



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 321 688**

51 Int. Cl.:

A61K 31/74 (2006.01)

A61K 31/60 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01)

A61K 31/405 (2006.01)

A61K 31/195 (2006.01)

A61K 31/66 (2006.01)

A61K 47/44 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01128271 .2**

96 Fecha de presentación : **24.01.1996**

97 Número de publicación de la solicitud: **1214940**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.06.2002**

54 Título: **Procedimientos para mejorar la actividad terapéutica de los NSAID y composiciones de fosfolípidos iónicos bipolares útiles en los mismos.**

30 Prioridad: **27.01.1995 US 379695**
12.05.1995 US 440417

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
10.06.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
10.06.2009

73 Titular/es:
Board of Regents, The University of Texas System
201 West 7th Street
Austin, Texas 78701, US

72 Inventor/es: **Lichtenberger, Lenard M. y**
Butler, Bruce D.

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

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

Procedimientos para mejorar la actividad terapéutica de los NSAID y composiciones de fosfolípidos iónicos bipolares útiles en los mismos.

Antecedentes de la invención

1. Campo de la invención

La presente invención se refiere generalmente a los campos de farmacología y medicina y, más particularmente, se refiere a composiciones adecuadas para el tratamiento y prevención de la fiebre, dolor e inflamación, con fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID) que forman complejos con fosfolípidos, y en otras formas de realización, en otras combinaciones con lípidos neutros. La invención proporciona también composiciones adecuadas para retardar la agregación plaquetaria, y la aplicación de tales procedimientos para tratar enfermedades cardiovasculares y vasculares cuando se refieren a la actividad plaquetaria.

2. Descripción de la técnica relacionada

El consumo de NSAID entre la población general no se correlaciona con cualquier otra clase de fármaco, por su gran eficacia en el tratamiento del dolor, de la inflamación y de la fiebre (Rainsford, 1985). Se espera que la amplia utilización de estos fármacos aumente incluso en mayor medida por su eficacia en el tratamiento de los dolores osteoartrotríticos y generalizados y del dolor a medida que aumentan los ancianos como porcentaje de la población de (Alexander y col., 1985; Jalobe y Montgomery, 1984), y porque los NSAID se utilizan en el tratamiento/prevención del ictus y de la enfermedad cardiovascular. La preocupación más importante relacionada con este desarrollo se refiere a la tendencia de los NSAID a inducir lesiones de la mucosa gastrointestinal (GI), perforaciones y hemorragia que dan lugar a mortalidad y morbilidad significativas, incluso en consumidores ocasionales de NSAID (Rainsford, 1989; Graham, 1989; Allison y col., 1992). Las estrategias para reducir los efectos gastrointestinales dañinos de estos fármacos con recubrimientos entéricos han tenido un éxito limitado por los efectos terapéuticos retardados de dichos NSAID especialmente empaquetados (Alpsten y col., 1982; Mojaverian y col., 1987).

Aunque está claro que los efectos secundarios GI de los NSAID pueden atribuirse en parte a su capacidad para inhibir la biosíntesis de prostaglandinas protectoras gástricas, existe una cantidad significativa de evidencia de que los NSAID actúan localmente sobre la mucosa para inducir úlceras GI y hemorragias mediante un mecanismo independiente de las prostaglandinas (Rainsford, 1989; Whittle y col., 1980; Whittle y col., 1981; Ligumskyy col., 1982; McComack y Brune, 1987).

El presente inventor y otros han obtenido evidencia de que la mucosa del estómago y de otras regiones del tracto GI (gastrointestinal) tienen propiedades hidrófobas, no humectantes, que protegen al epitelio subyacente del ácido gástrico y de otras toxinas de la luz intestinal (Hills y col., 1983; Goddard y col., 1987; Goddard y col., 1990; Kao y col., 1990). Esta característica biofísica, que puede cuantificarse por medio del análisis del ángulo de contacto, parece que puede atribuirse a la presencia de una capa extracelular de fosfolípidos análogos a tensioactivos sobre las superficies lumenales de la capa de gel mucoso (Goddard y col., 1990; Kao y col., 1990). Se ha probado asimismo que estos fosfolípidos bipolares se sintetizan en las células mucosas superficiales del estómago, así como los que se encuentran en glándulas submucosas separadas del tracto GI, en las que se almacenan en orgánulos específicos y se secretan por medio de una vía dependiente de las prostaglandinas (Kao y Lichtenberger, 1991). También se ha informado que la aspirina y otros NSAID tienen la capacidad para transformar rápidamente la mucosa gástrica desde un estado no humectante a un estado humectante en minutos tras de la administración luminal, aumentando de este modo la susceptibilidad de los tejidos a las acciones corrosivas del ácido gástrico (Hills y col., 1983; Goddard y col., 1987; Goddard y col., 1990; Kao y col., 1990).

Una solución a este problema ha consistido en formular soluciones inyectables de NSAID y evitar completamente, de esta manera, el tracto GI. La escasa solubilidad en agua de estos fármacos, sin embargo, ha causado problemas con esta técnica. Para abordar este problema, se han desarrollado soluciones inyectables estables de derivados del ácido indolacético e indanacético, complejando estos NSAID con derivados de fosfatidilcolina y de fosfatidiletanolamina (Véase Patente de EEUU 4.309.420).

La Patente de EEUU 4.421.747 describe a los NSAID formando complejos con fosfolípidos para administración por vía oral. Se ha demostrado que estos complejos retienen su acción antiinflamatoria y han reducido la formación de úlceras en ratas. Sin embargo, con estas preparaciones, no se ha informado un aumento en los efectos terapéuticos.

El documento WO 91/16920 (Vical Inc) se refiere a derivados fosfolipídicos de profármacos de un salicilato o de un fármaco antiinflamatorio no esteroide. Estas preparaciones se preparan combinando el ácido salicílico o el NSAID con un fosfolípido en presencia de un agente complejante, produciendo de este modo un compuesto NSAID-fosfolípido enlazado covalentemente. Estos profármacos se describen como útiles para la reducción de la toxicidad de las preparaciones de NSAID en altas dosis y de uso prolongado.

El documento JP 3176425 (Nippon Shinyaku KK) se refiere a composiciones que incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroides junto con lípidos neutros y fosfolípidos en una emulsión de grasa y aceite. Aunque el procedimiento

de la preparación no se describe en el resumen, estas composiciones aparecen encapsuladas en lípidos, tales como en una micela. Se describe que la combinación del fármaco con los lípidos neutros y los fosfolípidos no afecta las acciones farmacológicas del fármaco.

El documento JP 63048228 (Toa Eiyo KK) se refiere a composiciones aplicadas por vía tópica que incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroides junto con fosfolípidos y un “desintegrador”. Este desintegrador se describe como apto para contribuir a lograr una preparación con capacidades mejoradas y aumentadas de dispersión y absorción. El documento JP 63048226 (Ono Pharmaceutical KK) se refiere a composiciones que incluyen una base de fosfolípido (tal como fosfatidilcolina) y un agente antiinflamatorio (tal como el ácido acetilsalicílico y la indometacina). El documento JP 58150508 (Ono Pharmaceutical) se refiere a composiciones tópicas que incluyen una base de fosfolípido (tal como fosfatidilcolina) y un agente antiinflamatorio (tal como el ácido acetilsalicílico y la indometacina).

La Patente de EEUU 4.369.182 (Nattermann & CIE) se refiere a composiciones farmacéuticas para administración por vía oral que evitan la inflamación. Las composiciones se preparan y posteriormente se liofilizan a una forma en polvo. Las composiciones que se describen incluyen fosfolípidos naturales y sintéticos (dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC)), en combinación con agentes no esteroides que incluyen ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, diflunisal, indometacina, glucametacina, acetmetacina, sulindac, ibuprofeno, naproxeno, tolmetina y otros NSAID. También se describen NSAID combinados con preparaciones de fosfatidilcolina, denominadas phospholipones. La Patente de EEUU 4.421.747 se refiere a procedimientos para aliviar la inflamación con composiciones tales como las descritas en la Patente de EEUU 4.369.182.

A pesar de la intensa investigación en el área de los NSAID, continúa existiendo la necesidad en la técnica de preparaciones que incluyan cantidades reducidas de esta clase de fármaco útil sin pérdida de su eficacia terapéutica. Los procedimientos y composiciones que proporcionaran una actividad antipirética, antiinflamatoria, antiplaquetaria y analgésica similar o aumentada, a dosis más bajas que las habitualmente prescritas para la actividad farmacológica, harían que esta valiosa clase de fármacos estuviera disponible para aquellos que previamente eran incapaces de tolerar regímenes terapéuticos convencionales y/o prolongados de NSAID.

Resumen de la invención

La presente invención pretende superar estos y otros inconvenientes inherentes de la técnica anterior, proporcionando composiciones y procedimientos capaces de conservar y/o mejorar la actividad farmacológica de los fármacos antiinflamatorios no esteroides por medio de la asociación no covalente con fosfolípidos iónicos bipolares. En algunas formas de realización, estas preparaciones pueden incluir además lípidos neutros, tales como los triglicéridos.

La presente invención se define en las reivindicaciones e ilustra la capacidad de uno o más fosfolípidos iónicos bipolares para aumentar el potencial de un NSAID para reducir la fiebre. También puede observarse la actividad farmacológica de los NSAID a dosis bajas para reducir la inflamación y el dolor, y en algunos casos esta actividad farmacológica puede aumentarse asociando químicamente los NSAID con fosfolípidos iónicos bipolares, tales como la fosfatidilcolina (PC), la dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y otras fosfatidilcolinas disaturadas, y similares. La asociación de NSAID y el fosfolípido iónico bipolar es de naturaleza no covalente. En algunas formas de realización, las composiciones de NSAID y fosfolípidos iónicos bipolares pueden describirse además incluyendo cantidades más o menos equimolares de estos ingredientes. Las composiciones pueden también comprender, por supuesto, un vehículo farmacéuticamente aceptable en cualquier forma, tal como un polvo sólido, un gel o una forma líquida.

La presente invención se centra en las técnicas que en algunos casos han demostrado aumentar las actividades terapéuticas de los NSAID. Esto se lleva a cabo sin la desventaja de dificultar la actividad farmacológica o la biodisponibilidad terapéutica del fármaco, haciendo que las preparaciones sean eficaces incluso a dosis bajas.

Por consiguiente, las composiciones de la presente invención son útiles para aumentar la actividad antipirética de un fármaco antiinflamatorio no esteroide (NSAID). Esto se lleva a cabo proporcionando una combinación asociada de manera no covalente de un fosfolípido iónico bipolar con una cantidad de un fármaco antiinflamatorio no esteroide que proporciona actividad antipirética reducida en ausencia del fosfolípido iónico bipolar. Algunas de las presentes preparaciones se describen además como esencialmente libres de fosfolípidos aniónicos, o incluyendo una cantidad de fosfolípidos aniónicos que sea biológicamente inerte y/o no un componente activo de la preparación.

Se entiende que el término “esencialmente libre” tal como se utiliza en la descripción de la presente invención, significa composiciones que incluyen menos que aproximadamente el 0,10% del fosfolípido aniónico, y en incluso otras formas de realización definidas, menos que el 0,01% del fosfolípido aniónico. Tal como se utiliza en la descripción de la presente invención, el término fosfolípido iónico bipolar abarca una amplia variedad de fosfolípidos, incluidos pero no limitados a la fosfatidilcolina, fosfatidilserina, fosfalidiletanolamina, esfingomielina y otras ceramidas, así como otros varios fosfolípidos iónicos bipolares. En algunas formas de realización, estas composiciones están esencialmente libres de fosfolípidos aniónicos.

La cantidad del fármaco antiinflamatorio no esteroide se define como una cantidad que proporciona actividad antipirética reducida en ausencia del fosfolípido iónico bipolar. Tales cantidades del fármaco son cantidades terapéuticamente menos eficaces de los mismos. Esta actividad o falta de actividad se observa en ausencia del fosfolípido iónico bipolar, mientras que la misma o aproximadamente la misma cantidad del NSAID demuestra actividad farmacológica en presencia del fosfolípido iónico bipolar. A este respecto, se observa el fenómeno de que la combinación de canti-

dades bajas de fármacos antiinflamatorios no esteroides con fosfolípidos, tiene una potente actividad farmacológica, mientras que las dosis del fármaco solo (es decir, sin el fosfolípido iónico bipolar), carecen de ella.

La presente invención utiliza composiciones que pueden incluir cualquier variedad de los fármacos que se clasifican generalmente como antiinflamatorios no esteroides. Como ejemplo, estos fármacos incluyen ibuprofeno, piroxicam, salicilato, aspirina, naproxeno, indometacina, diclofenac o cualquiera de sus mezclas. En formas de realización particulares, el fármaco antiinflamatorio no esteroide es el salicilato. Como ejemplo y no como limitación, los NSAID que son útiles para la práctica de la invención incluyen los que se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1

Fármacos antiinflamatorios no esteroides para uso en combinación con fosfolípidos iónicos bipolares		
Ácidos propiónicos	Fenopreno cálcico	Nalfon
	Flurbiprofeno	Ansaid
	Suprofeno	
	Benoxaprofeno	
	Ibuprofeno (receta)	Motrin
	Ibuprofeno (200 mg sin receta)	Nuprin, Motrin 1B
	Ketroprofeno	Orduis, Oruvall
	Naproxeno	Naprosyn
	Naproxeno sódico	Aleve, Anaprox, Aflaxen
	Oxaprozina	Daypro
Ácidos acéticos	Diclofenac sódico	Voltaren
	Diclofenac potásico	Cataflam
	Etodolac	Lodine
	Indometacina	Indocin
	Ketorolac trometamina(intramuscular)	Acular, Toradol
	Ketorolac (oral)	Toradol
Cetonas	Nabumetona	Relafen
	Sulindac	Clinoril
	Tolmetin sódico	Tolectin
Fenamatos	Meclofenamato sódico	Meclomen
	Ácido mefenámico	Ponstel
Oxicams	Piroxicam	Dolibid
Ácido salicílico	Diffunisal	Feldene
	Aspirina	
Ácido pirazolínico	Oxifenbutazona	Tandearil
	Fenilbutazona	Butazolidin

Los NSAID tales como benoxaprofeno, ketoprofeno, oxaprozina, etodolac, ketorolac trometamina, ketorolac y nabumetona, junto con fosfolípidos iónicos bipolares, comprenden aún otras formas de realización particulares de la invención, de nuevo ambas con y sin lípidos neutros.

5 En formas de realización particulares, los fosfolípidos iónicos bipolares en las composiciones son dipalmitoil fosfatidilcolina, fosfatidil colina o una de sus mezclas. Se muestra que la actividad farmacológica y particularmente la antipirética de los NSAID aumenta varias veces con respecto a las preparaciones con dosis similares sin fosfolípidos iónicos bipolares. Sorprendentemente, los presentes inventores han encontrado que la combinación de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos anteriormente mencionados con fosfolípidos iónicos bipolares aumenta en gran medida la actividad antipirética y la potencia del fármaco, incluso a dosis subterapéuticamente activas, y en algunos casos entre 10 aproximadamente 2 veces y aproximadamente 6 veces con relación a las preparaciones que no contienen fosfolípidos. Por consiguiente, se espera que las composiciones de la presente invención sean particularmente eficaces para reducir la fiebre en un mamífero que muestre una tolerancia reducida para los NSAID.

15 Las cantidades que varían entre un décimo y la mitad que son necesarias típicamente para provocar una respuesta de reducción de la fiebre en un mamífero, se obtienen utilizando las composiciones de la presente invención. A este respecto, se espera que las cantidades de entre 2 mg/kg y aproximadamente 300 mg/kg proporcionarán actividad terapéutica reductora de la fiebre. Por supuesto, la cantidad/dosis utilizada dependerá en casos específicos de las características farmacológicas particulares de los NSAID o de la combinación de los NSAID incluidos. Otros intervalos 20 definidos del fármaco que se espera que proporcionen la actividad antipirética divulgada en este documento, varían desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 150 mg/kg o aproximadamente 20 ó 50 mg/kg hasta 150 mg/kg.

Los presentes inventores han observado también que la invención es útil para aumentar la actividad de retardo plaquetario de un fármaco antiinflamatorio no esteroide. Esta utilización para inhibir la agregación plaquetaria comprende 25 proporcionar una combinación asociada de manera no covalente de fosfolípidos iónicos bipolares y una cantidad del agente antiinflamatorio no esteroide, que proporciona una inhibición reducida de la agregación plaquetaria en ausencia de los fosfolípidos iónicos bipolares. Esta composición está esencialmente libre de fosfolípidos aniónicos y/o incluye una cantidad de fosfolípidos aniónicos que constituyen un componente biológicamente inerte de la preparación. Las cantidades del fármaco antiinflamatorio no esteroide utilizado como parte de la composición, nuevamente, son 30 relativamente bajas, y pueden describirse además como una cantidad que proporciona generalmente una actividad farmacológica reducida en ausencia del fosfolípido iónico bipolar. Nuevamente, el fosfolípido iónico bipolar seleccionado es, en algunas formas de realización, DPPC, PC o una de sus combinaciones.

Las composiciones pueden incluir además un lípido neutro, tal como un triglicérido. Para un listado parcial de 35 lípidos neutros representativos, tales como los triglicéridos, se hace específicamente referencia a las Patentes de EEUU N° 4.950.656 y 5.043.329. En estas composiciones pueden utilizarse tanto triglicéridos saturados como insaturados, incluyendo triglicéridos tales como tripalmitina (saturado), trioleína y trilinoleína (insaturados). Sin embargo, estos triglicéridos particulares se presentan en este documento sólo por conveniencia y son meramente representativos de una diversidad de triglicéridos útiles, y no se pretende además ser exhaustivo.

40 En un aspecto de la invención, la invención está dirigida a aumentar la actividad analgésica de un fármaco antiinflamatorio no esteroide. Esto se lleva a cabo proporcionando una composición asociada de manera no covalente que comprende un fosfolípido iónico bipolar y una cantidad de un fármaco antiinflamatorio no esteroide que proporciona actividad farmacológica reducida en ausencia del fosfolípido iónico bipolar según se define en la reivindicación 1. 45 En alguna forma de realización, esas composiciones están esencialmente libres de fosfolípidos aniónicos o incluyen cantidades de fosfolípidos aniónicos que son biológicamente inertes. En formas de realización particulares, el fármaco antiinflamatorio no esteroide es uno o más de los presentados en la Tabla 1. En formas de realización particulares, el NSAID es aspirina, salicilato, una sal de los mismos, o una de sus combinaciones. Mientras que pueden emplearse una serie de fosfolípidos iónicos bipolares diferentes en la composición del procedimiento en algunas formas de 50 realización, el fosfolípido es dipalmitoil fosfatidilcolina, fosfatidil colina, o una de sus combinaciones. En estas y otras formas de realización de la invención descrita, un fosfolípido aniónico que puede excluirse o incluirse solo en cantidades biológicamente inertes es el fosfatidil glicerol (PG).

En aún otro aspecto, la invención está dirigida a aumentar la actividad antiinflamatoria de un fármaco antiinfla- 55 matorio no esteroide. Esto se lleva a cabo proporcionando una composición asociada de manera no covalente de un fosfolípido iónico bipolar con una cantidad de un fármaco antiinflamatorio no esteroide. La cantidad de NSAID en la composición se define nuevamente como una cantidad que proporciona actividad farmacológica reducida en ausencia del fosfolípido iónico bipolar según se define en la reivindicación 2. En alguna forma de realización, el procedimiento usa composiciones que están esencialmente libres de fosfolípidos aniónicos, tales como la DPPG o PG o incluyen 60 cantidades de fosfolípidos aniónicos que son biológica y farmacológicamente inertes.

En formas de realización particulares, la composición se define comprendiendo una cantidad equimolar de NSAID y de fosfolípidos iónicos bipolares. Los estudios de los presentes inventores demuestran que la combinación descrita de componentes proporciona un aumento de la actividad antiinflamatoria y de la potencia de estos fármacos, com- 65 parado con las preparaciones de fármacos que no incluyen fosfolípidos iónicos bipolares. También se ha demostrado la reducción en la actividad antiinflamatoria observada si se incluyen en la preparación cantidades farmacológicamente activas (es decir, cantidades de inserciones no biológicas) de fosfolípidos aniónicos, tales como PG (PI). Por consiguiente, las preparaciones que incluyen cantidades farmacológicamente activas de DPPG o PI no proporcionarían

necesariamente la misma actividad antiinflamatoria aumentada, o la actividad farmacológica aumentada descrita anteriormente (es decir, la reducción antipirética o el aumento en la reducción de la actividad de agregación plaquetaria), descrita en los presentes procedimientos. Las cantidades farmacológicamente activas de otros fosfolípidos cargados negativamente no se considerarían como particularmente útiles a la vista de estos resultados.

La presente invención aumenta el potencial antipirético de cantidades subterapéuticamente eficaces de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos. En algunas formas de realización, el procedimiento comprende nuevamente combinar fosfolípidos iónicos bipolares con una cantidad de fármaco antiinflamatorio no esteroide para proporcionar una composición de los mismos asociada de manera no covalente. En algunas formas de realización, la composición se define además como esencialmente libre de cantidades biológicamente activas de fosfolípidos aniónicos (o cargados negativamente).

Una cantidad subterapéuticamente eficaz de NSAID se define como una cantidad que proporciona actividad antipirética reducida en ausencia de un fosfolípido iónico bipolar. El aumento en la actividad de bajas cantidades de NSAID ilustrado en los diversos estudios *in vivo* divulgados en este documento, demuestran que mientras que las dosis de aspirina de aproximadamente 9 mg/kg en combinación con el fosfolípido iónico bipolar, DPPC, proporcionaron una respuesta farmacológica de reducción de la fiebre (antipirética), el tratamiento con esta misma dosis de NSAID sin fosfolípido, no la proporcionó.

La presente invención también divulga preparaciones farmacéuticas particulares. Estas preparaciones farmacéuticas se describen además como adecuadas para la administración entérica u oral, y comprenden una combinación asociada de manera no covalente de fosfolípidos iónicos bipolares, un fármaco antiinflamatorio no esteroide y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones se formulan para proporcionar una composición unida de manera no covalente, que se describe además como esencialmente libre de cantidades biológicamente activas (farmacológicamente activas) de fosfolípidos aniónicos, y en algunas formas de realización, esencialmente libres de DPPG.

En algunas aplicaciones, el fármaco antiinflamatorio no esteroide es uno o más de los presentados en la Tabla 1, tales como naproxeno, indometacina, diclofenac, salicilato, aspirina o cualquiera de sus mezclas. En formas de realización particulares, el fármaco antiinflamatorio no esteroide de elección es el salicilato. Aunque cualquier variedad de fosfolípidos iónicos bipolares puede utilizarse sola o en combinación con los fármacos descritos, algunos de los fosfolípidos representativos incluyen fosfatidil colina, dipalmitoil fosfatidilcolina, fosfatidil serina, otros fosfolípidos iónicos bipolares o sus mezclas. Las composiciones pueden incluir además un lípido neutro, tal como un triglicérido. Los triglicéridos representativos están descritos en la Patente de EEUU 4.950.656. En formas de realización particulares, la preparación farmacéutica se define comprendiendo una cantidad equimolar de NSAID y de fosfolípidos iónicos bipolares.

Según se usa en este documento, “vehículo farmacéuticamente aceptable” incluye cualquiera y la totalidad de disolventes, medios de dispersión, agentes de revestimiento, antioxidantes, isotónicos y retardantes de la absorción y similares. La utilización de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocida en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el componente activo, su utilización se considera en las composiciones terapéuticas que se describen en este documento. También pueden incorporarse componentes activos suplementarios en las composiciones.

Tal como se utiliza en la descripción de la presente invención, el término “cantidad subterapéuticamente eficaz”, empleado en particular para describir la cantidad de NSAID usado, se define como una cantidad de NSAID que proporciona una actividad farmacológica (es decir, antipirética) reducida en ausencia de una asociación no covalente con un fosfolípido iónico bipolar.

Se entiende que tal como se utiliza en la presente divulgación y en las reivindicaciones adjuntas, los términos “uno” y “una” y como en “un elemento” o “una molécula” pretenden incluir uno o más artículos o elementos, y de ninguna manera limitar la descripción o elemento reivindicado a un elemento o artículo.

En la descripción de la invención se utilizan las siguientes abreviaturas:

PI = fosfatidil inositol

PC = fosfatidilcolina

PG = fosfatidilglicerol

L-NAME= metiléster de N-nitro-L-arginina.

Breve descripción de los dibujos

Los dibujos siguientes forman parte de este documento descriptiva y se incluyen para demostrar más determinados aspectos de la presente invención. La invención se comprenderá mejor haciendo referencia a uno o más de estos dibujos, en combinación con la descripción detallada de las formas de realización específicas que se presentan en este documento.

Fig. 1A. Fotografía de tubos de ensayo que contienen 30 nM de las sales sódicas de uno de los cinco NSAID probados en cloroformo, en ausencia y en presencia de DPPC 30 nM (naproxeno, indometacina, diclofenac, salicilato, aspirina).

5 Fig. 1B. La concentración de cada NSAID en disolución aumenta (cuantificada por absorción de UV) en proporción a los equivalentes molares de DPPC disueltos en cloroformo (Naproxeno = -▲-; Aspirina = -●-; Salicilato = -□-; Diclofenac = -△-; Indometacina = -○-).

10 Fig. 2A. La reducción inducida por DPPC en la solubilidad en agua de ASA fue máxima cuando ambos reactivos estaban presentes en concentraciones equimolares durante un período de incubación de 60 minutos, a 25°C.

15 Fig. 2B. Desarrollo en el tiempo a 25°C de la reducción en la solubilidad en agua de ASA inducida por la presencia de concentraciones equimolares de DPPC. En contraste, la concentración de ASA en agua no varió significativamente a lo largo del tiempo por la adición de una concentración equimolar del fosfolípido aniónico, DPPG como una suspensión lipídica (ASA sólo = -●-; DPPG/ASA = -□-; DPPC/ASA = -○-).

20 Fig. 3. La difusión pasiva de ASA desde el agua al ciclohexano se acelera de manera marcada por la presencia de fosfolípidos iónicos bipolares (DPPC) pero no aniónicos (DPPG) en la disolución acuosa (ASA/DPPC = -○-; ASA/DPPG = -□-; DPPC = -●-; ASA = -x-).

Fig. 4A. El potencial agresivo del salicilato y ASA para inducir lesiones gástricas (en ratas que se estimularon posteriormente con HCl 0,6 N), disminuye sensiblemente cuando se administran por vía intragástrica los NSAID en asociación con DPPC (sin DPPC = barra clara; con DPPC = barra rayada).

25 Fig. 4B. El potencial agresivo de los NSAID no salicilato para inducir hemorragias GI (en ratas pre y post tratadas con L-NAME para aumentar la sensibilidad de los animales a los NSAID), disminuye sensiblemente cuando se administran por vía intragástrica los fármacos asociados con DPPC (sin DPPC = barra clara; con DPPC = barra rayada).

30 Fig. 4C. La actividad antipirética de NSAID (aspirina -dosis de 90 mg/kg) no disminuye, y aumenta si se administra como una suspensión lipídica. El asterisco (*) representa una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de ratas tratadas con NSAID sólo (- DPPC) y los animales tratados con el complejo NSAID/DPPC (+ DPPC) (Solución salina = -●-; ASA = -□-; ASA/DPPC = -○-).

35 Fig. 5. Acción antiinflamatoria de ASA y Phospholipon GTM (Fosfolípido "G") determinada por el ensayo del hilo implantado tal como se describe. La dosis es de 90 mg/kg ASA. Cada barra representa datos para n = 5 ratas.

40 Fig. 6. Actividad antipirética del complejo ASA/DPPC a una dosis subumbral de ASA (9,0 mg/kg). (Solución salina = -□-; ASA (9,0 mg/kg) = -▲-; ASA/DPPC (9 mg/kg) = -○-).

45 Fig. 7. Actividad antipirética de la aspirina (ASA) sola cuando se administra a dosis que varían desde 2,5 hasta 90,0 mg/kg. En esta y todas las figuras siguientes, los agentes de prueba se administraron por vía intragástrica 18 horas después de inyectar por vía subcutánea 2 g/kg de levadura de Brewer a las ratas para inducir un aumento de 0,5-1,0°C en la temperatura corporal. Puede apreciarse que las dosis de aspirina < 10 mg/kg no pudieron reducir la fiebre durante el período de 4 horas del estudio (Solución salina = -◇-; ASA, 2,5 mg/kg = -□-; ASA, 5 mg/kg = -○-; ASA, 10 mg/kg = -△-; ASA = 20 mg/kg = -■-; ASA, 45 mg/kg = -●-; ASA, 90 mg/kg = -▲-).

50 Fig. 8. En contraste con el patrón anterior, cuando se complejó la aspirina (ASA) con una concentración equimolar de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), se redujo la fiebre de manera eficaz a una dosis de 9,0 mg/kg, mientras que el fosfolípido aniónico DPPG no pudo aumentar la actividad antipirética de la aspirina a esta misma dosis subumbral. Esta figura demuestra también que el fosfolípido aniónico es de modo esencial biológicamente inerte en términos de aumento de la acción antipirética de la aspirina (ASA, 9,0 mg/kg = -●-; ASA/DPPC, 9,0 mg/kg = -□-; ASA/DPPG, 9,0 mg/kg = -○-; n = 5/grupo; * = p < 0,05 versus ASA; † = p < 0,05 versus ASA/DPPG).

55 Fig. 9. ASA a una dosis subumbral de 4,5 mg/kg, que no tenía actividad antipirética por sí sola, redujo de modo eficaz la fiebre cuando se complejó con una concentración equimolar de DPPC (H₂O = -□-; H₂O/DPPC (4,5 mg/kg) = -▲-; ASA (4,5 mg/kg) = -Θ-; ASA/DPPC (4,5 mg/kg) = -○-).

60 Fig. 10. Recopilación de todos los datos a las dosis subumbral (2,5-9,0 mg/kg) de ASA. Los datos de ASA sola (símbolos abiertos) demuestran el aumento de la actividad antipirética cuando ASA se complejó a DPPC (símbolos cerrados) (Solución salina = -*; ASA, 9 mM = -□-; ASA, 4,5 mM = -○- ASA, 2,5 mM = -△-; ASA/DPPC, 9 mM = -■-; ASA/DPPC, 4,5 mM = -●-; ASA/DPPC, 2,25 mM <= -▲-).

65 Fig. 11. Análisis de respuesta a la dosis de la actividad antipirética de ASA sola y del complejo ASA/DPPC (proporción equimolar), una hora después de administración intragástrica (Fig. 11) (ASA = -●-; ASA/DDPC = -□-). La potencia de ASA, reflejada por la dosis DE₅₀, aumentó 10 veces cuando se administró con el fosfolípido iónico bipolar.

Fig. 12. Análisis de respuesta a la dosis de la actividad antipirética de ASA solo y del complejo ASA/DPPC (proporción equimolar), dos horas después de la administración intragástrica.

Fig. 13. Efecto de la variación de la proporción ASA:DPPC 1:1 sobre la actividad antipirética, una hora después de la administración intragástrica. Puede apreciarse que la capacidad del fosfolípido iónico bipolar para aumentar la actividad antipirética de ASA se perdió cuando la concentración molar de DPPC aumentó (a partir de la unidad) en un factor 4 o disminuyó en un factor 10 (ASA = 9,01 mg/kg).

Fig. 14. Efecto de la variación de la proporción ASA:DPPC 1:1 sobre la actividad antipirética del complejo, dos horas después de la administración intragástrica. (Las leyendas son las mismas que en la Fig. 13) (ASA = 9,01 mg/kg).

Fig. 15. A dosis subumbral, la eficacia antipirética de ASA podría aumentarse claramente (0-120 minutos después de la administración), si los NSAID se administraran como una microemulsión que contuviera DPPC y tripalmitina (TP). En todos los casos la proporción molar de ASA:DPPC se mantuvo a 1:1, mientras que la TP se administró en exceso (proporción en peso de DPPC:TP = 1:4) (n = 5/grupo; * = p > 0,05 versus ASA/DPPC; ASA/DPPC 1 mg/kg = -●-; ASA/DPPC/TP, 1 mg/kg = -○-; ASA/DPPC, 9 mg/kg = -▲-; ASA/DPPC/TP, 9 mg/kg = -Δ-).

Fig. 16. Puede apreciarse que la adición del lípido neutro provocó un aumento adicional de la actividad antipirética, incluso superior al de ASA/DPPC, como puede apreciarse mejor con la dosis subumbral de 1 mg/kg de ASA (n = 10/grupo; * = p < 0,05 versus ASA/DPPC; ASA, 1 mg/kg = -◆-; ASA/DPPC = -○-; ASA/DPPC/TP = -●-).

Fig. 17. La capacidad de DPPC para promover el movimiento de la aspirina desde el agua a una fase lipídica de ciclohexano (como un modelo de membrana) se acelera en gran medida por la presencia del lípido neutro, tripalmitina (TP), para formar una microemulsión. Esto puede proporcionar una explicación de porqué la presencia de lípidos neutros promueve además la potencia terapéutica del complejo NSAID/DPPC (DPPC + TP (1:4), 2,5 mM + ASA, 10 mM (tratado con ultrasonido) = -○-; DPPC, 2,5 mM + ASA, 10 mM (tratado con ultrasonido) = -□-; TP, 2,5 mM + ASA, 10 mM = -■-).

Fig. 18. La capacidad de DPPC para aumentar la actividad antipirética de ASA se observó con la indometacina (Solución salina = -●-; indometacina (10 mg/kg) = -□-; indometacina (10 mg/kg)/DPPC = -○-).

Fig. 19. Demuestra la capacidad de DPPC para aumentar la actividad antipirética del naproxeno (dosis de 25 mg/kg) (Solución salina = -●-; naproxeno (25 mg/kg) = -□-; naproxeno (25 mg/kg)/DPPC = -○-).

Fig. 20. Demuestra la capacidad de DPPC para aumentar la actividad antipirética del diclofenac, 10 mg/kg (Solución salina = -□-; diclofenac (10 mg/kg) = -□-; diclofenac (10 mg/kg)/DPPC = -□-; n = 5/grupo; * = p < 0,05 versus DICLO).

Fig. 21. Demuestra la capacidad de DPPC para aumentar la actividad antipirética del ácido salicílico (SA) (dosis de 70 mg/kg) (Solución salina = -◆-; SA (70 mg/kg) = -○-; SA (70 mg/kg)/DPPC = -●-; n = 5/grupo; * = p < 0,05 versus SA/DPPC).

Fig. 22. Actividad antipirética de ASA (18 mg/kg) y del complejo ASA/DPPC con la inyección intraperitoneal de omeprazol (150 mg/kg) dos horas antes de la dosificación de NSAID. ASA (solución salina) = -●-; ASA/DPPC (Solución salina) = -○-; ASA (omeprazol) = -▲-; ASA/DPPC (omep) = -Δ-; n = 5/grupo; * = p < 0,05 versus ASA (omep); † = p < 0,05 versus ASA (solución salina).

Fig. 23. Actividad antipirética de ASA (18 mg/kg) y del complejo ASA/DPPC con la inyección intraperitoneal de Ranitidina (2 mg/kg) 1 hora antes de la dosificación de NSAID. ASA (solución salina) = -●-; ASA (Solución salina) = -○-; ASA (Ranitidina) = -▲-; ASA/DPPC (Ranitidina) = -Δ-; n = 5/grupo; † = p < 0,05 versus ASA (Ranitidina); † = p < 0,05 versus ASA (solución salina).

Descripción detallada de las formas de realización de preferencia

La presente invención surge del descubrimiento de que la aspirina y otros NSAID se asocian químicamente con fosfolípidos iónicos bipolares, tales como la dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC). Formas de realización importantes de la invención incluyen composiciones que aumentan las diversas actividades terapéuticas de NSAID, tales como actividades farmacológicas antipiréticas, antiinflamatorias y analgésicas. Sorprendentemente, estas respuestas se observan sin evidencias de efectos secundarios gastrointestinales tal como se ha demostrado en modelos animales agudos y crónicos de las lesiones de NSAID en la presente divulgación.

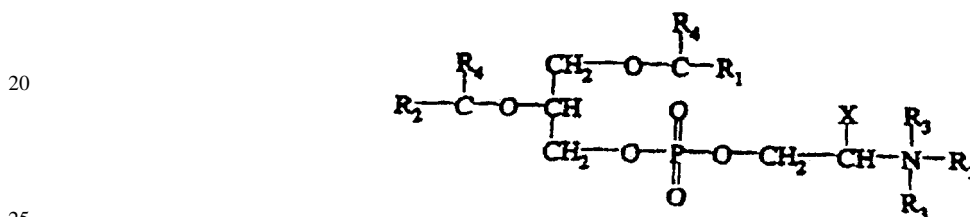
Los datos que se divulgan en este documento indican que los NSAID tienen la capacidad de asociarse químicamente con fosfolípidos iónicos bipolares tanto en sistemas disolventes acuosos como orgánicos, y al hacerlo, ambos tipos de moléculas experimentan cambios profundos en sus propiedades físicas y químicas. Se demuestra que la formación de un complejo en los sistemas disolventes acuosos tiene lugar más eficazmente a valores de pH iguales o ligeramente inferiores al de pKa del NSAID. Por consiguiente, sin estar ligado a ninguna teoría, se considera que la unión intermolecular no es covalente, pero en cambio es tanto hidrófoba como electrostática, siendo la última asociación entre el grupo carboxilo cargado negativamente de NSAID y el nitrógeno cargado positivamente del fosfolípido. Esta posible

interacción se ha respaldado por medio de programas asistidos de modelización molecular (Quanta y CHARMm), que indican también que el complejo NSAID/fosfolípido posee una energía libre molecular más baja (mayor estabilidad termodinámica) que cada uno de los reactivos solos.

- 5 Según la presente invención, podría esperarse que los NSAID administrados por vía oral se asociaran químicamente con los fosfolípidos iónicos bipolares intrínsecos que recubren las superficies lumenales de la capa de gel mucoso del tracto gastrointestinal superior. En Goddard y col., (1990) y en Kao y col. (1990), se realiza una descripción de las superficies lumenales de la capa de gel mucoso. Aunque no pretende estar limitado a ningún mecanismo de acción particular, se cree que esta asociación intermolecular constituye la base para la atenuación en la actividad de la superficie y/o de la pérdida de estabilidad de la capa extracelular interfacial de fosfolípidos, y la culminación en la disminución de la capacidad hidrófoba de la mucosa y de las propiedades de la barrera inducida por NSAID.

Descripción de los compuestos lipídicos

- 15 Los fosfolípidos de la presente invención se caracterizan generalmente por la fórmula:



en la que R₁ y R₂ son sustituciones saturadas o insaturadas que varían desde 8 hasta 32 átomos de carbono; R₃ es H o CH₃, y X es H o COOH; y R₄ es = O ó H₂.

- 30 Tal como apreciarán los expertos en la técnica, la estructura química anteriormente mencionada define una estructura fosfolipídica iónica bipolar y abarca una amplia variedad de fosfolípidos, que incluyen pero no se limitan a, las fosfatidil colinas, fosfatidil etanolaminas, fosfatidil serinas y diversos otros fosfolípidos iónicos bipolares.

- 35 Otros fosfolípidos que pueden utilizarse en la composición incluyen: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, esfingomielina, y otras ceramidas y sus mezclas.

Descripción de los NSAID

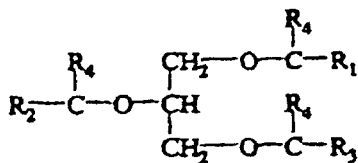
- 40 Algunos de los agentes antiinflamatorios no esteroideos que pueden utilizarse en los procedimientos y composiciones divulgados en este documento incluyen, a modo de ejemplo: pirazonas, fenilbutazona (4-butil-1,2-difenilpirazolidina-3,5-dion) y oxifenbutazona (4-butil-2-(4-hidroxifenil)-1-p-fenilpirazolidina-3,5-dion), derivados del ácido salicílico tales como la amida del ácido salicílico, ácido acetil salicílico, benorilato (4-acetamidofenil-o-acetilsalicilato), y diflunisal (ácido 5-(2,4-difluorofenil)-salicílico); indoles, especialmente indometacina y sus análogos tales como indometacina (ácido (1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol acético), glucametacina glucosamida del ácido (1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-il acético), acemetacina (éster del ácido (1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-3-metilindol-3- acético y ácido glicólico-), y sulindac (ácido (5-fluor-2-metil-1-p-(metilsulfenil)-bencilideno-indeno-3-acético); derivados del ácido fenil acético o del ácido fenil propiónico, tales como el ibuprofeno (ácido 2-(4-isobutilfenil)-propiónico); naproxeno (ácido 2-(6-metoxi-2-naftil)-propiónico), alclofenac (ácido 4-aliloxi-3-clorofenil-acético), ketoprofeno (ácido 2-(3-bencilfenil)benzoico, diclofenac (ácido 2-(2,6-diclorofenilamino)-fenilacético), fenoprofeno (ácido 2-(3-feniloxifenil)-acético), tolmetin (ácido 1-metil-5-(p-toluil)-pirrol-2-il-acético), flurbiprofeno (ácido 2-2-fluorobifenil-4-il-propiónico) y suprofeno (ácido p-2-tenoil-hidratrópico) ácido fenilpropiónico); ácidos antranílicos y sus análogos de nitrógeno, tales como el ácido flufenámico (ácido N-(m-trifluorometilfenil)-antranílico), ácido mefenámico (ácido N-(2,3-dimetilfenil)-antranílico), y el ácido niflúmico (ácido 2-(3-trifluorometilaminolino)-nicotínico).

- 55 Los compuestos fosfolípidos que mostraron ser particularmente útiles en la práctica de la presente invención son la dilinoleoilfosfatidilcolina (DLL-PC), la dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC) y la fosfatidilcolina de huevo (Egg-PC o PC_e). En la DPPC, un fosfolípido saturado, las sustituciones alifáticas saturadas R₁ y R₂ son CH₃-(CH₂)₁₄, R₃ es CH₃ y X es H. En DLL-PC, un fosfolípido insaturado, R₁ y R₂ son CH₃-(CH₂)₄-CH=CH-CH₂-CH=CH-(CH₂)₇, R₃ es CH₃ y X es H. En la PC de huevo, que es una mezcla de fosfolípidos insaturados, R₁ contiene principalmente una sustitución alifática saturada (por ejemplo, ácido palmítico o esteárico), y R₂ es principalmente una sustitución alifática insaturada (por ejemplo, ácido oleico o araquidónico).

Descripción de los lípidos neutros

- 65 Los lípidos neutros forman otro componente de algunas formas de realización de las composiciones descritas en este documento. Esta clase de lípidos incluye los triglicéridos.

Los triglicéridos útiles en la práctica de la presente invención están caracterizados generalmente por la fórmula:



en la que R₁, R₂ y R₃ son cada uno sustituciones saturadas o insaturadas que varían desde 4 hasta 32 átomos de carbono; y R₄ es =O ó H₂.

Como se apreciará, esta estructura abarca una amplia variedad de triglicéridos, tanto saturados como insaturados, e incluye, por ejemplo, triglicéridos tales como la tripalmitina (saturado), la trioleína y la trilinoleína (ambos insaturados). En la Patente de EEUU 5.032.585 se proporciona otra lista de ácidos grasos saturados e insaturados que pueden esterificarse o unirse por éteres al triglicérido en cuestión.

En una preparación farmacéutica particular prevista, la preparación se proporcionará en forma de una píldora adecuada para la ingestión humana, conteniendo de aproximadamente 2 a aproximadamente 300 mg por kg de aspirina o salicilato, junto con una cantidad equimolar de PC, DPPC, o una combinación de los mismos, o cualquier otro fosfolípido iónico bipolar. Las composiciones incluyen el NSAID y el fosfolípido iónico bipolar en proporciones molares que varían desde aproximadamente 1:0,1 hasta 1:20, y de preferencia desde aproximadamente 1:0,5 hasta aproximadamente 1:2. En una forma de realización de más preferencia, los componentes se incluyen en una proporción molar de aproximadamente 1:1.

Los ejemplos siguientes se incluyen para demostrar formas de realización de preferencias de la invención. Los expertos en la técnica apreciarán que las técnicas divulgadas en los ejemplos siguientes representan técnicas descubiertas por el inventor para el buen desarrollo de la puesta en práctica de la invención, y por consiguiente, puede considerarse que constituyen modos de preferencia para su práctica.

Ejemplo 1

Efectos lesionales y hemorrágicos gastrointestinales de las composiciones de nsaid y fosfolípidos iónicos bipolares

El presente ejemplo demuestra la utilidad de la presente invención para proporcionar composiciones que reducen los efectos secundarios relacionados con el tracto gastrointestinal asociados habitualmente con los NSAID.

Para retardar la capacidad de los NSAID para interaccionar con el recubrimiento de los fosfolípidos extracelulares de la capa del gel mucoso, se preasociaron varios NSAID con fosfolípidos iónicos bipolares y se determinaron sus efectos en varios modelos ulcerosos de ratas. El presente ejemplo demuestra que la capacidad de los NSAID para inducir lesiones gastrointestinales agudas y/o crónicas y hemorrágicas disminuyó ostensiblemente cuando los fármacos se administraron como un complejo con DPPC o fosfolípidos relacionados. Sorprendentemente, la actividad antipirética y antiinflamatoria de la aspirina pareció aumentar de manera coherente cuando se asoció con los fosfolípidos iónicos bipolares. Esto contrasta con los efectos secundarios previos de otras formulaciones, que se informó que conferirían una eficacia terapéutica reducida desde el principio (Alpsten y col., 1982; Mojaverian y col., 1987).

Modelos ulcerosos

Se indujeron lesiones gástricas de forma aguda en ratas según las técnicas siguientes. Para los NSAID basados en salicilato, se inyectó por vía intragástrica disolución salina (control), ASA, o salicilato, o los fármacos preasociados con una concentración equimolar de DPPC (todas las disoluciones se ajustaron a un pH de 3,1) a ratas macho Sprague Dawley en ayunas (150-200 g). Al cabo de diez minutos, las ratas se estimularon por vía intragástrica con 1 ml de HCl 0,6 N. Las lesiones gástricas se puntuaron macroscópicamente 60 minutos más tarde, según un procedimiento diseñado previamente (Lichtenberger y col., 1983).

Para investigar los efectos de los NSAID no salicilato para inducir las hemorragias GI, se inyectó metiléster de N-nitro-L-arginina (L-NAME) en ratas en ayunas por vía subcutánea 1 hora antes y 1 hora y 6 horas después de recibir por vía intragástrica 1 ml de los NSAID; la indometacina, el diclofenac y el naproxeno se administraron solos y asociados con una concentración equimolar de DPPC. El inhibidor de la síntesis del óxido nítrico (L-NAME) se administró antes y después del NSAID para aumentar la sensibilidad de las ratas al fármaco según el procedimiento de Chen y col., (Gastroenterology 104: A53, 1993). Dieciocho horas después de recibir el NSAID, se extirpó la mitad distal del intestino y se lavó con 10 ml de disolución salina. Se midió la concentración de hemoglobina (Hb) del perfundido intestinal como una estimación de la hemorragia GI según un procedimiento descrito previamente (Lichtenberger y col., 1983).

Las ratas se trataron con ASA durante un período de dos semanas para investigar los efectos crónicos de la exposición al NSAID (en presencia y ausencia de fosfolípidos) sobre el hematocrito, la hidrofobicidad de la mucosa gástrica y la formación del granuloma. Para asegurar que la rata presentaba un estómago vacío antes de recibir la dosis intragástrica diaria de ASA, se sometió a un programa de iluminación inverso (9 de la mañana, a oscuras; 5 de la tarde, con luz), permitiéndole sólo el acceso al alimento durante el día (período de oscuridad). Las disoluciones de ensayo (salina, ASA y complejo ASA/Phospholipon 90G) se administraron por vía intragástrica entre las 8 h y las 9 h de la mañana diariamente durante las dos semanas del período del estudio. En estos experimentos de exposición crónica, ASA se complejó con una concentración equimolar de Phospholipon 90G (lecitina de soja purificada, preparada y obtenida a partir de Nattermann GmbH de Colonia, Alemania), en lugar de DPPC. Al finalizar el período de estudio, se recogió la sangre en un tubo capilar para determinar el hematocrito y se extirpó el estómago para el análisis del ángulo de contacto.

Uno de varios NSAID se administró a las ratas solo, por vía intragástrica, o preasociado con una concentración equimolar de DPPC o Phospholipon 90 G (lecitina de soja purificada, preparada por Nattermann GmbH de Colonia, Alemania) en varios modelos lesionales agudos y crónicos del tracto GI superior. Se utilizaron dos modelos animales de contraste para determinar la capacidad de DPPC para proteger contra las lesiones agudas de NSAID al tracto GI. Para los NSAID basados en salicilato, que inducen principalmente lesiones en el estómago, se puntuaron las lesiones gástricas en ratas en ayunas que se trataron inicialmente con aspirina o salicilato sólo, o complejoado con DPPC, estimulándolas 10 minutos más tarde con una dosis supra-fisiológica de HCl. Para los NSAID no salicilato (indometacina, diclofenac y naproxeno) que inducen predominantemente lesiones en las regiones distales medias del intestino delgado, se evaluó la cantidad de sangre intraluminal en la mitad distal del intestino delgado de ratas que habían sido tratadas previa y posteriormente con el inhibidor de la sintasa de óxido nítrico, L-NAME (metiléster de N-nitro-L-arginina).

Los resultados, que se muestran en las Figuras 4A y 4B respectivamente, demuestran claramente (en ratas sensibilizadas a los fármacos) que el potencial agresivo tanto de los NSAID basados en salicilato como los no basados en salicilato, para inducir lesiones GI agudas y hemorrágicas, se redujo significativamente, en > 85%, si el NSAID se preasociaba con el fosfolípido iónico bipolar antes de la administración. De modo similar, la administración diaria de aspirina a ratas durante un período de 2 semanas dio lugar a una disminución significativa tanto en el hematocrito como en la hidrofobicidad de la mucosa gástrica, que se evitó en las ratas que recibieron el complejo aspirina/Phospholipon G (Tabla 2).

TABLA 2

Efecto de DPPC sobre los efectos secundarios GI crónicos de la aspirina

Grupo	Hidrofobicidad de la mucosa gástrica (grados, ángulo de contacto) ^b	Hematocrito
Disolución salina (Control)	52,2 ± 2,7 (6)	51,7 ± 0,4 (10)
Aspirina (90 mg/kg)	15,8 ± 6,6 ^c (6)	47,8 ± 0,2 ^c (10)
Aspirina + Phospholipon G	55,3 ± 5,88 ^{c,d} (6)	53,1 ± 0,4 ^{c,d} (10)
^b La hidrofobicidad de la mucosa gástrica se midió por medio de análisis del ángulo de contacto, tal como se describe en Hills y col., 1983; Goddard y col., 1987; Goddard y col., 1990. ^c p < 0,05 comparado con valores de control tratados con disolución salina. ^d p < 0,05 comparado con valores de ratas tratadas con aspirina. (n) número de ratas/grupo		

Ejemplo 2

Estudios de solubilidad; formación del complejo entre NSAID y fosfolípidos iónicos bipolares

Para demostrar el efecto de DPPC sobre la solubilidad de las sales sódicas de los cinco NSAID (naproxeno, indometacina, diclofenac, salicilato y aspirina) en cloroformo, cada NSAID se añadió a cloroformo a una concentración final de 30 nM. El DPPC se disolvió en el cloroformo que estaba contenido en la mitad de los tubos a una concentración final que varió entre 5 y 40 nM, antes de la adición de la sal de NSAID. El DPPC, así como el PC y otros fosfolípidos iónicos bipolares útiles en la práctica de la invención, pueden también disolverse en otros disolventes orgánicos, tales como etanol, en la práctica de la presente invención. Los tubos se mezclaron suavemente a 25°C durante 16 horas, tras lo que se fotografiaron y/o centrifugaron (2.000g durante 15 minutos), y se recogió el sobrenadante para determinar la concentración de NSAID en la disolución. Esto último se llevó a cabo midiendo la absorbancia UV de los cinco NSAID a 290 nm, y comparando estas lecturas con las adecuadas curvas estándar para cada NSAID. Debe tenerse en cuenta que para cada uno de los cinco NSAID, existió una relación lineal entre la concentración del fármaco (nM) en agua y la lectura de la absorbancia UV. Las ecuaciones para las líneas de regresión para cada uno de los NSAID fueron las siguientes: aspirina, $y = 2,603x - 0,004$, $r = 0,999$; salicilato, $y = 8,780x + 0,123$, $r = 0,999$; indometacina, $y = 18,325x + 0,156$, $r = 0,999$; diclofenac, $y = 21,523x + 0,008$, $r = 0,999$; y naproxeno, $y = 3,732x + 0,005$, $r = 0,999$. En todos los casos las lecturas para los desconocidos cayeron dentro de la porción lineal de las curvas estándar. Además, la presencia de DPPC en el disolvente no interfirió con estos análisis, ya que no contribuyó a la lectura de la absorbancia UV en ausencia del NSAID.

Para evaluar el efecto de DPPC en la solubilidad de la sal sódica de ASA en agua, se disolvió ASA en agua hasta una concentración final de 30 nM (pH se ajustó hasta 6,0), y se controló su fluorescencia intrínseca (290 nm/excitación; 406 nm/emisión). El DPPC se encontraba como una suspensión lipídica en la mitad de los tubos a una concentración final que varió entre 15 y 60 nM. Los tubos se mezclaron suavemente a 25°C durante el período de incubación deseado, tras lo que se centrifugaron (2.000 g durante 15 minutos), y se recogió el sobrenadante para determinar la concentración de ASA en la disolución. Nuevamente, se encontró una relación lineal ($y = 14,02 + 0,353x$, $r = 0,999$) entre la lectura de la fluorescencia y la concentración de aspirina en la disolución.

Puede apreciarse a partir de la Figura 1A y Figura 1B que las sales sódicas de estos NSAID son insolubles en cloroformo a menos que se añada una concentración equimolar o mayor de DPPC al disolvente orgánico, punto en el que tiene lugar la solvatación completa. A la inversa, las sales sódicas de los NSAID se solubilizan fácilmente en disolución salina o en agua, y se eliminan de la disolución como un complejo, minutos después de añadir una concentración equimolar de DPPC como suspensión lipídica. Puede efectuarse un seguimiento de la solubilidad de la aspirina en la disolución salina controlando su fluorescencia o radioactividad intrínsecas (utilizando aspirina marcada con ^{14}C). La Figura 2A y Figura 2B demuestran que la inyección de DPPC en una disolución acuosa da lugar a la precipitación de NSAID, presumiblemente como un complejo con el fosfolípido. El cambio rápido en la solubilidad del NSAID, tanto en el sistema de disolvente orgánico como en el acuoso no tiene lugar si DPPC se sustituye por el fosfolípido aniónico, dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG).

Ejemplo 3

Formación de granuloma y actividad antiinflamatoria aumentada

El presente ejemplo demuestra la utilidad de la presente invención para aumentar la actividad antiinflamatoria de ASA que tiene lugar cuando ASA, u otro fármaco antiinflamatorio no esteroide, forma complejo con Phospholipon 90 G. Se utilizó un modelo de granuloma provocado por cuerpo extraño, ampliamente utilizado por los expertos en la técnica para evaluar la acción antiinflamatoria.

Los inventores utilizaron el modelo de rata de formación de granuloma por cuerpo extraño. Este modelo es reconocido por los expertos en la técnica como modelo representativo de la formación del granuloma y de la actividad antiinflamatoria, tal como se describe en Ucelay y col. (1988); y Castro y col. (1980).

Procedimientos

El modelo anterior se ha utilizado con éxito tanto en ratas como en invertebrados para cuantificar el componente más básico de una respuesta tisular a la lesión (Ucelay y col., 1988; Castro y col., 1980; Clatworthy y col., 1994). Se implantaron quirúrgicamente (bilateralmente) hebras de hilo de algodón taradas estériles bajo la piel abdominal de ratas anestesiadas con éter en el día 1 del período de estudio, y posteriormente se aleatorizaron los animales aleatoriamente en un grupo que se trataría diariamente durante dos semanas con disolución salina, aspirina o el NSAID formando complejo con Phospholipon 90 G.

Al finalizar el período del estudio, las hebras de hilo con el tejido granulomatoso adherente se extirparon quirúrgicamente de los animales eutanizados, y se secaron al vacío durante varios días a temperatura ambiente, hasta que se obtuvo un peso en seco basal. La diferencia entre este valor y el peso en seco inicial de las hebras de hilo previo a la implantación, dividido por este último valor, proporcionó una estimación del peso del tejido granulomatoso. Esta técnica demostró que era muy reproducible y precisa, tal como se determinó tanto por la estrecha coincidencia entre los cambios en peso de los dos trozos de hilo que se implantaron contralateralmente en cada animal (diferencia <

12,5% en los valores entre los trozos de hilo derecho e izquierdo); como por la baja varianza (< 8%) en los valores de formación granulomatosa en un grupo de animales.

La mejora en la eficacia antiinflamatoria de la ASA se observó durante un período de estudio de 2 semanas. Este efecto se apreció cuando se administró el NSAID formando un complejo con Phospholipon G a concentraciones inferiores a la dosis eficaz máxima para este fármaco en particular (véase Tabla 3, Fig. 5).

TABLA 3

Efecto de las formulaciones de aspirina ± DPPC sobre la formación del granuloma provocado por un cuerpo extraño

Grupo	± DPPC	n	Formación del granuloma ^a
Disolución salina (control)	-	5	3,20 ± 0,10
ASA (90 mg/kg)	-	5	1,90 ± 0,10 ^b
	+	5	1,4 ± 0,10 ^{b,c}
ASA (140 mg/kg)	-	6	1,07 ± 0,09 ^b
	+	6	1,00 ± 0,15 ^b
^a Los valores representan el peso seco de las fibras de hilo con el tejido granulomatoso adherente - peso seco de las fibras de hilo / peso seco de las fibras de hilo. ^b p < 0,05 en comparación con los valores de los controles tratados con disolución salina. ^c p < 0,05 en comparación con los valores de ratas tratadas con NSAID sólo.			

Ejemplo 4

Análisis del ángulo de contacto

El presente ejemplo se proporciona para describir el modelo que se utilizó para examinar la acción reductora de la tensión superficial de las composiciones formadas por una combinación de agente inflamatorio no esteroide y fosfolípido iónico bipolar.

El análisis del ángulo de contacto se llevó a cabo utilizando un goniómetro sobre el tejido extirpado de la mucosa gástrica, que se manchó ligeramente y secó, tal como se resumió previamente (Hills y col., 1983; Goddard y col., 1987; Goddard y col., 1990). Brevemente, esto se llevó a cabo aplicando una pequeña gota de agua (aproximadamente 5 µl) a la superficie del tejido, utilizando el ocular telescópico del goniómetro para medir el ángulo máximo que se disecciona en el punto triple, donde sólido/líquido/ y aire se encuentran en la superficie de contacto.

Ejemplo 5

Actividad antipirética

En el presente ejemplo, se utilizó un modelo establecido de fiebre en la rata para demostrar la utilidad de la invención para aumentar la actividad antipirética de un NSAID combinando esta clase de agentes con un fosfolípido.

El modelo de fiebre en ratas implica la inyección de las ratas con la levadura de Brewer (2 g/kg, vía subcutánea) para inducir un aumento en la fiebre de 0,5 a 1,5 C. Estos modelos se describen en Adams y col., (1968) y Ucelay y col (1988). Los animales se trataron por vía intragástrica (por instilación) con disolución salina, con ASA 90 mg/kg, o con ASA preasociada con una concentración equimolar de DPPC 90 mg/kg. Se realizaron análisis antipiréticos similares con las sales de sodio de los NSAID siguientes: diclofenac (10 mg/kg), indometacina (10 mg/kg) y naproxeno (30 mg/kg), solos y formando complejo con una concentración equimolar de DPPC. Todas las disoluciones de prueba se

valoraron hasta un pH de 4,5 previo a la administración intragástrica. Se controlaron las temperaturas rectales en ratas conscientes y limitadas en la totalidad de los tiempos indicados. Esta técnica proporcionó una estimación muy segura y reproducible de la actividad antipirética de las formulaciones de NSAID, como indica el hecho de que la varianza dentro de un grupo fue baja, con los errores estándar < 5% de los valores medios, y el hecho de que la diferencia en los valores de la temperatura media para un grupo dado variaron < 2% entre experimentos separados.

Ejemplo 6

10 *Composiciones farmacéuticas*

Los complejos descritos en el presente ejemplo son de preferencia para administración oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o con un vehículo comestible capaz de asimilarse, o pueden incluirse en cápsulas de gelatina con un recubrimiento blando o duro, o pueden comprimirse en comprimidos, o pueden incorporarse directamente al alimento de la dieta. Para administración terapéutica por vía oral, los compuestos activos (es decir, NSAID y fosfolípidos iónicos bipolares y/o lípidos neutros) pueden incorporarse con excipientes o vehículos y utilizarse en forma de comprimidos capaces de ser ingeridos, comprimidos bucales, pastillas, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, y similares. Tales composiciones y preparaciones contendrán suficiente compuesto activo NSAID para alcanzar un nivel plasmático eficaz del fármaco activo. La aspirina, por ejemplo, se proporcionará en dosis de desde aproximadamente 10 mg, o de aproximadamente 20 mg, o 32,5 mg o incluso de hasta 60 mg, o cada comprimido o dosis contendrá 300 mg/kg, si se utilizan para la administración a animales con un peso de aproximadamente 60-70 kg. La dosis variará dependiendo del NSAID o de las combinaciones de NSAID utilizadas. La cantidad del NSAID en preparaciones particulares se describe más generalmente como una cantidad de NSAID o combinación de NSAID eficaz para proporcionar una concentración plasmática farmacológicamente activa del fármaco cuando se utiliza en combinación con un fosfolípido iónico bipolar. Un experto en la técnica farmacéutica puede determinar estas cantidades con los datos que se divulgan en este documento, y las referencias farmacéuticas generales, tales como Remingtons Pharmaceutical Sciences.

Los comprimidos, pastillas, píldoras, cápsulas y similares pueden también contener los siguientes componentes: un ligante, como goma de tragacanto, acacia, almidón de maíz, o gelatina; excipientes, tal como fosfato dicálcico; un agente disgregante, tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; un lubricante, tal como estearato de magnesio; y puede añadirse también un agente edulcorante, tal como sacarosa, lactosa, aspartamo o sacarina, o un agente aromatizante tal como peppermint, aceite de gaulteria, o aroma de cereza. Cuando la forma de monodosis es una cápsula, puede contener, además de los materiales del tipo mencionado anteriormente, un vehículo líquido. Otros diversos materiales pueden estar presentes como recubrimientos o para modificar de otra manera la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo los comprimidos, las píldoras o cápsulas pueden recubrirse con laca, azúcar o ambos.

Un jarabe de elixir puede contener el compuesto activo sacarosa como un agente edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un colorante y aromatizante, tal como aroma de cereza o de naranja, nuevamente formulados para administración por vía oral. Por supuesto, cualquier material utilizado para preparar cualquier forma de monodosis deberá ser farmacéuticamente puro y sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, los compuestos activos pueden incorporarse a preparaciones y formulaciones de liberación sostenida.

Las presentes composiciones pueden formularse también como formulaciones inyectables, o como formulaciones adecuadas para administración entérica, según las técnicas conocidas por los expertos en técnicas médicas.

Ejemplo 7

50 *Permeabilidad lipídica del complejo NSAID/fosfolípido*

El presente ejemplo ilustra la utilidad de la invención para proporcionar composiciones para aumentar la bioabsorción y la biodisponibilidad de los NSAID.

La difusión de la aspirina (sola y formando complejo con fosfolípidos) desde el agua al ciclohexano se utilizó como modelo para evaluar la permeabilidad del fármaco a la membrana.

Análisis de permeabilidad

Se disolvió la sal sódica de ASA (también salicilato) en 5 ml de agua a una concentración final de 100 mM (pH ajustado a 6,0) y se agitó suavemente a 25°C. Se depositó un volumen igual de ciclohexano sobre la disolución acuosa y se controló fluorométricamente la entrada del NSAID a la fase orgánica a lo largo del tiempo. Para determinar el efecto de la asociación de los fosfolípidos sobre la permeabilidad lipídica del NSAID, ASA (o el salicilato) a la concentración anterior, se trató con ultrasonidos en presencia de fosfolípido (DPPC o DPPG) 0,5 mM en agua (ajustado hasta un pH de 7), y se midió fluorométricamente su grado de difusión en la fase de ciclohexano. Esto se llevó a cabo retirando con la pipeta 1 ml de disolución de la fase superior clorofórmica, inyectándolo en la cubeta para obtener la lectura de la fluorescencia, y devolviendo la muestra al recipiente de incubación para asegurarse de que el volumen no variara. Este procedimiento completo podría realizarse en < 30 segundos.

En estos estudios, la concentración de NSAID:fosfolípido en agua se ajustó hasta una proporción molar de 200:1, creando una gran fuerza para promover el flujo de NSAID en la fase hidrocarburo, y reduciendo al mínimo la turbidez encontrada con elevadas concentraciones de fosfolípidos.

5

Resultados

Bajo condiciones de neutralidad, la difusión pasiva de la aspirina a través de una interfase agua-hidrocarburo, como se evaluó fluorométricamente, fue despreciable a menos que se asociara químicamente con el fosfolípido iónico bipolar DPPC (véase Figura 3). Además, este aumento en la velocidad de flujo a la fase orgánica, no fue simplemente una consecuencia de la encapsulación liposómica, ya que el NSAID no entró en el ciclohexano cuando el fosfolípido aniónico DPPG se substituyó por DPPC. Estos estudios revelaron también que DPPC promovió el flujo del salicilato sódico desde la fase acuosa hacia la fase orgánica de forma similar.

Ejemplo 8

Actividad antiinflamatoria y antipirética del complejo NSAID-fosfolípido

Este ejemplo demuestra la utilidad de la presente invención para aumentar el potencial para reducir la fiebre del NSAID (dosis de 20 mg/kg) cuando se asoció químicamente con un fosfolípido iónico bipolar. Se determinó la capacidad de los NSAID (administrados solos y formando un complejo con DPPC) para reducir la fiebre en las ratas. Se indujo la fiebre 18 horas antes del tratamiento con el fármaco, mediante la administración subcutánea de la levadura de Brewer (Adams y col., 1968; Ucelay y col., 1988).

Los resultados (véase Fig. 4C) indican que la actividad antipirética del complejo ASA/DPPC fue significativamente mayor que la del NSAID solo, en todos los períodos de tiempo examinados.

El aumento en la actividad antipirética del complejo NSAID/DPPC comparado con el NSAID solo durante las primeras tres horas después de la administración intragástrica se observó en un grado menor con las sales sódicas de los fármacos siguientes: diclofenac (-0,29°C), indometacina (-0,28°C) y naproxeno (-0,30°C).

Ejemplo 9

Aumento de la actividad antipirética del complejo ASA/DPPC a una dosificación subumbral de ASA

35

La actividad antipirética del complejo ASA/DPPC se determinó en ratas como en el Ejemplo 8 (*supra*), esta vez a dosis mucho más bajas, más de 2 veces más bajas que en el Ejemplo 8. En el presente ejemplo, se administró una dosis de ASA 9,0 mg/kg sola o formando un complejo con DPPC. Los datos de este estudio se resumen en la Fig. 6.

Como puede apreciarse en la Fig. 6, la ASA sola no tiene una actividad antipirética significativa a este nivel de dosificación, pero sin embargo ASA formando complejo con DPPC tiene actividad antipirética significativa durante un período de cinco horas. El nivel de la dosis en el presente ejemplo es una reducción de 10 veces respecto a la dosis convencional de 90 mg/kg, como se utiliza en el Ejemplo 8, y que se informa en la Fig. 4C.

Basándose en las dosis recomendadas en seres humanos de 90 mg/kg para la artritis reumatoide juvenil, o de 325 a 650 mg para el tratamiento antipirético o analgésico en los adultos (véanse páginas 1110-1111 de Remington's Pharmaceutical Sciences, edición 18ª, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990), se espera que la ASA que forma complejo con DPPC o con otro fosfolípido iónico bipolar, a una dosis 10 veces más baja, es decir, aproximadamente de 9 mg/kg para la artritis reumatoide juvenil o de 32,5 a 65 mg para la actividad antipirética en adultos, será tan eficaz como la dosis normal de la ASA sola para proporcionar una actividad reductora de la fiebre.

Ejemplo 10

Efecto analgésico de los NSAID complejados

55

Se considera que, a la luz del aumento demostrado de los efectos de los NSAID (antiinflamatorios y antipiréticos) cuando forman complejo con un fosfolípido iónico bipolar, o incluso cuando además se administran en combinación (es decir, en una mezcla) con un lípido neutro (triglicérido) los efectos analgésicos de estos fármacos aumentarán también cuando formen complejo con fosfolípidos. Para demostrar el aumento de este efecto, pueden utilizarse dos pruebas establecidas del dolor, utilizando ratas. La retracción de la cola tiene lugar en respuesta a un estímulo nocivo que genera dolor. La respuesta de retracción de la cola puede observarse y calcularse en ratas a las que se administra un placebo para determinar un tiempo básico de reacción. Si después de recibir aspirina sola o complejada con DPPC, la latencia del tiempo entre la inducción del dolor (con una fuente de calor de láser) y la retracción de la cola aumenta, esto constituye un reflejo directo de analgesia. Los tiempos de retracción se compararán entre las ratas tratadas con la aspirina y con el placebo. La prueba se llevará a cabo con dosis variables y tiempos variables después de la administración del placebo, de la aspirina, y/o de otros NSAID, o de sus complejos, para determinar si la dosis o la duración tienen algún efecto sobre la intensidad de la analgesia.

Un modelo para el efecto analgésico en las ratas implica a animales a los que se les inyecta formalina. Se inyecta a las ratas bajo la superficie dorsal de la pata trasera derecha con un volumen de 0,05 ml de formalina al 15% y disolución salina (Helmstetter y Fanselow, 1987). A continuación se administra a las ratas tratadas aspirina, y/u otros NSAID, el complejo aspirina/DPPC o PC, o placebo en diversos tiempos, antes y después de la inyección con la disolución irritante. A continuación se disponen las ratas en una jaula y se observan sus respuestas de comportamiento a los estímulos dolorosos (utilizando un sistema de video cámara), y se evalúa de la forma siguiente: (1) bloqueo, ausencia de cualquier actividad distinta a la respiración, (2) elevación de la pata, la rata mantiene su pata tratada cerca de su cuerpo; (3) lamido de la pata, la rata lame la pata tratada o experimenta algún otro tipo de contacto bucal con ella; y (4) actividad general, esto implica cualquier otro tipo de movimiento general. La respuesta del comportamiento de la rata indica su sensibilidad. La prueba de la formalina, junto con la prueba del movimiento rápido de la cola, comprenden dos ensayos distintos y separados para evaluar la sensibilidad al dolor y la efectividad de la analgesia.

Ejemplo 11

Efectos de la aspirina a dosis bajas (9 mg/kg), sola y como un complejo con fosfolípidos/lípidos neutros, sobre la formación del granuloma por cuerpo extraño en ratas

El presente ejemplo se proporciona para demostrar la utilidad de la presente invención para reducir la inflamación. El modelo del granuloma de hebras que se describe en este documento se utilizó nuevamente para demostrar la actividad de los procedimientos divulgados en el presente documento para tratar esta afección.

Se implantaron quirúrgicamente hebras de hilo de algodón taradas estériles. Al cabo de cinco días se administró por vía intragástrica a los animales dos veces al día disolución salina, ASA sola, o mezclas de ASA y lípidos. Se sacrificaron las ratas después de que cada animal recibiera 5 dosis de los compuestos de prueba y se extirparon y pesaron las hebras de hilo y los granuloma.

* $p < 0,05$ versus ASA sola. ASA = aspirina;

DPPC = dipalmitoilfosfatidilcolina

TP = tripalmitina; TO = trioleína.

TABLA 3

Disolución salina	ASA	ASA DPPC/TP	ASA Phospholipon G/TO
4,08 (8)	3,89 (8)	3,44 (8)	3,49 (8)*
± 25	$\pm 0,06$	$\pm 0,24$	$\pm 0,17$

Tabla 3. Como se demuestra en los datos que se proporcionan en la Tabla 3, una microemulsión de fosfolípidos (DPPC)/lípidos neutros (TO) pareció aumentar modestamente la actividad antiinflamatoria de ASA, cuando se administró el NSAID a una dosis subumbral (9 mg/kg) para esta actividad.

Ejemplo 12

Efecto de DPPC sobre el efecto inhibitorio de la aspirina en la agregación plaquetaria

El presente ejemplo demuestra la capacidad de los fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID) para inhibir la activación celular que da lugar a la agregación plaquetaria o a la síntesis y liberación de mediadores inflamatorios. Se demuestra que la actividad aumenta si los NSAID se administran como un complejo con fosfolípidos iónicos bipolares solos o junto con lípidos neutros.

Prueba de Ristocetina elevada (1,5 mg/ml)		
	% Porcentaje de agregación plaquetaria	
Concentración de ASA	-DPPC	+DPPC
0,00	93%	100%
0,01 mM	100%	100%
0,1 mM	83%	87%
1,0 mM	95%	35%
1,0 mM ^a	100%	84%
Prueba de Ristocetina baja (0,75 mg/ml)		
	% Porcentaje de agregación plaquetaria	
Concentración de ASA	-DPPC	+DPPC
0,00	75%	94%
0,01 mM	65%	12%
0,1 mM	26%	20%
1,0 mM	80%	6%
1,0 mM ^a	39%	15%
Abreviaturas: ASA = aspirina DPPC = dipalmitofosfatidilcolina DPPC se añadió a una concentración equimolar a la aspirina. En ausencia de aspirina, DPPC se añadió a una concentración final de 1 mM ^a Segundo estudio		

La ventaja de esta invención es que permitirá que los NSAID se administren a una dosis más baja de lo normal, por su aumento de la eficacia y la potencia, que de esta manera incrementa su eficacia y minimiza sus efectos secundarios sobre el tracto GI y otros sistemas orgánicos.

Diversas formas de realización de la invención incluyen la combinación de NSAID con fosfolípidos iónicos bipolares solos y junto con lípidos neutros. Estas combinaciones aumentarán la eficacia y potencia de los NSAID para inhibir la activación de: 1) plaquetas; 2) neutrófilos; 3) monocitos/macrófagos; 4) linfocitos; 5) Pans y 7) otros tipos celulares derivados de la médula ósea.

Considerando el interés de la industria farmacéutica en el papel de los NSAID para evitar las enfermedades cardiovasculares y la inflamación tisular/articular, las preparaciones farmacéuticas descritas en el presente documento proporcionarán protocolos alternativos de actuación clínica con una biodisponibilidad mejorada a dosis más bajas del régimen NSAID algunas veces irritante.

Esta lista incluirá como mínimo las 20-40 compañías farmacéuticas que comercializan actualmente un NSAID.

Ejemplo 13

Agentes antisecretores junto con NSAID y lípidos

El presente ejemplo demuestra la utilidad de la presente invención para composiciones que incluyen un fármaco antisecretor, tal como Tagamet, u otros antagonistas de los receptores tipo 2 de la histamina, o el Omeprazol (PrilosecTM, u otros inhibidores de la bomba protónica o inhibidores de H⁺/K⁺ ATPasa), antes o junto con un NSAID complejoado con un fosfolípido y/o un lípido neutro (tal como un triglicérido). Estas formas de realización de la invención se describen además en el Ejemplo 14.

Aunque no se pretenda estar limitado a ningún mecanismo de acción particular, la escasa absorción de los NSAID que a veces se produce cuando se administra con ellos un agente antisecreto, puede evitarse o disminuirse hasta cierto punto incluyendo un fosfolípido y/o un lípido neutro. Por consiguiente, la biodisponibilidad y la acción terapéutica del NSAID cuando se administra junto con una agente antisecreto pueden mantenerse y en algunos casos aumentarse.

El presente ejemplo demuestra también que la actividad terapéutica (antipirética) de la aspirina, y de otros NSAID, se atenúa si los animales se tratan previamente con un agente que inhibe la secreción ácida gástrica. El Omeprazol (que se vende bajo el nombre de Prilosec™) pertenece a la clase de “inhibidores de la bomba de protones”, también llamados “inhibidores de H^+/K^+ ATPasa” que actúan mediante unión irreversible e inhibiendo la H^+/K^+ ATPasa de la célula parietal, la enzima limitante de la tasa de secreción gástrica de HCl. La ranitidina (que se vende bajo el nombre de Zantac™) pertenece a la clase de “antagonistas de los receptores H_2 ” que evita que la histamina se una a su receptor de tipo 2 sobre la célula parietal para inhibir la secreción ácida gástrica. Puede apreciarse en las Figuras 22 y 23 que el efecto bloqueante de estas dos clases de fármacos antisecretores sobre las acciones terapéuticas de los NSAID, sin embargo, es superado si los NSAID se complejan con un fosfolípido iónico bipolar. Como se demuestra en las Figuras 22 y 23, la aspirina a una dosis de 20 mg/kg no redujo la fiebre en las ratas si el NSAID se administró conjuntamente con el inhibidor de la bomba de protones (Prilosec™) o un bloqueador de la histamina, ranitidina (Zantac™). Este bloqueo en la actividad terapéutica por la inhibición de la secretina de ácido gástrico se superó si el NSAID se administraba como un complejo con el fosfolípido DPPC.

Ejemplo 14

Regímenes terapéuticos

El presente ejemplo se proporciona para demostrar la utilización de varios regímenes de combinaciones terapéuticas para el tratamiento de la fiebre, de la inflamación y del dolor. Estos regímenes incluyen la administración de NSAID junto con un fosfolípido y/o un lípido neutro.

Los agentes que incluyen fosfolípidos, tales como comprimidos de lecitina y similares, pueden utilizarse como parte de los regímenes que se divulgan en este documento para aumentar la actividad de NSAID. Los presentes inventores también proponen regímenes que incluyen la administración de un NSAID y fosfolípido y/o lípido neutro antes o al mismo tiempo que un fármaco antisecreto, tales como Tagamet® y Prilosec™. Esto es por que el presente inventor ha observado que los fármacos antisecretores reducen la acción antipirética del NSAID. Se espera que la inclusión del fosfolípido y/o del lípido neutro mejore la absorción reducida que se observa de los NSAID, observada cuando los NSAID se administran con un agente antisecreto solo. Típicamente, esta absorción reducida requirió que se administrara al paciente una dosis más alta del NSAID, para proporcionar el efecto terapéutico deseado.

Las combinaciones de los NSAID con fosfolípidos iónicos bipolares, solos o en combinación con lípidos neutros, promoverá la capacidad de esta familia de fármacos para influenciar ciertas células diana, tales como neutrófilos, plaquetas, eosinófilos, macrófagos, y otros. Al hacerlo, dichos fosfolípidos aumentarán la eficacia y potencia de los NSAID para inhibir la ciclooxigenasa celular y la formación de los productos derivados del ácido araquidónico y de otros agentes implicados en la agregación, adhesión celular, y síntesis y liberación de mediadores inflamatorios y/o citocinas.

Referencias

Las siguientes referencias, en la medida en que proporcionan detalles ejemplares del procedimiento u otros detalles que complementan los expuestos en este documento, se incorporan específicamente a este documento por referencia.

Adams, S.S., Hebborn, P. & Nicholson, J.S. Some aspects of the pharmacology of ibufenac, a non-steroidal antiinflammatory agent. *J. Pharm. Pharmac.* 20, 305-312 (1968).

Alexander, A.M., Veitch, G.B.A. & Wood, J.B. Anti-rheumatic and analgesic drug usage and acute gastro-intestinal bleeding in elderly patients. *J. Clin. Hosp. Pharm.* 10, 89-93 (1985).

Allison, M.C., Howatson, A.G., Torrance, C.J., Lee, F.D. & Russell, R.I. Gastrointestinal damage associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs *N. Engl. J. Med.* 32, 749-754 (1992).

Alpsten, M., Bogentoft, C., Ekenved, G., & Solvell, L. Gastric emptying and absorption of acetylsalicylic acid administered as enteric-coated microgranules. *Eur. J. Clin. Pharm.* 22, 57-61, 1982.

Castro, G.A., Malone, C. & Smith, S. Systemic anti-inflammatory effect associated with enteric trichinellosis in the rat. *J. Parasitol.* 66, 407-412 (1980).

Fuster, V., Dyken, M.L., Vokonas, P.S., y Hennekens, C. Aspirin as a therapeutic agent in cardiovascular disease. *Circulation* 87, 659-675 (1993).

Ghyczy y col., Patente de EEUU 4.309.720.

Ghyczy y col., Patente de EEUU 4.369.182.

Ghyczy y col., Patente de EEUU 4.421.747.

Goddard, P.J., Kao, Y-C. & Lichtenberger, L.M. Luminal surface hydrophobicity of canine gastric mucosa is dependent on a surface mucous gel. *Gastroenterology* 98, 361-370 (1990).

Goddard, P.J., Hills, B.A., & Lichtenberger, L.M. Does aspirin damage the canine gastric mucosa by reducing its surface hydrophobicity? *Am. J. Physiol.* 252, G-421-430 (1987).

Graham, D.Y. Prevention of gastroduodenal injury induced by chornic nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy. *Gastroenterology* 96, 675-681 (1989).

Helmstetter, F.J., Fanselow, M.S. Strain differences in reversal of conditional analgesia by opioid antagonists. *Behavioral Neurosciences*, 101, 735-737 (1987).

Hills, B.A., Butler, B.D. & Lichtenberger, L.M. Gastric Mucosal Barrier: The hydrophobic lining to the lumen of the stomach. *Am. J. Physiol.* 244, G-561-568 (1983)

Jolobe, O.M.P. & Montgomery, R.D. Changing clinical pattern of gastric ulcer: are anti-inflammatory drugs involved? *Digestion* 29, 164-170 (1984).

Kao, Y-C., & Lichtenberger, L.M. Phospholipid-and neutral- lipid containing organelled of rat gastroduodenal mucous cells. *Gastroenterology* 101, 7-21 (1991).

Kao, Y-C., Goddard, P.J. & Lichtenberger, L.M. Morphological effects of aspirin and prostaglandin on the canine gastric mucosal surface; analysis with a phospholipid cytochemical stain. *Gastroenterology* 98, 592-606 (1990).

Kao, Y-C., & Lichtenberger, L.M. Effect of 16, 16 dimethyl prostaglandin E2 on the lipidic organelles of rat gastric surface mucous cells. *Gastroenterology* 104, 103-113 (1993).

Lichtenberger, L.M., Graziani, L.A., Dial, E.J., Butler, B.D. & Hills, B.A. Role of surface-active phospholipids ind gastric cytoprotection, *Science* 219, 1327-1329 (1983).

Ligumsky, M., Grossman, M.I. & Kauffman, Jr., G.L. Endogenous gastric mucosal prostaglandins: their role in mucosal integrity. *Am. J. Physiol.* 242, G337-341 (1982).

McCormack, K. & Brune, K. Classical absorption theory and the development of gastric mucosal damage associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Arch. Toxicol.* 60, 261-269 (1987).

Mojaverian, P., Rocci, Jr., M.L., Conner, D.P., Abrams, W.B. & Vlasses, P.H. Effect of food on the absorption of enteric-coated aspirin: Correlation with gastric residence time. *Clin. Pharm. Ther.* 41, 11-17 (1987).

Patente de EEUU N° 4.369.182

Patente de EEUU N° 4.421.747

Patente de EEUU N° 4.309.402

Rainsford, K.D., Antiinflammatory and Anti-rheumatic Drugs I, *CRC Press*, Boca Raton, Florida, (1985).

Rainsford, K.D., Mechanism of gastrointestinal toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scand. J. Gastroenterol.* 24 (suppl. 163), 9-16 (1989).

Ucelay, M., Lasheras, B. & Cenarruzabeitia, E. Pharmacological study of the new nonsteroidal antiinflammartry agent, 4'-Acetamidophenyl-2-(5'-p-toluyl-1'-methylpyrrole) acetate. *Arzheim-Forsch/Drug Research* 38, 546-551 (1988).

Whittle, B.J.R. Temoral relationship between cyclooxygenase inhibition, as measured by prostacyclin biosynthesis and the gastrointestinal damage induced by indomethacin in the rat. *Gastroenterology* 80, 94-98 (1981).

Whittle, B.J.R. Higgs, G.A., Eakins, K.E., Moncada, S & Vane, J.R. Selective inhibition of prostaglandin production in inflammatory exudates and gastric mucosa. *Nature* 284, 271-273 (1980).

Willard, J.E., Lange, R.A. y Hillis, L.D. The use of aspirin in ischemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 327, 175-181 (1992).

REIVINDICACIONES

5 1. Uso de una composición asociada de manera no covalente de un fosfolípido iónico bipolar y una cantidad subterapéutica de un agente antiinflamatorio no esteroide, en el que la cantidad del agente antiinflamatorio no esteroide está entre una décima parte y la mitad de la cantidad típicamente necesaria para provocar una actividad analgésica con el fosfolípido iónico bipolar que no se observa con la misma cantidad del agente antiinflamatorio no esteroide sin el fosfolípido iónico bipolar, para la fabricación de un analgésico para administración oral o entérica.

10 2. Uso de una composición asociada de manera no covalente de un fosfolípido iónico bipolar y la cantidad subterapéutica de un agente antiinflamatorio no esteroide, en el que la cantidad del agente antiinflamatorio no esteroide está entre una décima parte y una mitad de la cantidad típicamente necesaria para provocar una actividad antiinflamatoria con el fosfolípido iónico bipolar que no se observa con la misma cantidad del agente antiinflamatorio no esteroide sin el fosfolípido iónico bipolar, para la fabricación de un compuesto farmacéutico antiinflamatorio para administración oral o entérica.

15 3. El uso de las reivindicaciones 1 ó 2 en el que el agente antiinflamatorio no esteroide es salicilato, aspirina, naproxeno, indometacina, diclofenac o una mezcla de los mismos.

20 4. El uso de las reivindicaciones 1 ó 2 en el que el fosfolípido iónico bipolar es dipalmitoilfosfatidilcolina.

5. El uso de las reivindicaciones 1 ó 2 en el que se añade además un lípido neutro al medicamento.

6. El uso de la reivindicación 5 en el que el lípido neutro es un triglicérido o tripalmitina.

25 7. El uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medicamento está esencialmente libre de fosfolípidos aniónicos.

30 8. El uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proporción molar del fosfolípido iónico bipolar al agente antiinflamatorio no esteroide es 1.

9. El uso de la reivindicación 5 en el que el fosfolípido iónico bipolar es dipalmitoilfosfatidilcolina y el lípido neutro es tripalmitina.

35

40

45

50

55

60

65

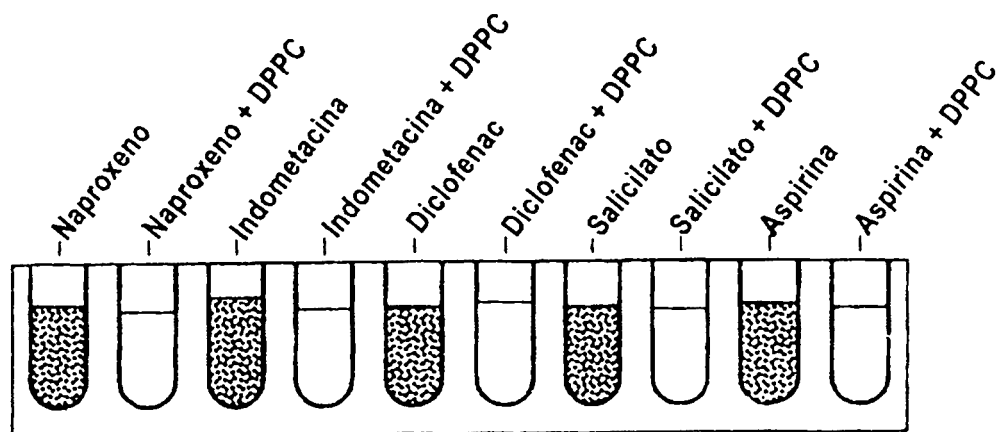


Fig. 1A

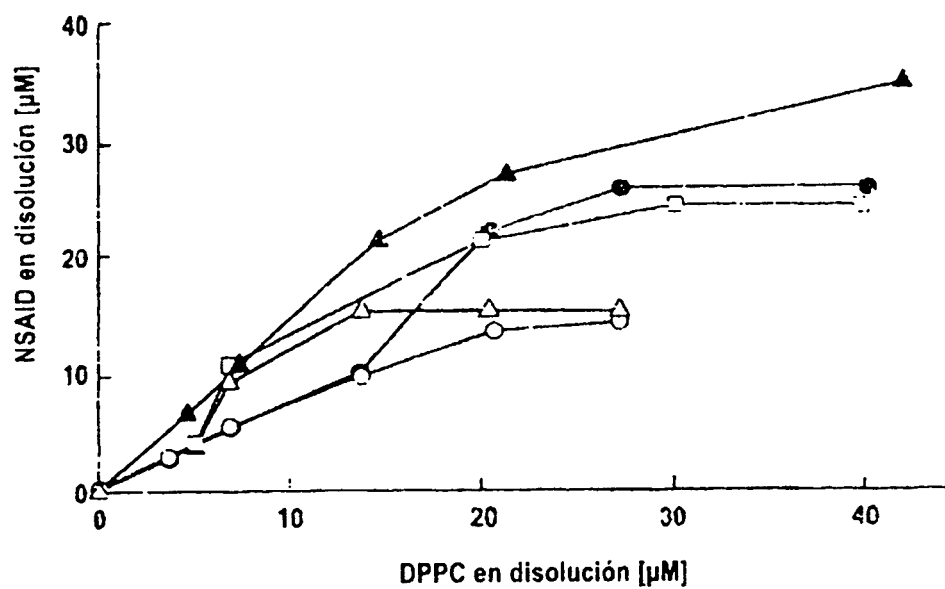


Fig. 1B

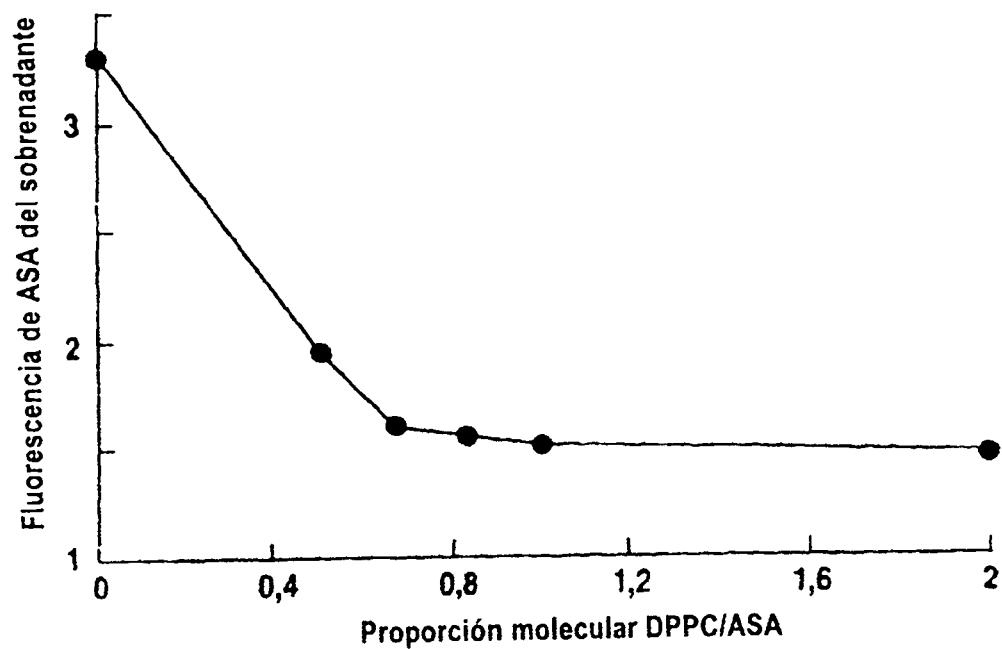


Fig. 2A

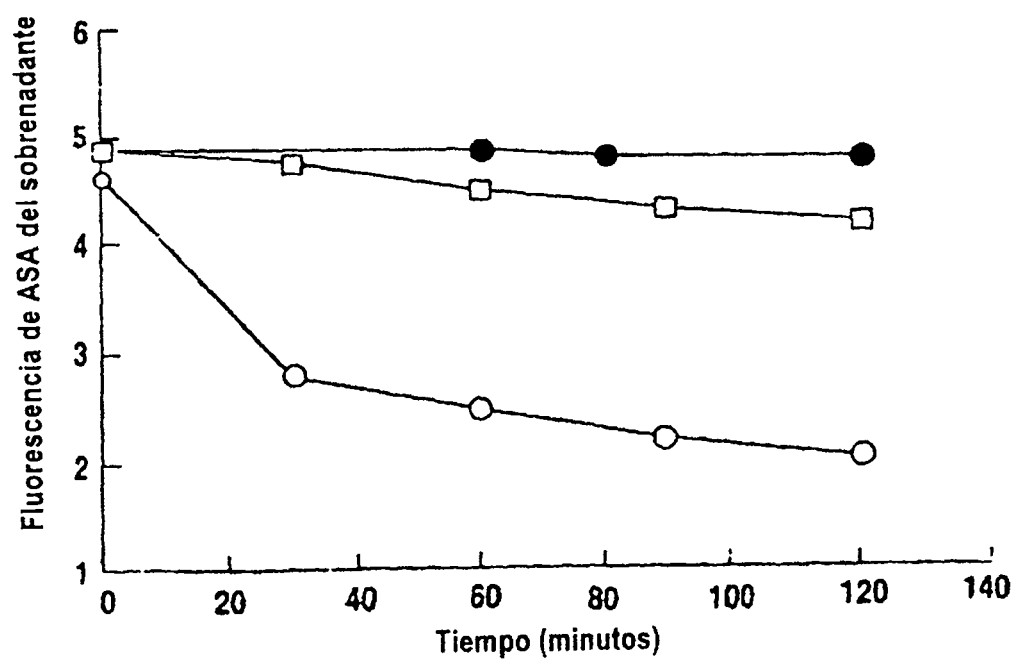


Fig. 2B

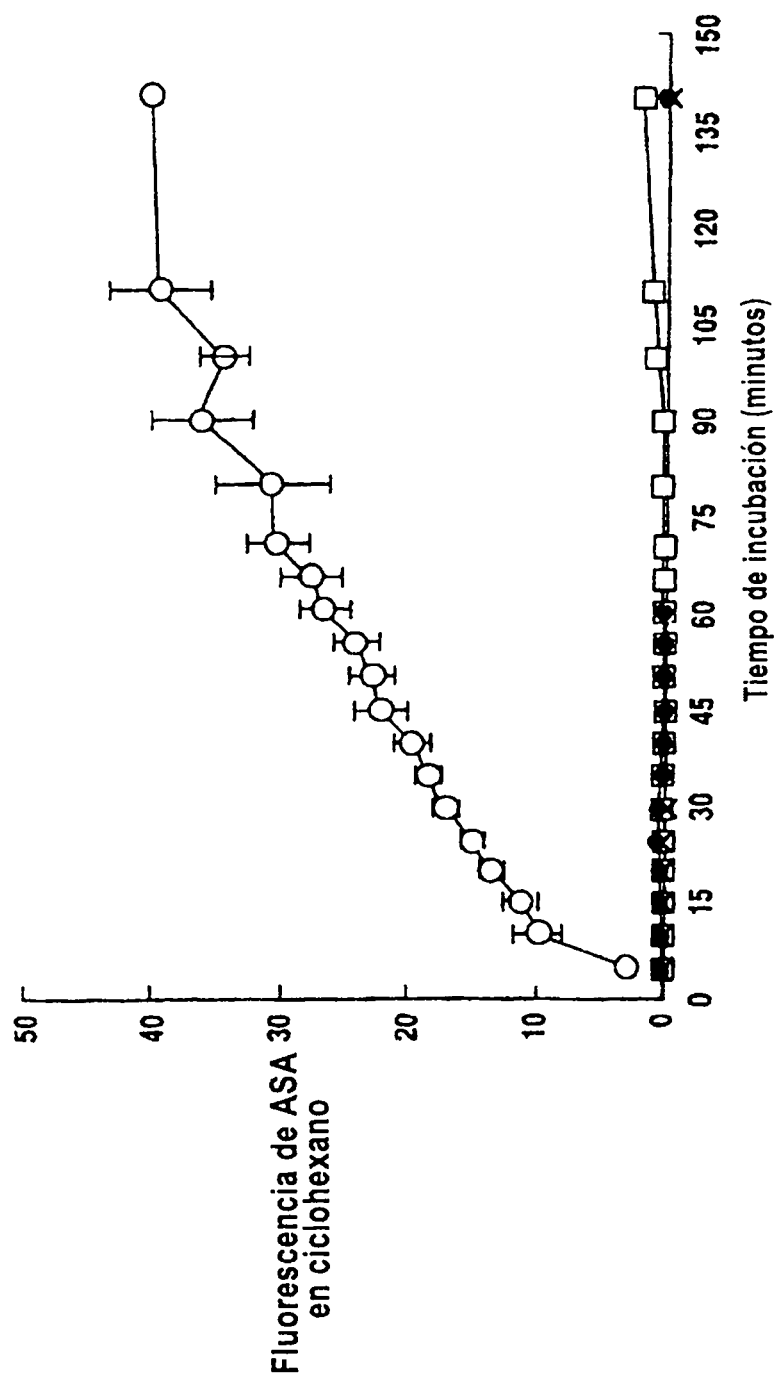


Fig. 3

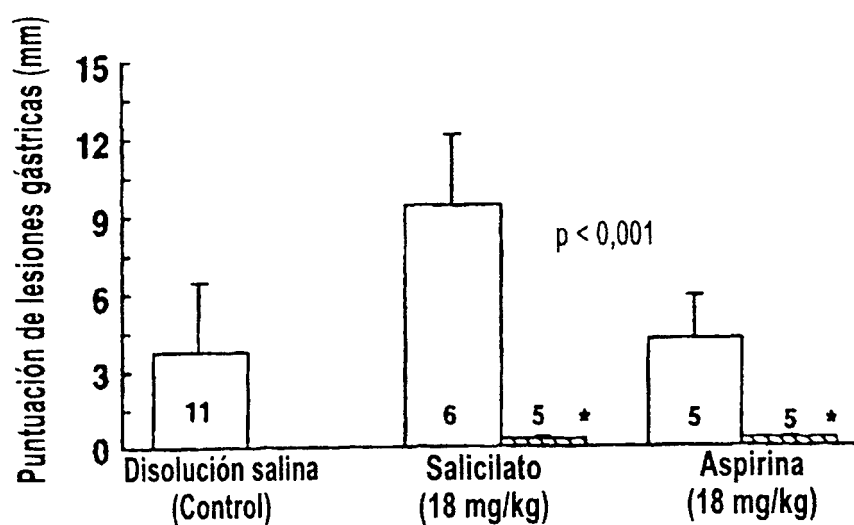


Fig. 4A

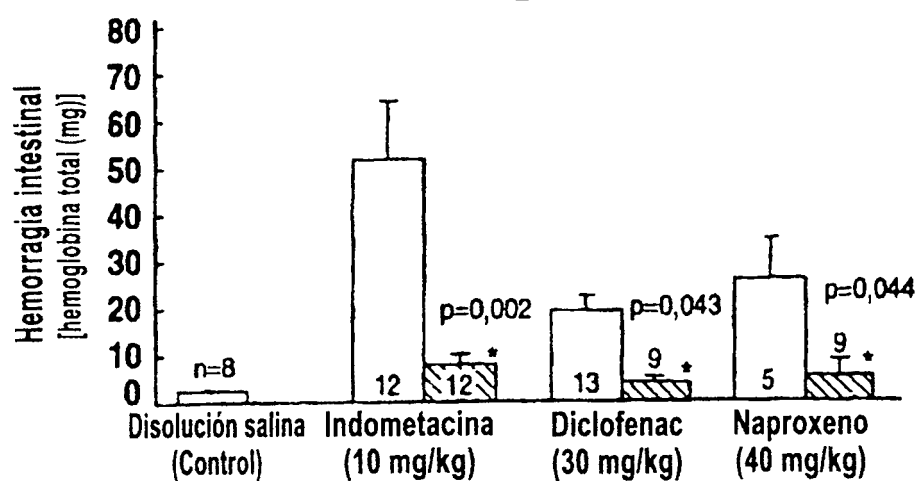


Fig. 4B

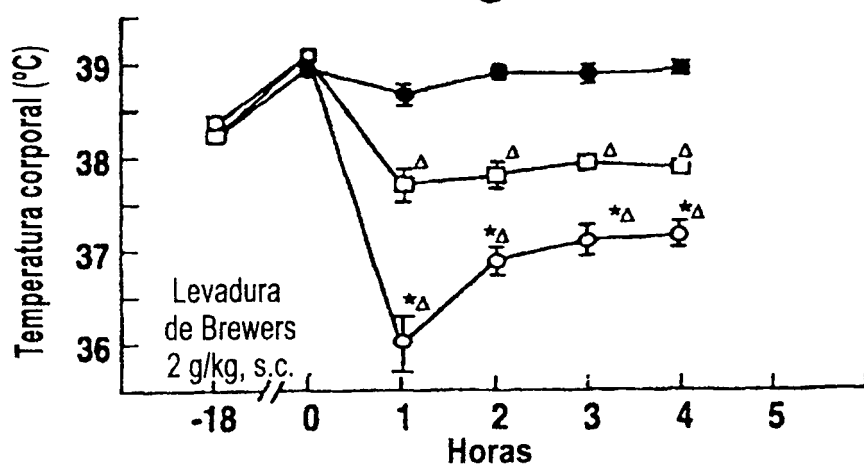


Fig. 4C

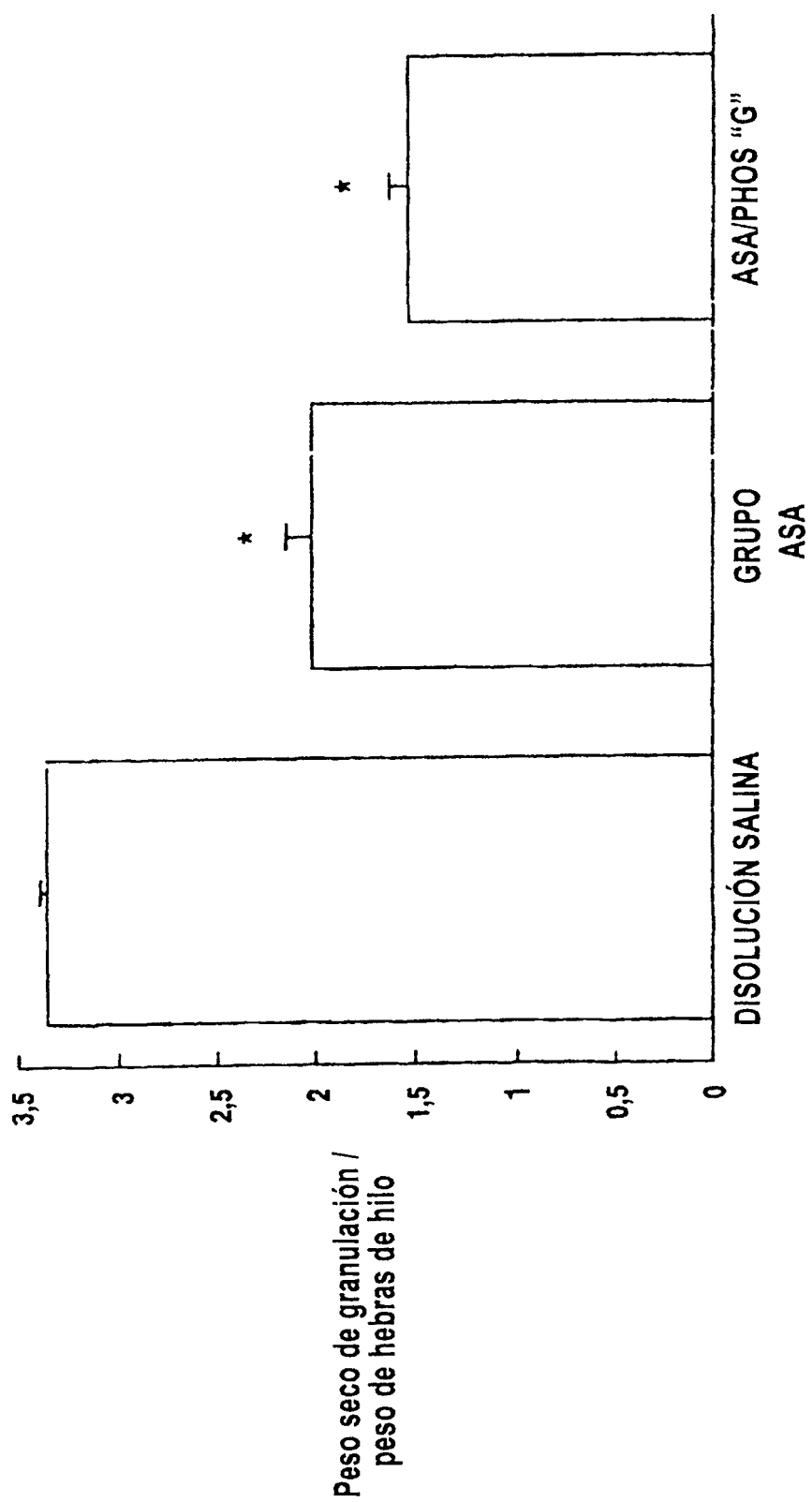
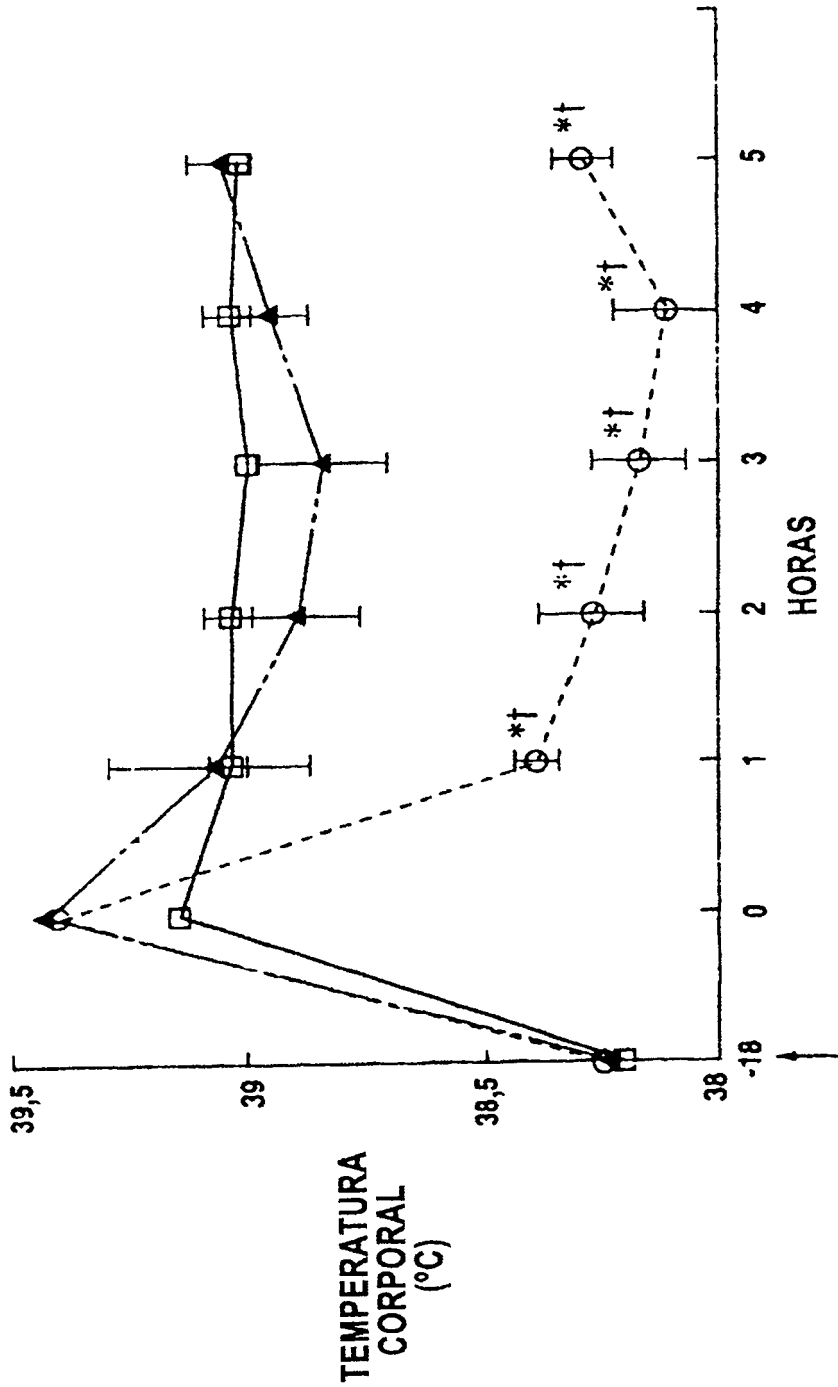
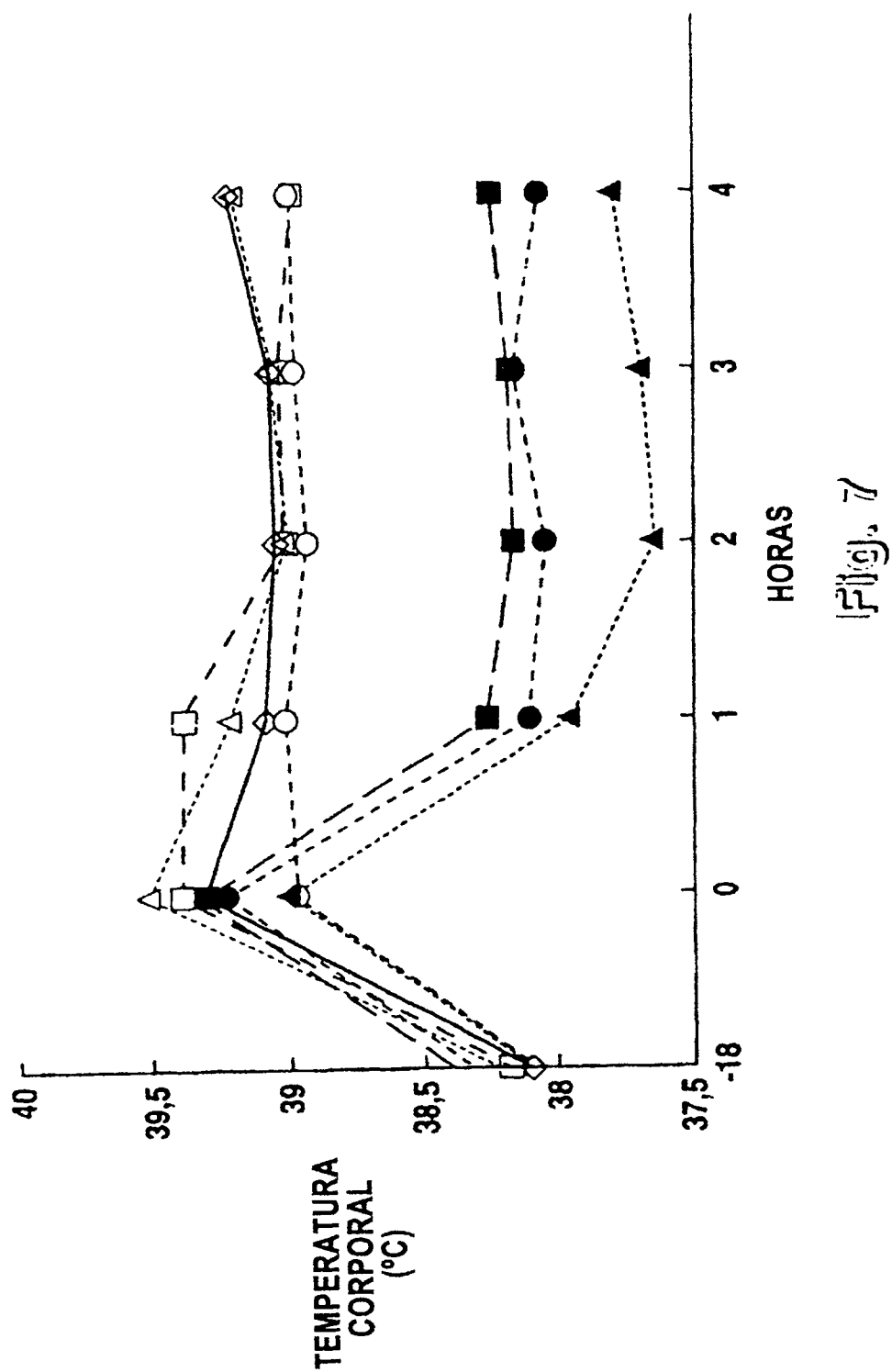


Fig. 5



Levadura de Brewers
2 g/kg, s.c

Fig. 6



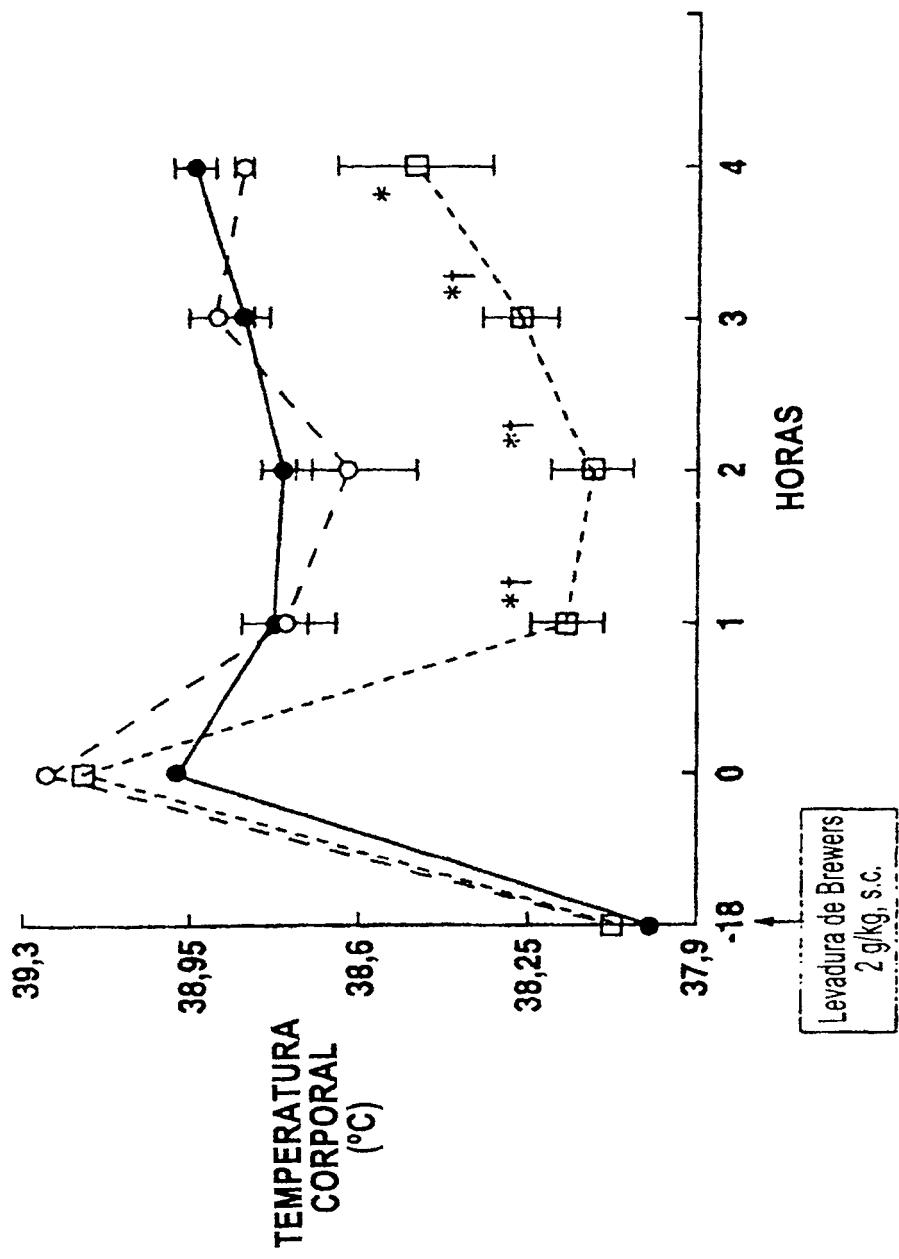


Fig. 3

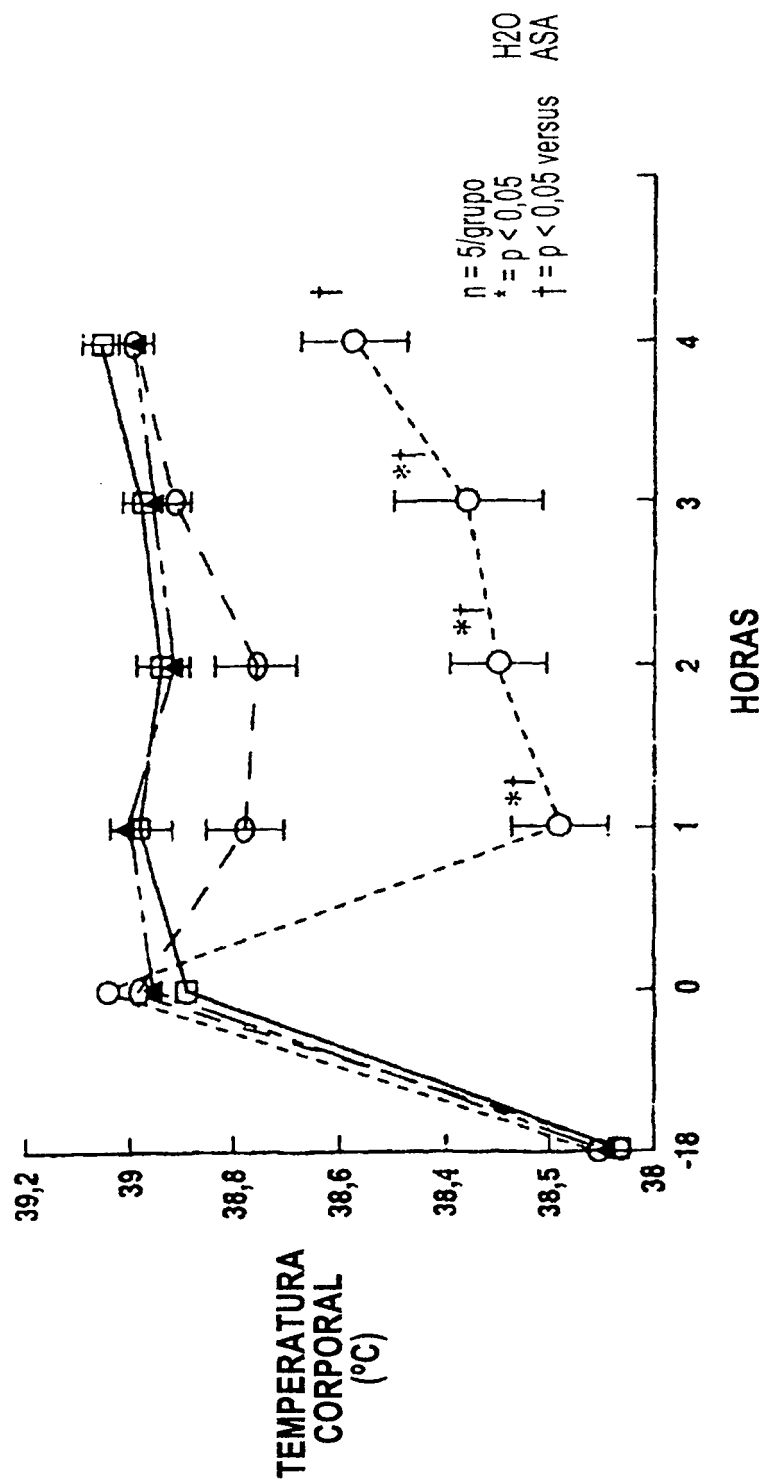


Fig. 9)

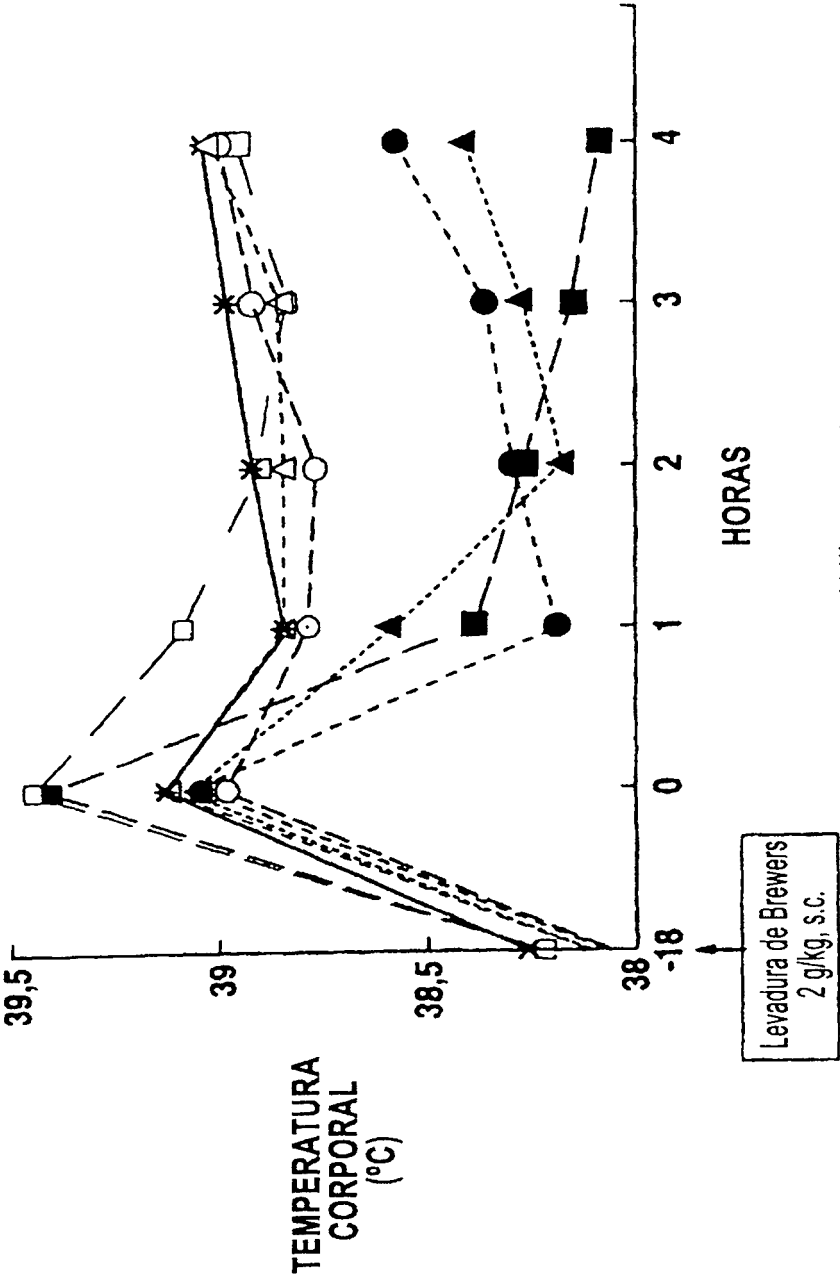
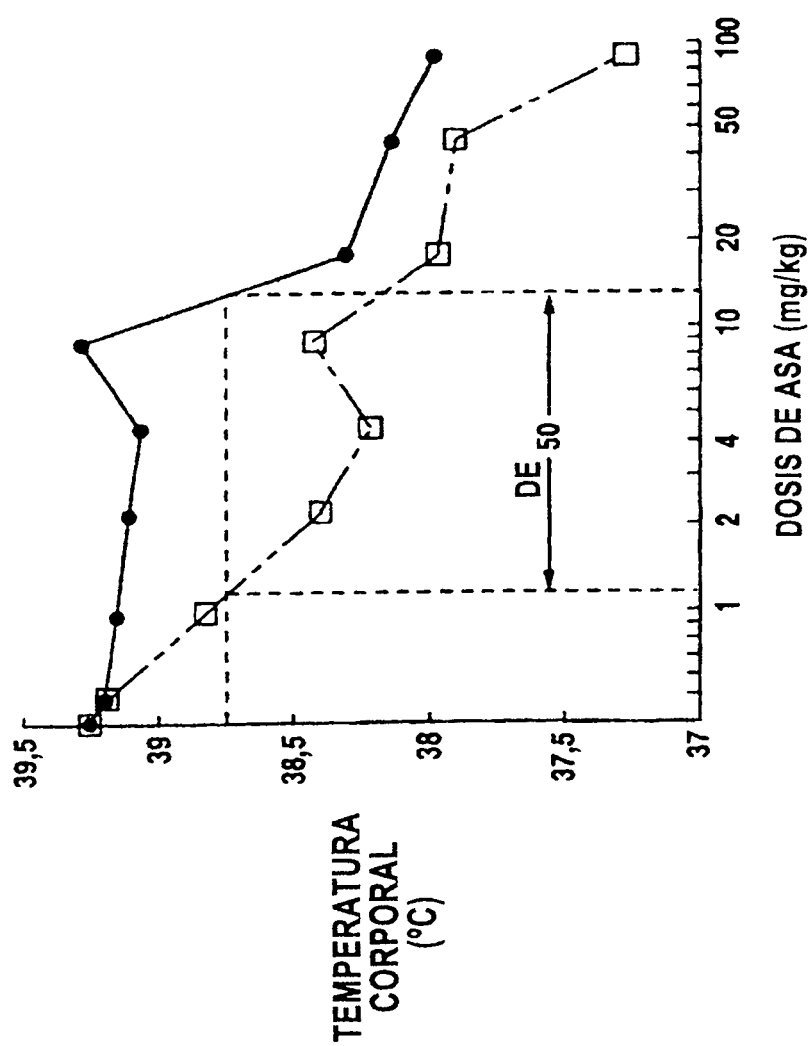


Fig. 110



[Fig. 11]

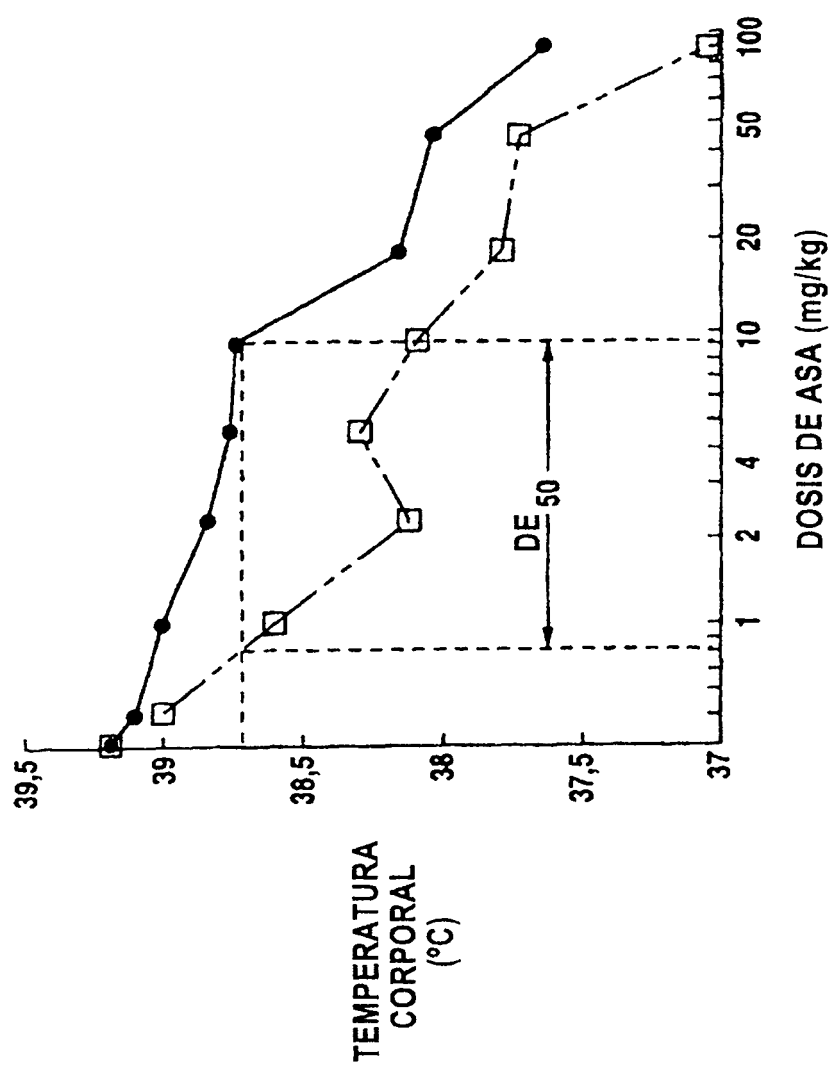


Fig. 12

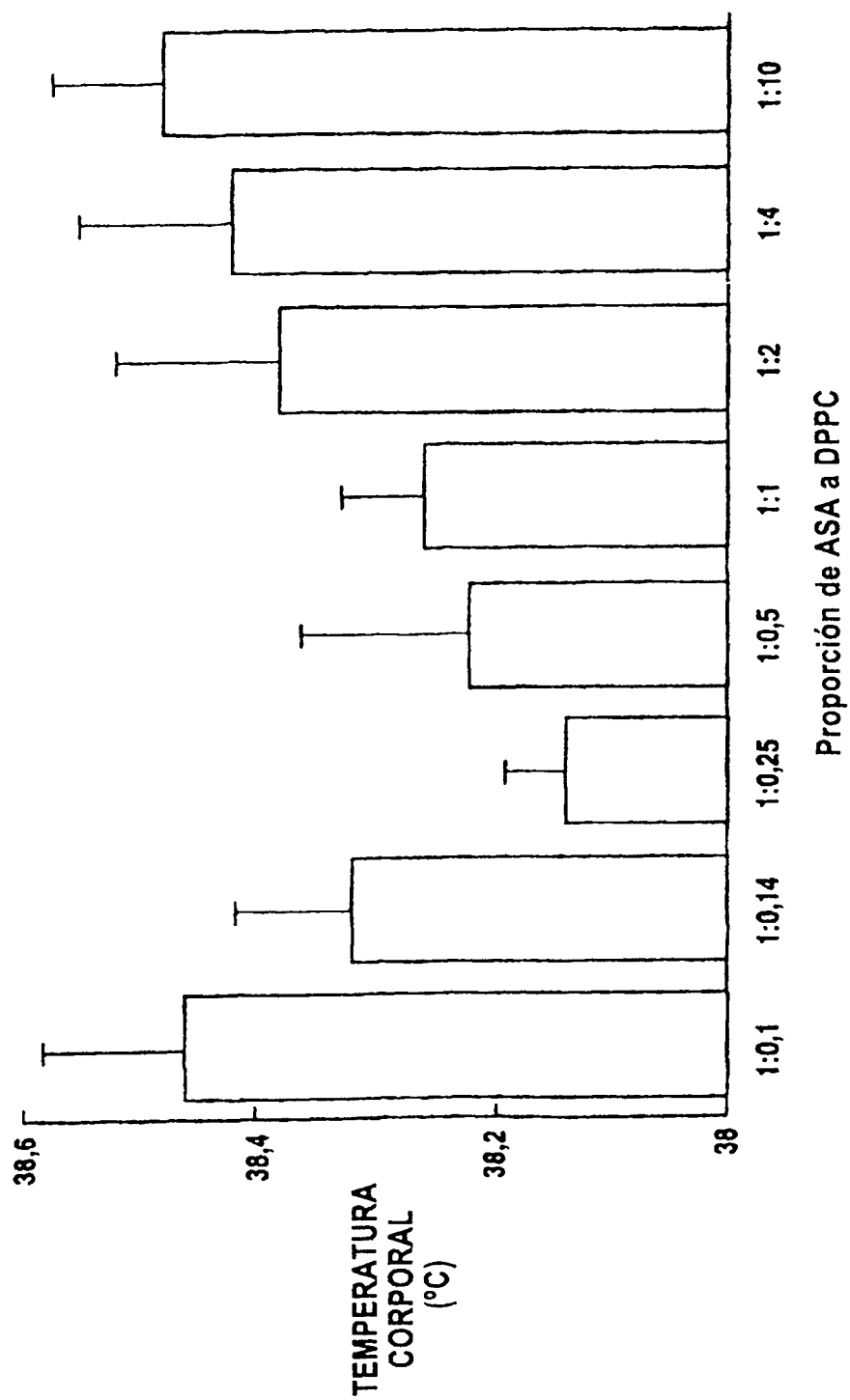
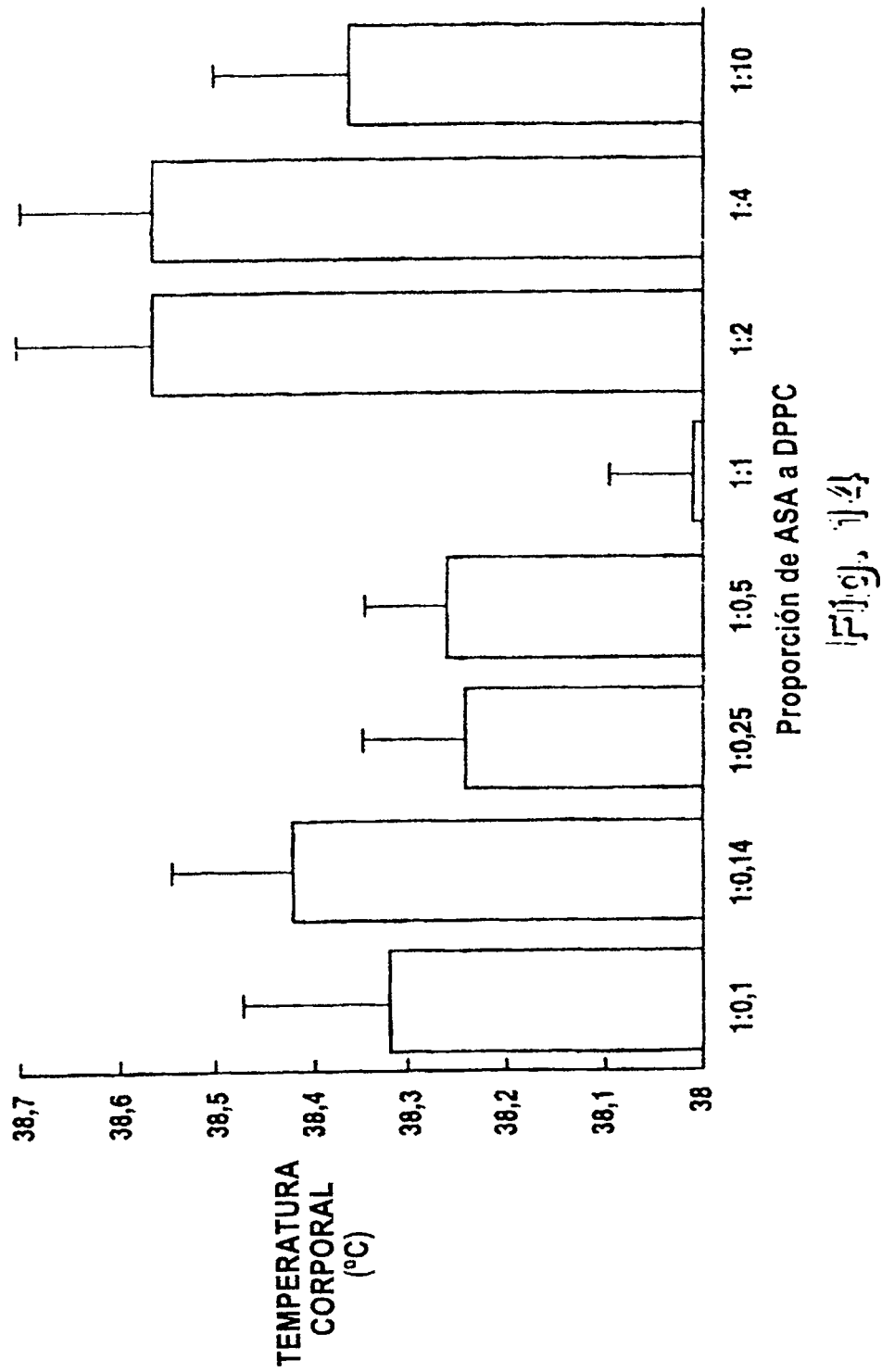


Fig. 13



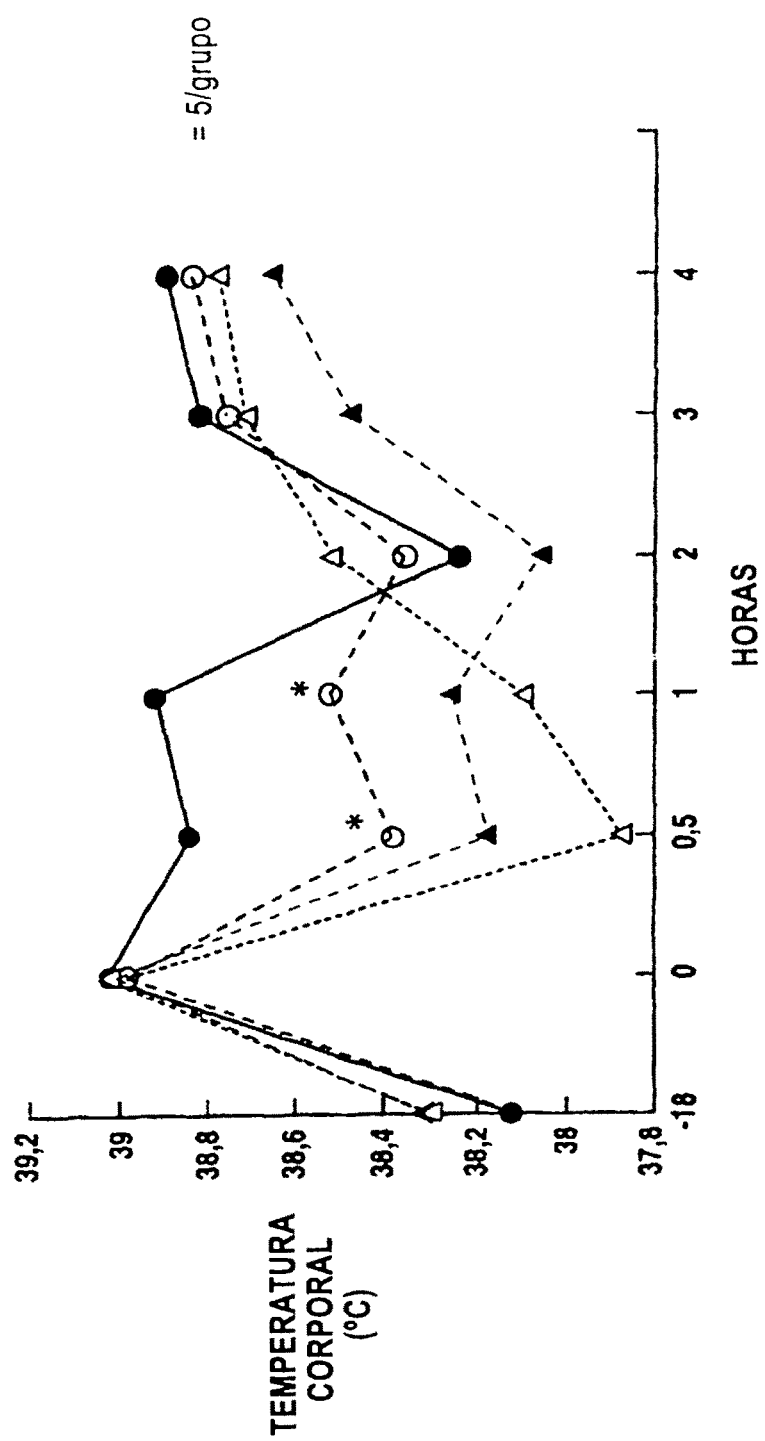
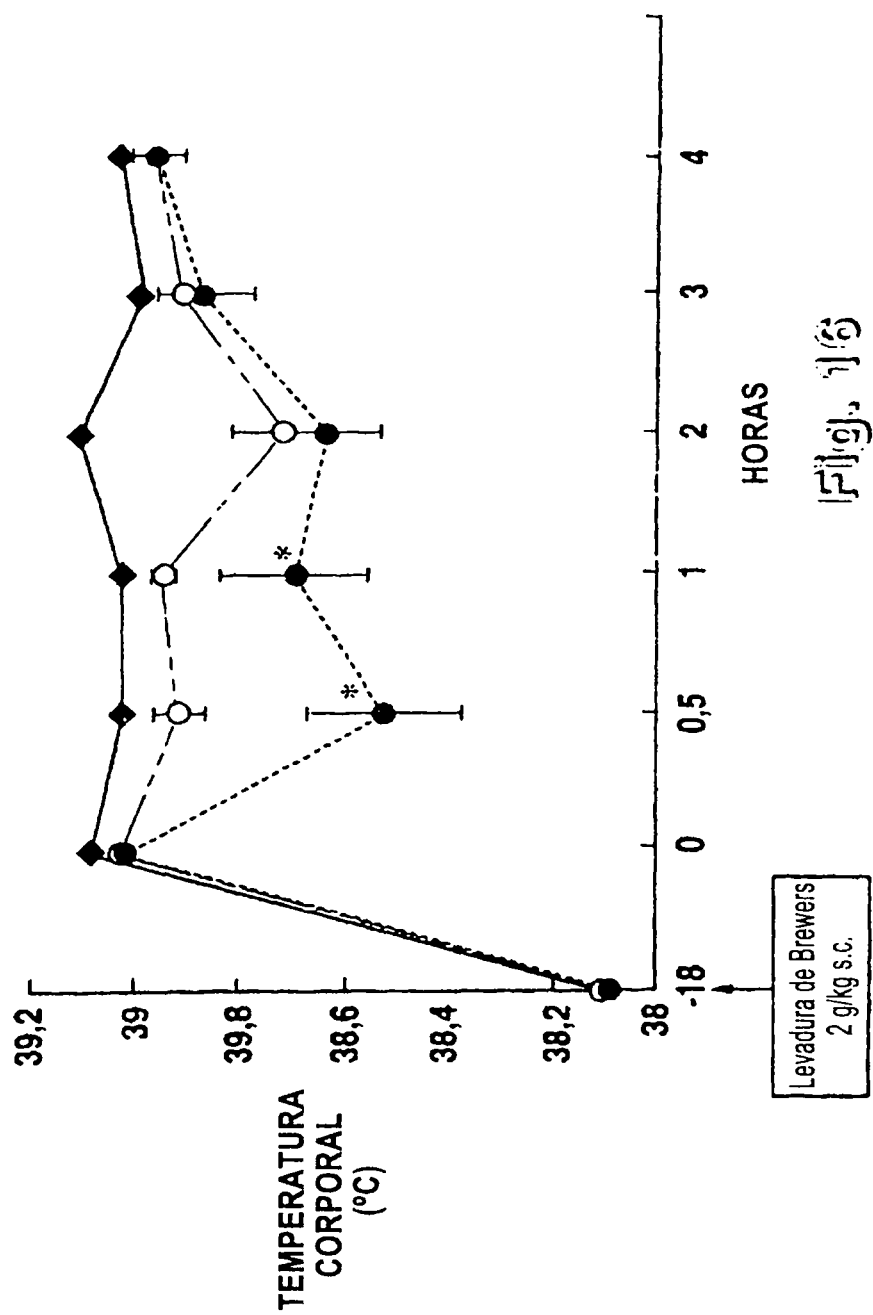


Fig. 15



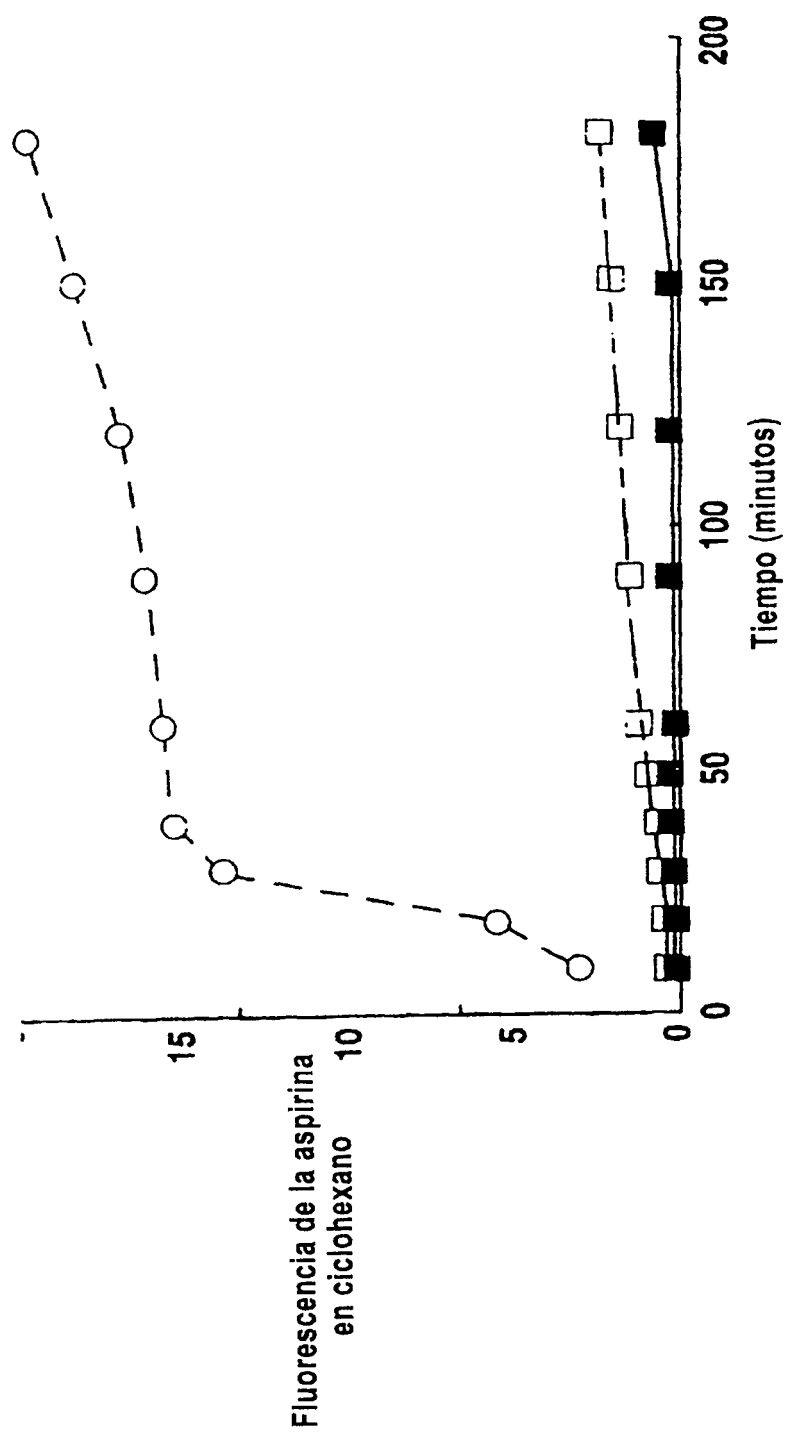
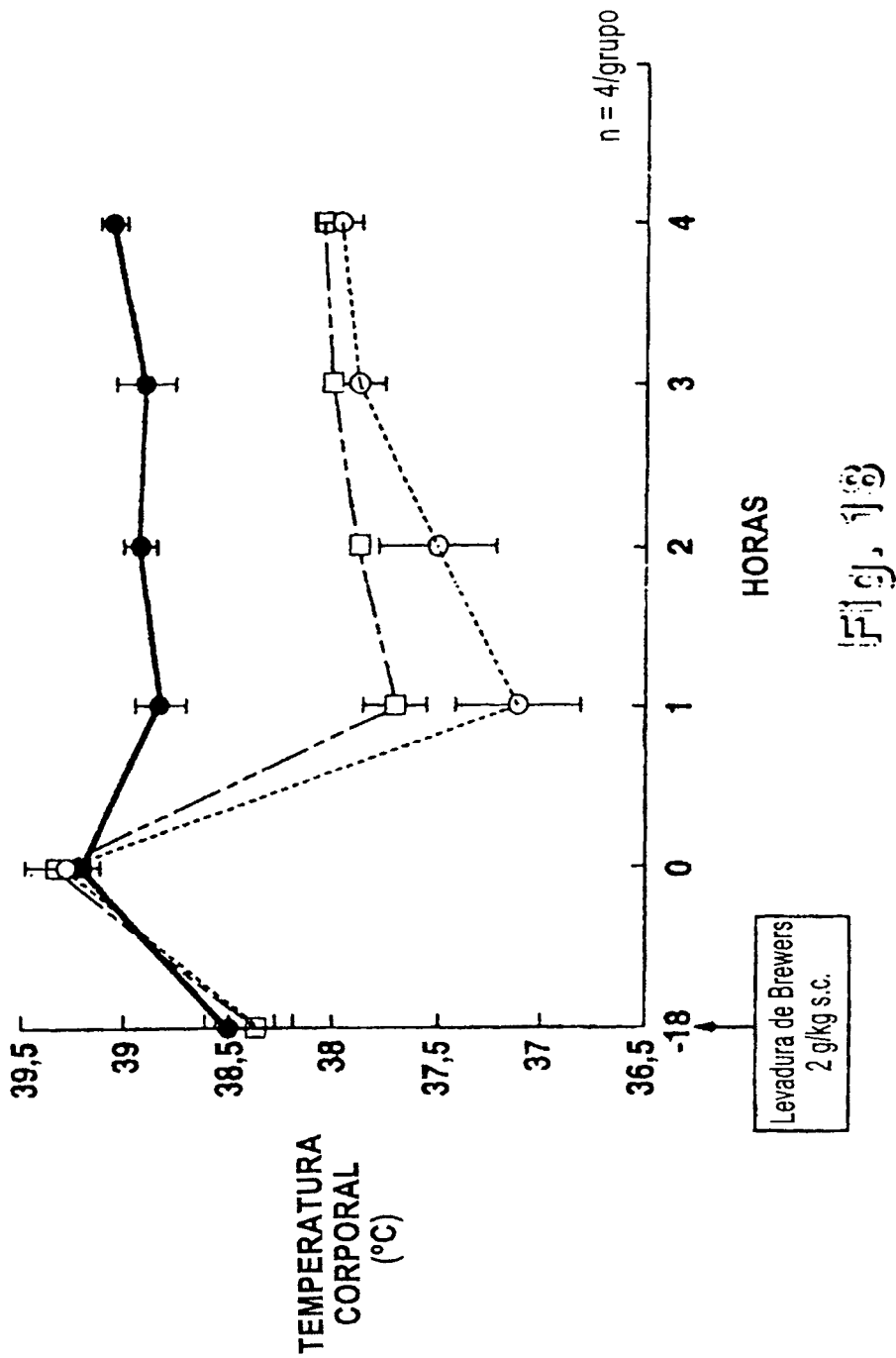


Fig. 17



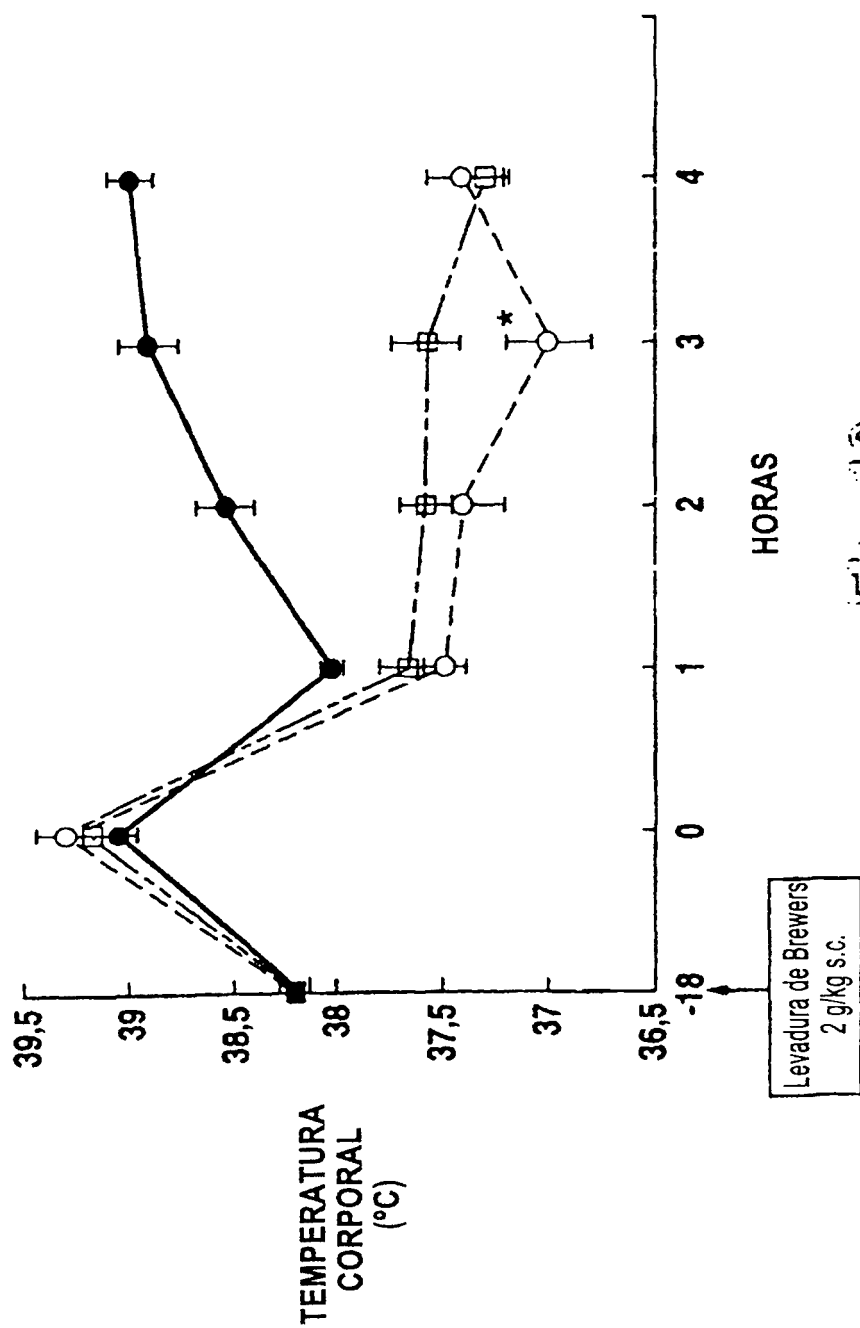
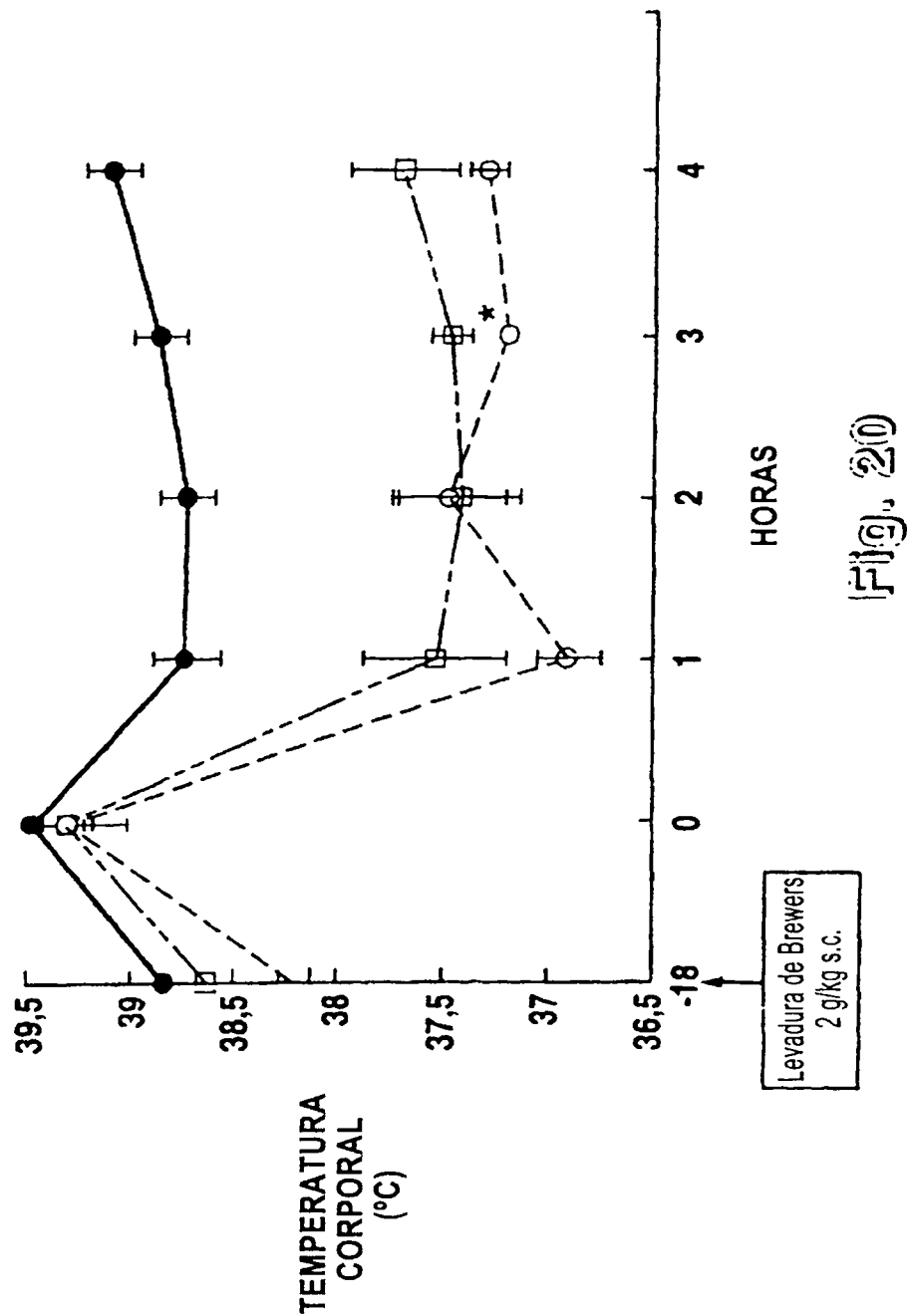
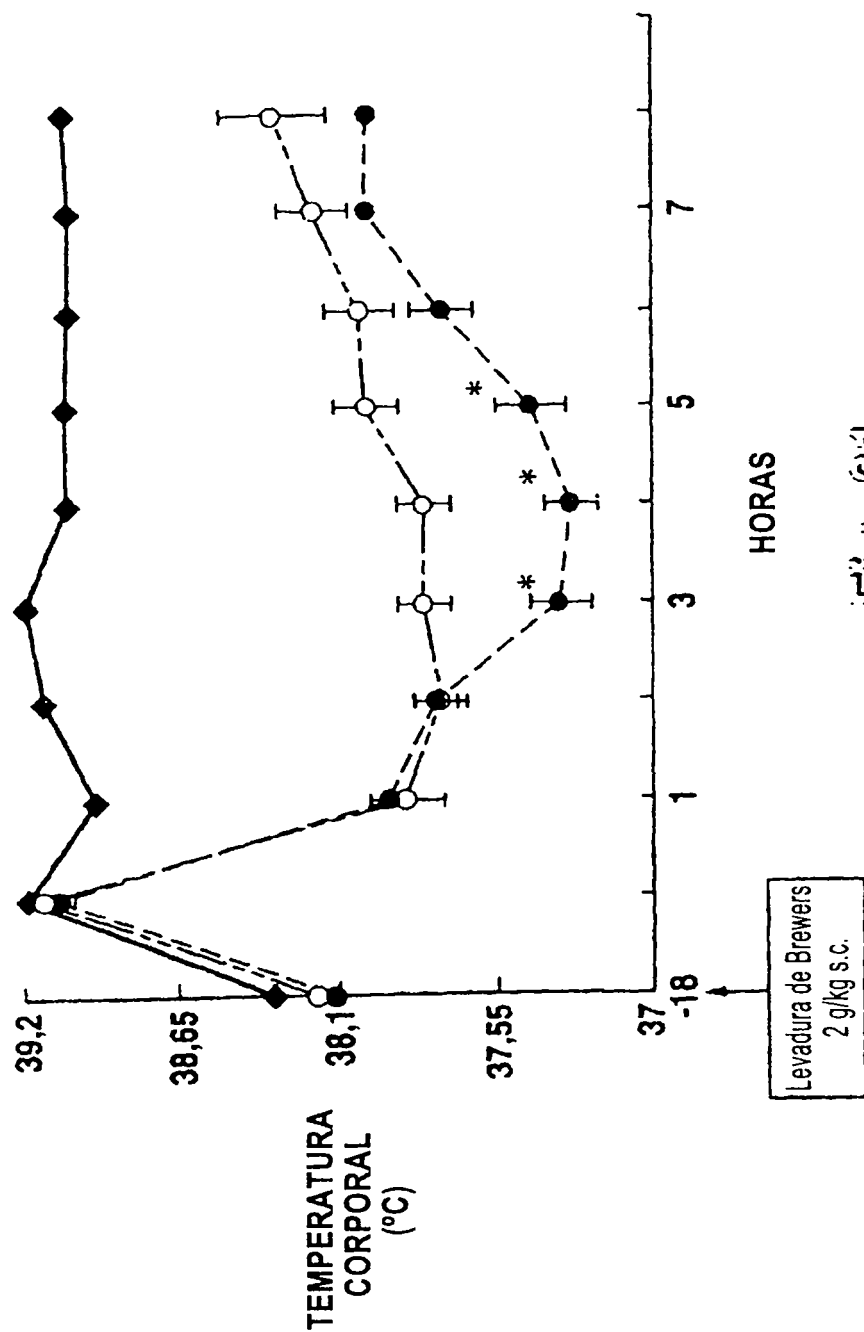
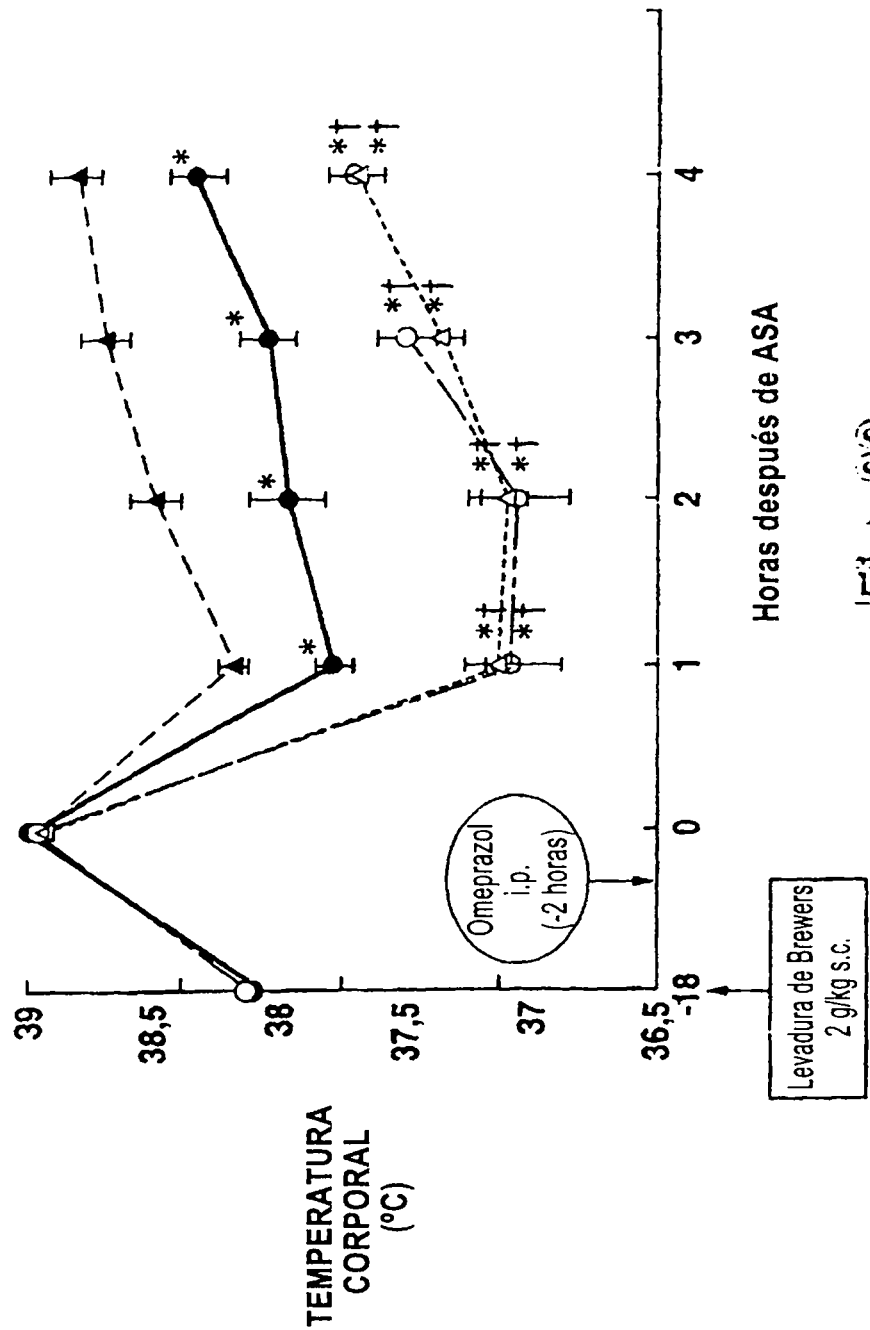


Fig. 19





[Fig. 21]



[Fig. 22]

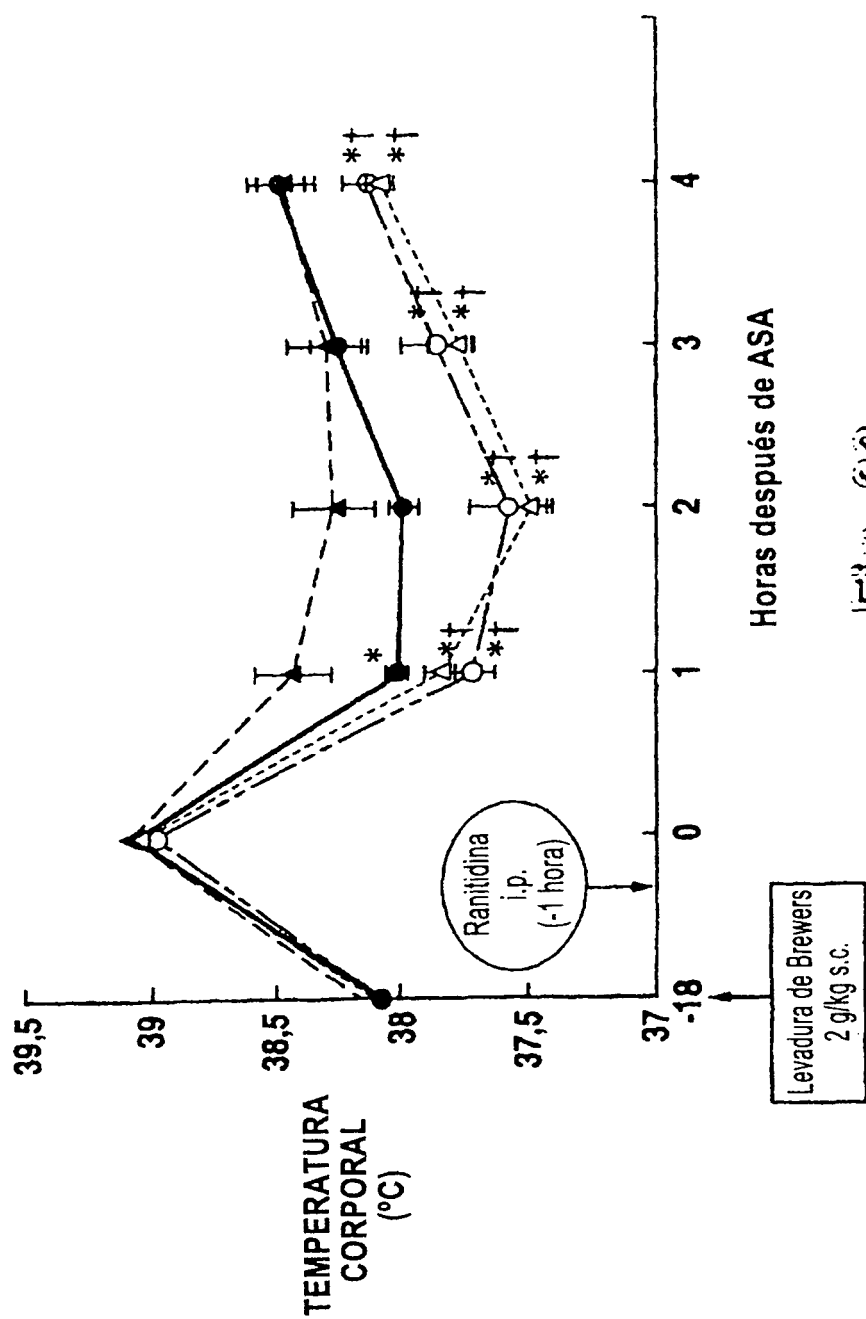


Fig. 23