

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 725 879**

51 Int. Cl.:

A61K 47/38	(2006.01)
A61K 47/30	(2006.01)
A61K 38/18	(2006.01)
A61L 31/04	(2006.01)
A61L 31/14	(2006.01)
A61L 31/16	(2006.01)
A61L 24/00	(2006.01)
A61L 24/04	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.10.2013 PCT/KR2013/009783**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **07.08.2014 WO14119836**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.10.2013 E 13874103 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2019 EP 2950822**

54 Título: **Composición farmacéutica para la protección de heridas, para proporcionar una hemostasia o para evitar la adhesión en el tracto gastrointestinal**

30 Prioridad:

30.01.2013 KR 20130010579

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.09.2019

73 Titular/es:

**DAEWOONG CO., LTD. (33.3%)
223-23 Sangdaewon-dong Jungwon-gu
Seongnam-city, Gyeonggi-do 462-120, KR;
CG BIO CO., LTD. (33.3%) y
UTAH-INHA DDS & ADVANCED THERAPEUTICS
RESEARCH CENTER (33.3%)**

72 Inventor/es:

**KIM, IN-AE;
KIM, SANG-HEE;
JUNG, JI-HOON;
CHANG, HEE-CHUL;
MAENG, JIN-HEE;
YANG, SU-GEUN;
LEE, DON-HAENG y
MIN, KYUNG-HYUN**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 725 879 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 farmacéutica para la protección de heridas, para proporcionar una hemostasia o para evitar la adhesión en el tracto gastrointestinal

5

Campo técnico

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para proporcionar protección de heridas, hemostasia o anti-adhesión en el tracto gastrointestinal. Más específicamente, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica en forma de polvo para proporcionar protección de heridas, hemostasia o anti-adhesión en el tracto gastrointestinal, que comprende un determinado polímero mucoadhesivo; y un determinado agente higroscópico.

10

Antecedentes de la técnica

15

La hemorragia gastrointestinal es un problema médico bastante común. A aproximadamente el 50 % de los pacientes que padece una úlcera gástrica se les diagnostica una úlcera gástrica hemorrágica. En aproximadamente el 80 % de los casos, la hemorragia gastrointestinal se produce fundamentalmente en el tracto gastrointestinal superior. En la hemorragia gastrointestinal superior, la hemorragia se origina en el esófago, el estómago o el duodeno, y da como resultado hematemesis y melanemesis. El sitio de una hemorragia en una hemorragia gastrointestinal superior puede ser identificado mediante un método endoscópico; y el índice de identificación del mismo es de aproximadamente el 90 %. Las polipectomías gástricas o colónicas, la mucosectomía endoscópica y los tratamientos endoscópicos se llevan a cabo de formas diversas con objeto de tratar el cáncer gástrico o de colon. Sin embargo, durante o después de dichos tratamientos, en ocasiones se produce una hemorragia en el estómago o en el colon, que pueden requerir intervenciones quirúrgicas de emergencia o incluso dar lugar a la muerte del paciente.

20

25

Recientemente se están llevando a cabo métodos hemostáticos endoscópicos con objeto de tratar la hemorragia gastrointestinal. Los métodos hemostáticos endoscópicos incluyen, por ejemplo, una inyección local directa de suero salino hipertónico, de epinefrina o de alcohol; una terapia coagulante que usa calor eléctrico, argón o un láser; y un método hemostático físico que usa una pinza. Sin embargo, los métodos convencionales aspiran a reducir la cantidad de hemorragia, a través de presión mediante la inyección de un agente líquido en los vasos sanguíneos que rodean una úlcera o a través de la ligación de los vasos sanguíneos *per se*. Consecuentemente, la úlcera permanece según se exfolia la membrana mucosa. Como resultado, incluso después del tratamiento, a menudo la hemorragia continúa. Según algunos estudios de investigación, el tratamiento hemostático endoscópico convencional solo tiene éxito en entre el 70 y el 80 % de los casos. Además, la hemorragia reaparece en entre el 20 y el 25 % de los casos, entre 3 y 4 días después del tratamiento hemostático endoscópico. La reaparición de la hemorragia se refiere una hemorragia de un vaso sanguíneo y se produce antes de que la úlcera esté completamente curada mediante la regeneración del tejido que rodea la úlcera. Por lo tanto, existen unas limitaciones difíciles de resolver mediante los métodos hemostáticos endoscópicos convencionales que detienen la hemorragia cuando la membrana mucosa de la úlcera es exfoliada. Esto es, en los métodos hemostáticos endoscópicos convencionales, la velocidad de curación de la úlcera o de la lesión es demasiado lenta y frecuentemente se produce una reaparición de la hemorragia. Con objeto de resolver los problemas, la publicación de la patente coreana nº 10-2006-0040329 ha divulgado un agente hemostático para su uso en el interior del cuerpo y un método de aplicación del agente hemostático sobre una úlcera en el interior del cuerpo humano, en el que se dispersa un agente de recubrimiento que tiene la forma de una solución polimérica, y se recubre sobre la úlcera de una forma endoscópica para detener la hemorragia de la úlcera y minimizar la posibilidad de reaparición de la hemorragia.

30

35

40

45

50

55

Mientras tanto, con objeto de aumentar la velocidad de curación de la úlcera o de la lesión, y minimizar la posibilidad de reaparición de la hemorragia, se requiere una formulación multifuncional que pueda proteger eficazmente las heridas (por ejemplo, una úlcera y/o una lesión) y evitar la adhesión, así como detener la hemorragia (es decir, proporcionar una hemostasia). Esto es, se requiere una formulación administrada (o inyectada) en el tracto gastrointestinal a través de un catéter endoscópico, protegiendo así las heridas, proporcionando una hemostasia y/o evitando la adhesión. Con objeto de llevar a cabo la administración local en el tracto gastrointestinal, es necesario que la formulación no solo tenga una viscosidad y una adhesividad a la mucosa apropiadas (es decir, mucoadhesividad), sino que también forme un escudo protector físico para proporcionar hemostasia en un área objetivo.

60

65

Para evitar la adhesión en una región operativa, se han desarrollado formulaciones que tienen una forma de gel o una forma de sol-gel. Sin embargo, las formulaciones en gel que tienen una baja viscosidad implican muchas pérdidas de la misma durante la aplicación en el tracto gastrointestinal superior, lo que da como resultado una formación restringida del escudo protector físico. Y, aunque las formulaciones en gel que tienen una elevada viscosidad tienen una excelente mucoadhesividad, tienen algunos inconvenientes, por ejemplo, que requieren un dispositivo de expulsión de alta presión, lo que implica muchas pérdidas de las mismas, etc. Las formulaciones en sol-gel se refieren a una formulación que cambia de una forma de sol (por ejemplo, antes de su aplicación en el

cuerpo) a una forma de gel a una determinada temperatura (por ejemplo, a la temperatura corporal). Sin embargo, las formulaciones convencionales en sol-gel tienen un tiempo de gelificación muy corto, lo que puede dar lugar a la formación de un gel en un catéter antes de su aplicación en el cuerpo; y además implican muchas pérdidas de las mismas durante la aplicación.

5 El documento WO 2011/046546 se refiere a composiciones farmacéuticas de liberación retardada que comprenden ácido micofenólico, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o combinaciones del mismo, y métodos para la elaboración de las mismas.

10 El documento WO 2010/038237 se refiere a una composición que muestra un tránsito retardado a través del tracto gastrointestinal que comprende uno o más agentes activos, fibra de fenogreco y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Este documento se refiere adicionalmente a formas de dosificación gastrorretentivas que comprenden fibra de fenogreco.

15 El documento WO 2011/083154 se refiere a un sellante de fibrina en polvo seco que comprende una mezcla de fibrinógeno y trombina para su uso en cirugía, traumatismos y otras heridas o lesiones. También se refiere a formulaciones que comprenden sellante de fibrina en polvo seco para su uso en el tratamiento de heridas o para intervenciones quirúrgicas, o como un hemostático tópico.

20 **Divulgación**

Problema técnico

25 Los presentes inventores llevaron a cabo diversas investigaciones para desarrollar una formulación farmacéutica administrada (o inyectada) en el tracto gastrointestinal a través de un endoscopio, protegiendo así las heridas, proporcionando hemostasia y/o evitando la adhesión en el tracto gastrointestinal. Sorprendentemente, recientemente se ha averiguado mediante la presente invención que las formulaciones que tienen una forma de polvo, que se obtuvieron mediante las combinaciones de un determinado polímero mucoadhesivo y un determinado agente higroscópico, tiene una apropiada movilidad (o fluidez), adecuada para pasar a través de un catéter y/o para su
30 aplicación en el cuerpo; forma un escudo a través de la inmediata formación de un gel en el sitio de aplicación, de forma que se minimiza cualquier pérdida de la misma; y proporciona una rápida protección de heridas, una hemostasia y una anti-adhesión (es decir, evita la adhesión).

35 Por lo tanto, es un objeto de la presente invención proporcionar una composición farmacéutica en forma de polvo para proporcionar protección de heridas, hemostasia o anti-adhesión en el tracto gastrointestinal, que comprende un determinado polímero mucoadhesivo y un determinado agente higroscópico.

Solución técnica

40 Según un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica en forma de un polvo adecuado para proporcionar protección de heridas, hemostasia o anti-adhesión en el tracto gastrointestinal, que consiste en:

- 45 (i) un polímero mucoadhesivo seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxietil celulosa, óxido de polietileno y una mezcla de los mismos; y
(ii) un agente higroscópico seleccionado entre el grupo que consiste en croscarmelosa de sodio, glicolato sódico de almidón, crospovidona y una mezcla de los mismos, en el que el polímero mucoadhesivo y el agente higroscópico están presentes en una cantidad que varía entre el 70 y el 95 % p/p y entre el 5 y el 30 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente, en el que la composición es para su administración
50 en el tracto gastrointestinal a través de un endoscopio y en el que la composición farmacéutica proporciona un escudo protector físico formado a través de la inmediata formación de un gel en el sitio de aplicación del tracto gastrointestinal.

55 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica según se establece en la reivindicación 2.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica según se establece en la reivindicación 11.

60 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica según se establece en la reivindicación 12.

65 La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender adicionalmente un material inorgánico seleccionado entre el grupo que consiste en cloruro de calcio, fosfato de calcio, hidróxido de calcio, silicato de calcio, sulfato de calcio y una mezcla de los mismos. Preferiblemente, la composición farmacéutica de la presente invención puede ser para su administración en el tracto gastrointestinal a través de un endoscopio.

El polímero mucoadhesivo y el agente higroscópico está presente en una cantidad que varía entre el 70 y el 95 % p/p y entre el 5 y el 30 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente.

5 En otra realización, el polímero mucoadhesivo, el agente higroscópico y el material inorgánico pueden estar presentes en una cantidad que varía entre el 40 y el 75 % p/p, entre el 5 y el 30 % p/p y entre el 10 y el 40 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente. Preferiblemente, el polímero mucoadhesivo, el agente higroscópico y el material inorgánico pueden estar presentes en una cantidad que varía entre el 50 y el 70 % p/p, entre el 10 y el 20 % p/p y entre el 10 y el 30 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente.

10 La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender adicionalmente un agente para la curación de heridas seleccionado entre el grupo que consiste en factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento de queratinocitos, factor de crecimiento básico de fibroblastos y una mezcla de los mismos; y preferentemente factor de crecimiento epidérmico.

15 **Efectos ventajosos**

La composición farmacéutica según la presente invención tiene la forma de un polvo, que puede evitar los problemas asociados con las formulaciones convencionales en forma de una solución, de un gel o de un sol-gel. Esto es, la composición farmacéutica en forma de polvo según la presente invención tiene una apropiada movilidad (o fluidez), adecuada para pasar a través de un catéter y/o para su aplicación en el cuerpo; forma un escudo a través de la inmediata formación de un gel en el sitio de aplicación, de forma que minimiza cualquier pérdida del mismo; y puede proporcionar una rápida protección de heridas, hemostasia y anti-adhesión (es decir, evita la adhesión). Especialmente, la composición de la presente invención que proporciona la inmediata formación de un gel muestra un potencial hemostático y antiadhesivo más excelente en comparación con una formulación hemostática convencional simplemente adsorbida en el sitio de una hemorragia.

25 **Descripción de los dibujos**

30 La FIG. 1 hasta la FIG. 22 muestran las fotografías obtenidas mediante la evaluación de los potenciales hemostáticos de las formulaciones en polvo según la presente invención.

La FIG. 23 muestra la acción hemostática de la formulación en polvo de la presente invención en modelos de conejo de hemorragia gástrica inducida por una mucosectomía.

35 La FIG. 24 muestra la acción hemostática de la formulación en polvo de la presente invención en los modelos de cerdo enano de hemorragia gástrica inducida por una mucosectomía endoscópica. A) hemorragia gástrica antes del tratamiento, B) imagen endoscópica de la úlcera gástrica 3 minutos después del tratamiento, y C) imagen endoscópica de la úlcera gástrica 6 minutos después del tratamiento.

La FIG. 25 muestra el área de la úlcera reducida (curación precipitada de la úlcera) después del tratamiento de la formulación en polvo de la presente invención (**** $p < 0,0001$).

40 La FIG. 26 muestra la observación histológica de la curación precipitada de la mucosa (espesor) después del tratamiento de la formulación en polvo de la presente invención en modelos de conejo de úlcera gástrica y de hemorragia (** $p < 0,01$).

45 La FIG. 27 muestra la observación endoscópica de la acción de recubrimiento y hemostática sobre la úlcera extendida de la formulación en polvo de la presente invención hasta las 72 horas de las hemorragias gástricas por una mucosectomía endoscópica en modelos de cerdo enano.

La FIG. 28 muestra las imágenes de la tinción con hematoxilina y eosina (H&E) del control (sin tratar) y de la mucosa tratada con la formulación en polvo de la presente invención en cerdo enano.

50 **Mejor modo**

La presente invención proporciona una composición farmacéutica en forma de polvo para proporcionar una protección de heridas, hemostasia o anti-adhesión en el tracto gastrointestinal, que comprende un polímero mucoadhesivo seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxietil celulosa, óxido de polietileno y una mezcla de los mismos; y un agente higroscópico seleccionado entre el grupo que consiste en croscarmelosa de sodio, glicolato sódico de almidón, crospovidona y una mezcla de los mismos.

Según se usa en el presente documento, el término "en forma de polvo" comprende cualquiera y todas las formas en polvo, que incluyen, por ejemplo, una forma de polvo farmacéutico y una forma granular farmacéutica (es decir, gránulos) obtenida a través de los métodos de formulación convencionales.

60 Los presentes inventores evaluaron diversos aspectos que incluyen la capacidad para formar un escudo protector mediante la gelificación inmediata, la fuerza del gel y el potencial hemostático, con respecto a diversas combinaciones de polímeros mucoadhesivos y agentes higroscópicos. Sorprendentemente, recientemente se ha averiguado mediante la presente invención que las formulaciones que tienen una forma de polvo, que se obtuvieron mediante las combinaciones de un determinado polímero mucoadhesivo y un determinado agente higroscópico, tiene una apropiada movilidad (o fluidez), adecuada para pasar a través de un catéter y/o para su aplicación en el

cuerpo; forma un escudo a través de la inmediata formación de un gel en el sitio de aplicación, de forma que se minimiza cualquier pérdida del mismo; y proporciona una rápida protección de heridas, hemostasia y anti-adhesión (es decir, evita la adhesión).

5 La composición farmacéutica de la presente invención puede ser para su administración en el tracto gastrointestinal a través de un endoscopio (es decir, un catéter endoscópico).

10 En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención puede comprender un polímero mucoadhesivo y un agente higroscópico, en la que el polímero mucoadhesivo y el agente higroscópico pueden estar presentes en una cantidad que varía entre el 70 y el 95 % p/p y entre el 5 y el 30 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente.

15 En otra realización, la composición farmacéutica de la presente invención puede comprender, además de un polímero mucoadhesivo y el agente higroscópico, un material inorgánico seleccionado entre el grupo que consiste en cloruro de calcio, fosfato de calcio, hidróxido de calcio, silicato de calcio, sulfato de calcio y una mezcla de los mismos. En esta realización, el polímero mucoadhesivo, el agente higroscópico y el material inorgánico pueden estar presentes en una cantidad que varía entre el 40 y el 75 % p/p, entre el 5 y el 30 % p/p y entre el 10 y el 40 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente. Preferiblemente, el polímero mucoadhesivo, el agente higroscópico y el material inorgánico pueden estar presentes en una cantidad que varía entre el 50 y el 70 % p/p, entre el 10 y el 20 % p/p y entre el 10 y el 30 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente.

20 La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender adicionalmente un agente para la curación de heridas para facilitar las heridas (por ejemplo, úlceras y/o lesiones) en el tracto gastrointestinal. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención puede comprender adicionalmente un agente para la curación de heridas seleccionado entre el grupo que consiste en factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento de queratinocitos, factor de crecimiento básico de fibroblastos y una mezcla de los mismos; y preferentemente factor de crecimiento epidérmico. El agente para la curación de heridas puede usarse en una cantidad terapéuticamente eficaz, que puede ser fácilmente determinada por una persona experta en la materia.

30 En una realización de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que consiste en hidroxietil celulosa, croscarmelosa de sodio y glicolato sódico de almidón. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención puede consistir en un 90 % p/p de hidroxietil celulosa, un 5 % p/p de croscarmelosa de sodio y un 5 % p/p de glicolato sódico de almidón. Y también, la composición farmacéutica de la presente invención puede consistir en un 85 % p/p de hidroxietil celulosa, un 7,5 % p/p de croscarmelosa de sodio y un 7,5 % p/p de glicolato sódico de almidón.

35 En otra realización de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que consiste en hidroxietil celulosa, croscarmelosa de sodio, glicolato sódico de almidón y factor de crecimiento epidérmico. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención puede consistir en un 89,99 % p/p de hidroxietil celulosa, un 5 % p/p de croscarmelosa de sodio, un 5 % p/p de glicolato sódico de almidón y un 0,01 % p/p de factor de crecimiento epidérmico.

40 En otra realización más de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que consiste en hidroxietil celulosa y glicolato sódico de almidón. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención puede consistir en un 90 % p/p de hidroxietil celulosa y un 10 % p/p de glicolato sódico de almidón.

45 En otra realización más de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que consiste en hidroxietil celulosa, óxido de polietileno, glicolato sódico de almidón y cloruro de calcio. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención puede consistir en un 30 % p/p de hidroxietil celulosa, un 20 % p/p de óxido de polietileno, un 20 % p/p de glicolato sódico de almidón y un 30 % p/p de cloruro de calcio.

50 La presente invención se describirá adicionalmente con detalle mediante referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos tienen únicamente fines ilustrativos y no pretenden limitar el ámbito de la presente invención.

55 **Ejemplo 1: preparación y evaluación de las formulaciones en polvo**

(1) Preparación de las formulaciones en polvo

60 Se llevaron a cabo pruebas preliminares de la adhesividad mucosa con diversos tipos de polímero mucoadhesivo. Y también se llevaron a cabo pruebas preliminares de la capacidad higroscópica con diversos agentes higroscópicos. Con respecto a los resultados de las pruebas preliminares, la hidroxietil celulosa (HEC), el alginato de sodio, el quitosano, la hidroxipropil celulosa (HPC) y el óxido de polietileno (PEO) mostraron una excelente adhesividad mucosa; y la croscarmelosa de sodio (Ac-di-sol), el glicolato sódico de almidón, el silicato de calcio y la crospovidona mostraron una higroscopividad muy excelente. A partir de los resultados de las pruebas preliminares, se prepararon las formulaciones en polvo mostradas en la siguiente Tabla 1 mediante la mezcla del (los) polímero(s) mucoadhesivo(s) y los agentes higroscópicos, opcionalmente junto con un material inorgánico hemostático conocido (cloruro de calcio). Las cantidades de la Tabla 1 representan el % p/p (porcentaje en peso) en la formulación.

<Tabla 1 >

Muestra	Polímero mucoadhesivo					Agente higroscópico			Material inorgánico
	HEC	alginato de sodio	quitosano	HPC	PEO	Accdisol	glicolato sódico de almidón	crospovidona	cloruro de calcio
S1	-	-	-	-	-	50	50	-	-
S2	90	-	-	-	-	5	5	-	-
S2-1	85	-	-	-	-	7,5	7,5	-	-
S2-2	80	-	-	-	-	10	10	-	-
S2-3	75	-	-	-	-	12,5	12,5	-	-
S2-4	70	-	-	-	-	15	15	-	-
S2-5	65	-	-	-	-	17,5	17,5	-	-
S2-6	60	-	-	-	-	20	20	-	-
S2-7	90	-	-	-	-	-	10	-	-
S2-8	85	-	-	-	-	-	15	-	-
S3	-	33,3	-	-	-	33,3	33,3	-	-
S4	-	-	33,3	-	-	33,3	33,3	-	-
S5	-	-	-	33,3	-	33,3	33,3	-	-
S6	30	-	-	-	20	-	20	-	30
S6-1	50	-	-	-	20	-	20	-	10
S6-2	30	-	-	-	45	-	20	-	5
S6-3	30	-	-	-	20	-	-	20	30
S7	40	-	-	-	20	-	10	-	30
S8	30	-	-	-	20	10	10	-	30
S8-1	45	-	-	-	20	10	10	-	15
S8-2	30	-	-	-	45	10	10	-	5
S9	50	-	-	-	20	-	-	-	30

(2) Evaluación de las propiedades

5

El tiempo hasta la formación del escudo protector, el potencial hemostático y la fuerza del gel de las muestras se presentan en las siguientes Tablas 2 y 3. En las Tablas 2 y 3, "O" se refiere a 'adecuado' y "X" se refiere a 'inadecuado'.

10

<Tabla 2>

Muestra	Tiempo hasta la formación del escudo protector	Fuerza del gel		Potencial hemostático	
		Fuerza máxima (N)	Resistencia a la tracción (MPa = kgf/cm ²)	Fotografía	O / X
S1	No hay formación del escudo protector	2,4	0,19 (X)	FIG. 1	X
S2	Formación inmediata del escudo protector	13,93	1,11 (O)	FIG. 2	O
S2-1	Formación inmediata del escudo protector	7,94	0,64 (O)	FIG. 3	O
S2-2	Formación inmediata del escudo protector	5,88	0,48 (O)	FIG. 4	O
S2-3	Formación inmediata del escudo protector	5,1	0,41 (O)	FIG. 5	O
S2-4	Formación inmediata del escudo protector	4,9	0,40 (O)	FIG. 6	O
S2-5	Formación inmediata del escudo protector	4,41	0,36 (Δ)	FIG. 7	Δ
S2-6	Formación inmediata del escudo protector	4,61	0,37 (Δ)	FIG. 8	X
S2-7	Formación inmediata del escudo protector	7,35	0,59 (O)	FIG. 9	O

<Tabla 3>

Muestra	Tiempo hasta la formación del escudo protector	Fuerza del gel		Potencial hemostático	
		Fuerza máxima (N)	Resistencia a la tracción (MPa = kgf/cm ²)	Fotografía	O / X
S2-8	Formación inmediata del escudo protector	5,10	0,41 (O)	FIG. 10	O
S3	600 segundos	0,9	0,07 (X)	FIG. 11	O
S4	No hay formación del escudo protector	0,6	0,05 (X)	FIG. 12	X
S5	No hay formación del escudo protector	3,1	0,24 (X)	FIG. 13	X
S6	60 segundos	12,41	0,99 (O)	FIG. 14	O

Muestra	Tiempo hasta la formación del escudo protector	Fuerza del gel		Potencial hemostático	
		Fuerza máxima (N)	Resistencia a la tracción (MPa = kgf/cm ²)	Fotografía	O / X
S6-1	5 segundos	5,98	0,49 (O)	FIG. 15	O
S6-2	180 segundos	1,96	0,16 (X)	FIG. 16	O
S6-3	150 segundos	10,01	0,78 (O)	FIG. 17	O
S7	70 segundos	6,52	0,52 (O)	FIG. 18	O
S8	120 segundos	6,67	0,53 (O)	FIG. 19	O
S8-1	10 segundos	5,68	0,46 (O)	FIG. 20	O
S8-2	120 segundos	1,57	0,13 (X)	FIG. 21	O
S9	45 segundos	1,39	0,11 (X)	FIG. 22	Δ

(2-1) Potencial hemostático

- 5 Cada muestra y una sangre se hicieron reaccionar en una proporción de 1:1 en una placa de Petri. Después de 1 minuto de la reacción, se pulverizó un exceso de agua (10 ml) sobre la misma para analizar si se mantenía la hemostasia. Las muestras S6 hasta S9, que contenían cloruro de calcio, mostraron una buena hemostasia. Y las muestras S2, S2-1 hasta S2-4, S2-7, S2-8 y S3, que no contenían cloruro de calcio, también mostraron hemostasia mediante un escudo protector físico formado a través de la inmediata formación de un gel. Sin embargo, las muestras S2-5 y S2-6 no mostraron hemostasia, lo que estaba causado por la ausencia de un agente hemostático químico. Y también, las muestras S1, S4 y S5 no mostraron hemostasia, lo que estaba causado por la ausencia de formación de un escudo protector físico.

(2-2) Fuerza del gel

- 15 Cada muestra se hizo reaccionar con agua en una proporción ponderal de 1:10 para obtener un gel. La fuerza del gel se determinó con un reómetro en las siguientes condiciones.

- Huso: nº 25
- Carga máxima: 20 N
- 20 - Distancia de tracción: 5 mm
- Velocidad de la cruceta: 120,0 mm/min

- 25 Con objeto de comparar los grados de resistencia frente a un estrés externo, se determinó la resistencia a la tracción de los geles resultantes. La resistencia a la tracción de cada muestra se calculó según la siguiente fórmula:
Resistencia a la tracción (MPa) = fuerza máxima (N) / área de la sección transversal de la muestra (A)

- 30 Como resultado de la misma, la muestra S2, que se había determinado que tenía el potencial de formación inmediata de gel más excelente, mostró la mayor resistencia a la tracción. Las muestras S2-1 hasta S2-4, S2-7, S2-8, S6, S6-1, S6-3, S7, S8 y S8-1 también mostraron unas resistencias a la tracción relativamente altas. La muestra S9, que consiste en el polímero mucoadhesivo y el material inorgánico hemostático, sin un agente higroscópico, mostró una profunda reducción en la resistencia a la tracción. Y también, entre las muestras que contienen tanto el polímero mucoadhesivo como el agente higroscópico, las muestras que contienen alginato de sodio o quitosano como polímero mucoadhesivo mostraron una fuerza del gel de prácticamente cero (0).

35 **Ejemplo 2: estudios *in vivo***

(1) Preparación de la formulación en polvo

- 40 Para los estudios *in vivo* usamos una formulación en polvo que consiste en un polímero mucoadhesivo (hidroxietil celulosa) y un agente higroscópico (crocarmelosa de sodio y glicolato sódico de almidón), junto con factor de crecimiento epidérmico (EGF) como agente para la curación de heridas. La formulación en polvo se preparó mediante la mezcla de hidroxietil celulosa (899,99 mg), crocarmelosa de sodio (50 mg), glicolato sódico de almidón (50 mg) y EGF (10 µg), sobre la base de 1 g de la formulación en polvo. La formulación en polvo se denomina "Formulación" en este Ejemplo 2.

45 (2) Métodos

<1> Animales

- 50 Para los experimentos se usaron seis cerdos enanos hembra (Micro-pig®; Medi Kinetics, Pyeongtaeck, Corea) con un peso de entre 35 y 40 kg, y 46 conejos macho (New Zealand White; Orient Bio, Seongnam, Corea) con un peso de entre 2 y 2,5 kg. Todos los procedimientos de cuidado y experimentación animal fueron llevados a cabo según las directrices del Experimental Animal Research Committee de la Inha University (Incheon, Corea).

<2> Modelos de animal de hemorragia gástrica

Los modelos de hemorragia gástrica se desarrollaron en conejos y en cerdos enanos en los estudios. En los modelos de hemorragia gástrica inducida por una mucosectomía en conejos se desarrollaron como sigue. Los conejos estuvieron en ayunas durante 24 horas antes de la operación, después fueron anestesiados con una inyección intramuscular de una mezcla de ketamina (4,2 mg/kg) y xilazina (11,7 mg/kg). Los conejos se dividieron aleatoriamente en un grupo sin tratar, un grupo a los que se les inyectó epinefrina y un grupo tratado con la Formulación. Se expuso el estómago y se abrió quirúrgicamente a lo largo de la curvatura mayor. Después se inyectaron 200 µl de solución salina isotónica en la capa submucosa del estómago. La mucosa gástrica hinchada se extirpó usando unas tijeras quirúrgicas. El área extirpada tenía aproximadamente 7-10 mm de diámetro. Después de cada tratamiento, se midió la duración del tiempo de hemorragia.

Los modelos de hemorragia gástrica inducida por una mucosectomía endoscópica en cerdos enanos se desarrollaron como sigue. En primer lugar, los cerdos enanos fueron privados de alimento durante 36 horas antes de la endoscopia. La anestesia se indujo a través de una inyección intramuscular de tiletamina/zolazepam (Zoletil®, Virbac Corea, Seúl, Corea) y xilazina (Narcocil-2®, Intervet Corea Ltd., Seúl, Corea) y se mantuvo con inhalación de isoflurano (Ifran®, Hana Pharm., Gyeonggi-do, Corea) durante la operación. El endoscopio (GIF-Q260; Olympus Medical Systems, Tokio, Japón) fue insertado con los animales en una posición de decúbito lateral. Las áreas objetivo se marcaron con un coagulador de plasma de argón (APC) y se inyectó solución salina isotónica en la capa submucosa. Se llevó a cabo una disección submucosa endoscópica para producir úlceras agudas con unos diámetros de 2,0-3,0 cm en la pared anterior y posterior del estómago.

<3> Acción hemostática y de curación de úlceras de la Formulación

Se evaluó la acción hemostática de la Formulación sobre los modelos de ratón con extirpación de la mucosa gástrica. Después de la extirpación laparoscópica de la mucosa gástrica, el área de la hemorragia se cubrió con la Formulación y se midió el tiempo medio de hemorragia y se comparó con otro tratamiento convencional, es decir, una inyección local de epinefrina. En los modelos porcinos, la extirpación de la mucosa se llevó a cabo a través de un endoscopio, y después el foco de la hemorragia se cubrió con la Formulación. La acción hemostática instantánea de la Formulación sobre la hemorragia aguda y la reaparición de la hemorragia después del tratamiento se observaron a través de un endoscopio durante 24 horas. Si la hemorragia continuaba después de tres minutos después de la primera aplicación, se llevó a cabo una segunda aplicación en la herida igual que la primera aplicación. Después del tratamiento, los animales se observaron durante 24 horas.

El efecto de curación de úlceras de la Formulación se observó principalmente a través de la evaluación de la histología. Un día después de los tratamientos, se recuperó el estómago y el área relacionada con la úlcera se calculó como el área de la úlcera dividida por el área de la úlcera inicial. Para los modelos porcinos, las úlceras fueron observadas a través de endoscopios. Tres días después de los tratamientos, los cerdos enanos fueron sacrificados y los tejidos fueron recogidos y teñidos para su evaluación histológica.

<4> Estudios histológicos

Los tejidos de la mucosa recuperados se fijaron en formalina al 4 %, se incluyeron en bloques de parafina y después se tiñeron con una tinción de hematoxilina y eosina (H&E) usando los procedimientos rutinarios. Las secciones teñidas con H&E fueron analizadas para evaluar las estructuras glandulares gástricas y para medir el espesor de la mucosa gástrica regenerada en el sitio de la úlcera con un microscopio.

<5> Análisis estadístico

Todos los datos son notificados como la media \pm EEM. Los resultados experimentales fueron analizados con una prueba de la T, un ANOVA monofactorial ordinal, seguido de la prueba de Tukey *post-hoc* o de un ANOVA bifactorial ordinal, seguido de unas comparaciones múltiples de Bonferroni usando el programa informático PRISM 5. Los valores de $P < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$ o $< 0,0001$ se consideraron estadísticamente significativos.

(3) Resultados

<1> Función hemostática de la Formulación

Se observó la función hemostática de la Formulación en las hemorragias inducidas por una mucosectomía gástrica en los conejos y en los cerdos enanos. En los modelos de conejo, el tiempo de hemorragia medio con cada tratamiento se muestra en la FIG. 23. Los no tratados y los tratados con una inyección local de epinefrina produjeron aproximadamente 548 segundos y aproximadamente 393 segundos de tiempo de hemorragia, respectivamente. Por el contrario, el tratamiento de la Formulación mostró un acortamiento significativo en el tiempo de hemorragia (104 segundos, $p < 0,001$). La Formulación también mostró una función hemostática inmediata, cubriendo el foco de la hemorragia. La hemorragia se detuvo en entre 12 minutos y 26 minutos, y estaba asegurada durante 72 horas después del primer tratamiento de la Formulación (FIG. 24). En este estudio no se requirió ningún tratamiento

secundario.

<2> Actividades de curación de úlceras de la Formulación

- 5 Después de dejar 1 día de curación, los conejos fueron sacrificados con una inyección intramuscular de ketamina/xilazina (10/3 mg/kg). Los tejidos gástricos fueron recogidos y procesados adicionalmente para la histología. La visualización de la dirección de la mucosa gástrica reveló que la curación de la úlcera estaba precipitada con el tratamiento con la Formulación (FIG. 25). El tamaño relativo de la úlcera estaba significativamente reducido en comparación con los grupos sin tratar (56,8 % frente al 26,0 %, $p < 0,00001$). La histología también apoyaba la precipitada recuperación con la Formulación de la estructura de la mucosa gástrica.
- 10 inducidas por una extirpación endoscópica de la mucosa en los cerdos enanos también mostraron una mejora en la curación de las úlceras y una estructura de la mucosa rehabilitada mediante el tratamiento de la Formulación (FIGs. 26 a 28). La Formulación forma un recubrimiento de hidrogel en la lesión de la úlcera (FIG. 28).

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica en forma de un polvo adecuado para proporcionar protección de heridas, hemostasia o antiadhesión en el tracto gastrointestinal, que consiste en:

- (i) un polímero mucoadhesivo seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxietil celulosa, óxido de polietileno y una mezcla de los mismos; y
 (ii) un agente higroscópico seleccionado entre el grupo que consiste en croscarmelosa de sodio, glicolato sódico de almidón, crospovidona y una mezcla de los mismos, en la que el polímero mucoadhesivo y el agente higroscópico están presentes en una cantidad que varía entre el 70 y el 95 % p/p y entre el 5 y el 30 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente, en la que la composición es para su administración en el tracto gastrointestinal a través de un endoscopio, y en la que la composición farmacéutica proporciona un escudo protector físico formado a través de la inmediata formación de un gel en el sitio de aplicación del tracto gastrointestinal.

2. Una composición farmacéutica en forma de un polvo adecuado para proporcionar protección de heridas, hemostasia o antiadhesión en el tracto gastrointestinal, que consiste en:

- (i) un polímero mucoadhesivo seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxietil celulosa, óxido de polietileno y una mezcla de los mismos;
 (ii) un agente higroscópico seleccionado entre el grupo que consiste en croscarmelosa de sodio, glicolato sódico de almidón, crospovidona y una mezcla de los mismos; y
 (iii) un material inorgánico seleccionado entre el grupo que consiste en cloruro de calcio, fosfato de calcio, hidróxido de calcio, silicato de calcio, sulfato de calcio y una mezcla de los mismos, en la que el polímero mucoadhesivo, el agente higroscópico y el material inorgánico están presentes en una cantidad que varía entre el 40 y el 75 % p/p, entre el 5 y el 30 % p/p y entre el 10 y el 40 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente, en la que la composición es para su administración en el tracto gastrointestinal a través de un endoscopio, y en la que la composición farmacéutica proporciona un escudo protector físico formado a través de la inmediata formación de un gel en el sitio de aplicación del tracto gastrointestinal.

3. La composición farmacéutica según la reivindicación 2, en la que el polímero mucoadhesivo, el agente higroscópico y el material inorgánico están presentes en una cantidad que varía entre el 50 y el 70 % p/p, entre el 10 y el 20 % p/p y entre el 10 y el 30 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente.

4. La composición farmacéutica según la reivindicación 1, que consiste en hidroxietil celulosa, croscarmelosa de sodio y glicolato sódico de almidón.

5. La composición farmacéutica según la reivindicación 4, que consiste en un 90 % p/p de hidroxietil celulosa, un 5 % p/p de croscarmelosa de sodio y un 5 % p/p de glicolato sódico de almidón.

6. La composición farmacéutica según la reivindicación 4, que consiste en un 85 % p/p de hidroxietil celulosa, un 7,5 % p/p de croscarmelosa de sodio y un 7,5 % p/p de glicolato sódico de almidón.

7. La composición farmacéutica según la reivindicación 1, que consiste en hidroxietil celulosa y glicolato sódico de almidón.

8. La composición farmacéutica según la reivindicación 7, que consiste en un 90 % p/p de hidroxietil celulosa y un 10 % p/p de glicolato sódico de almidón.

9. La composición farmacéutica según la reivindicación 2, que consiste en hidroxietil celulosa, óxido de polietileno, glicolato sódico de almidón y cloruro de calcio.

10. La composición farmacéutica según la reivindicación 9, que consiste en un 30 % p/p de hidroxietil celulosa, un 20 % p/p de óxido de polietileno, un 20 % p/p de glicolato sódico de almidón y un 30 % p/p de cloruro de calcio.

11. Una composición farmacéutica en forma de un polvo adecuado para proporcionar protección de heridas, hemostasia o antiadhesión en el tracto gastrointestinal, que consiste en:

- (i) un polímero mucoadhesivo seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxietil celulosa, óxido de polietileno y una mezcla de los mismos;
 (ii) un agente higroscópico seleccionado entre el grupo que consiste en croscarmelosa de sodio, glicolato sódico de almidón, crospovidona y una mezcla de los mismos, y
 (iii) un agente para la curación de heridas seleccionado entre el grupo que consiste en factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento de queratinocitos, factor de crecimiento básico de fibroblastos y una mezcla de los mismos; en la que el polímero mucoadhesivo y el agente higroscópico están presentes en una cantidad que varía entre el 70 y el 95 % p/p y entre el 5 y el 30 % p/p, basado en el peso total de la composición,

respectivamente, en la que la composición es para su administración en el tracto gastrointestinal a través de un endoscopio, y en la que la composición farmacéutica proporciona un escudo protector físico formado a través de la inmediata formación de un gel en el sitio de aplicación del tracto gastrointestinal.

5 12. Una composición farmacéutica en forma de un polvo adecuado para proporcionar protección de heridas, hemostasia o antiadhesión en el tracto gastrointestinal, que consiste en:

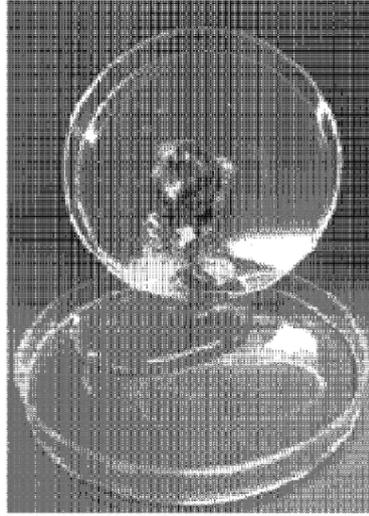
- (i) un polímero mucoadhesivo seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxietil celulosa, óxido de polietileno y una mezcla de los mismos;
- 10 (ii) un agente higroscópico seleccionado entre el grupo que consiste en croscarmelosa de sodio, glicolato sódico de almidón, crospovidona y una mezcla de los mismos;
- (iii) un material inorgánico seleccionado entre el grupo que consiste en cloruro de calcio, fosfato de calcio, hidróxido de calcio, silicato de calcio, sulfato de calcio y una mezcla de los mismos; y
- 15 (iv) un agente para la curación de heridas seleccionado entre el grupo que consiste en factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento de queratinocitos, factor de crecimiento básico de fibroblastos y una mezcla de los mismos; en la que el polímero mucoadhesivo, el agente higroscópico y el material inorgánico están presentes en una cantidad que varía entre el 40 y el 75 % p/p, entre el 5 y el 30 % p/p y entre el 10 y el 40 % p/p, basado en el peso total de la composición, respectivamente,
- 20 en la que la composición es para su administración en el tracto gastrointestinal a través de un endoscopio, y en la que la composición farmacéutica proporciona un escudo protector físico formado a través de la inmediata formación de un gel en el sitio de aplicación del tracto gastrointestinal.

13. La composición farmacéutica según la reivindicación 11 o 12, en la que el agente para la curación de heridas es el factor de crecimiento epidérmico.

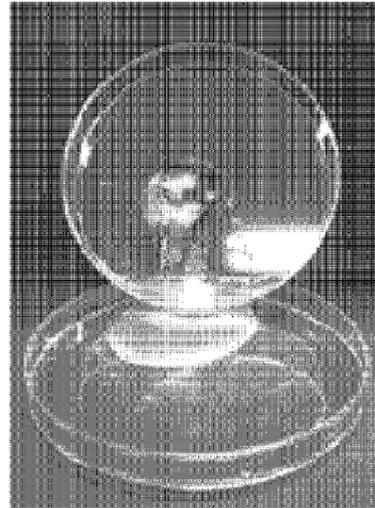
25 14. La composición farmacéutica según la reivindicación 13, que consiste en hidroxietil celulosa, croscarmelosa de sodio, glicolato sódico de almidón y factor de crecimiento epidérmico.

30 15. La composición farmacéutica según la reivindicación 14, que consiste en un 89,99 % p/p de hidroxietil celulosa, un 5 % p/p de croscarmelosa de sodio, un 5 % p/p de glicolato sódico de almidón y un 0,01 % p/p de factor de crecimiento epidérmico.

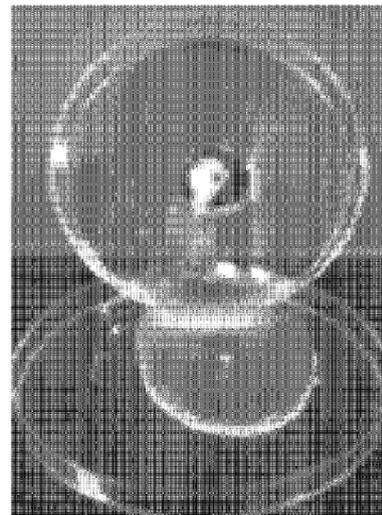
[Fig. 1]



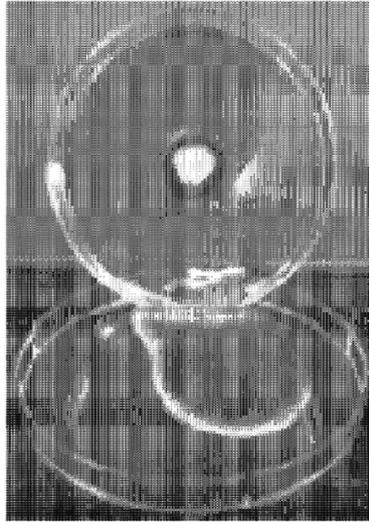
[Fig. 2]



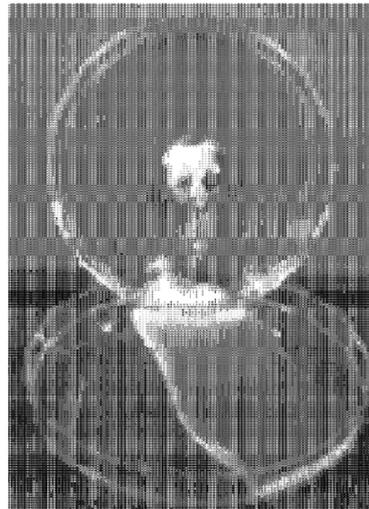
[Fig. 3]



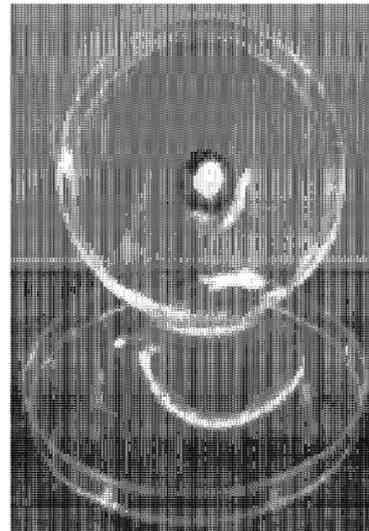
[Fig. 4]



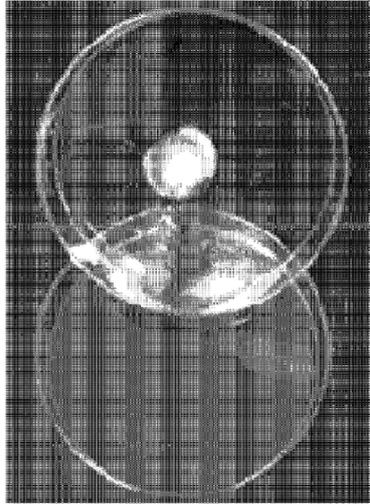
[Fig. 5]



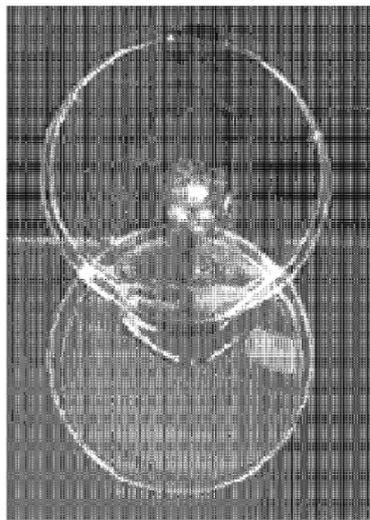
[Fig. 6]



[Fig. 7]



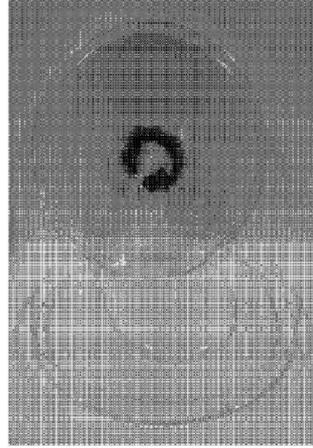
[Fig. 8]



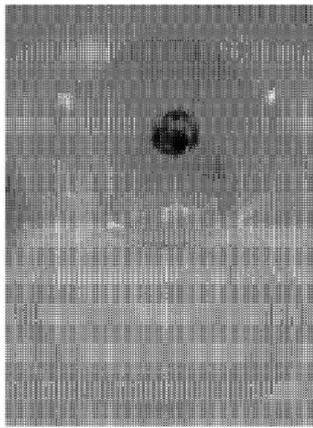
[Fig. 9]



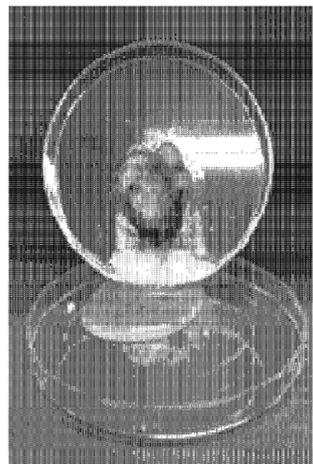
[Fig. 10]



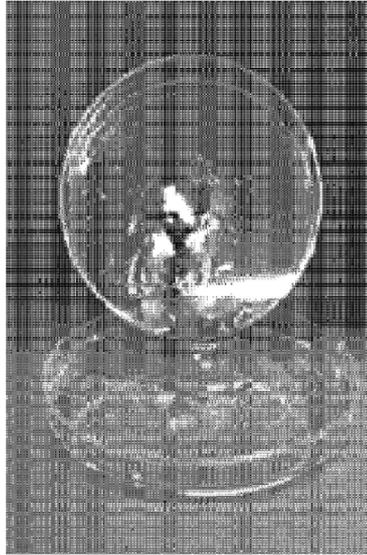
[Fig. 11]



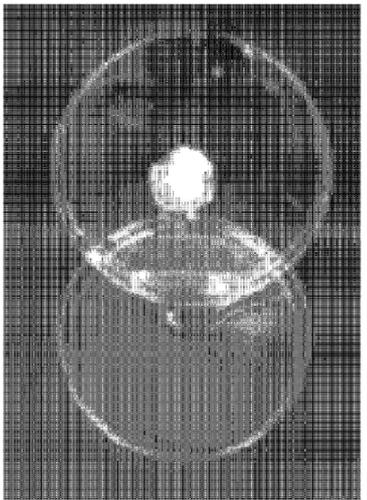
[Fig. 12]



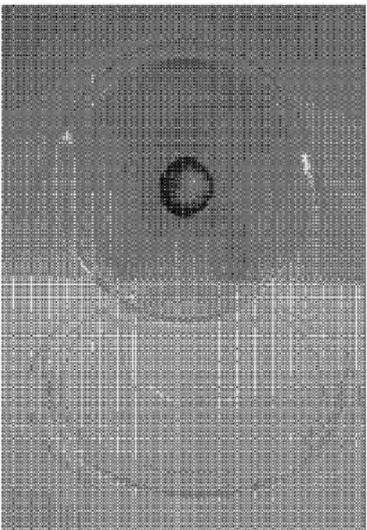
[Fig. 13]



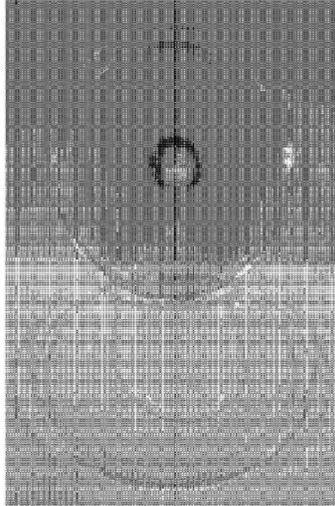
[Fig. 14]



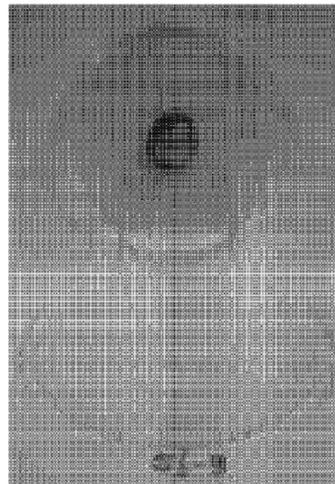
[Fig. 15]



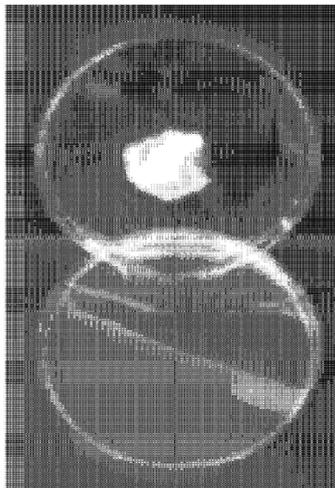
[Fig. 16]



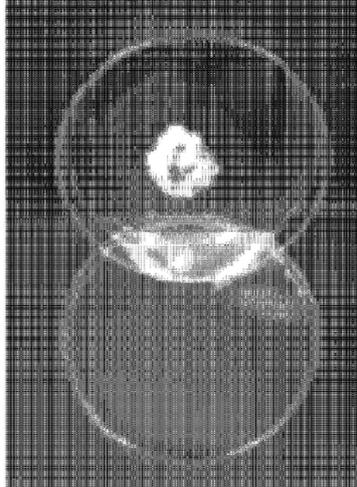
[Fig. 17]



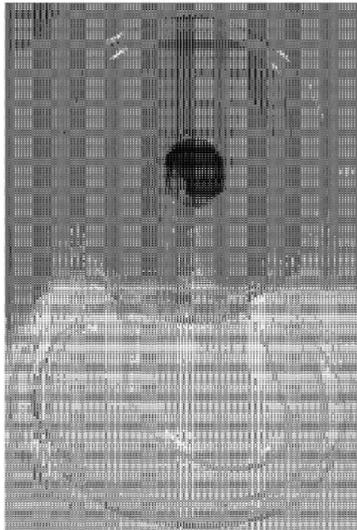
[Fig. 18]



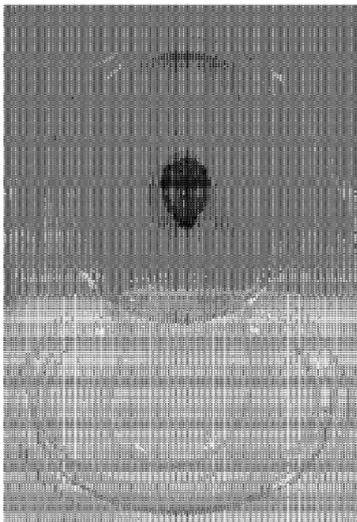
[Fig. 19]



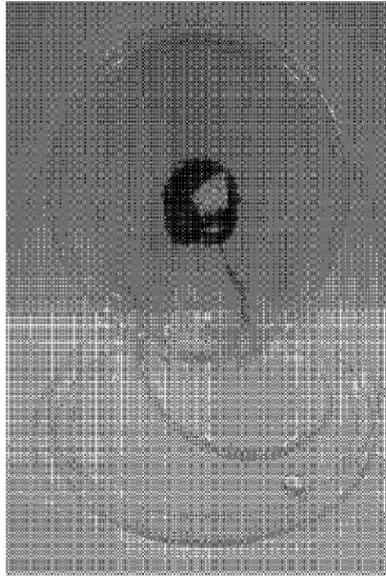
[Fig. 20]



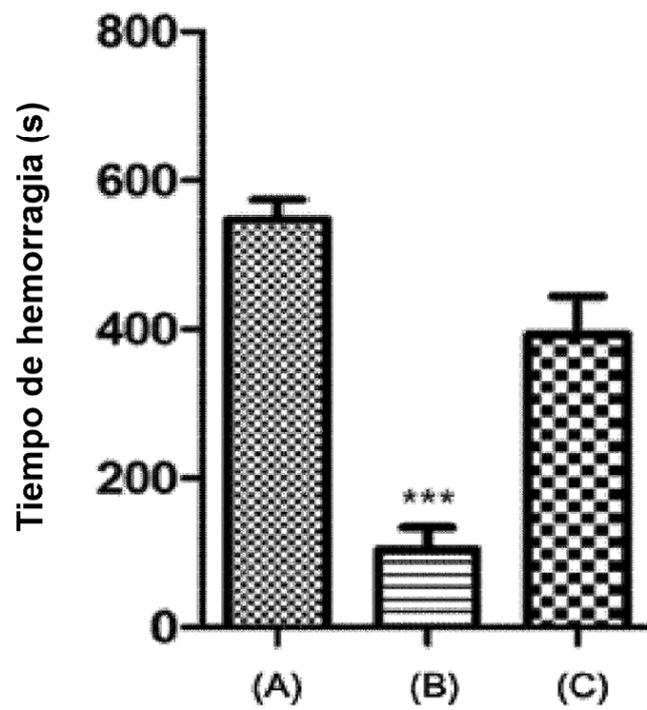
[Fig. 21]



[Fig. 22]



[Fig. 23]

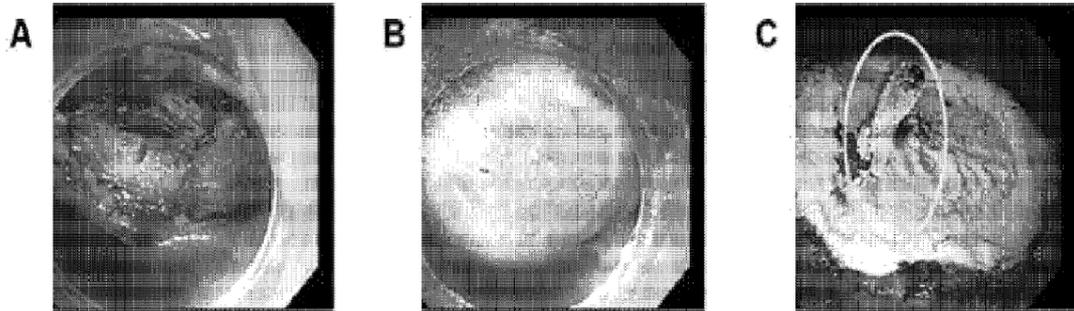


A: Grupo no tratado

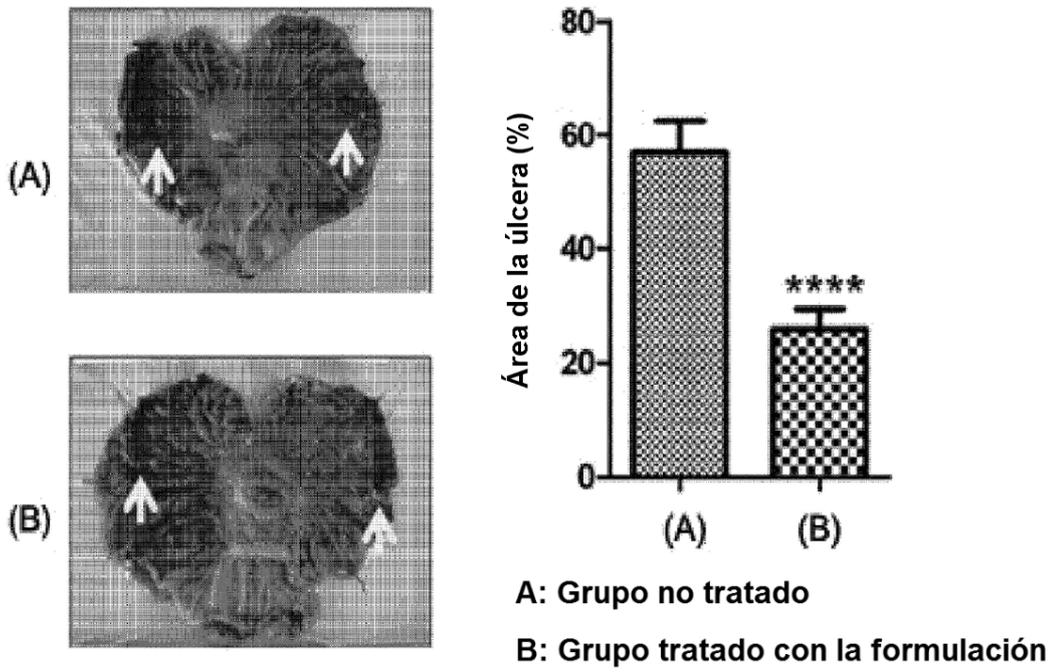
B: Grupo tratado con la formulación

C: Grupo tratado con epinefrina

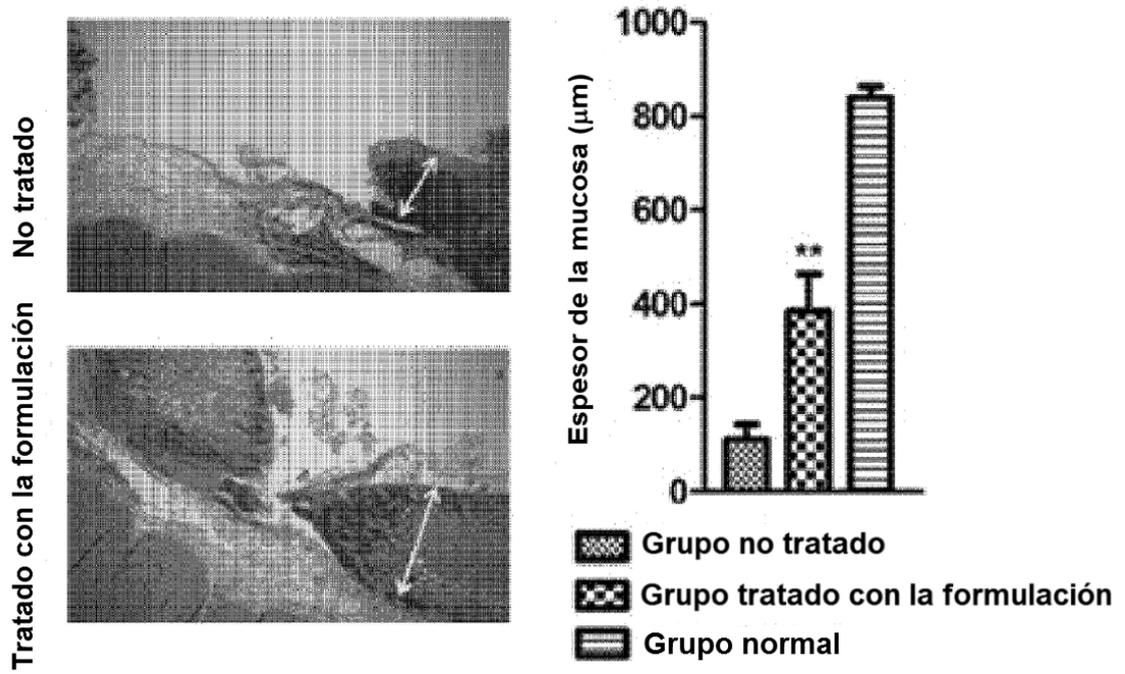
[Fig. 24]



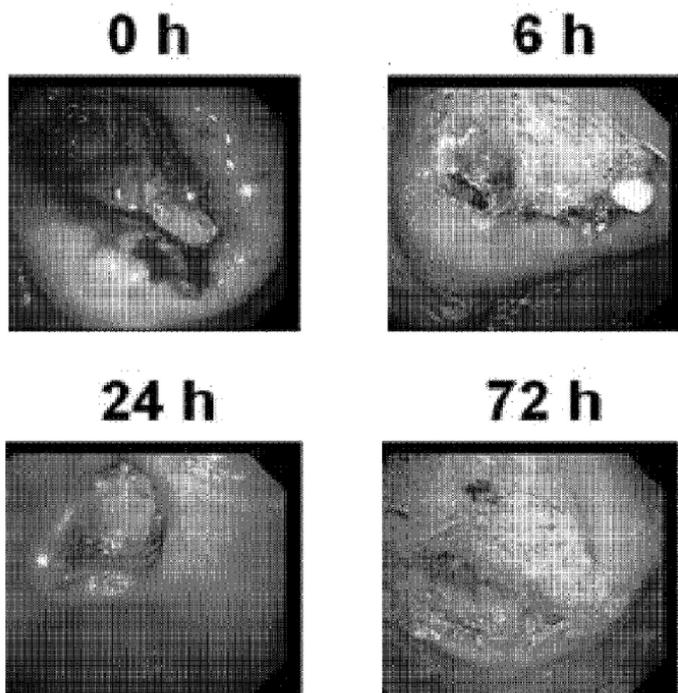
[Fig. 25]



[Fig. 26]



[Fig. 27]



[Fig. 28]

Grupo no tratado

Grupo tratado con la formulación

