

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 761 636**

51 Int. Cl.:

A61K 31/56 (2006.01)
A61K 47/30 (2006.01)
A61K 31/60 (2006.01)
C08G 18/62 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.05.2016 PCT/US2016/030682**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.11.2016 WO16179227**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2016 E 16789978 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2019 EP 3291818**

54 Título: **Composiciones y métodos para suministro de agentes terapéuticos en el colon**

30 Prioridad:

04.05.2015 US 201562156682 P

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

20.05.2020

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND
STANFORD JUNIOR UNIVERSITY (100.0%)
Office of the General Counsel, Building 170, Third
Floor, Main Quad, P.O. Box 20386
Stanford, CA 94305-2038, US**

72 Inventor/es:

**SINHA, SIDHARTHA RANJIT;
RAJADAS, JAYAKUMAR;
HABTEZION, AIDA y
PAMNANI, RAVINDER D.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 761 636 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

Composiciones y métodos para suministro de agentes terapéuticos en el colon

5 Investigación patrocinada por el gobierno federal

Esta invención se realizó con el apoyo del gobierno conforme al contrato DK007056 otorgado por los Institutos Nacionales de la Salud. El gobierno tiene determinados derechos en la invención.

10 Campo de la invención

La invención se refiere a composiciones de enema que contienen corticosteroides o derivados de ácido salicílico. Las composiciones son líquidas a temperatura ambiente pero se transforman en geles a temperatura corporal. Resultan útiles para tratamiento de enfermedades intestinales inflamatorias.

15 Antecedentes de la invención

La enfermedad intestinal inflamatoria (IBD) es un trastorno crónico incurable que según se piensa se debe a una respuesta inmunológica exagerada a los microbios intestinales en una persona genéticamente predispuesta. Aproximadamente 1,5 millones de norteamericanos sufren de enfermedad intestinal inflamatoria (IBD) – ya sea, la enfermedad de Crohn (CD) o colitis ulcerosa (UC) – y la prevalencia se encuentra en aumento a nivel mundial. Ambas enfermedades son afecciones recurrentes, permanentes que requieren inducción continuando con terapia de mantenimiento. Los pacientes con IBD sufren frecuentemente de muchos síntomas debilitantes, tales como diarrea sanguinolenta y dolor abdominal, y se encuentran en riesgo cada vez mayor de contraer cáncer colorrectal, particularmente con una enfermedad no controlada.

Las terapias sistémicas y tópicas (que se aplican directamente a la mucosa colónica) existen. Las terapias sistémicas actuales tales como agentes anti-TNF, inmunomoduladores, y esteroides, mientras que resultan efectivos, tienen muchos efectos secundarios potenciales y conocidos, incluyendo riesgo de infecciones aumentado y neoplasias. Las terapias tópicas que se suministran de manera rectal se recomiendan como tratamientos de primera línea, dada su eficacia y efectos secundarios reducidos en comparación con los fármacos sistémicos. Las terapias tópicas son efectivas para el tratamiento de brotes agudos así como para el mantenimiento de la remisión en muchos pacientes. De hecho, aproximadamente la mitad de pacientes con IBD pueden beneficiarse de la terapia tópica por sí sola, ya que el 66% de pacientes con UC y el 14% de pacientes con CD tienen la enfermedad solamente en el colon distal y el recto, respectivamente.

La base de la terapia tópica es el enema. A pesar de sus ventajas, los pacientes con colitis distal activa (aquellos que más se beneficiarían) son frecuentemente incapaces de tolerar enemas debido a la urgencia/espasmo y la incapacidad asociada con la retención de una solución líquida para la dosis recomendada y el marco de tiempo (una o dos veces por día, retención durante 1-3 horas). Como un vehículo para agentes terapéuticos, los enemas líquidos son efectivos para alcanzar todas las áreas del colon donde se puede presentar inflamación. Sin embargo, los enemas líquidos presentan la mayor dificultad de retención en el tiempo para el paciente, dada la urgencia casi inmediata de tener un movimiento intestinal una vez que se presenta el líquido. La retención del líquido es importante con el fin de maximizar el tiempo del agente terapéutico para difundir el líquido del enema vehicular a la pared de mucosa del tracto digestivo. El intervalo de tiempo requiere normalmente varias horas, mientras que la urgencia de evacuar el propio intestino durante un enema líquido es normalmente inmediata (5-10 minutos). Las alternativas con respecto a los enemas para terapia tópica incluyen preparaciones de espuma o de supositorios. Estas opciones tienden a facilitar la retención pero tienen la desventaja marcada de resultar incapaces de alcanzar áreas proximales del colon izquierdo que resultan accesibles con un enema. A pesar de la eficacia de terapias tópicas, la adherencia permanece extremadamente baja debido a la inconveniencia e incomodidad que se asocian con las opciones existentes. Los tratamientos actuales para pacientes con IBD, mientras que son ciertamente beneficiosos, dejan escapar oportunidades de mejora significativas, particularmente para terapias tópicas que son tan efectivas como los enemas para colitis que incluyen el colon proximal, pero que son más tolerables y mantienen los efectos secundarios sistémicos a nivel bajo.

Se hace referencia a estos documentos de la técnica anterior:

– US 2004/191276 A1

60 – KIM, DW ET AL.: "The Influence of Bile Salt on the Chemotherapeutic Response of Docetaxel-Loaded Thermosensitive Nanomicelles.", INTERNATIONAL JOURNAL OF NANOMEDICINE., vol. 9, nro. 1, 8 de agosto, 2014 (2014-08-08), páginas 3816-3824, XP055329473.

Sumario de la invención

65 En un aspecto, la invención se refiere a una composición de enema que comprende:

- a. un copolímero en bloque no iónico o mezcla de polímeros que consiste en bloques de polietilenglicol y polipropilenglicol;
- b. un fosfolípido o mezcla de fosfolípidos;
- c. un corticosteroide; y
- d. agua;

5

10 en la que la concentración del copolímero en bloque no iónico o mezcla de polímeros es de 200 a 400 g/l, la concentración del fosfolípido o mezcla de fosfolípidos es de 0,04 a 4 g/l; la concentración del corticosteroide es de 0,05 a 5 g/l (todo en base a la composición total); y el resto del volumen comprende agua; de manera tal que un gel que comprende los componentes a-d exhibe una temperatura de transición de gel de entre 32 y 38 grados C.

15 En un segundo aspecto, la invención se refiere a la composición de enema que comprende:

- a. un copolímero en bloque no iónico o mezcla de polímeros que consiste en bloques de polietilenglicol y polipropilenglicol;
- b. un fosfolípido o mezcla de fosfolípidos;
- c. un derivado de ácido salicílico; y
- d. agua;

20

25 en la que la concentración de dicho copolímero en bloque no iónico o mezcla de polímeros es de 100 a 300 g/l de dicha composición, la concentración de dicho fosfolípido o mezcla de fosfolípidos es de 4 a 40 g/l; la concentración de dicho derivado de ácido salicílico es de 50 a 100 g/l; y el resto del volumen comprende agua;

30 de manera tal que un gel que comprende dichos componentes a-d exhibe una temperatura de transición de gel de entre 32 y 38 grados C.

35 En otro aspecto, la invención se refiere a un método para tratar la enfermedad intestinal inflamatoria que comprende la administración de una composición de enema según se describe anteriormente.

Descripción detallada de la invención

40 Dadas las cuestiones que se conocen en cuanto a la retención de enemas líquidos y las limitaciones de supositorios y espumas, se ha desarrollado una composición de enema termosensible que tiene las ventajas del enema líquido (mayor suministro proximal) pero sin las cuestiones de retención que se asocian con líquidos. Brevemente, esto se cumple mediante una composición que es un líquido a temperaturas más frías, cercanas a la temperatura ambiente (23 °C) y, que se transforma luego en un gel viscoso a temperatura más cercana a la corporal (37 °C). Un componente de la composición es un copolímero tensioactivo no iónico que consiste en polietilenglicol hidrófilo y bloques de polipropilenglicol hidrófobo. A medida que la temperatura aumenta, los copolímeros forman micelas y a mayores temperaturas, se forma una matriz de gel polimérica.

45

50 La composición de enema que se describe anteriormente en algunas realizaciones contiene ya sea un copolímero tribloque de polietilenglicol y polipropilenglicol que tiene una masa molecular de polioxipropileno de aproximadamente 4.000 g/mol y aproximadamente 70% de contenido de polioxietileno o que tiene una masa molecular de polioxipropileno de aproximadamente 1.800 g/mol y aproximadamente 80% de contenido de polioxietileno. Los ejemplos que se disponen comercialmente de tales copolímeros en bloque de PEO/PPO son

Poloxámero	Peso molecular promedio	% en peso de oxietileno	No saturación, mEq/g
124	2090 a 2360	46,7 ± 1,9	0,020 ± 0,008
188	7680 a 9510	81,8 ± 1,9	0,026 ± 0,008
237	6840 a 8830	72,4 ± 1,9	0,034 ± 0,008
338	12700 a 17400	83,1 ± 1,7	0,031 ± 0,008
407	9840 a 14600	73,2 ± 1,7	0,048 ± 0,017

Los materiales que se disponen comercialmente pueden contener un antioxidante adecuado de manera adicional. La tabla anterior se extrae de http://www.newdruginfo.com/pharmacopeialusp28/v28230/usp28nf23s0_m66210.htm. Debido a que los copolímeros son mezclas complejas, estos se describen normalmente como que tienen un peso molecular promedio de “aproximadamente” x o una masa molecular de “aproximadamente” y g/mol o un contenido de PEG de “aproximadamente” 70%. Las personas expertas en la técnica reconocen que una mayor precisión no es simplemente práctica, y el uso del término “aproximadamente” en este contexto no es indefinido. Si se debe asignar un valor numérico, la mayoría de las personas expertas se encontrarían probablemente satisfechas (en base a las cifras anteriores) con $\pm 40\%$ para el peso molecular promedio o masa molecular, y $\pm 5\%$ para el porcentaje de contenido de monómero. El poloxámero 407 es un copolímero tribloque (PEO-PPO-PEO) con un peso molecular promedio de aproximadamente 12,5 kDa y una proporción PEO/PPO de aproximadamente 2:1 (Bohorquez et al., J Colloid Interface Sci 1999; 216:34-40).

En las realizaciones más convenientes, a saber, aquellas que no requieren refrigeración, el límite práctico más bajo para una temperatura de transición es de aproximadamente 25 °C, siendo posibles otras temperaturas de transición de 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C, 31°C, 32°C, 33°C, 34°C, 35°C o 36°C. De manera óptima, la composición cambia a un gel viscoso cerca de los 37 °C. La temperatura de transición para la formación de gel parece ser en alguna medida dependiente del sistema de medición que se usa para determinarla. La medición oscilatoria (por ejemplo, HAAKE RheoStress 6000, Thermo Fisher Scientific) proporciona una temperatura ligeramente más baja y una curva más definida en comparación con los métodos giratorios, debido a que la evaluación giratoria puede aumentar la temperatura de transición aparente si la rotación interrumpe la formación del gel. Se ha usado un reómetro de placas paralelas para nuestros estudios, pero la temperatura que define la transición de gel para el propósito de las reivindicaciones debería determinarse mediante medición oscilatoria. La temperatura de transición sol-gel se determina mediante la realización de mediciones oscilatorias a 1 rad.s⁻¹ mientras que la temperatura se aumenta a 2 °C.min⁻¹. La temperatura de transición sol-gel se determina mediante trazado de módulos de almacenamiento (G') como una función de la temperatura. Para el propósito de la invención inmediata, se definirá la temperatura de transición de gel como la temperatura en la que la pendiente de una curva de módulo de almacenamiento versus temperatura, que se mide a 1 Hz, excede 5 kPa por grado Celsius.

En algunas realizaciones, la composición de enema comprende de 100 a 400 g/l de copolímero. En otras realizaciones, la composición de enema comprende de 100 a 300 g/l del copolímero. En otras realizaciones, la composición de enema comprende de 200-400 g/l, 150-250 g/l, 250-350 g/l, 100-200 g/l, 200-300 g/l, 300-400 g/l, 100-150 g/l, 150-200 g/l, 200-250 g/l, 250-300 g/l, 300-350 g/l o 350-400 g/l.

En algunas realizaciones el fosfolípido o mezcla de fosfolípidos es uno o ambos de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC). Fosfolípidos preferidos son glicerofosfolípidos, tales como ácido fosfatídico, fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina (lecitinas), fosfatidilserina y fosfoinositidas. Las fosfatidilcolinas son particularmente preferidas.

En algunas realizaciones, el corticosteroide se elige a partir de budesonida, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona y prednisona. En algunas, el corticosteroide se elige a partir de budesonida e hidrocortisona. En los ejemplos a continuación, el corticosteroide es budesonida.

En una realización, la composición de enema se administra al menos a 30 grados C. En otra realización, la composición de enema se administra al menos a 25 grados C.

En una muy específica realización, la composición de enema consiste esencialmente en:

a. de 250 a 350 g/l de un copolímero tribloque de polietilenglicol y polipropilenglicol que tiene una masa molecular de polioxipropileno de aproximadamente 4.000 g/mol y aproximadamente 70% de contenido de polioxietileno;

b. de 0,1 a 1 g/l de una mezcla 1:1 de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC);

c. de 0,05 a 0,2 g/l de budesonida; y

d. el resto, agua.

En algunas realizaciones, el derivado de ácido salicílico se elige a partir de mesalazina, sulfasalazina, olsalazina y balsalazida. Se prefiere la mesalazina. La mesalazina (INN, BAN) se conoce también como mesalamina (USAN) o ácido 5-aminosalicílico (5-ASA).

En una realización muy específica, la composición de enema consiste esencialmente en:

a. de 150 a 250 g/l de un copolímero tribloque de polietilenglicol y polipropilenglicol que tiene una masa molecular de polioxipropileno de aproximadamente 4.000 g/mol y aproximadamente 70% de contenido de polioxietileno;

b. de 5 a 20 g/l de una mezcla 1:1 de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC);

5 c. de 60 a 80 g/l de mesalazina; y

d. el resto, agua.

10 Debido a que las composiciones de la invención son geles, se encuentran libres de propulsores (por ejemplo, gases de hidrocarburos) y libres de ingredientes que son necesarios para las espumas pero innecesarios para los geles. Normalmente, las composiciones que se describen en la presente se encuentran libres de estabilizadores de espuma y agentes espumantes tales como laurilsulfato de sodio, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, aceite de coco, carragenano, monoetanolamina esteárica, goma tragacanto, alginato, gelatina, CMC de sodio, polivinilglicol, glicerol, sorbitol, aceite de ricino hidrogenado, polisorbato 20, cocamidopropil betaína y glicéridos caprílicos/cápricos. La mayor comodidad y la capacidad de colocar un volumen mayor en comparación con otras modalidades puede proporcionar de manera adicional un cronograma de dosis menos frecuente.

20 Para evaluar la capacidad de las composiciones de enema para retención en el colon, se agregó 3% de azul de metileno a una formulación según se describe en la presente, y los enemas se administraron a ratones C57BL/6. Las composiciones de realización de la invención que contienen azul de metileno mostraron claramente mejor retención en comparación con el azul de metileno en soluciones de enema líquidos convencionales.

25 Se preparó una composición con budesonida (denominada "BPL" para budesonida, polímero, lípido) de acuerdo con la invención. Contenidos: Budesonida 10 mg (0,1 mg/ml), poloxámero 407 30 g (solución al 30%), DSPC 20 mg (0,2 mg/ml) y DPPC 20 mg (0,2 mg/ml). Método: DSPC (1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina) (20 mg), DPPC (1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina) (20 mg) y budesonida (10 mg) se disolvieron en 5 ml de etanol en un matraz de fondo redondo. El disolvente se evaporó en un evaporador rotatorio para formar una película delgada en la superficie interna del matraz. La película se suspendió en agua (20 ml) y se sometió a sonicación durante 30 minutos para obtener una solución de liposoma. A esta se agregaron 30 g de poloxámero y el volumen se completó hasta 100 ml con agua a 4 °C. Esto se agitó durante 30 minutos, las burbujas de aire atrapado se retiraron por centrifugación, y la agitación continuó hasta que se obtuvo una solución homogénea. La budesonida se disolvió en suficiente solución para obtener una concentración de 0,1 mg/mL.

35 Se preparó además una composición con mesalazina (denominada "MPL" para mesalazina, polímero, lípido) Método: Fosfolípidos 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC) (50 mg), (CordenPharma), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC) (50 mg), (CordenPharma), y mesalazina (667 mg), (AK Scientific), se disolvieron en 30 ml de etanol en un matraz de fondo redondo. El etanol se evaporó en un evaporador rotatorio para formar una película delgada en la superficie interna de un matraz. La película se suspendió en agua (3,5 ml) y se sometió a sonicación durante 30 minutos para obtener una solución liposomal homogénea. Se agregó luego una solución que contenía 2 g de poloxámero en 5 ml de agua a los liposomas a 4 °C. La mezcla se agitó durante 30 minutos y las burbujas de aire atrapado se retiraron por centrifugación a 600 x g en centrífuga Heraeus Labofuge – 400. Se agregó agua (~1 ml) a 4 °C para que el volumen final de 10 ml obtuviera la concentración de 67 mg/ml. La agitación se continuó a 4 °C hasta que se obtuvo una solución homogénea (mesalazina-poloxámero-lípido, MPL). La solución final contenía mesalazina (67 mg/ml), fosfolípidos (10 mg/ml) y poloxámero (20% p/v) en agua.

45 Los fosfolípidos 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC) (50 mg), (CordenPharma), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC) (50 mg), (CordenPharma), y mesalazina (667 mg), (AK Scientific), se disolvieron en 30 ml de etanol en un matraz de fondo redondo. El etanol se evaporó en un evaporador rotatorio para formar una película delgada en la superficie interna de un matraz. La película se suspendió en agua (3,5 ml) y se sometió a sonicación durante 30 minutos para obtener una solución liposomal homogénea. Se agregó luego una solución que contenía 2 g de poloxámero en 5 ml de agua a los liposomas a 4 °C. La mezcla se agitó durante 30 minutos y las burbujas de aire atrapado se retiraron por centrifugación a 600 x g en centrífuga Heraeus Labofuge – 400. Se agregó agua (~1 ml) a 4 °C para que el volumen final de 10 ml obtuviera la concentración de 67 mg/ml. La agitación se continuó a 4 °C hasta que se obtuvo una solución homogénea (mesalazina-poloxámero-lípido, MPL). La solución final contenía mesalazina (67 mg/ml), fosfolípidos (10 mg/ml) y poloxámero (20% p/v) en agua.

50 Se preparó además otra composición de mesalazina con 6,6% de mesalazina en un volumen total de 60 ml. Método: diez gramos de poloxámero 407 (0,79 mmol) se fundieron a 60 °C en estado puro y se agregaron 0,3 g de DSPC (0,77 mmol) continuando con 0,3 g de DPPC (0,4 mmol). La mezcla se agitó y se añadieron 4 g de ácido 5-aminosalicílico (26,12 mmol). La mezcla se agitó con agitación mecánica durante aproximadamente 1 hora, luego se enfrió a 4 °C. Se añadieron sesenta ml de agua desionizada y la mezcla se agitó a 4 °C durante la noche. El líquido resultante exhibió una temperatura de transición de 32-33 °C.

55 La formulación anterior puede expandirse a un volumen total de 100 ml con la misma masa total de fármaco (4 g para mesalazina, 6 mg para budesonida). Las concentraciones son, por supuesto, más bajas en las soluciones de volumen de 100 ml, pero continúan siendo efectivas Para la mesalazina, la concentración sería de 40 mg/ml, y para la budesonida, sería de 0,06 mg/ml.

Se realizaron estudios en animales de BPL en un modelo de colitis bien establecido, sulfato sódico de dextrano (DSS) (que se administra oralmente), en ratones C57BL/6. Se agregó DSS al agua potable y se suministró diariamente a partir del día 0. Los ratones recibieron tratamientos con enema el día 4 y el día 6. Se registraron los pesos diarios, ya que el peso es una de las métricas más comúnmente usadas para determinar la respuesta al tratamiento en modelos de colitis. El grupo BPL demostró mejoras versus controles de agua y polímero, y también con respecto a la budesonida líquida (BL), según se evidencia por una menor pérdida de peso en comparación con el peso corporal original. Estos resultados se replicaron en dos experimentos adicionales en un total de cincuenta ratones. Además del peso, se midió también la longitud del colon después del tratamiento para todos los ratones. Los ratones que se trataron con BPL tenían cólones más largos (con heces endurecidas bien formadas) en comparación con otros grupos de tratamiento y de control. La histopatología de secciones de cólon extraídos de ratones mostró infiltrado de leucocitos reducido y una arquitectura epitelial más conservada en ratones BPL en comparación con otros grupos.

A continuación, se realizaron experimentos para establecer la cinética de retención y la distribución proximal de BPL en comparación con un enema de tratamiento líquido convencional (BL). Para confirmar que los enemas con BPL tendrán una distribución proximal similar a BL, se suministraron enemas normalizados con contraste de bario a ratones tanto sanos como con colitis inducida por DSS. Los ratones se visualizaron luego con tomografía computarizada a intervalos predeterminados (a 0,5, 1,5 y 3 horas) para evaluar la distancia retrógrada máxima alcanzada por el enema. Se demostró que BPL tiene una mejor distribución retrógrada en comparación con BL tanto en ratones sanos como en ratones con colitis. De manera adicional, para determinar la posible mucoadhesividad de BPL versus BL se utilizó software de imágenes 3-D para evaluar el volumen de enema retenido en los mismos intervalos predeterminados. Nuevamente, el volumen de enema retenido en todos los puntos de tiempo medidos fue sustancialmente mayor para BPL en comparación con BL tanto en ratones sanos como en ratones con colitis.

De manera similar a los experimentos con BPL, la formulación de MPL demostró mejora versus los controles de agua y polímero y también con respecto a la mesalazina líquida (ML) según se evidencia por una menor pérdida de peso en comparación con el peso corporal original. Estos resultados se replicaron en un experimento adicional con un total de 33 ratones. Los ratones que se trataron con MPL tenían cólones más largos en comparación con otros grupos de tratamiento y de control. La histopatología de secciones de cólon extraídos de ratones mostró mucosa más saludable en ratones MPL en comparación con otros grupos.

Para evaluar la solidez de la terapia en el tratamiento de la colitis de manera adicional, otro modelo de colitis IBD comúnmente usado – modelo de colitis inducida por ácido trinitrobencenosulfónico (TNBS), se usó también para evaluar las composiciones que se describen en la presente en ratones Balb/c. Se evaluaron BPL vs. BL y control de agua. Nuevamente, el grupo BPL recuperó peso más rápido en comparación con los otros dos grupos después de recibir enema de TNBS continuando con un solo tratamiento o enema de agua. Este experimento se repitió con resultados consistentes.

Debería comprenderse que además de los ingredientes que se mencionan anteriormente en particular, las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica de geles farmacéuticos.

Según se usa en la presente, las expresiones “tratamiento” “que trata”, o “paliativo” o “que mejora” se refieren a un enfoque para obtener resultados beneficiosos o convenientes incluyendo pero sin limitación un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Un beneficio terapéutico se alcanza con la erradicación o mejora de uno o más de los síntomas fisiológicos que se asocian con el trastorno subyacente de manera tal que se observa una mejora en el paciente, pese a que el paciente puede continuar afectado por el trastorno subyacente. Las composiciones pueden administrarse a un paciente si se informa que presenta uno o más de los sistemas fisiológicos de enfermedad intestinal inflamatoria, aunque no se haya realizado un diagnóstico de esta enfermedad.

Materiales y métodos

Los ratones C57BL/6 se compraron de Taconic (Hudson, NY) y se alojaron durante una semana antes de los experimentos. Los ratones Balb/c se compraron de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME) y se criaron internamente para estudios de colitis TNBS. El cuidado y el uso de animales se realizaron de acuerdo con las pautas de los Institutos Nacionales de Salud y fueron aprobados por los comités institucionales para el cuidado y el uso de animales de la Universidad de Stanford.

El módulo de cizalla y la viscosidad de termogeles de copolímero se midieron con un reómetro Ares® (Rheometric Scientific®) equipado con un horno para control preciso de la temperatura en una geometría de placas paralelas. Se realizaron mediciones de barrido de frecuencia (0,5 - 200 rad/s) para cada temperatura, manteniendo una tensión constante del 1%.

Los ratones C57BL/6 recibieron sal de sodio de sulfato de dextrano al 2% (p/v) (36,000-50,000 M.W.; MP Biomedicals, LLC; Solon, OH) en agua potable durante la duración del experimento. Los ratones se pesaron diariamente y se evaluaron en cuanto a la presencia de heces sanguinolentas, diarrea y salud general. Se administraron enemas de tratamiento (BPL, BL) y de control (agua, polímero solamente) el día 4 y el día 6. Los

ratones anestesiados con isoflurano recibieron rectalmente 150 µl de solución indicada a través de una jeringa con cierre Luer de 1 ml que se fija a la aguja 23G y entubado de polietileno (O.D. 0,048 pulgadas), con tubo insertado ~2 cm. Los animales se sacrificaron en el día 9 o antes si se encontraban moribundos o si su pérdida de peso superaba el 20%.

5 Los ratones Balb/c se anestesiaron con ketamina y se trataron rectalmente con 2 mg de ácido picrilsulfónico (solución de ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico; Sigma-Aldrich; St. Louis, MO) en un volumen de 100 µl, según se describe anteriormente para inducir colitis TNBS. Los ratones de control recibieron 100 µl de vehículo (etanol al 40%). Al día siguiente (día 1) los ratones se anestesiaron con isoflurano y recibieron enemas de tratamiento o de control de 150 µl, como con el modelo de colitis DSS. Los animales se pesaron y se evaluaron diariamente y se sacrificaron en caso de pérdida del 20% de peso corporal o antes.

15 Para la evaluación histológica, los segmentos de colon de 1 cm más distales se fijaron en parafina integrada regulada con formalina al 10%, y se seccionaron para tinción con hematoxilina y eosina. La histopatología se calificó de forma ciega según se describe por Ostanin et al. "T cell transfer model of chronic colitis: concepts, considerations, and tricks of the trade." Am. J. Physiology. Gastrointestinal and liver physiology 296, G135-146 (2009).

20 Los análisis estadísticos se realizaron utilizando software Prism (GraphPad Software; San Diego, CA) y las pruebas estadísticas que se emplearon se indican en las figuras, con valores $p < 0,05$ considerados como significativos.

25 Para la obtención de imágenes de CT, los ratones C57BL/6 recibieron agua que contenía DSS al 2% (p/v) y el día 6 (cuando aparecen heces sanguinolentas) recibieron la administración de 150 µl de enemas BPL o BL que contenían suspensión de sulfato de bario al 5% (v/v) (E-Z-EM, Inc.; Lake Success, Nueva York). El tubo de enema se insertó de manera normalizada con inserción entre 0,5 y 1,0 cm. Los animales fueron fotografiados en el Inveon PET-CT con escáner CT de campo grande (Siemens Medical Solutions USA, Inc.; Hoffman Estates, IL) en el Stanford Center for Innovation in In-Vivo Imaging (Stanford, CA). Se calcularon la distancia retrógrada y el volumen de enema.

30 Los estudios en animales sugieren que los inhibidores que se aplican tópicamente del factor de necrosis tumoral (TNF)- α mejoran la severidad de la colitis en modelos animales. Las concentraciones adecuadas de (TNF)- α podrían formularse de manera análoga a las de budesonida y mesalazina.

35 A pesar de que esta invención es susceptible de realización en muchas formas diferentes, se muestran las realizaciones preferidas de la invención. Sin embargo, debería comprenderse que la presente divulgación debe considerarse como un ejemplo de los principios de esta invención y no pretende limitar la invención a las realizaciones que se ilustran.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de enema que comprende:

- 5 a. un copolímero en bloque no iónico o mezcla de polímeros que consiste en bloques de polietilenglicol y polipropilenglicol;
- b. un fosfolípido o mezcla de fosfolípidos;
- 10 c. un corticosteroide; y
- d. agua;

en la que

- 15 la concentración de dicho copolímero en bloque no iónico o mezcla de polímeros es de 200 a 400 g/l, de manera ventajosa, de 250 a 350 g/l;
- la concentración de dicho fosfolípido o mezcla de fosfolípidos es de 0,04 a 4 g/l; la concentración de dicho corticosteroide es de 0,05 a 5 g/l;
- y el resto del volumen comprende agua;
- 20 de manera tal que un gel que comprende dichos componentes a-d exhibe una temperatura de transición de gel de entre 32 y 38 grados C.

2. Una composición de enema que comprende:

- 25 a. un copolímero en bloque no iónico o mezcla de polímeros que consiste en bloques de polietilenglicol y polipropilenglicol;
- b. un fosfolípido o mezcla de fosfolípidos;
- 30 c. un derivado de ácido salicílico; y
- d. agua;

en la que

- 35 la concentración de dicho copolímero en bloque no iónico o mezcla de polímeros es de 100 a 300 g/l, de manera ventajosa de 150 a 250 g/l;
- la concentración de dicho fosfolípido o mezcla de fosfolípidos es de 4 a 40 g/l;
- la concentración de dicho derivado de ácido salicílico es de 50 a 100 g/l;
- y el resto del volumen comprende agua;
- 40 de manera tal que un gel que comprende dichos componentes a-d exhibe una temperatura de transición de gel de entre 32 y 38 grados C.

3. Una composición de enema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que al menos dicho copolímero en bloque es un copolímero tribloque de polietilenglicol y polipropilenglicol que tiene una masa molecular de polioxipropileno de aproximadamente 4.000 g/mol y aproximadamente 70% de contenido de polioxietileno

4. Una composición de enema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que al menos dicho copolímero en bloque es un copolímero tribloque de polietilenglicol y polipropilenglicol que tiene una masa molecular de polioxipropileno de aproximadamente 1.800 g/mol y aproximadamente 80% de contenido de polioxietileno.

5. Una composición de enema de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en la que dicho fosfolípido o mezcla de fosfolípidos es uno o ambos de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC)

6. Una composición de enema de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho corticosteroide se elige a partir de budesonida, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona y prednisona, de manera ventajosa, a partir de budesonida e hidrocortisona.

7. Una composición de enema de acuerdo con la reivindicación 6, en la que dicho corticosteroide es budesonida.

8. Una composición de enema de acuerdo con la reivindicación 7 que consiste en:

- a. de 250 a 350 g/l de un copolímero tribloque de polietilenglicol y polipropilenglicol que tiene una masa molecular de polioxipropileno de aproximadamente 4.000 g/mol y aproximadamente 70% de contenido de polioxietileno;
- 65 b. de 0,1 a 1 g/l de una mezcla 1:1 de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC);

- c. de 0,05 a 0,2 g/l de budesonida; y
- d. el resto, agua.
- 5 9. Una composición de enema de acuerdo con la reivindicación 2, en la que dicho derivado de ácido salicílico se elige a partir de mesalazina, sulfasalazina, olsalazina, y balsalazida.
- 10 10. Una composición de enema de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicho derivado de ácido salicílico es mesalazina.
11. Una composición de enema de acuerdo con la reivindicación 10, que consiste en:
- 15 a. de 150 a 250 g/L de un copolímero tribloque de polietilenglicol y polipropilenglicol que tiene una masa molecular de polioxipropileno de aproximadamente 4.000 g/mol y aproximadamente 70% de contenido de polioxietileno;
- b. de 5 a 20 g/L de una mezcla 1:1 de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC);
- 20 c. de 60 a 80 g/L de mesalazina; y
- d. el resto, agua.
- 25 12. Una composición de enema de acuerdo con las reivindicaciones 8 u 11 de 60 ml a 100 ml de volumen total.
13. Una composición de enema de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 para su uso en el tratamiento de enfermedad intestinal inflamatoria.
- 30 14. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en la que dicha composición de enema se administra a una temperatura por debajo de la temperatura de gel de la composición.
15. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en la que dicha composición de enema se encuentra a menos de 30 grados C cuando se administra.