato de la SAC o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede usarse como principio activo para la composición terapéutica según la presente realización.

La SAC usada en el presente documento puede prepararse a partir de una planta que pertenece al género *Allium* tal como ajo, ajo elefante, cebolla, cebolleta usando un método dado a conocer en la publicación de patente europea n.º EP 0429080A1, síntesis, fermentación o cualquier otro método conocido.

La SAC, la sal farmacéutica o sitológicamente aceptable de SAC, o un solvato o hidrato de la misma, como principio activo, puede administrarse directamente a los pacientes. Sin embargo, puede administrarse una composición que incluye uno o más de los principios activos o también puede administrarse una formulación combinada preparada mezclando los principios activos con un agente contra *Helicobacter pylori* o un fármaco para tratar trastornos gastrointestinales a los pacientes.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica formada en una formulación para administración oral, una formulación para administración a la mucosa, una formulación para inyección, una formulación para inhalación y una formulación para aplicación externa.

La formulación para administración oral puede incluir cápsulas duras y blandas, comprimidos, suspensiones, polvos, formulaciones de liberación suspendida, formulaciones entéricas, gránulos, oleosácaros, gránulos finos, píldoras, extractos, líquidos, aguas aromáticas, emulsiones, jarabes, elixires, extractos fluidos, decocciones de infusión, tinturas, licores medicados y aceites infundidos.

La formulación para administración a la mucosa pueden ser trociscos, comprimidos bucales, comprimidos sublinguales, supositorios y pulverizadores intranasales, pero no se limita a los mismos. La formulación para inyección pueden ser inyecciones subcutáneas, inyecciones intramusculares, inyecciones intravenosas y comprimidos para implante.

La formulación para aplicación externa pueden ser gotas nasales, disoluciones oftálmicas, disoluciones óticas, pomadas oftálmicas, pastas, cataplasmas, linimentos, lociones, pulverizadores, polvo para uso externo y líquidos para uso externo.

La formulación según la presente realización puede incluir además uno o más portadores inertes, además de uno o más principios activos, por ejemplo, excipientes tales como almidón, lactosa, carboximetilcelulosa y caolín, aglutinantes tales como agua, gelatina, alcohol, glucosa, goma arábica y goma tragacanto, disgregantes tales como almidón, dextrina y alginato de sodio, lubricantes tales como talco, ácido esteárico, estearato de magnesio y parafina líquida, y otros aditivos tales como agentes de solubilización.

La dosis diaria de SAC puede variar según diversos factores tales como la gravedad de la enfermedad, el comienzo de la enfermedad y la edad, estado del paciente y complicaciones del paciente. En general, una dosis diaria de SAC para un adulto puede estar en el intervalo de 1 mg a 10 g, preferiblemente de 100 mg a 4 g y más preferiblemente de 200 a 2.000 mg. Sin embargo, la dosis diaria puede aumentarse adicionalmente para pacientes que tienen síntomas graves o complicaciones para mejorar la eficacia terapéutica. Las formulaciones pueden administrarse en una única dosis o dividida en dosis administradas 2 ó 3 veces al día. Por ejemplo, una o dos formulaciones de dosis unitaria, conteniendo cada una de 200 a 500 mg de SAC, pueden administrarse por vía oral una o dos veces al día, aunque la administración puede ajustarse si se requiere.

Si la composición según la presente realización es una composición alimenticia, la cantidad de los principios activos puede ajustarse, si se desea, por ejemplo, como complementos alimenticios o para la salud que previenen o tratan enfermedades. En general, la cantidad de SAC en alimento o bebida puede estar en el intervalo del 0,0001 al 90% en peso, preferiblemente del 0,1 al 50% en peso del alimento o bebida total. Aun cuando la cantidad de SAC en complementos para la salud puede estar dentro del intervalo descrito anteriormente para uso a largo plazo, puede aumentarse puesto que el principio activo es seguro. Los alimentos que incluyen la composición alimenticia según la presente realización pueden ser carne, salchichas, pan, chocolate, caramelos, aperitivos, pizzas, fideos

instantáneos, chicles, productos lácteos, sopas, bebidas, té, refrescos, alcohol y vitaminas.

A continuación en el presente documento, se describirán una o más realizaciones en detalle con referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos no pretenden limitar el fin y alcance de la invención.

5

Ejemplos experimentales

Efecto protector de la mucosa gástrica de SAC en animales que tienen lesiones gástricas producidas por fármacos

- 10 Se evaluó el efecto protector de la mucosa gástrica de SAC en animales que tenían lesiones gástricas inducidas por ácido clorhídrico-etanol, aspirina o indometacina

MATERIAL DE PRUEBA

- 15 Se adquirió SAC de TCI Chemical Co. (Tokio, Japón). Se usó agua estéril para inyección (modelo n.º 73H5F21, Dae Han Pharmaceutical Co. Ltd.) como vehículo, y Stillen[®] como material de control positivo. Se usaron CMC-Na al 0,5% y agua estéril para inyección como excipientes para Stillen[®]. Se adquirió ácido clorhídrico de Samjung Chemical, Co., se adquirió etanol de Baker, Co., se adquirió aspirina de Sigma, Co. y se adquirió indometacina de Sigma, Co.

20

ANIMALES DE PRUEBA

- 25 Se pusieron en cuarentena ratas HsdKoat:Sprague-Dawley[®] SD[®] de 7 a 8 semanas de edad, macho, libres de patógenos específicos (SPF) (el peso de los machos de 7 semanas de edad estaba en el intervalo de 208,44 a 227,39 g, y el peso de los machos de 8 semanas de edad estaba en el intervalo de 223,85 a 245,03 g, adquiridas de Koatech, Co. Ltd., Gyunggido, Corea) y se aclimataron en el laboratorio de animales durante 7 días. Se criaron las ratas a una temperatura de 23,3°C, a una humedad relativa del 55,15%, con luz durante 12 horas (luz encendida a las 08:00 y luz apagada a las 20:00) a la vez que se ventiló aire de 10 a 20 veces/h en el laboratorio de experimentos con animales de Gyeonggi Bio-Center. No se consideró el uso de otros entornos para la crianza que pudieran influir en la prueba durante todo el periodo de prueba. Se dio a las ratas libre acceso a una dieta de laboratorio sólida (Harlan Co. Ltd., EE.UU. Dieta para roedores, con un 18% de proteínas global certificada de Teklad, 2918C) que se suministró por Folas International. Según el análisis de certificado de la composición de la dieta, no había ingredientes ni contaminantes que pudieran haber tenido un efecto adverso sobre la prueba. Se dio a las ratas libre acceso a agua corriente que se esterilizó usando un esterilizador UV y un microfiltro con botellas de agua.

35

GRUPOS DE PRUEBA Y ADMINISTRACIÓN

- 40 Las ratas se clasificaron en un grupo control con vehículo G1 al que sólo se administró un vehículo, un grupo experimental G2 al que se administraron 100 mg/kg de SAC, un grupo experimental G3 al que se administraron 200 mg/kg de SAC, un grupo experimental G4 al que se administraron 400 mg/kg de SAC y un grupo control positivo G5 al que se administraron 100 mg/kg de Stillen[®] (55,6 mg/kg como principio activo) como material de control positivo. Cada grupo incluyó 8 ratas en un modelo animal inducido por ácido clorhídrico-etanol (ejemplo experimental 7) e incluyó 6 ratas en un modelo experimental inducido por aspirina ((ejemplo experimental 8) y en un modelo animal inducido por indometacina ((ejemplo experimental 9).

45

Tabla 1

Grupo	Sexo	Número total de animales	Número de animales	Volumen administrado (ml/kg)	Dosis (mg/kg)
G1	Macho	8(6)	18~(1~6)	10	0
G2	Macho	8(6)	9~16(7~12)	10	100
G3	Macho	8(6)	17~24(13~18)	10	200
G4	Macho	8(6)	25~32(19~24)	10	400
G5	Macho	8(6)	33~40(25~30)	10	55,6 ^{a)}

G1: Grupo control con vehículo

- 50 G2 a G4: Grupos experimentales a los que se administra SAC

G5: Grupo control positivo al que se administra un material de control positivo

a): Dosis de principio activo

- 55 La sustancia de prueba se administró directamente al estómago usando un tubo de inyección equipado con una sonda para administración oral en una sola dosis una vez al día.

No murió ningún animal ni se observaron otros cambios en ninguno de los grupos, y no se observó un cambio de peso significativo con respecto a la administración de la SAC en la administración y durante todo el periodo de prueba.

5 MÉTODO ESTADÍSTICO

Se verificaron las comparaciones del grupo control con vehículo con los grupos experimentales y el grupo experimental al que se administró material de control positivo usando análisis de varianza unidireccional (ANOVA unidireccional). En este sentido, se aceptaron la significación y homocedasticidad, y por tanto se realizó una prueba de comparaciones múltiples a posteriori usando una prueba de Duncan. Se aceptó la significación cuando $p < 0,05$, y se usó SPSS 10.1.

EJEMPLO EXPERIMENTAL 7. Efecto de SAC sobre las longitudes de lesiones gástricas y tasa de inhibición de lesión gástrica en un modelo animal de lesión gástrica inducida por ácido clorhídrico-etanol

MÉTODO

Se administraron las sustancias de prueba. Tras una hora, se administraron por vía oral a cada rata 1,5 ml de HCl 150 mM en etanol al 60%. Las ratas a las que se les administró etanol y SAC se dejaron en ayunas sin agua en jaulas de cría de acero inoxidable durante 1 hora. Tras una hora desde la administración de clorhídrico-etanol, se sacrificó a las ratas bajo anestesia usando éter y se aislaron sus estómagos incluyendo partes del duodeno y el esófago. Se lavaron inmediatamente los interiores de los estómagos con 13 ml de formalina tamponada neutra al 2%, y se fijaron las partes del duodeno y el esófago con pinzas. Entonces, se añadieron a los mismos 13 ml de la formalina tamponada neutra al 2% y se mantuvieron durante 5 minutos para su fijación. Se realizó una incisión en la curvatura mayor de cada estómago, se fijó a una tabla de disección y se desplegó para medir las longitudes de las lesiones gástricas usando calibradores Vernier. Se tomaron fotografías de los estómagos desplegados (figura 12) y se fijaron los estómagos con formalina tamponada neutra al 10%.

RESULTADO

Según este modelo de lesión gástrica, el etanol estimula directamente la mucosa gástrica, induce edema en la capa muscular bajo la membrana mucosa provocando un estado isquémico transitorio, y por tanto se induce necrosis celular debido a daño oxidativo, y el ácido clorhídrico estimula directamente la mucosa gástrica y acelera la motilidad gástrica provocando gastritis aguda. Se observó la lesión de manera macroscópica a lo largo de toda la mucosa gástrica y se observó hemorragia en una línea larga. Tras una hora desde la administración de ácido clorhídrico-etanol, las ratas del grupo control con vehículo tenían lesiones a lo largo de toda la mucosa gástrica que se identificaron mediante autopsia ($209,60 \pm 28,39$ mm). El grupo experimental al que se administraron 200 mg/kg de SAC ($106,65 \pm 16,70$ mm, $p < 0,01$), el grupo experimental al que se administraron 400 mg/kg de SAC ($72,25 \pm 19,33$ mm, $p < 0,01$) y el grupo control positivo al que se administró Stillen® ($102,51 \pm 11,35$, $p < 0,01$) mostraron significativamente menos lesiones que el grupo control con vehículo (véanse las figuras 10 y 12).

Tasa de inhibición de lesión gástrica (%) = $(\text{longitud promedio del grupo control con vehículo} - \text{longitud de lesión gástrica de cada animal}) / \text{longitud promedio del grupo control con vehículo} \times 100$. El grupo experimental al que se administraron 200 mg/kg de SAC ($41,12 \pm 7,97\%$, $p < 0,01$), el grupo experimental al que se administraron 400 mg/kg de SAC ($65,53 \pm 9,22\%$, $p < 0,01$) y el grupo control positivo al que se administró Stillen® ($51,09 \pm 5,41\%$, $p < 0,01$) mostraron una tasa de inhibición de lesión gástrica (%) significativamente mayor que el grupo control con vehículo (véase la figura 11).

EJEMPLO EXPERIMENTAL 8. Efecto de SAC sobre el área de lesión gástrica y la tasa de inhibición de lesión gástrica en un modelo animal de lesión gástrica inducida por aspirina

MÉTODO

Se dejaron en ayunas las ratas durante más de 24 horas en un entorno normal, se administró la sustancia de prueba y se administraron por vía oral 200 mg/kg de aspirina en HCL 0,15 mol/l tras 30 minutos. Tras tres horas desde la administración de aspirina, se sacrificaron las ratas bajo anestesia y se aislaron sus estómagos incluyendo partes del duodeno y el esófago. Se fijaron los estómagos durante 10 minutos mediante la inyección de 12 ml de formalina al 2%. Se realizó una incisión en la curvatura mayor de cada estómago y se desplegó, se tomaron fotografías de la región glandular gástrica y entonces se midieron las áreas de las lesiones usando un analizador de imágenes.

RESULTADO

Tabla 2

Grupo	Número de animales (n = 6)						Área de úlcera (mm ²)	DE	IR (%)
	1	2	3	4	5	6			
G1	165,76	1555,77	216,14	231,8 8	285,72	236,67	215,3	48,35	
G2	91,68	44,12	40,95	63,52	63,52	64,67	68,6	25,94	-68,2
G3	46,29	19,37	5,41	27,07	27,07	43,86	31,4	16,99	-85,4
G4	63,26	9,34	70,28	40,03	40,03	11,58	32,5	29,78	-84,9
G5	16,86	29,58	7,82	71,91	71,91	61,96	32,5	28,09	-84,9

- 5 Según este modelo de lesión gástrica, la aspirina, que es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, inhibe la síntesis de prostaglandinas que protegen las paredes del estómago, produciendo así úlceras gástricas. Se observaron lesiones a lo largo de toda la mucosa gástrica y se observó hemorragia en forma neta. Tras la administración de aspirina, las ratas del grupo control con vehículo tenían hemorragias y lesiones a lo largo de toda la mucosa gástrica que se identificaron mediante autopsia (215,3±48,35 mm²). El grupo experimental al que se administraron 100 mg/kg de SAC (68,6±25,94 mm²), el grupo experimental al que se administraron 200 mg/kg de SAC (31,4±16,99 mm²), el grupo experimental al que se administraron 400 mg/kg de SAC (32,5±29,78 mm²) y el grupo control positivo (32,5±28,09 mm²) mostraron significativamente menos lesiones que el grupo control con vehículo (véanse las figuras 13 y 15).
- 10
- 15 Tasa de inhibición de lesión gástrica (%)=(área promedio del grupo control con vehículo-área de lesión gástrica de cada animal)/área promedio del grupo control con vehículo X 100. El grupo experimental al que se administraron 100 mg/kg de SAC (68,2%), el grupo experimental al que se administraron 200 mg/kg de SAC (85,4%), el grupo experimental al que se administraron 400 mg/kg de SAC (84,9%) y el grupo control positivo (84,9%) mostraron a tasa de inhibición de lesión gástrica (%) significativamente mayor que el grupo control con vehículo (véase la figura 14).
- 20

EJEMPLO EXPERIMENTAL 9. Efecto de SAC sobre el área de lesión gástrica y la tasa de inhibición de lesión gástrica en un modelo animal de lesión gástrica inducida por indometacina

25 MÉTODO

- Se dejaron en ayunas las ratas durante más de 24 horas en un entorno normal, se administró SAC y se administraron por vía oral 25 mg/kg de indometacina en agua destilada tras 30 minutos. Tras seis horas desde la administración de indometacina, se sacrificaron las ratas bajo anestesia y se aislaron sus estómagos incluyendo partes del duodeno y el esófago. Se fijaron los estómagos durante 10 minutos mediante la inyección de 12 ml de formalina al 2%, se realizó una incisión en la curvatura mayor de cada estómago y se desplegó, se tomaron fotografías de las lesiones y entonces se midieron las áreas de las lesiones usando una analizador de imágenes.
- 30

RESULTADO

35 Tabla 3

Grupo	Número de animales (n = 6)						Área de úlcera (mm ²)	DE	IR (%)
	1	2	3	4	5	6			
G1	6,4	18,0	6,7	4,2	0,9	9,6	7,6	5,85	
G2	1,3	1,6	1,5	9,4	-	2,3	3,2	3,47	-57,9
G3	0,0	0,3	0,9	0,6	0,7	0,4	0,5	0,30	-93,8
G4	0,8	0,4	0,1	0,2	0,1	1,0	0,4	0,36	-94,4
G5	3,7	0,6	2,7	0,7	7,7	5,2	3,4	2,75	-55,2

- 40 Según este modelo de lesión gástrica, la indometacina, que es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, inhibe la síntesis de prostaglandinas que protegen las paredes del estómago, produciendo así lesiones gástricas. Se observaron lesiones locales en la mucosa gástrica y se observó hemorragia. Tras la administración de indometacina, las ratas del grupo control con vehículo tenían lesiones que tenían un área de 7,6±5,85 mm² que se identificaron

mediante autopsia. En el grupo experimental al que se administraron 100 mg/kg de SAC, el área de las lesiones fue de $3,2 \pm 3,47 \text{ mm}^2$ que era menor que la del grupo control con vehículo en la mitad o más. El grupo experimental al que se administraron 200 mg/kg de SAC ($0,5 \pm 0,30 \text{ mm}^2$), el grupo experimental al que se administraron 400 mg/kg de SAC ($0,4 \pm 0,36 \text{ mm}^2$) y el grupo control positivo ($32,5 \pm 28,09 \text{ mm}^2$) mostraron significativamente menos lesiones que el grupo control con vehículo. En particular, los grupos experimentales a los que se administraron 200 mg/kg y 400 mg/kg de SAC mostraron lesiones gástricas ligeras y ausencia de hemorragias (figuras 16 y 18).

Se calculó la tasa de inhibición de lesión gástrica (%) de la misma manera que en el ejemplo experimental 8. El grupo experimental al que se administraron 100 mg/kg de SAC (57,9%), el grupo experimental al que se administraron 200 mg/kg de SAC (93,8%), el grupo experimental al que se administraron 400 mg/kg de SAC (94,4%) y el grupo control positivo (55,2%) mostraron una tasa de inhibición de lesión gástrica (%) significativamente mayor que el grupo control con vehículo. Particularmente, se identificó que la lesión gástrica puede inhibirse completamente si se administran 200 mg/kg o más de SAC (véase la figura 17).

EJEMPLOS DE PREPARACIÓN

Se prepararon diversas formulaciones que incluían SAC como principio activo tal como sigue.

Ejemplo de preparación 1. Fabricación de comprimidos

SAC	200 mg
Lactosa	50 mg
Almidón	10 mg
Estearato de magnesio	cantidad apropiada

Se mezclaron los componentes anteriores y se prepararon comprimidos usando un método conocido para preparar comprimidos.

Ejemplo de preparación 2. Fabricación de polvo

SAC	250 mg
Lactosa	30 mg
Almidón	20 mg
Estearato de magnesio	cantidad apropiada

Se mezclaron los componentes anteriores y se llenó una chartula recubierta con polietileno, y se selló la chartula para preparar polvo.

Ejemplo de preparación 3. Fabricación de cápsulas

SAC	500 mg
Lactosa	30 mg
Almidón	28 mg
Estearato de magnesio	cantidad apropiada

Se mezclaron los componentes anteriores y se llenó una cápsula dura de gelatina usando un método conocido para preparar cápsulas.

Ejemplo de preparación 4. Fabricación de suspensiones

SAC	50 mg
Azúcar isomerizado	10 g
azúcar	30 mg
Carboximetilcelulosa de sodio	100 mg
Aroma de limón	cantidad apropiada
Volumen total incluyendo agua purificada	100 ml

Se mezclaron los componentes anteriores para preparar una suspensión usando un método conocido y se llenó con

la suspensión una botella marrón de 100 ml y se esterilizó.

Ejemplo de preparación 5. Fabricación de cápsulas blandas (cantidad en una cápsula blanda)

SAC	500 mg
Polietilenglicol 400	400 mg
Glicerina concentrada	55 mg
Agua purificada	35 mg

- 5 Se mezclaron polietilenglicol y glicerina concentrada, y se añadió agua purificada a los mismos. Se añadió flavona a los mismos mientras se mantenía la mezcla a aproximadamente 60°C, y se agitó la mezcla a aproximadamente 1.500 rpm con un agitador. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente mientras se agitaba lentamente y se eliminaron las burbujas usando una bomba de vacío para preparar el contenido para una cápsula blanda. Se preparó el recubrimiento de la cápsula blanda usando gelatina y un plastificante que se conocen en la técnica. Se usaron 132 mg de gelatina, 52 mg de glicerina concentrada, 6 mg de disolución de disorbitol al 70%, una cantidad apropiada de etilvainillina como agente aromatizante y cera de carnauba como base de recubrimiento para preparar una cápsula blanda usando un método conocido.

15 Ejemplo de preparación 6. Fabricación de inyecciones

SAC	200 mg
Manitol	180 mg
Agua destilada esterilizada para inyección	2974 mg
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	26 mg

Se preparó una ampolla que tenía los componentes anteriores usando un método conocido.

20 Ejemplo de preparación 7. Fabricación de bebidas

SAC	0,01 g
Ácido cítrico	8,5 g
Azúcar blanca	10 g
Glucosa	2,5 g
Ácido DL-málico	0,3 g
Agua purificada	cantidad apropiada

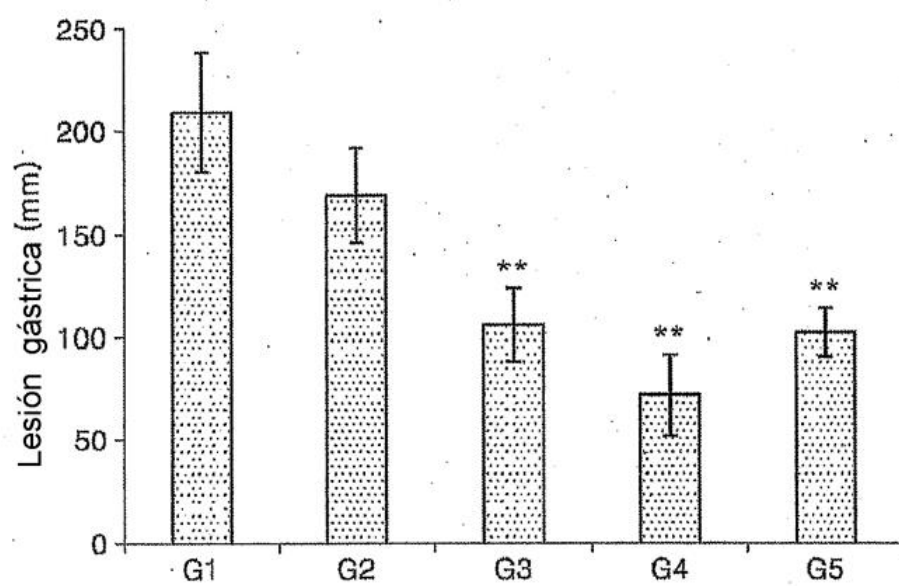
Se mezclaron los componentes anteriores y una cantidad apropiada de agua purificada hasta un volumen total de 100 ml y se agitaron para preparar una bebida usando un método conocido.

25

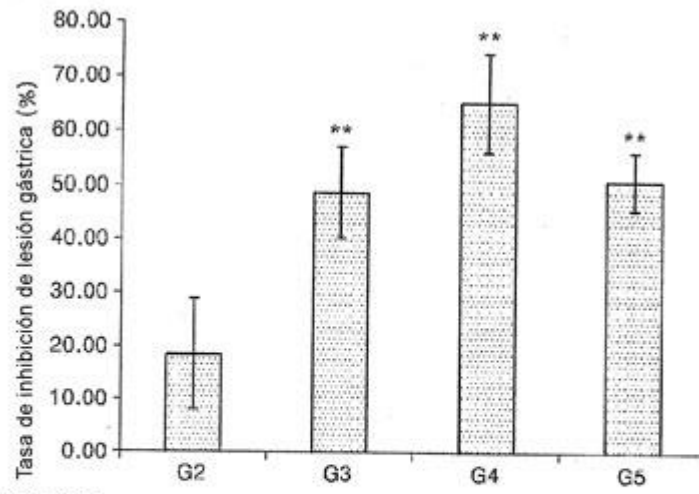
REIVINDICACIONES

1. S-alil-L-cisteína, sal farmacéuticamente aceptable de S-alil-L-cisteína, o solvato o hidrato de la misma como principio activo para su uso en la prevención o el tratamiento de lesiones de la mucosa gástrica inducidas por un fármaco, en la que el fármaco es etanol, aspirina o indometacina.
5
2. S-alil-L-cisteína, sal farmacéuticamente aceptable de S-alil-L-cisteína, o solvato o hidrato de la misma para su uso según la reivindicación 1, en la que el trastorno gastrointestinal es gastritis crónica, gastritis aguda, úlcera gástrica, cáncer gástrico, hemorragia en el tracto gastrointestinal, enfermedad de reflujo gastroesofágico, duodenitis o úlcera de duodeno.
10
3. Formulación farmacéutica que comprende S-alil-L-cisteína, sal farmacéuticamente aceptable de S-alil-L-cisteína, o solvato o hidrato de la misma como principio activo para su uso en la prevención o el tratamiento de lesiones de la mucosa gástrica inducidas por un fármaco, en la que el fármaco es etanol, aspirina o indometacina según la reivindicación 1, en la que dicha formulación farmacéutica se selecciona del grupo que consiste en una formulación para administración oral, una formulación para administración a la mucosa, una formulación para inyección, una formulación para inhalación y una formulación para aplicación externa.
15
4. Formulación farmacéutica para su uso según la reivindicación 3, en la que la formulación para administración oral se selecciona del grupo que consiste en cápsulas duras y blandas, comprimidos, suspensiones, polvo, formulaciones de liberación suspendida, formulaciones entéricas, gránulos, oleosácaros, gránulos finos, píldoras, extractos, líquidos, aguas aromáticas, emulsiones, jarabes, elixires, extractos fluidos, decocciones para infusión, tinturas, licores medicados y aceites infundidos.
20

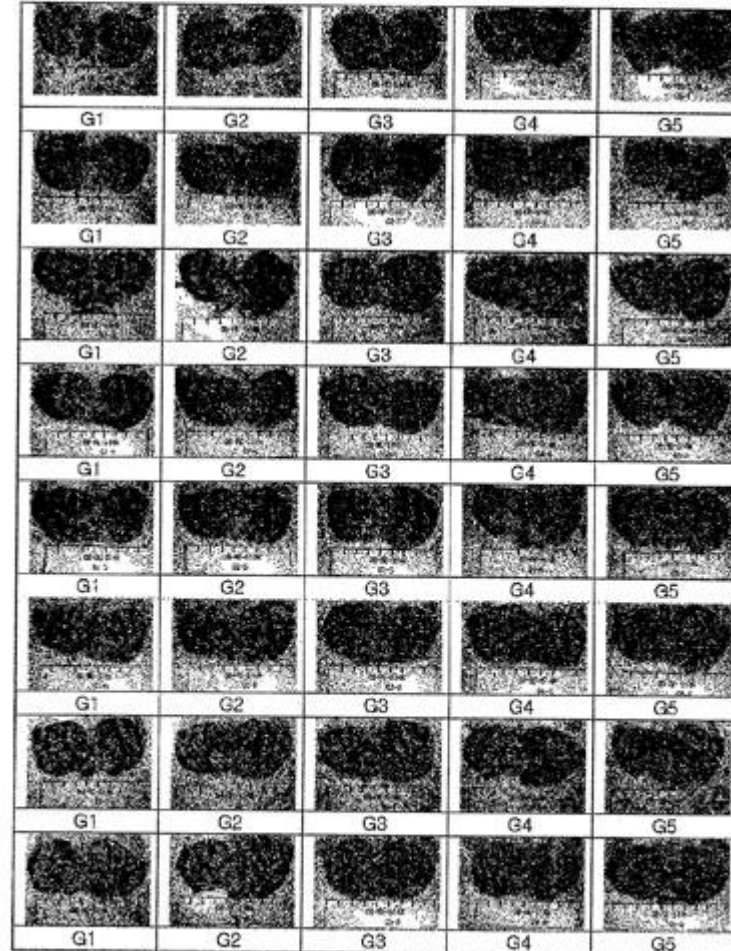
[Fig. 10]



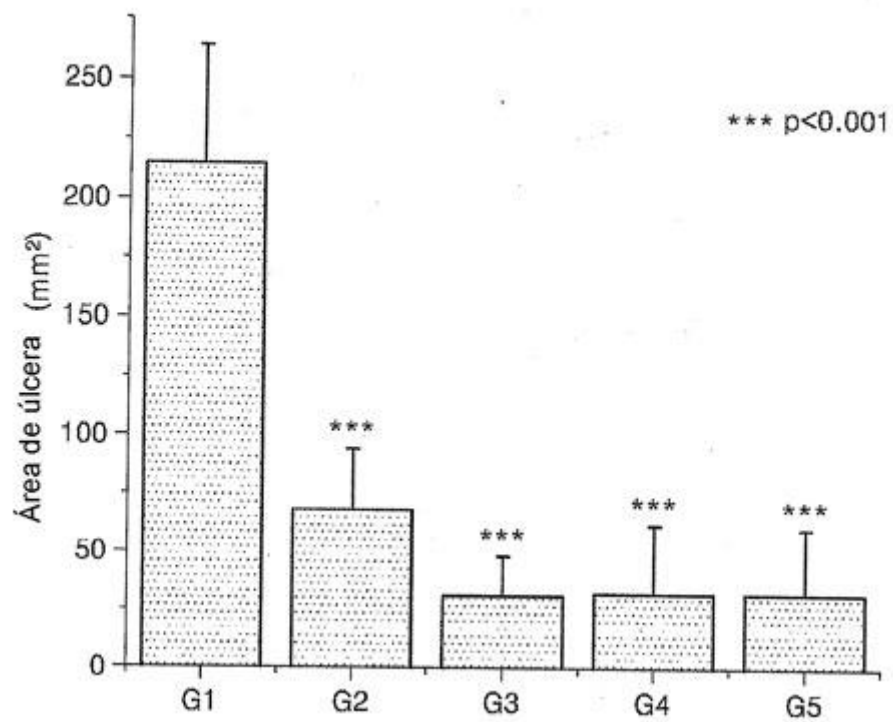
[Fig. 11]



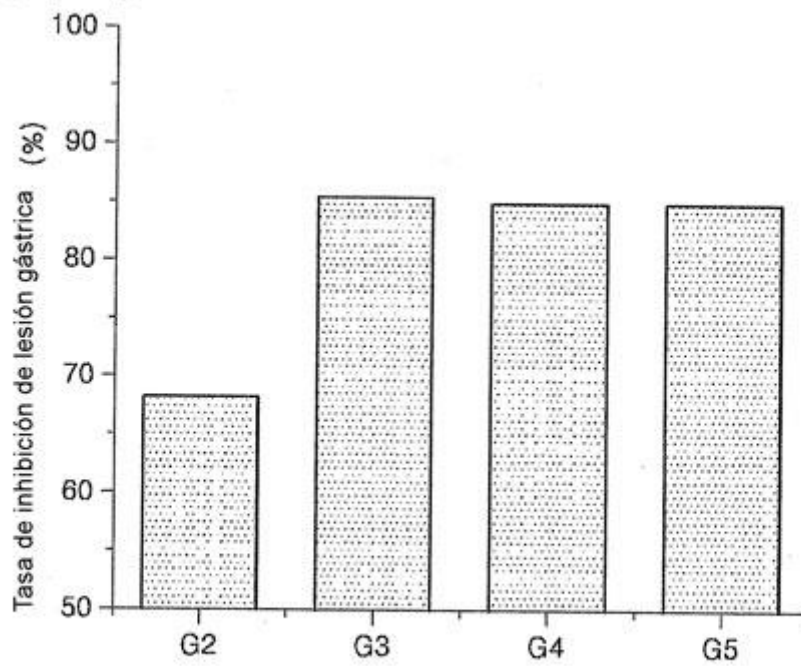
[Fig. 12]



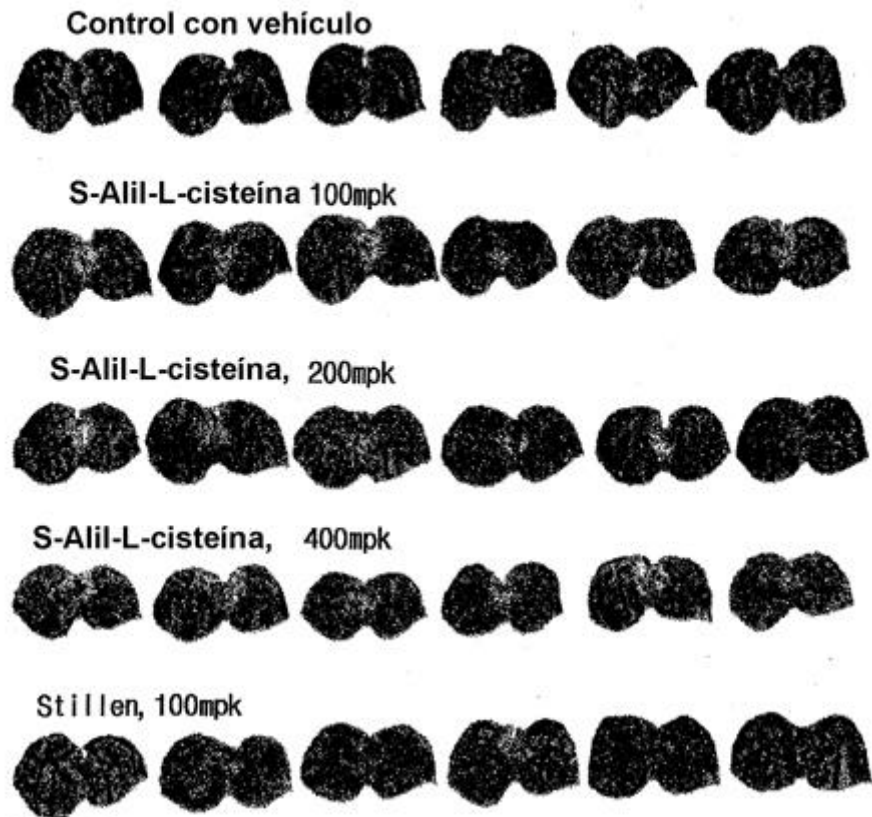
[Fig. 13]



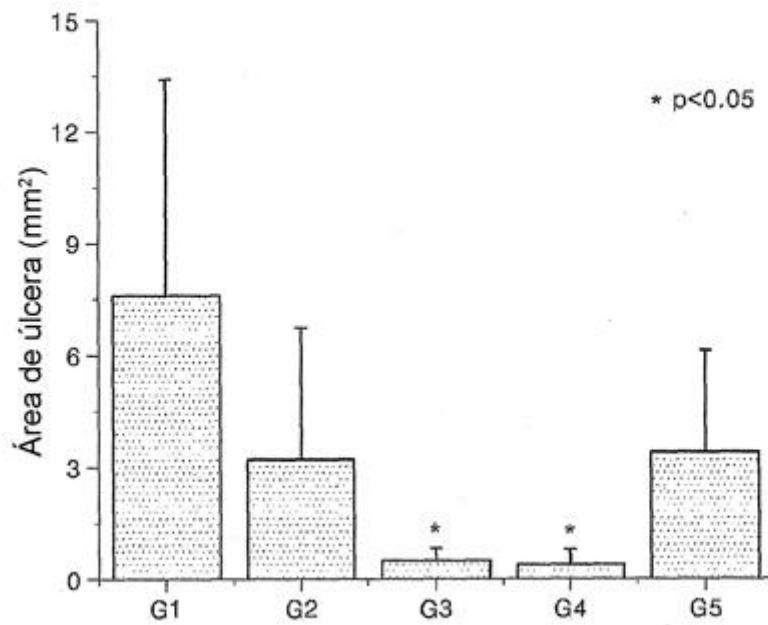
[Fig. 14]



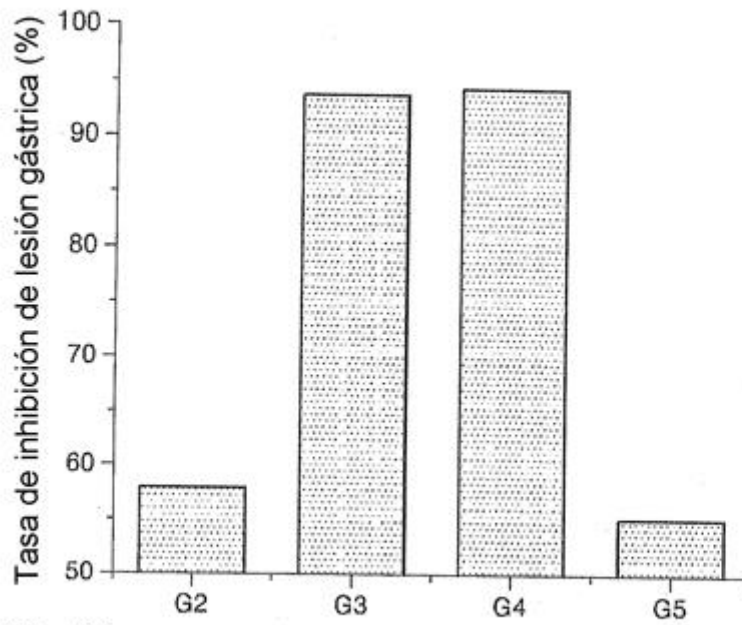
[Fig. 15]



[Fig. 16]



[Fig. 17]



[Fig. 18]

