

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 251**

51 Int. Cl.:

**A61K 36/185** (2006.01)  
**A61K 36/328** (2006.01)  
**A61K 36/28** (2006.01)  
**A61K 36/324** (2006.01)  
**A61K 36/886** (2006.01)  
**A61K 36/53** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.02.2013 PCT/IB2013/051065**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.08.2013 WO13118099**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.02.2013 E 13713521 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.05.2019 EP 2812013**

54 Título: **Formulación para el tratamiento del SII**

30 Prioridad:

**08.02.2012 IT RM20120043**

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

**05.12.2019**

73 Titular/es:

**ABOCA S.P.A. SOCIETÀ AGRICOLA (100.0%)  
Frazione Aboca 20  
52037 Sansepolcro (AR), IT**

72 Inventor/es:

**MERCATI, VALENTINO;  
MAIDECCHI, ANNA y  
CAPONE, LAURA**

74 Agente/Representante:

**DURAN-CORRETJER, S.L.P**

ES 2 734 251 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

Formulación para el tratamiento del SII

- 5 La presente invención se refiere a una composición para su utilización en el tratamiento o la prevención del síndrome del intestino irritable.

## TÉCNICA ANTERIOR

- 10 El síndrome del intestino irritable (SII) es un ejemplo típico de trastorno crónico funcional que afecta al aparato digestivo y es bien conocido en todo el mundo, perteneciente a la clase de trastornos funcionales que afectan al aparato digestivo, es decir, sin alteraciones patológicas estructurales y/o anomalías bioquímicas. La fisiopatología y la etiología de este trastorno son desconocidas y, por lo tanto, su diagnóstico no se puede realizar mediante las pruebas médicas habituales (alteraciones anatómicas o marcadores bioquímicos), sino mediante la evaluación de los síntomas clínicos, entre los que se incluyen la aparición de dolor o molestias abdominales recurrentes y cambios en las funciones intestinales, tales como la función irregular del intestino, estreñimiento y/o diarrea y/o anomalía en la consistencia de las heces.

- 20 Los datos epidemiológicos recientes indican que el SII puede darse entre la población adulta occidental con una incidencia del 20 %, mientras que en Italia la incidencia es mucho mayor, igual al 30 %. Según las estadísticas médicas oficiales, la proporción mujer/hombre entre las personas que padecen de SII varía de 2:1 a 4:1. Por lo tanto, las mujeres son, aproximadamente, 1,5 veces más propensas a padecer de SII que los hombres, son predominantemente jóvenes y se ven afectadas por la forma en la que predomina el estreñimiento, mientras que los subtipos de SII en los que predomina la diarrea y el estreñimiento alternantes son generalmente más comunes en comparación con la forma en la que predomina el estreñimiento. El síndrome también se diagnostica principalmente en clases socioeconómicas más bajas y en individuos menores de 50 años.

- 25 El SII es un trastorno generalmente persistente que puede convertirse en recurrente o crónico; por lo tanto, es necesario recurrir con frecuencia a un médico, ya sea un médico general o un especialista, y la cantidad de trabajo generado por los pacientes que sufren de SII representa, aproximadamente, un tercio de todas las visitas a un gastroenterólogo.

- 30 El SII puede influir significativamente en el estilo de vida de quienes lo padecen, ya que consideran que el problema es molesto, frecuentemente doloroso y constrictivo. El paciente experimenta sentimientos de vergüenza e inhibición; de hecho, esta dolencia no solo afecta a las funciones físicas, sino también a las funciones emotivas: los pacientes se sienten restringidos y con dolor emocional. Sufrir de SII significa vivir con dolor y distensión abdominal variable en frecuencia e intensidad, pero más frecuentemente de alta intensidad. El SII es, por lo tanto, una enfermedad que influye negativamente en las actividades diarias y empeora considerablemente la calidad de vida, con una productividad reducida en el trabajo, exámenes médicos repetidos, ausencias del colegio o el trabajo y costes subsiguientes de salud en términos de asistencia sanitaria y productividad.

- 35 El síndrome del intestino irritable es una dolencia heterogénea para la cual no es posible identificar un factor etiológico bien definido, ya que está causado por una combinación de causas y efectos. El SII presenta un complejo marco multifactorial en el que el inicio de los síntomas también puede relacionarse con la hipersensibilidad visceral y la alteración de la motilidad gastrointestinal, así como con factores genéticos, psicológicos, ambientales y conductuales, de modo que esta dolencia también se define como una disfunción "biopsicosocial".

- 40 Parece que está causado por una combinación de alteraciones en las funciones motoras y la sensibilidad visceral, frecuentemente asociada con trastornos afectivos. Los cambios en el intestino, que pueden presentarse en forma de estreñimiento, diarrea o ambos en diferentes momentos, han llevado a una interpretación convencional del SII como un "trastorno de la motilidad", pero los cambios motores no son capaces de explicar completamente la situación clínica. Recientemente, se ha puesto mayor énfasis en la patogenia del dolor notificado por estos pacientes y existen evidencias significativas sobre el aumento de la sensibilidad visceral a los estímulos, tanto dañinos como fisiológicos, en individuos afectados por este síndrome. Una hipótesis ampliamente aceptada es que, en individuos genéticamente predispuestos, el daño visceral transitorio conduce a una sensibilización prolongada del circuito neural del dolor a pesar de la resolución completa del evento patológico inicial.

- 45 Entre los factores ambientales/de comportamiento, parece que el estrés y la dieta son las principales causas del SII, pero con respecto a los hábitos dietéticos, la relación entre la dieta y el SII es compleja. En ciertos casos, se ha establecido un vínculo entre las comidas y la aparición de dolor/distensión abdominal, y en algunos casos la aparición de los síntomas está relacionada con el consumo de alimentos específicos, aunque es necesario identificar una conexión clara y definida con una categoría particular de alimentos antes de decidir una dieta restringida. Además, una proporción significativa de personas que son tratadas simplemente mediante restricciones dietéticas o suplementos de fibra continúan quejándose de los síntomas y están sujetas a diversos enfoques terapéuticos en marcha.

5 Para concluir, la fisiopatología del SII todavía es objeto de un intenso debate. Las hipótesis actuales son diversas e incluyen la dismotilidad del tracto gastrointestinal, un cambio en la sensibilidad visceral o central, funciones autónomas desordenadas, liberación de mediadores de la inflamación y trastornos psicosociales; por lo tanto, se puede deducir que estos diversos mecanismos no pueden ser controlados suficientemente por un solo tratamiento farmacológico.

10 Los tratamientos del SII son bastante diversos y van desde la educación conductual hasta la utilización de nuevos moduladores selectivos del receptor de serotonina; sin embargo, no hay un fármaco de referencia para la terapia eficaz del SII.

15 Dado que el SII no presenta características anatómicas específicas y no hay marcadores biológicos de referencia (como los hay para la enfermedad de Crohn o para la enfermedad celíaca), el diagnóstico del SII se basa en una evaluación cuidadosa de los síntomas clínicos, entre los que se incluyen el dolor o las molestias abdominales crónicas y cambios en las funciones intestinales (estreñimiento, diarrea y/o anomalía en la consistencia de las heces, aunque pueden coexistir con otros síntomas que afectan a todo el tracto gastrointestinal) y en la exclusión de otras patologías.

20 La presencia simultánea de diversos síntomas abdominales, que incluían síntomas conflictivos, ya se notó hace más de un siglo cuando, en 1849, Cumming escribió "el intestino puede estar estreñado o con diarrea en la misma persona y confieso no saber cómo explicar la causa de estos síntomas conflictivos". La primera descripción del síndrome del intestino irritable se atribuye a Powell en 1818, pero hasta hace poco se identificaba como una patología que solo podía diagnosticarse "por exclusión" de otras patologías y no por criterios o parámetros clínicos específicos.

25 Las primeras evaluaciones clínicas de diagnóstico del SII se iniciaron mediante los estudios realizados en la década de 1970 en el Reino Unido, lo que condujo en 1978 al desarrollo de los criterios de Manning, en los que se utiliza un cuestionario que consta de 15 preguntas y está dirigido a diferenciar, sobre la base de los síntomas, el SII de disfunciones que podrían interpretarse como trastornos abdominales orgánicos.

30 Los grupos internacionales de expertos, reunidos para discutir el tema de los trastornos funcionales gastrointestinales, han desarrollado criterios de diagnóstico conocidos con el nombre de los criterios de Roma I, II y III y han definido el SII como "un grupo de trastornos funcionales intestinales en los cuales el dolor se asocia con la defecación o el cambio en los hábitos intestinales o la percepción subjetiva de la defecación alterada". El SII se define indistintamente como un síndrome o como una disfunción.

35 La posibilidad actual de hacer un diagnóstico "positivo" de SII basado en criterios de evaluación definidos y específicos de los síntomas y también sobre la exclusión de otras posibles patologías es de fundamental importancia, contribuyendo a una correcta clasificación de los pacientes y a un apoyo terapéutico adecuado, así como a una mayor conciencia de SII, incluyendo la epidemiología y los factores de riesgo.

40 La tipología y la frecuencia de los síntomas que caracterizan a los pacientes afectados por el SII que responden a las características enumeradas en el cuadro de a continuación se han definido mediante los criterios de Roma III.

### **CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO DE ROMA III PARA EL SII**

45 Dolor o molestias abdominales\* recurrentes durante, como mínimo, 3 días del mes en los últimos 3 meses combinado con dos o más de los siguientes síntomas:

1. aliviado con la defecación
2. inicio asociado con un cambio en la frecuencia de heces
3. inicio asociado con un cambio en la consistencia de las heces

50 \*las molestias sugieren una sensación molesta que no se describe como dolor. En casos de estudios fisiopatológicos y ensayos clínicos, una frecuencia de dolor/malestar de, como mínimo, 2 días por semana durante la selección para evaluar la idoneidad de los sujetos.

55 Además de estar combinado con cambios en el intestino, el dolor/molestias abdominales también pueden incluir otros síntomas, tales como flatulencia o calambres, que son comunes en otros trastornos del aparato digestivo, tales como la dispepsia.

60 El predominio de las formas con diarrea o estreñimiento ha conducido a la división del síndrome del intestino irritable en dos subgrupos principales: SII-D (diarrea) e SII-E (estreñimiento), mientras que la forma mixta se nombra utilizando el acrónimo SII-M.

65 También existe la posibilidad de que el síndrome del intestino irritable se manifieste después de una infección gastrointestinal y, en este caso, se clasifique como PI-SII (post-infeccioso) y, en comparación con las otras formas, se pueda presentar mediante un cambio en la función inmunitaria del intestino (infiltración de linfocitos y ON sintasas

en las heces).

El enfoque farmacológico actual para el síndrome del intestino irritable refleja su naturaleza multifactorial. El tratamiento es predominantemente sintomático y específico.

5 Antes del tratamiento farmacológico, a los pacientes con síntomas leves se les aconseja inicialmente lo siguiente: cambios en el estilo de vida (el aumento de la actividad física y el tiempo adecuado para la defecación son útiles, en particular para los pacientes estreñidos), la restricción dietética (consumo excesivo de caféina, carbohidratos no digeribles y el aumento del consumo de lactosa promueve el desarrollo de SII con diarrea) y la integración de fibra, es decir, fibra beneficiosa, particularmente fibra soluble, para todos los tipos de SII. Estas medidas solo traen beneficios marginales o no tienen éxito en muchos pacientes, que continúan quejándose de los síntomas y que posteriormente son sometidos a diferentes alternativas terapéuticas/farmacológicas.

15 Los pacientes que sufren episodios de dolor abdominal irregular de intensidad moderada frecuentemente se tratan con fármacos que reducen la contractilidad de la musculatura intestinal lisa, fármacos espasmolíticos o fármacos antiespásticos. Estos fármacos tienen el objetivo de reducir la motilidad gastrointestinal para reducir el dolor abdominal y los calambres en todos los tipos de SII, pero requieren un tratamiento simultáneo con procinéticos o laxantes para aumentar la motilidad intestinal en casos de estreñimiento. La categoría de anticolinérgicos incluye antagonistas del canal de Ca<sup>2+</sup> y antagonistas de los receptores opioides periféricos. Estos se suelen administrar según sea necesario, por lo tanto, con el inicio del dolor, o antes de las comidas para prevenir el dolor y la necesidad de defecar, la cual es típica en algunos pacientes con SII. La mayoría de estos agentes se utilizan durante muchos años, pero su utilización ha sido objeto de críticas y sus efectos secundarios frecuentemente son molestos. Los antiespasmódicos anticolinérgicos producen efectos adversos bien conocidos, y los pacientes deben ser claramente informados de los siguientes: boca seca, visión borrosa y mareos.

25 En los últimos años, el tratamiento se ha centrado en el tratamiento farmacológico de la sensibilidad visceral, y aunque se desconocen los principios farmacológicos de esta hiperalgesia, se ha sugerido la participación de la serotonina y su papel en la sensibilización de las neuronas nociceptivas en condiciones inflamatorias. Esto ha llevado al desarrollo de moduladores selectivos de subtipos de receptores de serotonina, tales como tegaserod, agonista parcial de 5-HT<sub>4</sub> y alosetrón, que es un agonista de los receptores de 5-HT<sub>3</sub>.

35 El tegaserod, el único procinético que ha sido autorizado por la FDA para el tratamiento del SII con estreñimiento, fue retirado del mercado en 2007 debido a los riesgos de acontecimientos cardiovasculares graves (ictus, infarto de miocardio, angina de pecho), para su utilización a corto plazo. Entre otros procinéticos utilizados comúnmente en la práctica clínica se incluyen domperidona, metoclopramida, cisaprida y renzaprida, aunque estas no tienen indicaciones específicas para el síndrome del intestino irritable.

40 El alosetron, el primer fármaco que ha sido aprobado para el síndrome del intestino irritable con diarrea en las mujeres reduce la contractilidad gastrointestinal, reduciendo tránsito cólico y el aumento de la absorción de líquidos. Los fármacos en esta categoría generalmente producen efectos conflictivos en comparación con los agonistas de 5-HT<sub>4</sub> (tegaserod). El alosetron fue retirado del mercado en los Estados Unidos poco después de su introducción comercial debido a un aumento en la incidencia de casos de colitis isquémica (3 de cada 1.000 pacientes), lo que dio como resultado la necesidad de intervención quirúrgica e incluso causó la muerte en un número limitado de los casos. Sin embargo, la FDA aprobó recientemente la utilización de este fármaco, con distribución controlada, para el síndrome del intestino irritable con diarrea. Mientras tanto, los fármacos inhibidores selectivos de 5-HT<sub>3</sub> convencionales, tales como el ondansetron, granisetron, cinansetron, se prescriben con frecuencia para el SII con diarrea, pero también para muchos otros trastornos diferentes, tales como náuseas y vómitos. El alosetron es preferente por la especificidad hacia el síndrome del intestino irritable con diarrea y por el menor número de efectos secundarios, aunque su utilización es limitada, sin embargo, debido a los efectos secundarios graves que podrían causar colitis isquémica, tal como ya se ha mencionado, entre otros.

55 Los agonistas de los receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos, tales como la clonidina, también son capaces de aumentar la elasticidad visceral y el dolor asociado con la distensión, mientras que el octreótido, un análogo de somatostatina, ejerce efectos anti-inhibidores selectivos sobre los nervios periféricos aferentes que, desde el intestino, se proyectan sobre la columna vertebral y reduce la percepción de distensión rectal en pacientes afectados por SII.

60 Entre otros tratamientos se incluyen fármacos psicofarmacológicos, en particular antidepresivos: inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) y tricíclicos (ATC), en dosis efectivas que son significativamente menores en comparación con las utilizadas para el tratamiento de la depresión.

Los ISRS tienen menos efectos secundarios en comparación con los ATC y se utilizan en particular en pacientes que se quejan de cambios intestinales con estreñimiento, ya que estos fármacos pueden aumentar el peristaltismo intestinal; sin embargo, estos fármacos no reducen la hinchazón abdominal o visceral.

65 Entre otros tratamientos se incluyen benzodiazepinas (BDZ), que se dirigen al componente ansiogénico etiológico y tienen un efecto cuestionable en el tratamiento del SII.

Para el componente diarreico, se utiliza frecuentemente la loperamida, pero durante períodos cortos, debido al riesgo de desarrollar a largo plazo una tolerancia al efecto antidiarreico. Otro opiáceo que se prescribe es la codeína, pero con riesgos considerables de sedación y dependencia.

5 La evaluación de los probióticos para el tratamiento del SII se ha resumido en estudios de metaanálisis, que han demostrado una mejora moderada de la hinchazón, el dolor abdominal y la dificultad del movimiento intestinal. No se ha encontrado que una cepa probiótica específica sea superior a las otras, y con frecuencia se utilizan combinaciones de bacterias; por lo tanto, muchas preguntas permanecen abiertas, como qué tipo de probiótico debe administrarse, en qué cantidad y en qué momento.

10 Recientemente, se ha utilizado la psicoterapia (terapia cognitiva conductual, psicoterapia dinámica, hipnoterapia, técnicas de relajación) con frecuencia entre las terapias para tratar el SII, pero solo para las formas más graves, asociadas con trastornos psicológicos o estados depresivos o ansiosos, aunque los efectos de esta terapia son solo parciales.

15 En la actualidad, se utilizan frecuentemente fármacos sintomáticos para ayudar a los afectados por el SII. Entre dichos fármacos sintomáticos se incluyen, en particular, espasmolíticos, antidiarreicos y laxantes.

20 También hay fármacos que tienen un efecto farmacológico sobre la hipersensibilidad visceral, aunque no existe ningún coadyuvante específico que actúe por medio de mecanismos de protección no farmacológicos.

25 Por lo tanto, es evidente que el tratamiento del SII aún carece de una terapia útil y específica con pocos efectos secundarios proporcionales al bajo riesgo del síndrome, pero con una mayor eficacia proporcional a la alteración grave que el SII causa a la calidad de vida de los afectados por éste.

#### CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

30 La presente descripción da a conocer una composición para el tratamiento y/o la prevención del síndrome del intestino irritable (también denominado síndrome del colon irritable) que comprende resinas y/o extractos de las mismas, polisacáridos y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos, antioxidantes y/o extractos de plantas que comprenden antioxidantes de origen vegetal, un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención del SII, y un procedimiento para la preparación de dicha composición.

35 Dadas las controversias con respecto a las causas del SII y las terapias a implementar para tratar el trastorno, el desarrollo de nuevas composiciones capaces de prevenir o curar el trastorno es bastante complejo, dado que la técnica anterior no contiene ninguna enseñanza de consenso.

40 Los autores de la presente invención han seleccionado componentes de origen vegetal/natural y han creado una mezcla cuyo efecto se ha probado en ensayos *in vitro* y también con pacientes afectados por SII. La composición producida por los inventores de la presente invención y que forma la base de la presente descripción ha proporcionado resultados efectivos comparables incluso a los que se pueden obtener con fármacos que son actualmente preferentes, sin producir efectos indeseables.

45 Sin embargo, la composición también se puede utilizar con fines preventivos, por ejemplo, en aquellos pacientes que ya han padecido el SII y que están en riesgo de volver a desarrollar el trastorno debido a razones psicológicas, habituales, etc.

50 La composición de la presente invención, por lo tanto, comprende un conjunto de componentes, tal como se define en las reivindicaciones, que son efectivos para controlar los síntomas del SII, tales como la hiperalgesia intestinal y las molestias e irregularidad intestinales, sin ser una composición específicamente antiespástica, antidiarreica o laxante.

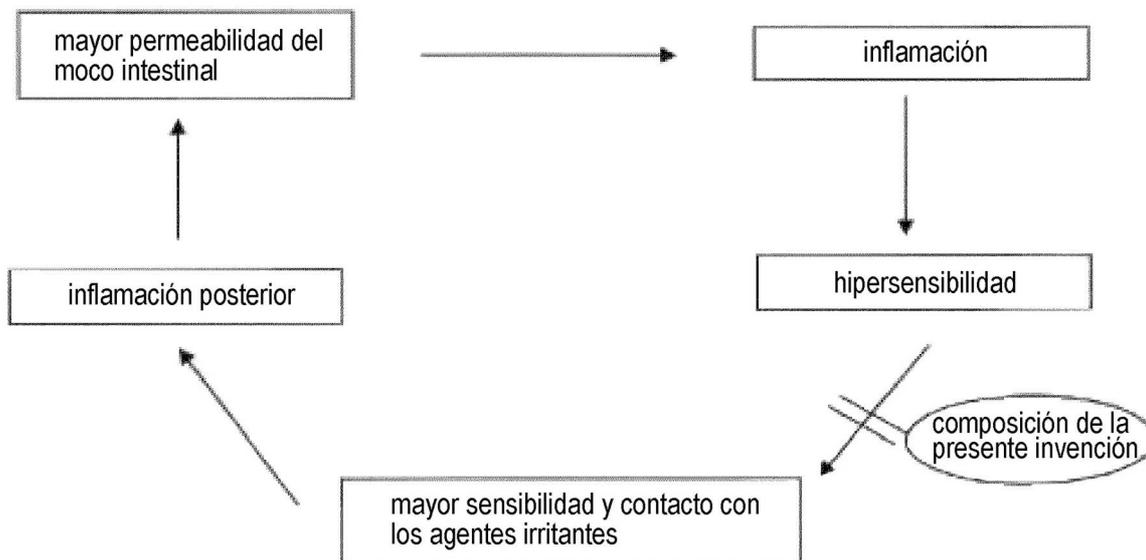
55 La descripción se refiere a las diversas realizaciones de la composición, a los procedimientos para preparar dicha composición, y también a un procedimiento para el tratamiento y/o prevención del SII, que comprende la administración de la composición de la presente invención a pacientes que lo requieren, y a un procedimiento para la preparación de dicha composición. La composición de la presente invención podrá actuar sobre el proceso inflamatorio mediante una acción local de protección indirecta y una acción antiinflamatoria, derivada de la protección, y también propone tener un efecto en el control de los síntomas del SII, tales como la hiperalgesia y molestias intestinales, mediante un efecto protector del moco intestinal, que reduce la irritación y la irritabilidad de dicho moco, protegiendo el moco intestinal contra ataques irritantes, por ejemplo mediante un efecto de barrera y antioxidante.

Se ha descubierto que la composición, según la presente invención, es útil en la regularización del intestino debido a la inflamación intestinal reducida, sin ser un producto específicamente antiespástico, antidiarreico o laxante.

65 Sin estar ligado a la teoría, se plantea la hipótesis de que la composición, tal como se describe en la presente memoria descriptiva y se define en las reivindicaciones, puede actuar, según el esquema que se muestra a

continuación, bloqueando el círculo vicioso descrito en la presente memoria descriptiva:

Esquema 1



5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS FIGURAS

La figura 1 muestra los resultados del ensayo para la evaluación de la adhesión del moco, que demuestra una buena mucoadhesividad de la composición de la presente invención con respecto a las células gastrointestinales de CaCo-2. El grado de mucoadhesividad obtenido por la composición de la presente invención diluida 1:5 fue del 52 % ± 4,6 %, lo que demuestra que incluso una dilución sustancial de la composición no tiene una influencia significativa sobre la capacidad mucoadhesiva de dicha composición con respecto a las células gastrointestinales.

La figura 2 muestra la resistencia al lavado con jugos gástricos simulados (2 ml/min). Con respecto a la segunda fase del experimento, es decir, la fase del experimento relacionada con la determinación de la resistencia de la capa mucoadhesiva, formada por la interacción entre los componentes resinosos y los polisacáridos de la composición y las células de la mucosa, los resultados obtenidos han demostrado una capacidad interesante de estos componentes para permanecer bioadheridos a la mucosa, lo que garantiza una buena mucoadhesividad durante la primera hora de contacto, aunque sigue siendo significativo incluso después de la segunda hora.

De hecho, después de 0,5 h, 1 h y 2 h, los porcentajes de mucoadhesión observados fueron el 48,7 ± 4,1 % (0,5 h), el 40,9 ± 6,2 % (1 h) y el 29,5 ± 4,6 % (2 h).

La figura 3 muestra que la composición de la presente invención también tiene una buena actividad de depuración con respecto al estrés oxidativo comparable a la demostrada por la vitamina C. Además, esta acción permanece virtualmente constante desde la segunda lectura (60 minutos) tomada. La composición de la presente invención destruye la formación de radicales libres en un 39 % (± 0,5) en todas las dosis analizadas, lo que demuestra una acción aparentemente "independiente de la dosis".

La composición de la presente invención no promueve la producción de radicales libres de manera constitutiva y no demuestra una acción antioxidante constitutiva significativa: se obtiene una ligera reducción de los radicales de, aproximadamente, el 10 % (± 0,5) después de solo 60 minutos de exposición al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sin embargo, estos resultados también demuestran la misma tendencia "independiente de la dosis" descubierta en la acción de eliminación, aunque con porcentajes más bajos. A continuación, se muestra una tabla que ilustra la actividad.

Los valores indicados se expresan en mg/ml.

La figura muestra los siguientes datos.

	% de reducción de radicales libres			
	30 min	60 min	90 min	120 min
Comp. inv. 0,5 mg/ml	31,9	35,4	38	36
Comp. inv. 100,25 mg/ml	27,4	33	38,5	36
Comp. inv. 100,125 mg/ml	28,3	39,4	41,5	39,4
Comp. inv. 100,078 mg/ml	25	35,8	39,7	37,8
vitamina C 0,15	38	44,8	48	47

La figura 4 muestra la tendencia de las puntuaciones de dolor abdominal en condiciones de base (B) y durante las semanas de tratamiento (1-6) con la composición de la presente invención.

Se puede observar la reducción progresiva de las puntuaciones de dolor, que alcanzan un nivel significativo ( $* = p < 0,05$ ) desde la tercera semana de tratamiento y continúan cayendo hasta el final del tratamiento.

5 La figura 5 muestra la tendencia de las puntuaciones de distensión abdominal en condiciones de base (B) y durante las semanas de tratamiento (1-6) con la composición de la presente invención.

Se puede observar la reducción progresiva de las puntuaciones de distensión, que alcanzan un nivel significativo ( $* = p < 0,05$ ) desde la cuarta semana de tratamiento y continúan cayendo hasta el final del tratamiento.

10 La figura 6 muestra la tendencia de las puntuaciones de bienestar en las condiciones de base (B) y durante las semanas de tratamiento (1-6) con Colilen IBS.

Se puede observar la reducción progresiva de las puntuaciones de bienestar, que alcanzan un nivel significativo ( $* = p < 0,05$ ) desde la segunda semana de tratamiento y continúan cayendo hasta el final del tratamiento.

15 La figura 7 muestra la disminución en las clases de dolor/molestias abdominales relacionados con el SII durante el tiempo posterior a la administración de la composición de la presente invención (número de individuos en la ordenada y tiempo expresado en semanas en la abscisa).

Se puede observar cómo, de T0 a T6, las clases "grave", "moderada" y "leve" caen con un fuerte aumento de la clase "normal".

20 La figura 8 muestra los mismos resultados con la adición de las clases "grave" y "moderada" y de las clases "leve" y "normal" (número de individuos en la ordenada y tiempo expresado en semanas en la abscisa).

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

25 La presente invención describe una composición para utilización en el tratamiento y/o la prevención del síndrome del intestino irritable que comprende resinas y/o extractos de las mismas, polisacáridos y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos, antioxidantes y/o extractos de plantas que comprenden antioxidantes y aceites esenciales de origen natural o vegetal y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables como se define en las reivindicaciones.

30 De hecho, dada su falta de efectos indeseables, la composición descrita en la presente memoria descriptiva se puede utilizar sola o en combinación con otros fármacos para el tratamiento y/o la prevención del SII. En una forma particularmente ventajosa, la composición, dada la falta de efectos indeseables, también se puede utilizar para la prevención del SII, por ejemplo, en aquellos pacientes que sufren recurrentemente o para quienes el trastorno tiene lugar junto con estados psicológicos o físicos específicos (por ejemplo, períodos de estrés, etc.).

35 La composición descrita en la presente memoria descriptiva comprende los principios activos enumerados anteriormente, tales como principios activos de origen vegetal u origen natural, es decir, no producidos por síntesis química, sino extraídos de plantas o productos naturales, tales como resinas producidas por plantas, sales minerales, etc.

40 En una realización, los principios activos serán de origen vegetal (originados a partir de partes de plantas o de sustancias producidas por las plantas) y, en una realización específica, la composición o los productos que la comprenden serán todos de origen vegetal, excepto por la presencia posible de sales minerales de origen natural en vez de origen vegetal.

45 Según la presente invención, la composición comprenderá solo componentes de origen vegetal (originados a partir de partes de plantas o de sustancias producidas por las plantas).

50 Según la presente invención, según la bibliografía científica, se entiende que las resinas de origen vegetal en particular significan resinas oleogomosas, exudados de plantas que pueden ser secretadas fisiológicamente por las plantas o, más frecuentemente, en respuesta a traumas (incisiones, cortes) o estrés (ataque de patógenos) formados por un grupo complejo de sustancias sólidas, translúcidas, a veces líquidas, insolubles en agua, solubles en alcohol, acetona, éter y cloroformo.

55 Estas resinas contienen mezclas complejas de alcoholes o ácidos alifáticos, lignanos, ácidos resínicos, resinotanoles, ésteres y resinas (que se originan a partir de procesos de polimerización u oxidación de terpenos de aceites esenciales), etc.

60 Desde un punto de vista químico, se encuentran muchos componentes diferentes en las resinas: alcoholes o ácidos alifáticos de diversas cadenas de carbono, ácidos aromáticos libres, ácidos resínicos, alcoholes monoterpénicos, alcoholes diterpénicos, alcoholes triterpénicos, resinoles, compuestos fenólicos que pertenecen a la familia de los esteroides, etc.

65 Según la presente invención, las resinas, por ejemplo, pueden representarse mediante incienso, mirra o mezclas de los mismos.

Un experto en la materia, sin embargo, podrá identificar resinas adicionales distintas de las indicadas en la presente

memoria descriptiva fácilmente por analogía.

La composición puede contener estas resinas en forma pulverizada o granulada, o en forma de extracto seco y/o extracto liofilizado y/o fracciones de dichos extractos.

5 Las formas en que se pueden utilizar estas resinas y sus extractos para la preparación de composiciones para administración oral son conocidas en la bibliografía, y un experto en la materia no necesitará enseñanzas adicionales en este sentido.

10 A modo de ejemplo, que no constituye limitación, cuando se prepara un extracto, la resina se puede tratar con soluciones hidroalcohólicas al 20 %, al 30 %, al 40 %, al 50 %, al 60 %, al 70 % o al 80 %; los alcoholes pueden ser metanol, etanol, isopropanol; en una realización específica, se utiliza etanol. El extracto alcohólico obtenido se somete a filtración, concentración y desecación para proporcionar el extracto seco correspondiente.

15 El producto seco obtenido puede pulverizarse, granularse o tratarse mediante una mezcla adecuada con los otros componentes.

20 Las resinas, además de ayudar a la producción de un efecto de barrera en el moco proporcionado por la composición descrita en la presente memoria descriptiva, tal como se demuestra en las secciones de experimentos, también permiten que otros componentes de la composición permanezcan adheridos, durante períodos de contacto más largos, en el epitelio irritado, previniendo de este modo el lavado por líquidos biológicos, permitiendo por lo tanto que la composición proporcione su efecto durante períodos de tiempo más largos de una manera mejorada.

25 Los polisacáridos, según la presente invención, son polisacáridos presentes en productos naturales, o en extractos de plantas o que se pueden obtener de plantas.

30 En una realización, estos polisacáridos son de origen vegetal y están representados por polisacáridos macromoleculares que, en contacto con el agua, forman soluciones coloidales o geles y también pueden definirse como hidrocoloideos vegetales.

35 Estos polisacáridos son constituyentes normales de las células vegetales conservadas en estructuras histológicas predefinidas. Son polímeros de azúcares y se caracterizan por su buena estabilidad, no toxicidad, propiedades hidrófilas y biodegradabilidad.

40 Los polisacáridos que se pueden utilizar en la presente invención están dados por polisacáridos extraídos de Aloe vera, manzanilla y altea.

45 En una realización, los extractos de plantas que comprenden polisacáridos, tales como extractos de Aloe vera, manzanilla, altea, se pueden utilizar directamente.

50 Sin querer quedar ligado a la teoría, se considera que los polisacáridos en la composición de la presente invención pueden ayudar al efecto barrera y la mucoadhesividad de dicha barrera.

55 Según una realización de la presente invención, la composición comprenderá un extracto de Aloe vera.

60 En una realización, dicho extracto es un extracto de gel de hoja deshidratado u otros extractos ricos en polisacáridos.

65 En una realización específica de la presente invención, como partes de la planta, se utilizará para el Aloe el gel deshidratado de la hoja, se utilizarán para la manzanilla las flores internas o los ligulados, se utilizarán para la altea las raíces, y se utilizarán las hojas para la melisa. Para todos los componentes enumerados anteriormente, es adecuada la utilización en forma de extracto seco y/o extracto liofilizado y/o fracciones de dichos extractos.

70 La composición también comprende sustancias antioxidantes de origen natural o vegetal, tales como polifenoles de plantas o extractos que comprenden polifenoles de plantas.

75 Según la presente invención, se pueden utilizar en la presente composición los antioxidantes extraídos de manzanilla o melisa. En una realización, pueden utilizarse directamente extractos de plantas que comprenden antioxidantes, tales como extractos de manzanilla, melisa y similares.

80 La composición comprenderá resinas y/o extractos de las mismas seleccionados entre el grupo que comprende incienso y mirra; polisacáridos seleccionados entre polisacáridos extraídos de Aloe vera, manzanilla, altea y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos seleccionados entre extractos de Aloe vera (gel de hoja), manzanilla (flores), altea (raíces); antioxidantes seleccionados entre antioxidantes extraídos de manzanilla, hojas de melisa; extractos de plantas que comprenden antioxidantes seleccionados entre extractos de flores de manzanilla y hojas de melisa y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

En una realización, la composición comprende los siguientes principios activos: extracto liofilizado de incienso, extracto de Aloe vera (por ejemplo, gel deshidratado de hojas), extracto de mucílagos de altea, extracto de flor de manzanilla y extracto de hoja de melisa.

5 En la técnica se conocen otros componentes naturales o vegetales que tienen una actividad adecuada para ayudar aún más al efecto de aliviar el SII, tales como: emolientes, digestivos, procinéticos, colagógicos, carminativos, probióticos, relajantes, excipientes, conservantes y humectantes naturales y/o vegetales. Un ejemplo, que no constituye limitación, de estas sustancias puede ser representado por el extracto de raíz de genciana, hoja de boldo, 10 fruto de cardo lechoso, hoja de alcachofa, raíz de diente de león, hoja de romero, fruto de anís, hoja de menta, hoja de mejorana, fruto o semilla de comino, fruta de alcaravea, fruto de cilantro, carbón vegetal, raíz de jengibre, fruto de hinojo e inulina.

15 La composición, según la presente invención, puede comprender dichas resinas y/o extractos de las mismas en un porcentaje en peso entre el 30 y el 60 %.

La composición puede comprender dichos polisacáridos y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos en un porcentaje en peso entre el 12 y el 22 %.

20 La composición puede comprender dichos antioxidantes y/o extractos de plantas que comprenden antioxidantes en un porcentaje en peso entre el 35 y el 65 %.

Un ejemplo de la composición, según la presente invención, que no constituye limitación, comprende incienso en polvo, aproximadamente, el 50 %  
 25 gel de Aloe vera, aproximadamente, el 15 %  
 extracto de flor de manzanilla liofilizado, aproximadamente, el 15 %  
 polvo de hoja de melisa, aproximadamente, el 45 %

Según un ejemplo adicional, la composición puede comprender:

30 extracto de incienso seco, aproximadamente, el 30 %  
 gel de Aloe vera, aproximadamente, el 20 %  
 polvo de flor de manzanilla, aproximadamente, el 25 %  
 extracto de hoja de melisa liofilizado, aproximadamente, el 25 %

35 En general, la composición puede comprender:

40 extracto seco de incienso, aproximadamente, el 30-60 %  
 gel de Aloe vera, aproximadamente, el 15-20 %  
 polvo de flor de manzanilla, aproximadamente, el 15-25 %  
 extracto de hoja de melisa liofilizado, aproximadamente, el 25-45 %

45 La composición puede estar formada por los componentes mencionados anteriormente y, opcionalmente, por un aceite vegetal esencial y posiblemente excipientes cuando están presentes en una formulación.

50 Cualquier número entero incluido en los intervalos descritos anteriormente debe considerarse como descrito en la presente invención junto con los dos números que limitan los intervalos, por ejemplo, cuando el intervalo descrito es del 15-20 %, se pretende que esto signifique que la presente invención describe las realizaciones que comprenden el 15, 16, 17, 18, 19 y el 20 % del extracto.

Lo mismo es cierto para los intervalos 30-60, 12-22, 35-65, 15-25 y 25-45 indicados anteriormente.

55 En una realización específica, dichas resinas y/o extractos de las mismas tienen un porcentaje en peso del 20 al 30 %; dichos polisacáridos y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos tienen un porcentaje en peso del 7 al 13 %; y dichos antioxidantes y/o extractos de plantas que comprenden antioxidantes tienen un porcentaje en peso del 45 al 55 %.

60 Tal como ya se ha indicado anteriormente, cada vez que la presente descripción proporciona un intervalo numérico, todos los números enteros y los números decimales a dos lugares decimales que existen dentro de este intervalo, incluidos los límites, también se consideran descritos al mismo tiempo y explícitamente. El intervalo se indica simplemente para evitar largas listas numéricas que, en cualquier caso, un experto en la materia sabrá incluir en intervalos tal como los enumerados anteriormente.

65 En una realización específica, una dosis diaria o bidiaria, por ejemplo, dividida en, como mínimo, 3, 4, 5 o más unidades de administración de, aproximadamente, 2-3 g de principios activos de composición, puede comprender:

Ejemplo de composición 1

- 5 - extracto de resina de incienso liofilizado, aproximadamente, 500-800 mg,
- gel de hoja de Aloe vera deshidratado, 180-300 mg,
- extracto de flor de manzanilla liofilizado, 70-170 mg,
- hoja de melisa, 800-1.250 mg,
- aceite esencial de hinojo, 40-60 mg,
- polvo de fruto o de semilla de comino, 270-400 mg

10 Otros ejemplos de composición, según la presente invención, se indican a continuación:

Ejemplo de composición 2

- 15 - extracto de resina de incienso liofilizado, aproximadamente, 500-700 mg,
- gel de hoja de Aloe vera deshidratado, aproximadamente, 180-300 mg,
- extracto de flor de manzanilla liofilizado, aproximadamente, 70-170 mg,
- hoja de melisa, aproximadamente, 900-1.150 mg,
- aceite esencial de hinojo, aproximadamente, 40-60 mg,
- 20 - polvo de fruto de cilantro, 270-400 mg

Ejemplo de composición 3:

- 25 - polvo de resina de incienso, aproximadamente, 680-750 mg,
- gel de hoja de Aloe vera deshidratado, aproximadamente, 440-520 mg,
- extracto de flor de manzanilla liofilizado, aproximadamente, 650-750 mg,
- hoja de melisa, aproximadamente, 450-510 mg,
- aceite esencial de hinojo, aproximadamente, 15-25 mg.

Ejemplo de composición 4

- 30 - extracto de resina de incienso, aproximadamente, 440-520 mg,
- gel de hoja de Aloe vera deshidratado, aproximadamente, 900-1.000 mg,
- extracto de flor de manzanilla liofilizado, aproximadamente, 520-620 mg,
- hoja de melisa, aproximadamente, 300-400 mg,
- 35 - aceite esencial de mejorana, aproximadamente, 15-25 mg.

Ejemplo de composición 5:

- 40 - extracto de resina de incienso liofilizado, aproximadamente, 80-140 mg,
- polvo de incienso de resina, aproximadamente, 200-280 mg,
- gel de hoja de Aloe vera deshidratado, aproximadamente, 80-140 mg,
- polvo impalpable de diente de león, aproximadamente, 1.600-2.000 mg,
- extracto de flor de manzanilla liofilizado, aproximadamente, 80-140 mg,
- 45 - hoja de melisa, aproximadamente, 50-120 mg.

Ejemplo de composición 6

- 50 - extracto de resina de incienso liofilizado, aproximadamente, 400-550 mg,
- polvo de resina de incienso, aproximadamente, 200-300 mg,
- gel de hoja de Aloe vera deshidratado, aproximadamente, 200-300 mg,
- extracto de flor de manzanilla liofilizado, aproximadamente, 100-160 mg,
- hoja de melisa, aproximadamente, 1.000-1.500 mg.

55 Según la presente descripción, la expresión "que comprende" puede sustituirse por la expresión "constituida por" en la definición de las composiciones proporcionadas con anterioridad a modo de ejemplo.

Las composiciones de ejemplo, por lo tanto, también pueden entenderse como constituidas por los principios activos enumerados anteriormente, y también pueden comprender excipientes adecuados para la formulación de las mismas.

60 Por lo tanto, la presente solicitud se refiere a composiciones que comprenden o están constituidas por los principios activos enumerados anteriormente o tal como se han descrito en la presente descripción, que también comprenden opcionalmente excipientes adecuados para la formulación deseada, tal como se describe a continuación.

65 Es evidente que la dosis de administración puede adaptarse, según la edad, el peso, el sexo y el estado de salud del sujeto.

Las composiciones descritas en la presente memoria descriptiva también pueden comprender uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables o uno o más de los componentes adicionales enumerados anteriormente.

5 Las composiciones que se describen en la presente memoria descriptiva también pueden diluirse en excipientes adecuados que permiten la producción en forma líquida o en forma semilíquida (tal como suspensiones, soluciones, emulsiones), por ejemplo, agua, zumo de fruta o cualquier otro excipiente adecuado para la producción de formulaciones farmacéuticas y presentes en estado no líquido o semilíquido para administración oral.

10 Debe entenderse, dentro del alcance de la presente descripción, que, con respecto a las realizaciones en las que se indican los componentes de la composición, la expresión "comprende/que comprende" puede sustituirse también por la expresión "está constituida/que está constituida".

15 Según la presente invención, la composición se puede utilizar en forma de cápsula, forma de comprimido, forma de gránulo, forma de polvo, forma de jarabe, forma de elixir, forma de cápsula de gelatina dura, forma de cápsula de gelatina blanda, forma de suspensión, forma de emulsión o forma de solución, según los procedimientos conocidos por los expertos en la materia.

20 En particular, en las realizaciones sólidas, los polvos de dichas plantas comprimidas en forma de extractos o "productos extraídos de" se pueden utilizar como excipientes en la composición descrita en la presente memoria descriptiva.

25 En una realización específica, la composición, tal como se describe en la presente memoria descriptiva, en cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, puede estar presente en forma de una composición farmacéutica, es decir, puede comprender ingredientes de capacidad farmacéutica, o puede estar en un suplemento dietético para fines especiales o en un dispositivo médico, o puede insertarse en él.

30 La composición, según la presente descripción, se puede producir en forma de una composición farmacéutica o en forma de un dispositivo médico, según cualquiera de las clases descritas en la directiva de dispositivos médicos 93/42/CEE (que también incluye sustancias y no solo "dispositivos" en el sentido mecánico de la palabra), o en forma de un alimento médico, un suplemento dietético o en cualquier forma, según las regulaciones del país en el que se produce dicha composición.

35 Para la preparación de las composiciones farmacéuticas, la mezcla de los extractos se formula en unidades de dosificación adecuadas con uno o más excipientes y/o aditivos farmacéuticamente aceptables. Composiciones farmacéuticas en forma de cápsula, forma de comprimido, forma de cápsula de gelatina dura o forma de cápsula de gelatina blanda para administración oral puede estar en forma de una dosis diaria única o en forma de fracciones de una dosis diaria única (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6 o más cápsulas, comprimidos o gelatinas pueden administrarse durante un solo día, según el criterio del médico encargado del tratamiento), y pueden contener excipientes incluidos de manera convencional, por ejemplo, agentes aglutinantes, tales como goma arábica, gelatina, goma de tragacanto y/o polivinilpirrolidona, agentes diluyentes, por ejemplo lactosa, sacarosa, polialcoholes, fosfato de calcio dibásico; disgregantes, tales como almidón de maíz, almidón de arroz, almidón de patata, glicolato de almidón sódico, crosprovidona lubricante, por ejemplo, estearato de magnesio, talco, polietilenglicoles, agentes de deslizamiento, tales como sílice coloidal y agentes humectantes y surfactantes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo lauril sulfato de sodio o extractos granulados de dichas plantas. Los comprimidos pueden recubrirse por procedimientos bien conocidos en la práctica farmacéutica estándar.

50 La composición también puede producirse en forma líquida o en forma semilíquida, en forma de suspensión, en forma de emulsión o en forma de solución para administración oral y puede contener opcionalmente agentes aromatizantes naturales que proporcionan a dicha composición un sabor agradable.

55 La composición en forma de polvo o granulado se puede dosificar previamente en recipientes adecuados y estar lista para su utilización o para su ingestión en esta forma, o se puede proporcionar para resuspenderse en un líquido adecuado, tal como agua o té, etc. También en este caso, la composición puede contener agentes aromatizantes naturales que proporcionan a dicha composición un sabor agradable.

60 La presente invención se ha descrito hasta ahora con referencia a algunas de sus realizaciones. Se entiende que también pueden existir otras realizaciones que abordan el mismo concepto inventivo y están todas incluidas dentro del alcance de la protección de las reivindicaciones, tal como se describe a continuación.

La descripción también se refiere a un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención del SII que comprende la administración de la composición descrita en la presente memoria descriptiva a un individuo que la requiere.

65 El procedimiento comprende la administración de una o más dosis por día de la composición durante un período que varía de una o más semanas, según la prescripción del médico encargado del tratamiento.

Dada la elevada tolerancia demostrada para incluso altas dosis de la composición (consulte los ejemplos a continuación), el médico encargado del tratamiento puede decidir prescribir la terapia sin correr riesgos de sobredosis siguiendo las enseñanzas de la presente descripción y, según los requisitos del paciente y del conocimiento médico común.

5 En una realización, el procedimiento comprende la administración de 2-3 gramos, por ejemplo 2, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 o 3 gramos de principios activos por día, por ejemplo, divididos en, como mínimo, tres dosis únicas durante un período de, como mínimo, una semana hasta un período de 3 a 6 semanas o más.

10 Es evidente que la administración puede comprender diferentes dosis, según el estado general de salud, el peso, el sexo y la edad del paciente.

La composición de la presente invención se puede administrar también en combinación con otros fármacos utilizados comúnmente para el tratamiento del SII, como adyuvante del tratamiento.

15 En una realización, la composición puede administrarse, por ejemplo, en combinación con fármacos dirigidos a tratar un trastorno que se cree que es la causa de las características clínicas del SII.

20 Según un ejemplo, que no constituye limitación, del procedimiento para tratar o prevenir el SII descrito en la presente memoria descriptiva, se puede administrar una dosis diaria que utilice cualquiera de las composiciones indicadas con anterioridad a modo de ejemplo, con la administración de dichas composiciones una o dos veces por día durante un período de tiempo de 3 semanas o 6 semanas u otra duración.

25 Esta dosis se puede dividir, como en los ejemplos a continuación en pacientes, en 6 comprimidos (cp) administrados 2 a la vez tres veces por día, aproximadamente, una hora antes de las comidas.

30 Además, la descripción da a conocer un procedimiento para preparar una composición, según la presente invención, en la que dichas resinas y/o extractos de las mismas, en la que dichos polisacáridos y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos, y en la que dichos antioxidantes y/o extractos de plantas que comprenden antioxidantes se mezclan, opcionalmente junto con uno o más de los componentes adicionales descritos anteriormente y/o uno o más excipientes y/o uno o más agentes aromatizantes en una sola etapa o en etapas sucesivas.

35 Las técnicas de mezcla seleccionadas deben ser adecuadas para la forma en la que se producirá la composición, es decir, si se desea producir comprimidos o píldoras, como mínimo, una etapa de prensado, etc. estará también presente.

40 Por ejemplo, los extractos descritos anteriormente se pueden mezclar entre sí mediante la tecnología conocida de mezcladora de alto cizallamiento, que permite una perfecta homogeneización de los ingredientes, incluso con la adición de pequeños porcentajes de ingredientes en forma líquida (por ejemplo, aceites esenciales), que se pulverizan sobre la masa de polvo en movimiento. La encapsulación u otras etapas de procesamiento se llevan a cabo utilizando tecnología convencional.

## **EJEMPLOS**

### **45 1. Ensayos preclínicos de eficacia sobre el síndrome del intestino irritable.**

*Evaluación in vivo de la eficacia de la composición de la presente invención en la protección de la mucosa intestinal.*

50 Para ensayar *in vivo* la eficacia de la composición de la presente invención, dicha composición se formuló en cápsulas y se evaluó en términos de su capacidad para proteger la susceptibilidad de la mucosa intestinal a los estímulos irritantes. Basándose en el supuesto mecanismo del producto para actuar sobre el componente inflamatorio del SII (respaldado solo recientemente por la bibliografía) por medio de una acción local, de protección indirecta y antiinflamatoria también derivada de la mucoadhesión, se seleccionó un modelo experimental de colitis inflamatoria, no específico para SII.

55 El estudio se llevó a cabo en un modelo de colitis inducida por ácido acético, tal como se describe por McPherson BR, Pfeiffer CJ (1978) Experimental Production of Diffuse Colitis in Rats. *Digestion*;17:135-150; Mousavizadeh K, Rahimian R, Fakhfour G, Aslani FS, Ghafourifar P. (2009). Anti-inflammatory effects of 5-HT receptor antagonist, tropisetron on experimental colitis in rats. *Eur J Clin Invest.*;39(5):375-83; Noronha-Blob L, Lowe VC, Muhlhauser RO, Burch RM (1993) NPC 15669, an inhibitor of neutrophil recruitment, is efficacious in acetic acid-induced colitis in rats. *Gastroenterology*, 104:1021-9.

65 Los animales se trataron para inducir inflamación intestinal (ácido acético al 4 % mediante insuflación rectal) y, después de una hora, se trataron con la composición de la presente invención, tal como se describe en la fórmula general en la página 16 y, según el ejemplo de composición 1 (datos obtenidos comparables, datos notificados en el ejemplo de composición 1), o dexametasona (fármaco de referencia).

Cada grupo estaba formado por 10 ratas, según el siguiente esquema

- 5 1. Ratas sin colitis, tratadas con vehículo 10 ml/kg, (p. o.);
2. Ratas con colitis, tratadas con vehículo 10 ml/kg, (p. o.);
3. Ratas con colitis, tratadas con la composición de la presente invención, (p. o.);
4. Ratas con colitis, tratadas con dexametasona, (p. o.) como referencia. Se midieron los parámetros macroscópicos y microscópicos.

10 Los resultados se resumen a continuación y muestran que la composición de la presente invención es eficaz en la reducción de la inflamación y de las lesiones intestinales relacionadas con el SII y que esta eficacia se pierde al eliminar el incienso de la composición.

Los parámetros macroscópicos son el peso y la excreción fecal, tal como se notifica en la tabla a continuación.

15 Se puede observar que la composición de la presente invención reduce las molestias generales causadas por el ácido acético y el peso corporal permanece similar a los controles.

**Tabla 1**

Tratamiento	Peso corporal (g)		Excreción fecal	
	Basal	Final	número	peso (g)
CONTROL	213,0 ± 7,214	233,0 ± 6,649	58,38 ± 3,246	10,902 ± 1,778
ÁCIDO ACETICO al 4 %	214,0 ± 6,819	207,2 ± 6,180	1033 ± 2,600 <sup>oo</sup>	3,167 ± 1,414 <sup>oo</sup>
ABO/INT-10 (1 g/kg)	212,1 ± 8,067	218,4 ± 9,392	41,00 ± 1,164 <sup>oo</sup>	9,722 ± 1,007 <sup>oo</sup>
DEXAMETASONA (1 mg/kg)	216,1 ± 4,143	214,3 ± 4,177	40,40 ± 8,035 <sup>**</sup>	9,440 ± 1,790 <sup>**</sup>

Los valores representan los promedios ± EEM de 8-12 animales. Diferencia significativa: <sup>oo</sup>p<0,01 en comparación con el grupo control; <sup>\*\*</sup>p<0,01 en comparación con el grupo tratado con ácido acético. Donde no se indique, la diferencia no es estadísticamente significativa.

20 Además de los datos macroscópicos presentados anteriormente, se observaron elementos específicos indicativos del daño al intestino y se resumen en la tabla 2, a partir de la cual se puede observar el efecto protector del producto con respecto a los procesos irritativos causados por el ácido acético.

25 En particular, se muestra el daño macroscópico al colon, el índice de colon (mg de colon/gramos de rata) y la actividad de la mieloperoxidasa, una enzima contenida en los gránulos azurófilos intracelulares de los leucocitos polimorfonucleares (PMN), que por lo tanto se pueden utilizar como un indicador de la acumulación de neutrófilos migrados en los tejidos durante un proceso inflamatorio.

30 Los resultados demuestran una fuerte actividad protectora de la composición de la presente invención.

**Tabla 2**

Tratamiento	Daño macroscópico	Índice de colon (mg/g)	MPO (U/mg tejido)
CONTROL	0,000 ± 0,000	3,868 ± 0,120	0,755 ± 0,078
ÁCIDO ACETICO al 4 %	8,833 ± 0,470 <sup>oo</sup>	8,612 ± 0,170 <sup>oo</sup>	26,070 ± 3,090 <sup>oo</sup>
COMPOSICIÓN DE LA PRESENTE INVENCION (1 g/kg)	3,59 ± 0,438 <sup>**</sup>	6,329 ± 0,288 <sup>**</sup>	5,795 ± 0,779 <sup>**</sup>
DEXAMETASONA (1 mg/kg)	4,417 ± 1,052 <sup>**</sup>	6,041 ± 0,341 <sup>**</sup>	15,337 ± 6,136 <sup>**</sup>

Los valores representan los promedios ± EEM de 8-12 animales. Diferencia significativa: <sup>oo</sup>p<0,01 en comparación con el grupo control; <sup>\*\*</sup>p<0,01 en comparación con el grupo tratado con ácido acético. Donde no se indique, la diferencia no es estadísticamente significativa.

35 La mieloperoxidasa es menos activa después de 24 horas y, por lo tanto, la actividad inflamatoria es limitada en comparación con el control. La composición descrita en la presente memoria descriptiva, aunque no es un antiinflamatorio como la dexametasona, demuestra una poderosa eficacia en la reducción de la inflamación causada por agentes externos e internos (tales como los radicales libres).

40 Para verificar la efectividad de la utilización del ingrediente incienso en las formulaciones, se realizó el mismo experimento de colitis inflamatoria inducida por ácido acético con una formulación sin incienso (ABO-INT-10-2), que corresponde a la formulación Abo-INT 10 (formulaciones generales en la página 16), sin incienso.

Tabla 3

Tratamiento	Variación de peso (g)	Defecaciones	
		número	peso (g)
Control	20,50 ± 1,147	56,67 ± 3,612	10,07 ± 1,984
Ácido acético	-6,96 ± 1,059 <sup>oo</sup>	10,18 ± 1,381 <sup>oo</sup>	2,81 ± 0,409 <sup>oo</sup>
ABO/INT-10-2 (1 g/kg)	-5,67±0,890 <sup>oo</sup>	7,42 ± 1,716 <sup>oo</sup>	2,86 ± 0,753 <sup>oo</sup>
Dexametasona (1 mg/kg)	2,167 ± 1,493 <sup>oo**</sup>	42,10 ± 9,011 <sup>**</sup>	9,44 ± 1,79 <sup>**</sup>

Tabla 3: Los valores representan los promedios ± EEM de 6-12 animales. Diferencia significativa: <sup>oo</sup>p<0,01 en comparación con el grupo control; \*p<0,05\*\*p<0,01 en comparación con el grupo tratado con ácido acético. Donde no se indique, la diferencia no es estadísticamente significativa.

Tabla 4

Tratamiento	Daño macroscópico	Índice de colon (mg/g)	MPO (U/mg tejido)
Control	0,000±0,000	3,917±0,145	1,065±0,238
Ácido acético al 4 %	8,409±0,420 <sup>oo</sup>	9,314±0,451 <sup>oo</sup>	27,013±2,787 <sup>oo</sup>
ABO/INT-10 (1 g/kg)	8,292±0,462 <sup>oo</sup>	8,603±0,261 <sup>oo</sup>	22,633±2,836 <sup>oo</sup>
Dexametasona (1 mg/kg)	4,417±1,052 <sup>oo**</sup>	6,041±0,341 <sup>**</sup>	16,423±5,978 <sup>**</sup>

Los valores representan los promedios ± EEM de 6-12 animales. Diferencia significativa: <sup>oo</sup>p<0,05, <sup>oo</sup>p<0,01 en comparación con el grupo control; \*p<0,05 en comparación con el grupo tratado con ácido acético. Donde no se indique, la diferencia no es estadísticamente significativa

5 Los efectos obtenidos con la composición de la presente invención sin incienso en el modelo de colitis aguda inducida por ácido acético no son comparables a los obtenidos con el fármaco de referencia dexametasona y con la composición que comprende las resinas y no demuestran ningún efecto antiinflamatorio, ya sea con respecto a los parámetros macroscópicos (peso y excreción fecal, tabla 3) o con respecto a parámetros microscópicos específicos de la inflamación (tabla 4).

10 Por lo tanto, se confirma la necesidad de la presencia de las resinas, tal como se describe en la presente memoria descriptiva, en la formulación para una actividad significativa.

## 15 2. Ensayos preclínicos de mecanismo de acción

### Ensayo de mucoadhesión

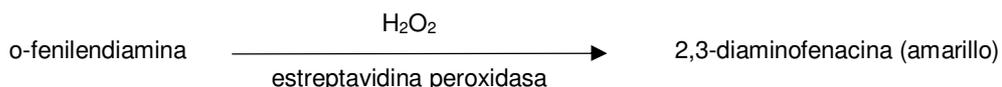
20 Se llevó a cabo el ensayo de mucoadhesión, según un modelo derivado de la optimización de los protocolos experimentales anteriores y trabajos científicos sobre el tema (D. Patel, A.W. Smith, N. Crist, P. Barnett, J.D. Smart, An in vitro mucosal model predictive of bioadhesive agents in the oral cavity, J. Controlled Release (1999) 175-183.), la mucoadhesividad del producto se determinó mediante la evaluación del porcentaje de inhibición del enlace lectina/glucoproteína. Se utilizaron líneas celulares de CaCo2 en este modelo para simular las células del intestino.

25 Las células intestinales de la línea de CaCo2 se seleccionaron como modelo de células epiteliales, ya que tienen características morfológicas y bioquímicas típicas del enterocito absorbente presente en el tracto gastrointestinal y se han utilizado ampliamente para estudiar la funcionalidad de las células gastrointestinales y también para evaluar el transporte y/o la interacción de fármacos a través de la membrana gastrointestinal.

30 Las células se trataron inicialmente con lectina biotinilada (Con-A), una proteína contenida en algunas leguminosas (*Canavalia ensiformis*) que tiene una elevada afinidad por los residuos de glucósido y manósido presentes en las glucoproteínas de la membrana. Los sitios de las glucoproteínas de las membranas mucosas están ocupados de este modo con la lectina biotinilada. La presencia de la biotina (vitamina H) en la lectina es indispensable para la siguiente etapa. Las células ya tratadas con lectina biotinilada están de hecho cargadas con estreptavidina peroxidasa, lo que hace posible formar el complejo proteína/glucosa/lectina/biotina/estreptavidina peroxidasa debido a la elevada afinidad entre la biotina y la estreptavidina.

35 En este punto, las células se lavaron y se cuantificó el complejo proteína/glucosa/lectina/biotina/estreptavidina peroxidasa, gracias a la presencia de la peroxidasa, mediante una reacción de oxidación de la orto-fenilendiamina.

40 De hecho, el complejo de proteína/glucosa/lectina/biotina/estreptavidina peroxidasa cataliza la reacción de polimerización:



5 La intensidad de la coloración amarilla/naranja de la solución (medida con un espectrofotómetro con  $\lambda=450$  nm) es proporcional a la cantidad de enlaces de glucoproteína/lectina y, por lo tanto, a la cantidad de sitios disponibles (glucoproteínas) para la mucoadhesión.

10 El valor de absorbancia determinado de este modo constituye el "control".

15 Al determinar la mucoadhesividad del producto, según la fórmula general en la página 16, las células de la mucosa se tratan preliminarmente con este producto mediante incubación a 30 °C durante 15 minutos antes del tratamiento con lectina. Las sustancias mucoadhesivas contenidas en el producto en ensayo pueden unirse de este modo a los sitios de glucósido y manósido presentes en las glucoproteínas de las membranas mucosas.

20 En la siguiente fase, al añadir la secuencia de lectina biotinilada, estreptavidina peroxidasa y orto-fenilendiamina, es posible obtener una coloración menos intensa en comparación con el control (obtenido sin tratamiento previo con el producto a ensayar), dado que algunos de los sitios de glucósidos disponibles para la unión con la Con-A ya estaban ocupados por las sustancias mucoadhesivas presentes en el producto. De hecho, la unión inicial entre las sustancias mucoadhesivas contenidas en el producto a ensayar y los sitios de glucósidos compromete en parte la posterior conjugación de Con-A con el complejo de estreptavidina peroxidasa y el posterior revelado de color después de la adición de agua oxigenada.

25 La disminución en el valor de absorbancia es, de hecho, proporcional a la capacidad de las sustancias en ensayo para "mucoadherirse" a las células CaCo2.

30 La capacidad mucoadhesiva se expresa como un porcentaje de inhibición de los enlaces de glucoproteína/lectina y representa el porcentaje de sitios de la mucosa ocupados por el producto, en comparación con los capturados por las lectinas en el ensayo de control. Este parámetro también se puede definir como "porcentaje de mucoadhesión del producto", según la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de mucoadhesión del producto} = (1 - \text{abs. de la muestra/abs. del control}) \times 100$$

35 Además, conjuntamente con la capacidad mucoadhesiva, un requisito esencial de un producto destinado al tratamiento protector de una superficie de la mucosa es la resistencia de la capa de mucoadhesión (formada por la interacción del producto con las células de la mucosa) a la acción de la solución con la que entra en contacto y, en el caso del tratamiento nasal, con el moco.

40 Con este fin, en una segunda fase del experimento, se evaluó la resistencia a lo largo del tiempo (0,5-2 h) de la mucoadhesividad producida por la formulación después del tratamiento de las células de la mucosa. Para esta determinación, las células de la mucosa tratadas con la formulación a ensayo se sometieron a un flujo continuo de una solución isotónica que contenía un 2 % de mucina, capaz de imitar el líquido de la mucosa presente en la nariz.

45 Para ejecutar este segundo protocolo, se utilizó un sistema de células de Franz, estas células se utilizan generalmente en la evaluación del proceso de absorción percutánea de una sustancia o para el estudio de otros procesos de permeación a través de membranas naturales o artificiales.

### **Materiales y procedimientos**

50 La composición de la presente invención que se proporciona a modo de ejemplo en la fórmula general en la página 16 (las composiciones en la página 16 y el ejemplo de composición 1 se ensayaron en paralelo y dieron resultados comparables) se diluyó 1:2 y 1:5 en solución salina fisiológica (NaCl al 0,9 %) que contenía tampón fosfato (pH 6.8). La suspensión se sometió a sonicación y la solución obtenida se filtró convenientemente. Las células CaCo-2 se mantuvieron en MEM con la adición de 10 % de suero bovino fetal, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomycin y se mantuvieron a 37 °C en una incubadora bajo una atmósfera humidificada formada por un 95 % de aire y un 5 % de CO2. El medio de cultivo se cambió cada 2-3 días. 24 horas antes del experimento, las células se tripsinizaron y se contaron en un hemocitómetro, se centrifugaron y se resuspendieron en TBS. La suspensión celular se dividió posteriormente en 2 tubos de ensayo: en el primer tubo de ensayo, solo se añadió el vehículo; en el segundo tubo de ensayo, se añadieron 5 ml de la solución que contenía el granulado a una dilución adecuada. Los 2 tubos de ensayo se dejaron en agitación a 30°C durante 15 minutos. Las células se lavaron 3 veces en TBS. Posteriormente se añadieron 5 ml de TBS 0,05 M que contenía CaCl<sub>2</sub> 1 mM y lectina biotinilada a ambos tubos de ensayo durante un período de 30 minutos a 30 °C con agitación suave. Después de 3 lavados, la suspensión celular se incubó con 5 ml de TBS 0,125 M que contenía estreptavidina peroxidasa y se dejó incubar durante 60 minutos a 30°C con agitación suave. Posteriormente, las células se lavaron 3 veces y finalmente se resuspendieron en 1 ml de solución de o-fd (que contenía 0,4 mg de o-fd en tampón de citrato y 0,4 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). La oxidación de la o-fd produjo un color amarillo. La coloración y la reacción se detuvieron después de 1 minuto mediante la adición de HCl 1 N. La

densidad óptica se midió a 492 nm mediante lectura espectrofotométrica. El experimento se llevó a cabo tres veces.

### Protocolos experimentales

#### 5 Evaluación de la retención de la mucoadhesividad

Para este experimento, se utilizó un sistema formado por seis células de Franz. Las células de Franz se utilizan ampliamente en la bibliografía para estudiar el proceso de absorción de un compuesto a través de la piel u otras membranas (artificiales o biológicas).

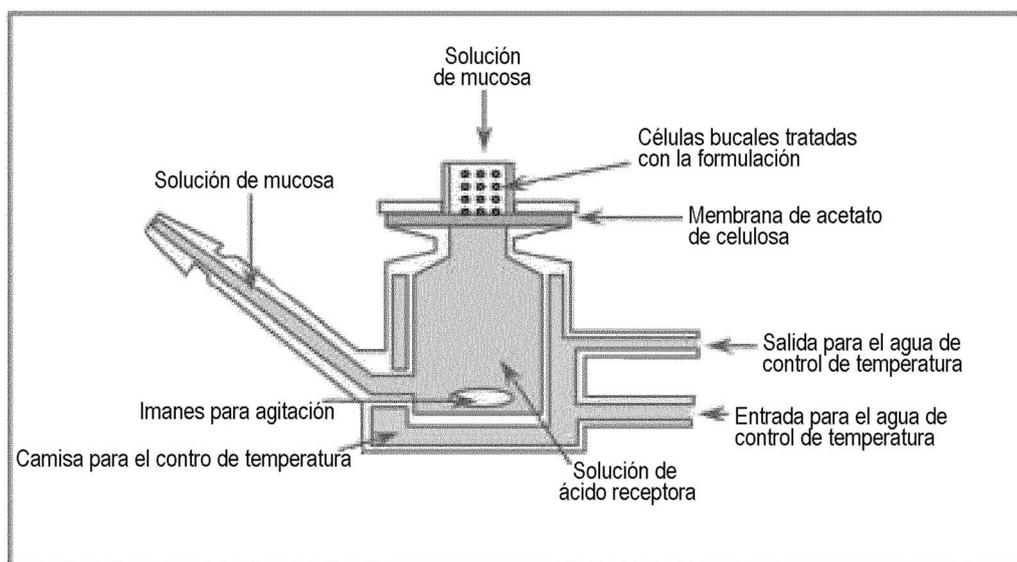
10

La célula de Franz está formada por un donante y por un receptor (esquema 2).

La célula de Franz utilizada para determinar la resistencia de la capa mucoadhesiva (formada por la aplicación de la formulación a las células de la mucosa) sometida a un flujo de una solución de mucina, que simula la solución de la mucosa presente en la nariz:

15

Esquema 2



En los estudios de absorción percutánea, una membrana formada por la piel completa (epidermis/dermis) o por la membrana del estrato córneo/epidermis (SCE), obtenida casi siempre por cirugía estética reductora, se coloca entre estas dos cámaras. La formulación que contiene el producto, tal como se describe en la página 16, fórmula general (ensayada entre los ejemplos en la página 16 y los ejemplos de composición que se mencionan a continuación, que han dado resultados comparables entre sí), cuyo proceso de permeación cutánea se va a evaluar se coloca, por lo tanto, en el donante mientras que el receptor se llena con una solución fisiológica. La temperatura del receptor se controla mediante la circulación de agua en una camisa exterior, y se determinarán las muestras de la solución receptora, en la que se determinarán las cantidades de sustancia que penetraban a través de la piel a lo largo del tiempo, se toman del brazo lateral con una jeringa de tallo largo.

20

25

En el experimento llevado a cabo para evaluar la retención de la mucoadhesividad de la composición de la presente invención, se colocaron en el donante cultivos celulares de CaCo-2, tratados con el producto ABO/INT-10 (también denominado ABO-INT o composición de ejemplo 1), diluido 1:5.

30

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la mucoadhesión *in vitro* de la composición de la presente invención. Los resultados obtenidos en este experimento demuestran que la formulación de la presente invención tiene una capacidad mucoadhesiva interesante con respecto a las células de la mucosa CaCo-2, utilizadas como modelo de células de la mucosa gastrointestinal.

35

Además, la evaluación de la resistencia a la solución que simula el jugo intestinal de la capa mucoadhesiva y protectora formada después del tratamiento de las células de la mucosa con la formulación de la presente invención (diluida 1:5) demuestra una buena capacidad de retención de la mucoadhesividad, particularmente en la primera hora, pero también más allá, posteriormente a la aplicación del producto diluido a las células.

40

A la luz de los resultados obtenidos, es posible confirmar que el producto, que demuestra una buena y resistente mucoadhesividad a las células de la mucosa gastrointestinal, puede desempeñar un papel protector eficaz en la

mucosa del tracto gastrointestinal.

**Tabla 5**

Ensayos realizados	Resultado	Informe de laboratorio No.
Ensayo de mucoadhesión	La composición de la presente invención tiene afinidad y se enlaza a los sitios de la mucosa intestinal a una tasa del 68 % y 52 % a diluciones de 1:2 y 1:5, respectivamente.  Esta adhesión se mantiene a lo largo del tiempo	Ensayo <i>in vitro</i> en células CaCo-2.

5 Los resultados de los ensayos de mucoadhesión se muestran también en las figuras 1 y 2, en las que se ilustra la mucoadhesividad de la composición (figura 1) y la resistencia de la composición a un lavado simulado con los jugos gástricos (figura 2).

10 **3 Evaluación *in vitro* del efecto protector de la composición de la presente invención siguiendo la información causada por el LPS**

La composición de la presente invención ha demostrado una actividad protectora en una línea primaria de fibroblastos humanos (HuDe), es decir, ha demostrado propiedades antiinflamatorias indirectas, a partir de la inflamación causada por LPS, que es una conocida sustancia sensibilizadora e inflamatoria.

15 Se llevaron a cabo tres tipos diferentes de experimentos.

- células expuestas al tratamiento con LPS y supervisadas para determinar las citocinas producidas después de 24 horas; (control negativo)

20 - células expuestas al tratamiento con LPS y, después de 30 minutos, suplementadas con el producto de la presente invención (dos concentraciones) y posteriormente supervisadas para determinar las citocinas producidas después de 24 horas (actividad protectora posterior a la exposición);

- células suplementadas con el producto de la presente invención (dos concentraciones), suplementadas después de 30 minutos con LPS y posteriormente supervisadas para determinar las citocinas producidas después de 24 horas (actividad protectora preventiva).

25 La potencia de protección se verificó midiendo la IL8 secretada por las HuDe después de la exposición.

**Tabla 6**

% de inhibición de IL-8		
	Tratamiento previo con ABO/INT	Tratamiento posterior con ABO/INT
Conc. 10 µg/ml	62,4 ± 5,8	32,6 ± 4,5
Conc.100 µg/ml	82,2 ± 6,1	45,8 ± 7,2

30 La tabla muestra claramente cómo el efecto de reducir la inflamación parece ser implementado por la composición descrita en la presente memoria descriptiva por medio de un mecanismo de barrera protectora. El tratamiento previo es claramente mayor que el tratamiento posterior. El efecto antiinflamatorio observado en el tratamiento posterior probablemente todavía esté causado por el efecto protector, que actúa de manera menos eficiente, dado que el agente dañino ya ha podido entrar en contacto con la mucosa.

35 Los datos corresponden a los resultados obtenidos con el ensayo de mucoadhesión en el sentido de que las concentraciones más elevadas proporcionan efectos mejorados, pero no efectos fundamentalmente diferentes.

40 Para confirmar la contribución del ingrediente incienso, rico en resinas, a la acción protectora local, se repitió el ensayo mencionado anteriormente del efecto de barrera con la formulación de la presente invención, tal como se describe en la página 16 y en los ejemplos y en una formulación sin incienso (ABO/INT-10-2) y se evaluó la protección a una concentración de 100 µg/ml con respecto a la producción de interleucina 6, inducida por LPS.

**Tabla 7**

MUESTRA	% de inhibición de la liberación de IL-6
ABO/INT-10	95 %
ABO/INT-10-2	65 %

45 Los resultados indican que el incienso contribuye a un aumento en el efecto barrera del 65 % de inhibición de la liberación de IL-6 (formulación sin incienso) a 95 % (formulación con incienso).

Este último ensayo indica también la protección adicional de la formulación frente a la producción de IL-6 y no solo de IL-8.

#### 4. Ensayo de actividad antioxidante

5 Con el fin de verificar el poder antioxidante de la composición de la presente invención en un sistema biológico similar al epitelio intestinal (CaCo-2), se llevaron a cabo los siguientes ensayos:

10 Evaluación de la actividad antioxidante de la muestra en células humanas sujetas a estrés oxidativo químico y progresivo. La evaluación de la acción antioxidante se obtiene de la cuantificación de la formación de radicales libres en las células expuestas a la muestra y al estrés oxidativo. La actividad antioxidante de la muestra en los análisis se evaluó en comparación con la de un antioxidante hidrosoluble seguro, tal como la vitamina C.

Ensayo de vitalidad celular: captación de rojo neutro (CRN).

15 Al final del ensayo de actividad antioxidante, se llevó a cabo el ensayo de vitalidad celular MTT para verificar que la disminución en la formación de radicales libres fue causada por la eficacia real y no por un efecto citotóxico del producto en ensayo.

20 El protocolo se basa en la utilización de una sonda fluorescente llamada diacetato de 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH-DA), una molécula estable no fluorescente que entra en las células, se une a las macromoléculas de la membrana, donde se hidroliza a partir de las esterasas citoplasmáticas para proporcionar diclorofluoresceína (DCFH), una molécula que de nuevo no es fluorescente. DCFH, en presencia de radicales libres, se oxida, formando una molécula altamente fluorescente: DCF.

25 El estrés oxidativo se induce a través de agua oxigenada.

Los radicales producidos constitutivamente a partir de las células con la adición de la muestra, pero sin la adición del agente oxidante se controlaron también como un control negativo (ausencia de actividad oxidante de la composición de la presente invención).

30 Tal como se muestra en la figura 3, la composición demostró una buena actividad eliminadora de los radicales libres, comparable a la demostrada por la vitamina C. Además, el producto no promueve la producción de radicales libres y, por lo tanto, no tiene un efecto oxidante en sí mismo.

35 Se ha descubierto que la composición es un eliminador óptimo: su presencia garantiza una acción neutralizante óptima de los radicales libres que se originan en el metabolismo endógeno comparable al de la vitamina C y una buena acción amortiguadora, incluso en presencia de tensión ambiental y de comportamiento significativas. Esta acción no solo podría contribuir significativamente al mantenimiento del estado de bienestar del epitelio intestinal, sino que también podría ser un adyuvante óptimo para el restablecimiento de este estado en personas que sufren de síndrome del intestino irritable.

#### 5. Toxicidad

45 Como confirmación experimental de la seguridad observada en la bibliografía, se llevó a cabo el ensayo de biocompatibilidad en la composición de la presente invención, según la norma ISO-10993, y se confirmó la seguridad del producto, dado que, más allá de la seguridad conocido en la bibliografía, los ensayos describen un producto:

- que no irrita la mucosa intestinal,
- que no sensibiliza,
- 50 • que no es citotóxico
- que no es tóxico por administración oral aguda en concentraciones > 2.000 mg/kg.

#### 6. Experiencia clínica obtenida de pacientes informados afectados por el SII

55 Con la colaboración de especialistas médicos, se recopilaron estudios de casos sobre pacientes afectados por el síndrome del intestino irritable y a los que se administró la composición de la presente invención, según la guía y la práctica médica de los médicos colaboradores para las personas que participan en su estudio y que están afectadas por el síndrome del intestino irritable.

60 Sin interferir en la práctica médica, pero solicitando la colaboración del paciente con respecto a la diligencia de la terapia, se pidió a los pacientes que rellenaran los cuestionarios validados (Francis, 1997) para evaluar su respuesta al producto, además de la autorización para procesar los datos.

65 Los estudios de casos informaron sobre 6 semanas de tratamiento, según las siguientes indicaciones: 6 cp por día, divididos en 2 cp 1 hora antes del desayuno, 2 cp 1 hora antes del almuerzo y 2 cp 1 hora antes de la cena.

Después de la primera visita, se realizaron dos visitas de control después de 3 y 6 semanas. 44 pacientes participaron en el estudio, de los cuales 6 no completaron el período de tratamiento.

Estos se llevaron a cabo con composiciones tal como se ha descrito anteriormente:

5 El total diario hace entre 2.000 y 3.000 mg de la composición, tal como se describe en la parte detallada de la presente invención que comprende extracto de resina de incienso liofilizada, gel de hoja deshidratada de Aloe vera, extracto de flor de manzanilla liofilizada y melisa, más adyuvantes c. s. hasta 2.000-3.000 mg.

### 6.1 Procedimientos para evaluar los efectos clínicos de la composición de la presente invención

10 Las variaciones de la sintomatología gastrointestinal después de la administración de la composición se examinaron de dos maneras:

15 1) por medio de un diario que fue compilado por los pacientes durante el día anterior al inicio del tratamiento y posteriormente durante toda la duración del estudio con respecto al dolor abdominal y la distensión abdominal, calificados utilizando una escala ordinal de 1 a 5 puntos, y con respecto al intestino, notificando el número de defecaciones diarias. También se pidió a los pacientes que evaluaran, día a día, el grado de bienestar con respecto al sistema gastrointestinal al final de cada día con una puntuación de 1 a 5.

20 Este procedimiento hace posible seguir el desarrollo de la sintomatología paso a paso a lo largo del curso del tratamiento y se consideró bastante adecuado para este tipo de evaluación en revistas internacionales importantes sobre medicina interna y gastroenterología durante trabajos anteriores relacionados con la terapia de trastornos funcionales gastrointestinales. (New England Journal of Medicine, Gastroenterology, Alimentary Pharmacology and Therapeutics)

25 2) por medio del cuestionario de Francis (Francis CY, Morris J, Whorwell PJ. The irritable bowel severity score system: a simple method of monitoring irritable bowel syndrome and its progress. Aliment Pharmacol Ther 1997;11:395-402), que se rellenó 3 veces: antes de comenzar el tratamiento, después de un intervalo de, aproximadamente, tres semanas, y al final del tratamiento después de 6 semanas, y mediante el cuestionario SII 36 sobre la calidad de vida, rellenado al inicio y final del tratamiento.

30 También se pidió a todos los pacientes que emitieran una opinión subjetiva en la visita final (V3) sobre la eficacia de la terapia, sobre cualquier mejora en la calidad de vida, sobre la dificultad de tomar el producto y sobre la aparición de efectos secundarios y, por último, que declararan su deseo de continuar o no con la terapia que acababa de concluir.

35 Los cuestionarios de Francis y de calidad de vida rellenados durante este estudio fueron sujetos a evaluación estadística.

#### ***Evaluación mediante diario***

40 Las observaciones se llevaron a cabo en 20 pacientes afectados por el síndrome del intestino irritable a los que se administró el producto descrito en la fórmula general en la página 16 de forma abierta y no controlada, evaluando la sintomatología antes y después de la administración mediante la recopilación de un diario con evaluación final por parte del paciente.

45 Los pacientes examinados para los estudios de casos eran pacientes sin complicaciones físicas o mentales y sin otras patologías relevantes, y no estaban bajo tratamiento con antibióticos o no habían comenzado una nueva terapia.

#### ***Evaluación de los síntomas***

50 Los pacientes recopilaron un diario de manera diaria o semanal desde el día anterior al inicio del tratamiento y posteriormente durante toda la duración del estudio:

55 - evaluando el dolor abdominal y la distensión mediante una escala ordinal de 5 puntos, en la que:  
1 = sin síntomas, 2 = síntomas leves, 3 = síntomas de intensidad media, 4 = síntomas fuertes, 5 = síntomas muy fuertes  
- y notificando del número de defecaciones diarias.

60 A los pacientes también se les pidió que evaluaran diariamente el nivel de bienestar gastrointestinal al final de cada día utilizando una puntuación de 1 a 5 (1 = terrible, 5 = excelente); y, en la visita final (V6) para emitir una opinión final sobre la eficacia del tratamiento, sobre cualquier mejora en la calidad de vida, sobre la dificultad de tomar el producto y sobre la aparición de efectos secundarios, y también sobre la disponibilidad para repetir el tratamiento.

#### ***Análisis estadístico***

65 Se calcularon las puntuaciones promedio semanales para cada parámetro y se compararon con los valores del

período de base utilizando la prueba t de Student para datos emparejados.

### **Resultados**

5 De los 44 pacientes analizados, 16 recopilaron los diarios.

El análisis de los resultados demostró que tanto el dolor abdominal como la distensión abdominal se reducen significativamente en comparación con el período de control de base desde la cuarta semana de tratamiento hasta el final del tratamiento (figuras 5 y 6).

10 La evaluación subjetiva diaria del estado de bienestar gastrointestinal se mejora significativamente en comparación con el período de control de base desde la segunda semana hasta la sexta semana (figura 4).

15 El efecto sobre el número de defecaciones es insignificante. De hecho, el número de defecaciones pasó de  $1,86 \pm 1,14$  (promedio  $\pm$ DE) durante el período base a  $2 \pm 1,09$  después de 3 semanas y a  $1,78 \pm 1,13$  después de 6 semanas.

20 Dado que el número de pacientes tratados fue bajo, no fue posible establecer con certeza si existen diferencias entre los diversos tipos de síndrome del intestino irritable con estreñimiento, diarrea y mixto.

### **Evaluación mediante cuestionario de Francis y cuestionario de calidad de vida SII-36.**

Los pacientes eran los mismos pacientes que habían completado el diario, más otros seleccionados, según los mismos criterios descritos anteriormente, es decir, afectados por SII sin complicaciones adicionales.

25 El estudio de Francis ha demostrado que el dolor abdominal se reduce significativamente (evaluado mediante la prueba de chi cuadrado de Pearson) después de 3 semanas (-36,7 %) y después de 6 semanas (-60,3 %). De hecho, la población pasó gradualmente de puntuaciones correspondientes a molestias moderadas o graves (el 97 % al inicio comparado con el 32 % después de 6 semanas) a puntuaciones que indican que no hay molestias o molestias mínimas (el 3 % al comienzo comparado con el 68 % después de 6 semanas). Estos datos se muestran en las figuras 7 y 8, en las cuales se ilustran las variaciones de los síntomas relacionados con el dolor abdominal y las molestias relacionadas con el SII (T0, T3 y T6, que representan, respectivamente, el inicio, 3 semanas y 6 semanas de terapia) para la sintomatología con intensidad "grave", "media", "leve" y "normal" en la figura 7 y "grave + media" y "leve + normal" en la figura 8.

35 Se designaron las definiciones de grave, promedio, leve y normal, según el cuestionario de Francis de 1997 indicado anteriormente.

40 Además, los síntomas específicos del SII, tales como las molestias relacionadas con la defecación y las características de las heces, también pasaron de una intensidad "moderada o grave" a una intensidad "leve". Las heces se volvieron más "normales" y en particular se volvieron menos "duras" con una reducción en la "urgencia" para la excreción.

45 No hay una variación significativa con respecto a la pérdida de semanas de trabajo y semanas con dolor en el lugar de trabajo.

Los pacientes demostraron una buena aceptación del producto, que consideraron extremadamente o muy eficaz en el 57,9 % de los casos con una mejora significativa en la calidad de vida en el 57,9 % de los casos y sin experiencia de molestias o intolerancia en el 91,2 % de casos.

50 El 90 % de los pacientes quería continuar tomando el producto.

55 Con respecto a la puntuación observada en el cuestionario sobre la calidad de vida desarrollado específicamente para el SII, los resultados fueron bastante positivos. De hecho, la puntuación general del cuestionario cayó estadísticamente de manera significativa durante las 6 semanas de tratamiento, lo que demuestra una mejora en la calidad de vida.

### **Ensayo de mucoadhesividad de la composición de la presente invención y de su efecto protector sobre la mucosa intestinal con respecto al daño inducido por clorhidrato en una cámara Ussing**

60 El experimento se realizó con el fin de verificar los efectos de las sustancias ensayadas sobre la mucosa intestinal dañada artificialmente *ex vivo* (por ejemplo, ácido clorhídrico).

65 Se utilizaron 40 ratas Sprague Dawley macho que pesaban, aproximadamente, 200-250 g para el ensayo.

Las ratas se alojaron en jaulas que medían 160x270x440 mm (altura, anchura, longitud) bajo temperatura y

humedad controladas y un ciclo de luz/oscuridad con variación cada 12 horas.

Las jaulas se limpiaron y desinfectaron antes de su utilización, los animales recibieron una dieta estándar con gránulos y se distribuyó agua purificada *ad libitum*.

5 Se utilizó tampón de Krebs como reactivo: NaCl 115 mM de VWR International Ltd (BDH), KCl 8 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,25 mM, MgSO<sub>4</sub> (7H<sub>2</sub>O) 1,2 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 mM, D-glucosa 5,5 mM y NaHCO<sub>3</sub> 225 mM de Merck. El pH de la solución se controló utilizando HCl 1,0 N o utilizando NaOH 1,0 N de Merck, el pH se midió utilizando un electrodo (Medidor de pH estándar PHI82 de Radiometer Copenhagen).

10 El sistema de cámara Ussing EVC-4000 era de World Precision Instrument Inc.

La solución anestésica contenía un 10 % de Imalgene 1000 (clorhidrato de ketamina 100 mg/ml) y un 2,5 % de Rompun (clorhidrato de xilazina 23,32 mg), ambos de Bayer.

### 15 **Fundamento y tratamiento**

Se formaron 4 grupos de 8 ratas A, B, C, D, que contenían ratas no tratadas, ratas tratadas con 1,0 ml de solución salina por vía intragástrica, ratas tratadas con 1,0 ml (500 mg/kg de peso corporal) de la composición de la presente invención por vía intragástrica, y ratas tratadas con 1,0 ml de dexametasona (1 mg/kg de peso corporal) por vía intragástrica.

20 El grupo no tratado no se aisló para evitar daños en la mucosa relacionados con el estrés, mientras que en los otros casos los animales se aislaron para evaluar el daño a la mucosa, evitando la variable "alimento".

25 Los animales de los grupos A, B, C y D fueron privados de alimento durante 18 horas.

Se anestesiaron cuatro ratas por grupo 30 minutos después de la administración indicada anteriormente mediante inyección intraperitoneal y se mantuvieron en una atmósfera caliente.

30 Se diseccionó una muestra del duodeno de estas ratas y se montó entre las dos medias cámaras de la cámara de Ussing y se indujo el daño utilizando clorhidrato (pH 8.0; pH 5.5).

35 Se anestesiaron cuatro ratas por grupo 50 minutos después de la administración indicada anteriormente mediante inyección intraperitoneal y se mantuvieron en una atmósfera caliente.

Se diseccionó una muestra del íleon de estas ratas y se montó entre las dos medias cámaras de la cámara Ussing y se indujo el daño utilizando clorhidrato (pH 8.0; pH 6.5).

40 Se seleccionaron los valores de pH para el daño, según los ensayos realizados para la evaluación del daño a la mucosa, ya que el pH fisiológico del duodeno es de, aproximadamente, 7.35 en el duodeno y, aproximadamente, 8 en el íleon, el tiempo de tránsito de la composición de la presente invención se comprobó con anterioridad y alcanzó el duodeno, aproximadamente, 30 minutos después de la administración y alcanzó el íleon, aproximadamente, 50 minutos después de la administración.

### 45 **Preparación del tejido**

Se retiró el duodeno o el íleon de los animales anestesiados mediante incisión abdominal en los animales anestesiados y se colocó inmediatamente en tampón de Krebs con los valores de pH óptimos respectivos indicados anteriormente, el tampón se precalentó y se oxigenó. Posteriormente se tomó una muestra de, aproximadamente, 0,25 cm<sup>2</sup>.

50 Los segmentos muestreados se ensamblaron en las dos medias cámaras del sistema Ussing (apertura de 0,125 cm<sup>2</sup>). Se conectaron dos electrodos sensibles al voltaje y dos electrodos Ag-AgCl que pasaban corriente a la cámara de Ussing a través de puentes de agar.

La cámara ensamblada de este modo se colocó en un bloque que contenía un baño de agua que circulaba a 28 °C y las medias cámaras se llenaron con tampón de Krebs oxigenado desde ambos lados del tejido.

60 Los lados mucoso y seroso de la cámara se conectaron a tanques estériles que contenían 10 ml de tampón de Krebs oxigenado y se mantuvieron a 28° y se sometieron a un flujo de gas que contenía un 95 % de oxígeno y un 5 % de anhídrido carbónico.

Se añadió D-glucosa 5,5 mM en ambos lados.

65 Una vez que la membrana intestinal se montó en la cámara de Ussing, el sistema se estabilizó durante 10 minutos

para ensayar su función y la integridad de las membranas intestinales.

5 Se midió la ddp en mV a través de la membrana mucosa directamente, así como la corriente de cortocircuito, y estas se supervisaron durante 15 minutos, a la vez que la resistencia transmembrana se calculó en  $\text{ohm} \times \text{cm}^2$  utilizando la ley de Ohm.

Los tanques se vaciaron y se rellenaron con tampón de Krebs que tenía un pH de 5.5 para el duodeno y un pH de 6.5 para el íleon.

10 El sistema se estabilizó posteriormente durante 10 minutos y se midieron durante 15 minutos los mismos parámetros indicados anteriormente.

El pH se controló tal como se ha descrito anteriormente.

15 Dado que el ácido clorhídrico causa daños mecánicos a la integridad de la mucosa, el mantenimiento de la integridad de la mucosa en condiciones ácidas es directamente proporcional al efecto protector mecánico del producto analizado ("mecánico" significa un efecto que no es farmacológico, inmunológico o metabólico).

20 Los datos se notifican como un promedio  $\pm$  DE. La comparación se realizó mediante la prueba de la t de Student y la significación fue \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

Los grupos se compararon de la siguiente manera:

25 El grupo de control B se analizó en relación con el grupo A sin estrés para verificar si el estrés por sí solo era responsable del daño o de una mayor sensibilidad al daño inducido de la mucosa.

Los grupos C y D se compararon con el grupo B para verificar si el producto administrado era protector o no de la mucosa en las ratas estresadas y con daño inducido en comparación con el grupo de control, que fue simplemente con estrés.

### 30 **RESULTADOS**

#### Grupo A (no tratado, alimentado y no aislado - SIN ESTRÉS)

35 El experimento descrito anteriormente en la cámara de Ussing se llevó a cabo para evaluar la resistencia de la mucosa intestinal de ratas no tratadas, sin aislamiento, utilizando el protocolo anterior.

Los resultados obtenidos muestran que el valor promedio de resistencia del duodeno en condiciones fisiológicas con tampón de Krebs al pH fisiológico indicado anteriormente fue de  $87,0 \pm 23,9 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$

40 Después de la inducción del daño con tampón de Krebs a pH 5.5, la resistencia demostró un valor promedio de  $71,4 \pm 20,7 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

El valor promedio de resistencia del íleon en condiciones fisiológicas con tampón de Krebs al pH fisiológico indicado anteriormente fue de  $68,1 \pm 20,9 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

45 Después de la inducción del daño con tampón de Krebs a pH 6.5, la resistencia demostró un valor promedio de  $58,7 \pm 22,7 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$

50 Por lo tanto, la máxima protección es a un pH fisiológico, y la mucosa no tratada también parece tener un potencial de protección probablemente causado por los alimentos y por la mucosidad protectora presente en la mucosa sin estrés.

#### Grupo B (ratas aisladas - ESTRÉS - tratadas solo fisiológicamente, control)

55 Llevando a cabo el experimento descrito anteriormente en la cámara de Ussing, los resultados obtenidos muestran que:

El valor promedio de resistencia del duodeno en condiciones fisiológicas con tampón de Krebs al pH fisiológico indicado anteriormente fue de  $73,0 \pm 8,7 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

60 Después de la inducción del daño con tampón de Krebs a pH 5.5, la resistencia demostró un valor promedio de  $62,0 \pm 8,8 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

El valor promedio de resistencia del íleon en condiciones fisiológicas con tampón de Krebs al pH fisiológico indicado anteriormente fue de  $51,5 \pm 4,3 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

65 Después de la inducción del daño con tampón de Krebs a pH 6.5, la resistencia demostró un valor promedio de 44,9

$\pm 4,7 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

5 Por lo tanto, estos datos muestran que solo la presencia de estrés, un factor que también está presente en el SII, es suficiente para reducir considerablemente la protección natural que presenta una mucosa intestinal sana (valores antes del tratamiento a pH ácido) y que la resistencia de la mucosa se reduce en unos significativos 9 puntos en el duodeno y en 7 puntos en el íleon después del tratamiento con ácido con significación estadística, en comparación con el grupo A (sin estrés) de  $**p < 0,01$  para los valores observados en el duodeno y de  $***p < 0,001$  para los valores observados en el íleon después de la inducción del daño.

10 Grupo C (ratas aisladas - ESTRÉS - tratadas con la composición, según la presente invención)

Llevando a cabo el experimento descrito anteriormente en la cámara de Ussing, los resultados obtenidos, notificados para el compuesto, según la composición 1 y comparables con los datos obtenidos con las otras composiciones de ejemplo, muestran que:

15 El valor promedio de resistencia del duodeno en condiciones fisiológicas con tampón de Krebs al pH fisiológico indicado anteriormente fue de  $79,1 \pm 6,9 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

20 Después de la inducción del daño con tampón de Krebs a pH 5.5, la resistencia demostró un valor promedio de  $69,0 \pm 4,1 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

El valor promedio de la resistencia del íleon en condiciones fisiológicas con tampón de Krebs al pH fisiológico indicado anteriormente fue de  $51,4 \pm 7,9 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

25 Después de la inducción del daño con tampón de Krebs a pH 6.5, la resistencia demostró un valor promedio de  $46,1 \pm 7,7 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ , lo que indica que se conservó la actividad de barrera fisiológica del tejido.

Este grupo demuestra una resistencia previa al daño en línea con el grupo de control B, la resistencia duodenal es significativamente mayor en este grupo en comparación con el grupo de control B  $***p < 0,001$ , mientras que, sin embargo, la mayor resistencia observada en el íleon no es estadísticamente significativa.

30 Grupo D (ratas aisladas - ESTRÉS - tratadas con dexametasona)

Llevando a cabo el experimento descrito anteriormente en la cámara de Ussing, los resultados obtenidos muestran que:

35 El valor promedio de resistencia del duodeno en condiciones fisiológicas con tampón de Krebs al pH fisiológico indicado anteriormente fue de  $50,4 \pm 13,9 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

40 Después de la inducción del daño con tampón de Krebs a pH 5.5, la resistencia demostró un valor promedio de  $48,0 \pm 12,7 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

El valor promedio de resistencia del íleon en condiciones fisiológicas con tampón de Krebs al pH fisiológico indicado anteriormente fue de  $50,6 \pm 13,4 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ .

45 Después de la inducción del daño con tampón de Krebs a pH 6.5, la resistencia demostró un valor promedio de  $39,7 \pm 8,1 \text{ ohm} \times \text{cm}^2$ , lo que indica que se redujo la actividad de barrera fisiológica del tejido.

El grupo con dexametasona demostró una integridad duodenal reducida, incluso a pH fisiológico, probablemente debido al daño gástrico causado por las cortisonas; sin embargo, la integridad de la mucosa no se redujo drásticamente después del tratamiento con ácido, ya que la mucosa ya estaba muy dañada.

50

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Composición para su utilización en el tratamiento y/o la prevención del síndrome del intestino irritable, que comprende resinas y/o extractos de las mismas, polisacáridos y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos, antioxidantes y/o extractos de plantas que comprenden antioxidantes, en la que dichas resinas o extractos de las mismas se seleccionan entre el grupo de incienso, mirra, dichos polisacáridos se seleccionan entre polisacáridos extraídos de aloe vera, manzanilla, altea, dichos extractos de plantas que comprenden polisacáridos se seleccionan entre extractos de aloe vera, manzanilla, altea, dichos antioxidantes se seleccionan entre los antioxidantes extraídos de manzanilla, melisa y dichos extractos de plantas que contienen antioxidantes se seleccionan entre extractos de manzanilla, melisa y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 10 2. Composición para su utilización, según la reivindicación 1, en la que dichas resinas y/o extractos de las mismas están en un porcentaje en peso del 30 al 60 %.
- 15 3. Composición para su utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que dichos polisacáridos y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos están en un porcentaje en peso del 12 al 22 %.
- 20 4. Composición para su utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dichos antioxidantes y/o extractos de plantas que comprenden antioxidantes están en un porcentaje en peso del 35 al 65 %.
- 25 5. Composición para su utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dichas resinas y/o extractos de las mismas están en un porcentaje en peso del 30 al 60 %, en la que dichos polisacáridos y/o extractos de plantas que comprenden polisacáridos están en un porcentaje en peso del 12 al 22 % y en la que dichos antioxidantes y/o extractos de plantas que comprenden antioxidantes están en un porcentaje en peso del 35 al 65 %.
- 30 6. Composición para su utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en forma de cápsula, comprimido, pastilla, gránulo, polvo, jarabe, elixir, gelatina dura, gelatina blanda, suspensión, emulsión, solución.
7. Composición para su utilización, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que dicha composición es una composición farmacéutica, está comprendida en un dispositivo médico o consiste en el mismo, está comprendida en un suplemento dietético o consiste en el mismo, o está comprendido en un alimento médico.

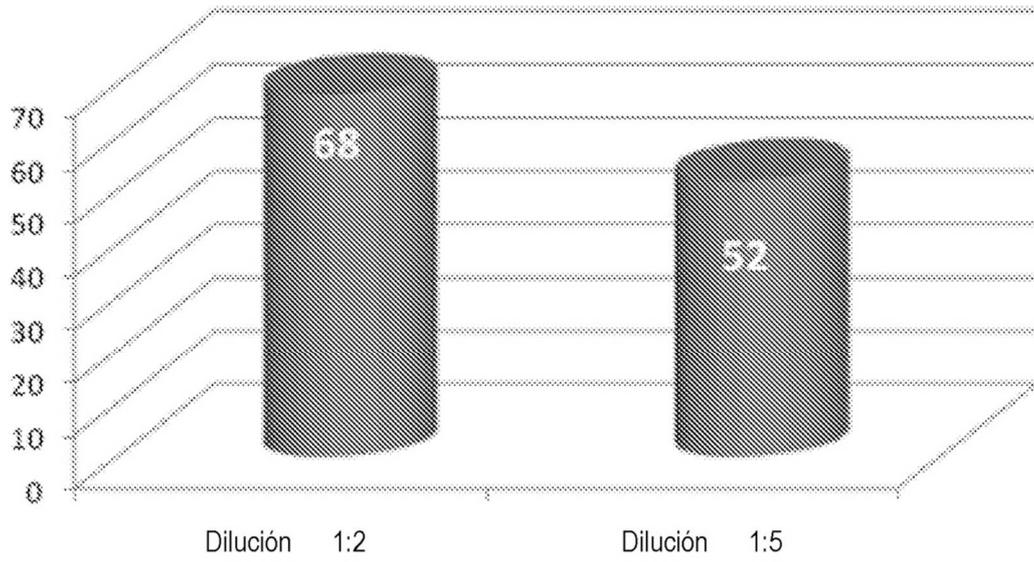


Fig.1

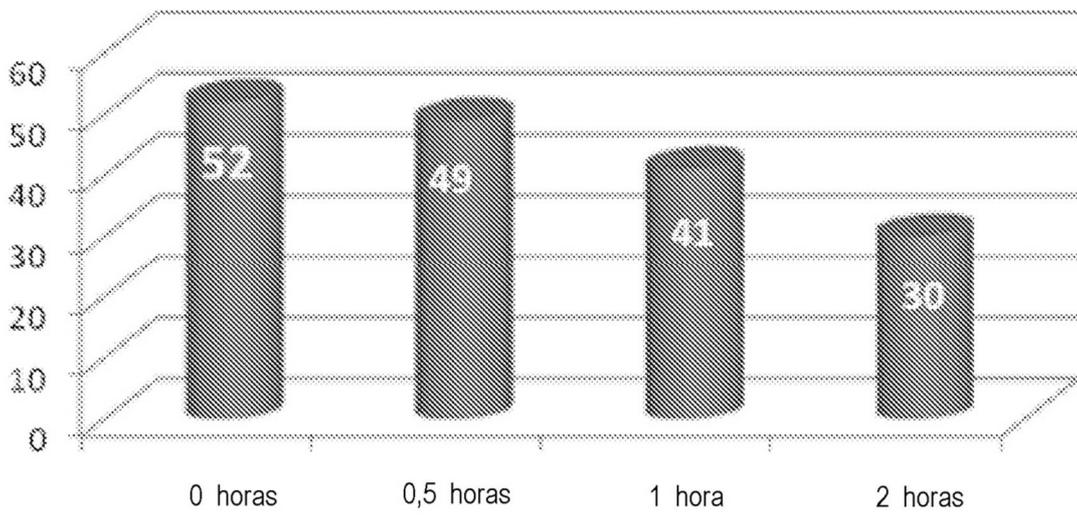


Fig.2

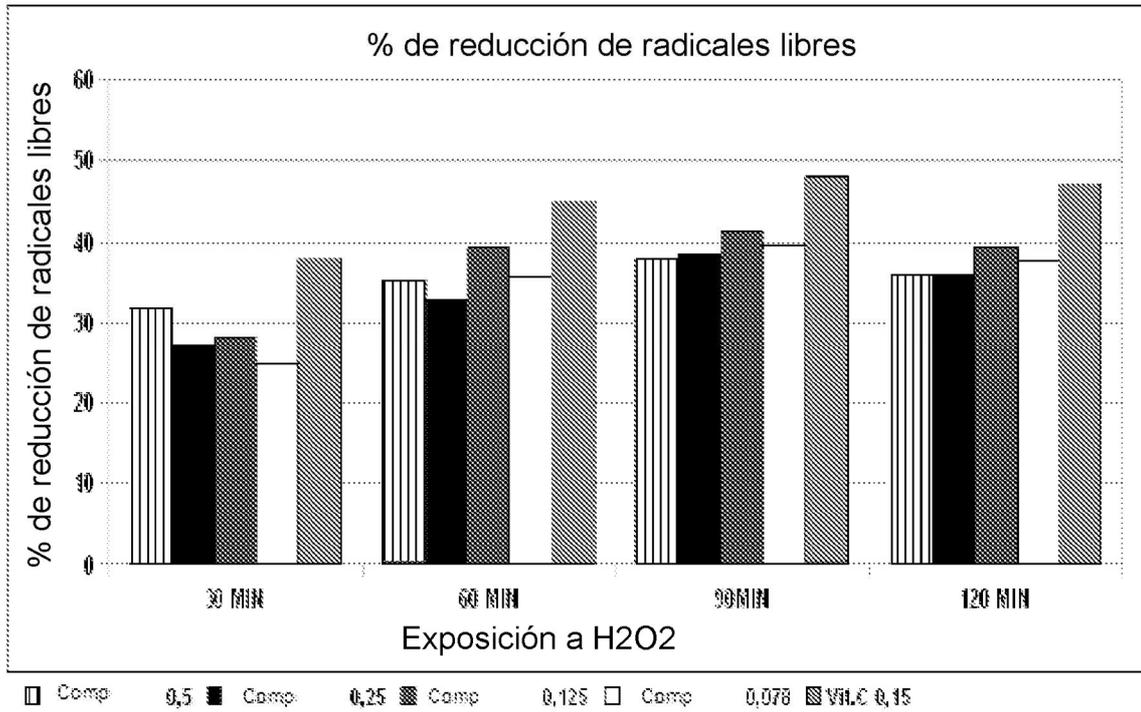


Fig. 3

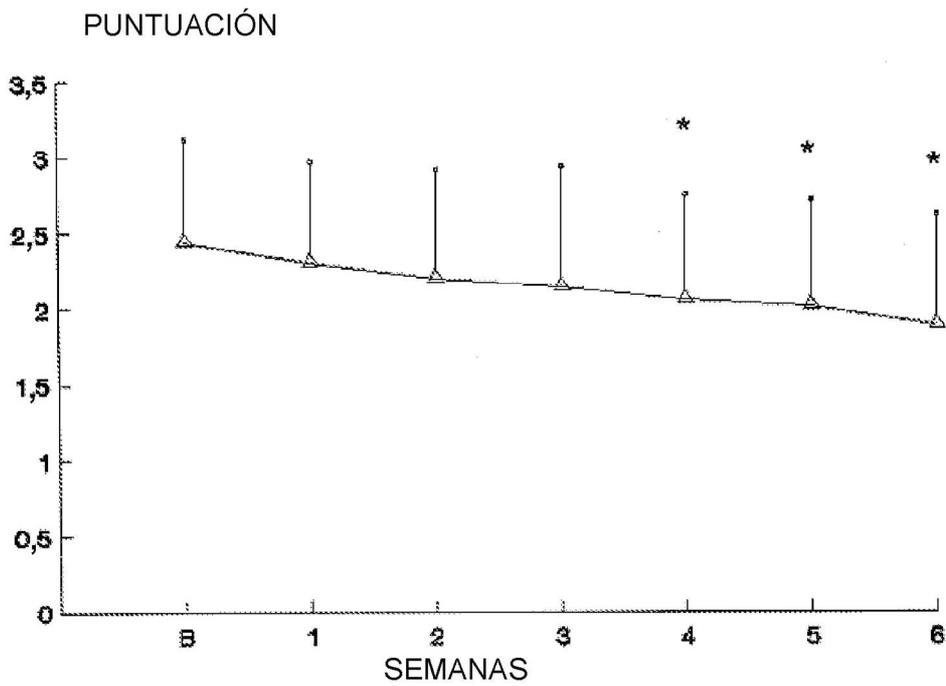


Fig. 4

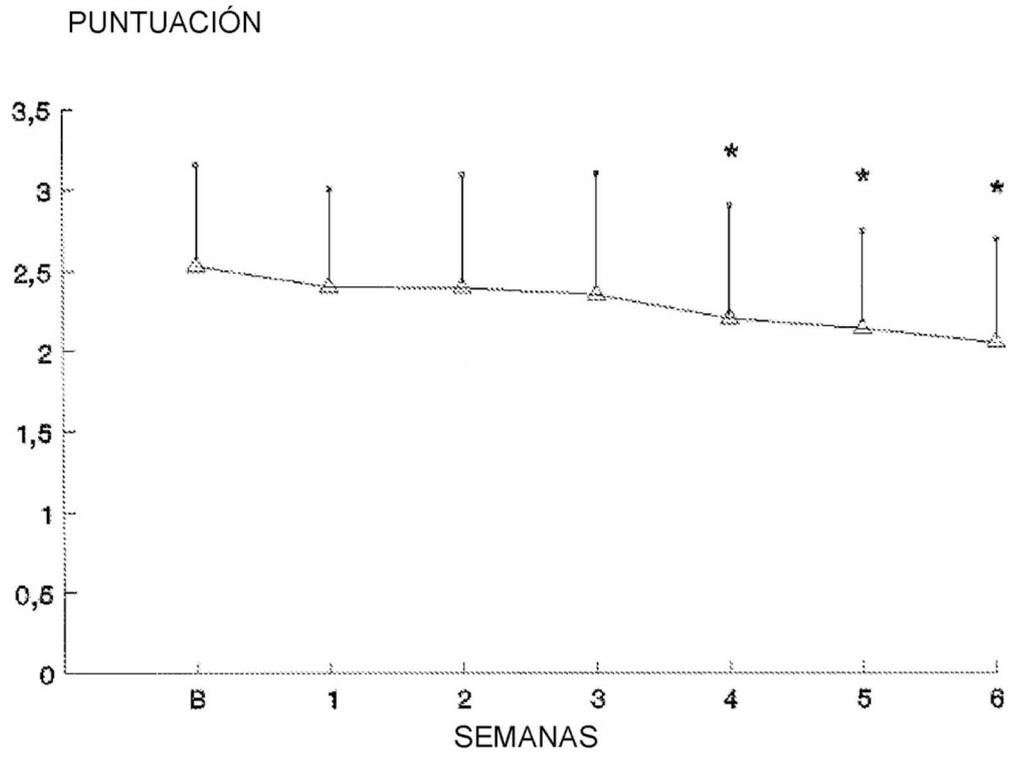


Fig. 5

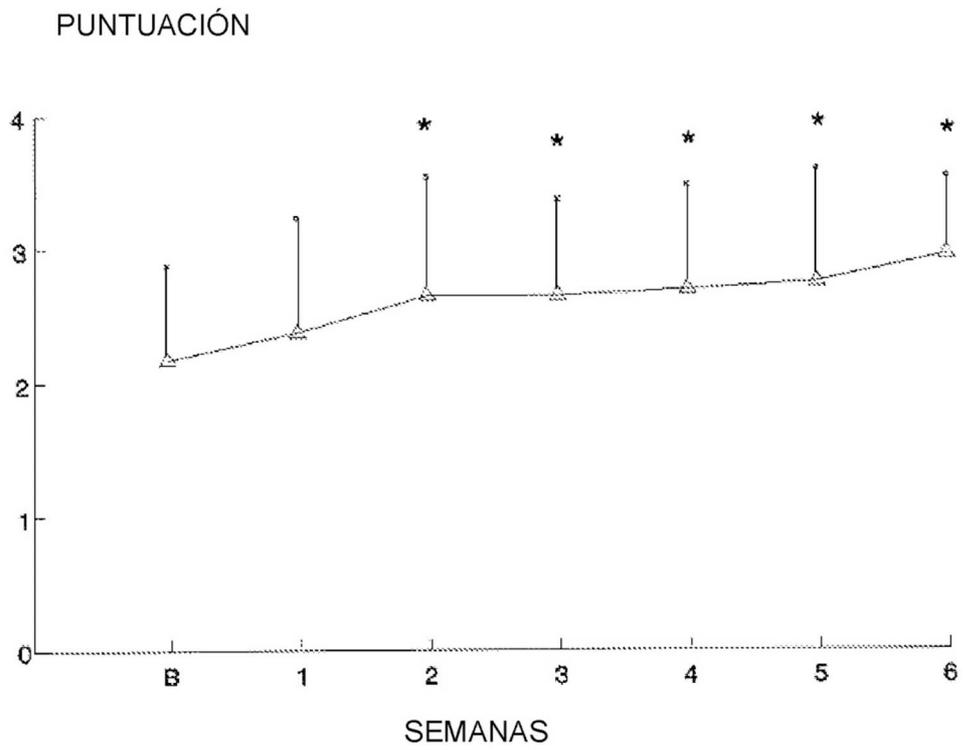


Fig. 6

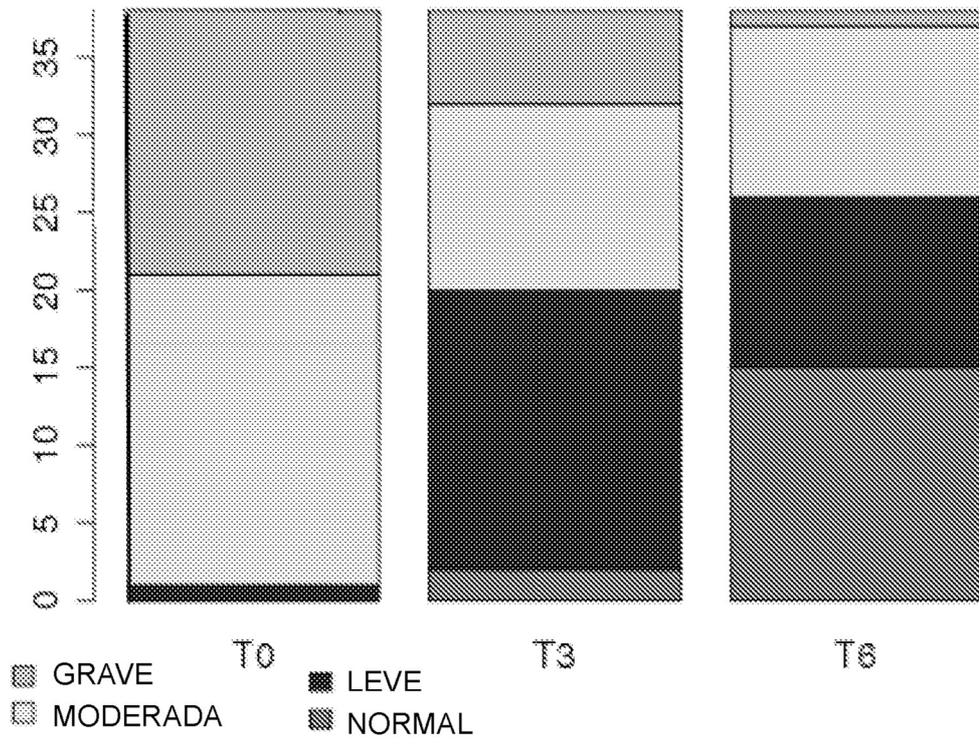


Fig. 7

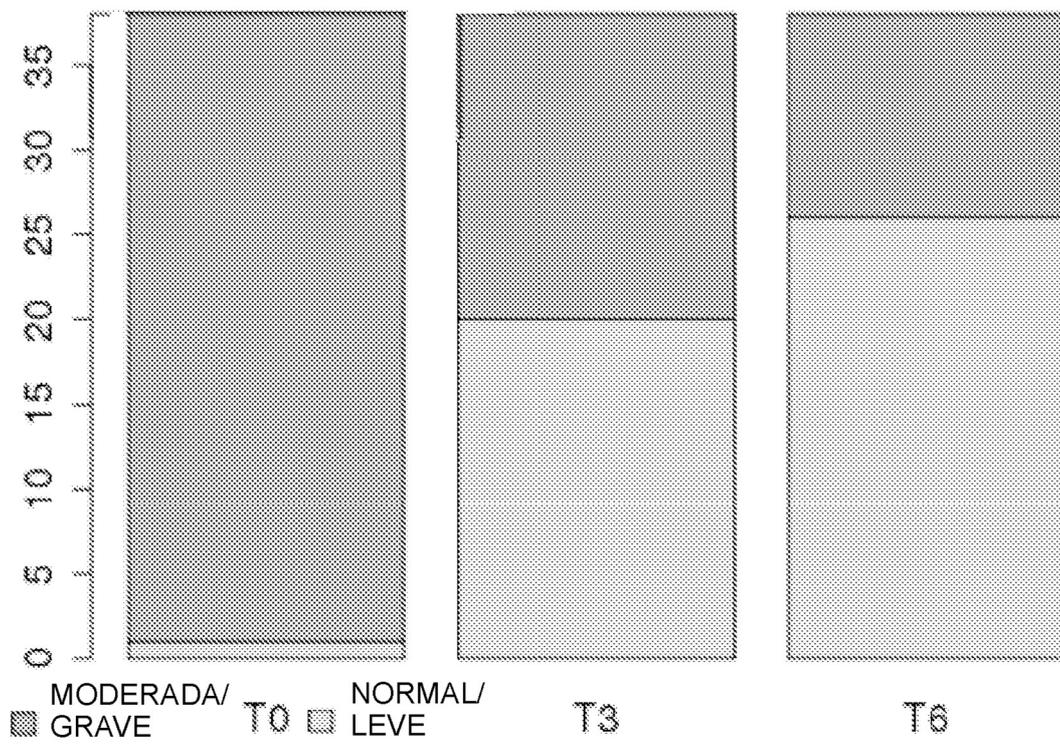


Fig. 8