

MÉTODOS PARA TRATAR LA DIARREA EN ANIMALES DE COMPAÑÍA

CAMPO DE LA INVENCION

La invención hace referencia al tratamiento de diversas
5 formas de diarrea, tal como la diarrea acuosa que es el
resultado de distintas afecciones, patologías o tratamientos
en animales de compañía, por ejemplo, perros, gatos y otros
animales domésticos. Los métodos de tratamiento implican el
uso de formulaciones y formas entéricas y no entéricas de una
10 composición polimérica de proantocianidinas aislada de la
planta *Croton* spp. o *Calophyllum* spp., o con un látex,
extracto o complemento alimenticio derivado de estas. Más
particularmente, la composición es eficaz para tratar la
diarrea acuosa o secretora provocada por el tratamiento o
15 terapia para el cáncer o posterior a esta (diarrea inducida
por quimioterapia o CID), reduciendo así la gravedad y la
duración de la diarrea en animales de compañía,
particularmente perros, así como también aumentando su
tolerancia y recuperación a partir del tratamiento.

20

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La diarrea es uno de los motivos más comunes de consultas a
la veterinaria para animales de compañía, tales como perros y

gatos, y es el segundo motivo más común de consultas a la sala de emergencia del veterinario, sin embargo, no hay productos secretores o contra la diarrea aprobados por la FDA para el tratamiento de la diarrea en animales de compañía caninos y felinos. Anualmente en los Estados Unidos, se estima que las veterinarias atienden aproximadamente 6 millones de casos de diarrea acuosa crónica y aguda en perros, aproximadamente dos tercios de los cuales son por diarrea acuosa aguda.

10

Además, a partir de 2012, hubo aproximadamente 74 millones de gatos en los Estados Unidos. Las estimaciones indican que las veterinarias se ocupan de aproximadamente 2.9 millones de casos anuales de diarrea acuosa crónica y aguda en gatos, aproximadamente dos tercios de los cuales son por diarrea acuosa aguda. Las veterinarias tratan típicamente la diarrea acuosa en los gatos con los mismos tratamientos que se utilizan para los perros, a saber, antibióticos, probióticos, restricciones en la dieta y productos aprobados y formulados para seres humanos, tales como Imodium y otros agentes antimotilidad, así como también agentes de unión que absorben agua, tales como el Kaopectate [salicilato de bismuto] y el Pepto Bismol. Sin embargo, las presentes opciones de

20

tratamiento son bastante limitadas porque ninguna trata la pérdida de agua que se asocia con la diarrea acuosa.

Las diarreas secretoras, denominadas también diarreas
5 acuosas, son la principal fuente de enfermedades y mortalidad tanto en animales no humanos jóvenes como adultos y se caracteriza por la pérdida de líquidos y electrolitos a través del tracto intestinal, lo que conduce a una grave deshidratación que a menudo es mortal. La diarrea secretora
10 es provocada por una variedad de patógenos bacterianos, virales y protozoarios, y también es el resultado de otras etiologías no infecciosas tales como la colitis ulcerosa, la enfermedad inflamatoria intestinal, las situaciones de estrés y ambientales, los cánceres y las neoplasias del tracto
15 gastrointestinal, así como también los tratamientos quimioterapéuticos utilizados en animales afectados. Todos los tipos de enfermedades diarreicas pueden tener un componente secretor.

20 Actualmente no existe ningún agente antisecretor aprobado por la FDA que aborde directamente la pérdida de agua que se asocia con la diarrea acuosa en animales de compañía, por ejemplo, perros. Los tratamientos actuales para la diarrea acuosa incluyen solución de rehidratación oral u ORS, agentes

antimotilidad, absorbentes y antibióticos. Sin embargo, cada uno de estos enfoques tiene limitaciones conocidas. Si bien la ORS reemplaza la pérdida de agua que se asocia con la diarrea, esta puede extender la duración y gravedad de la

5 diarrea en el animal. Los agentes antimotilidad, que típicamente funcionan por medio del mecanismo de estreñimiento, o paralizando temporalmente las contracciones intestinales normales o la actividad peristáltica, están contraindicados para uso crónico y, por lo tanto, son

10 inadecuados para determinadas afecciones diarreicas crónicas. Los agentes antimotilidad pueden provocar también dolor, espasmos y diarrea de rebote. Los absorbentes intentan simplemente absorber la toxina en el intestino, lo que provoca a menudo dolor y espasmos adicionales y no tratan

15 directamente la pérdida de agua. Los antibióticos intentan tratar un agente infeccioso que produce la toxina, pero no tratan directamente la pérdida de agua y conllevan el riesgo de alterar la flora intestinal, cuya alteración puede provocar diarrea. El uso prevalente de antibióticos ha sido

20 sometido a un intenso escrutinio por parte de la FDA como resultado de problemas que se asocian con la resistencia antibiótica.

Se estima que hay más de 230.000 perros que reciben tratamiento oncológico por quimioterapia cada año en los Estados Unidos, y más del 25 % padece diarrea inducida por quimioterapia o CID. La diarrea grave es un efecto secundario frecuente de los fármacos quimioterapéuticos que se administran con más frecuencia. Si se deja sin tratar, la CID en perros puede dar lugar a efectos que son similares a aquellos que experimentan los seres humanos, por ejemplo, pérdida de líquidos y electrolitos, lo cual puede provocar deshidratación, desequilibrio de electrolitos e insuficiencia renal; carencias nutricionales a partir de la alteración del tránsito gastrointestinal y digestión; y mayor riesgo de complicación infecciosa. La eficacia del tratamiento oncológico subyacente puede ponerse en peligro si la gravedad de la CID exige reducciones en la absorción, frecuencia y/o dosificación de la quimioterapia. Desde el punto de vista del dueño del perro, no hay implicaciones prácticas considerables de la CID en los perros que puedan afectar las condiciones de vida, así como también el costo, el tiempo y la atención requerida para limpiar y cuidar al perro y sus entornos a diario. Las veterinarias prescriben a veces fármacos utilizados por seres humanos en un esfuerzo por tratar la CID en los perros, sin embargo, hace falta información clínica complementaria con respecto a su eficacia o dosificación.

Además, administrar una formulación humana potencialmente desagradable a un perro resulta difícil con frecuencia y puede llevar a una incertidumbre adicional que rodea la cantidad que realmente ingiere el animal.

5

Los tratamientos disponibles y más utilizados comúnmente para los diversos tipos de diarrea que afectan a los animales de compañía implican típicamente el remplazo de líquidos vitales y la reposición de electrolitos para contrarrestar o detener la pérdida de líquidos y electrolitos. Otros tipos de tratamientos incluyen la administración de antibióticos orales y fármacos antiinflamatorios no esteroideos. Dependiendo de la o las causas, el tiempo, la gravedad y el curso de la diarrea y/o su enfermedad o afección asociada, los diversos tratamientos conocidos pueden ser eficaces o no, y los animales pueden responder o no adecuadamente o de manera oportuna, lo que lleva a una muerte prematura en muchos casos.

Debido a los impactos económicos y humanitarios de la diarrea y sus afecciones relacionadas en los animales de compañía afectados, sus adiestradores y cuidadores son muy buenos, existe una necesidad imperiosa de tratamientos y remedios alternativos, seguros y médicamente eficaces, así como

también rentables, para la diarrea y sus síntomas asociados en animales de compañía, tales como perros y gatos, en particular. La presente invención aborda de forma ventajosa dichas necesidades.

5

COMPENDIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un método para tratar diversas formas de diarrea, por ejemplo, la diarrea acuosa, la diarrea acuosa aguda y general o la diarrea inducida por quimioterapia (CID, por sus siglas en inglés) en animales de compañía no humanos. En las modalidades, los animales de compañía son perros y gatos. En una modalidad particular, el método se dirige a tratar formas de diarrea, por ejemplo, la diarrea acuosa, la diarrea acuosa aguda y general o la CID, en perros. El método implica administrar a un animal que lo necesita, una composición farmacéuticamente aceptable que comprende una prociadinina soluble, acuosa del *Croton lechleri*, donde la composición se formula en una cantidad eficaz para tratar la diarrea en el animal. En un aspecto, los métodos tratan eficazmente los síntomas asociados con la diarrea en los animales afectados; los síntomas pueden incluir, de modo no taxativo, deshidratación, pérdida de peso y pérdida de electrolitos. Algunos de estos síntomas pueden

manifestarse rápidamente, tienen implicaciones sanitarias a largo plazo para un animal de compañía e incluso provocan la muerte. En una modalidad, la diarrea es diarrea episódica. En una modalidad, la diarrea es diarrea aguda.

5

En un aspecto, los presentes métodos son útiles para tratar la diarrea acuosa aguda y general en animales de compañía que lo necesitan, así como también la diarrea que resulta del tratamiento con quimioterapia de animales que se someten a dicho tratamiento. Aunque los perros son especialmente susceptibles a los métodos descritos en la presente, el uso de dichos métodos para tratar diversas formas de diarrea, por ejemplo, la diarrea acuosa, en otros animales de compañía o mascotas, tales como gatos, pequeños roedores (roedores de bolsillo) no pretende ser particularmente taxativo. En sus diversos aspectos, los métodos son útiles para tratar y/o evitar diversas formas de diarrea en animales de compañía, por ejemplo, perros y gatos, y en animales en peligro de verse afectados con una afección por diarrea.

20

En un aspecto, los presentes métodos son útiles para tratar la diarrea inducida por quimioterapia (CID) en animales de compañía, particularmente perros, que se someten a tratamiento o terapia para diversos tipos de cánceres. Los

cánceres en los perros son, en promedio, bastante comunes, especialmente en los animales más viejos. Por ejemplo, el cincuenta por ciento de los perros con más de diez años de edad a menudo desarrollan cáncer en algún momento. Los

5 cánceres típicos en los perros incluyen, de modo no taxativo, el linfoma maligno, por ejemplo, en los ganglios linfáticos; los cánceres y tumores de piel, tales como los mastocitomas; tumores de la glándula mamaria; sarcoma del tejido blando; melanomas, y cánceres de huesos, por ejemplo, los

10 osteosarcomas y osteocarcinomas. Con un mejor cuidado de los animales de compañía y mascotas, la expectativa de vida de los animales aumenta y los cánceres pueden detectarse y tratarse más fácilmente. Las presentes composiciones y métodos proporcionan tratamientos para la diarrea que se

15 asocian con la terapia y los tratamientos para el cáncer de los animales de compañía, tales como perros, por ejemplo, los tratamientos con quimioterapia o radiación, dependiendo del tipo de cáncer.

20 El presente método y los productos contra la diarrea actúan generalmente normalizando el flujo de iones y agua en el lumen intestinal, cuya disfunción es la última etapa común para la manifestación de la diarrea acuosa. Como resultado, dichos métodos y productos pueden ser efectivos para tratar

la diarrea acuosa, independientemente de su causa. Además, los canales que regulan el flujo de iones y agua, que incluyen los canales conocidos como CFTR y CaCC (los sitios de acción de las composiciones y productos gastrointestinales descritos en la presente) se encuentran presentes generalmente en los mamíferos. Por lo tanto, se espera que las composiciones y productos de la invención sean eficaces para evitar las ramificaciones debilitantes y devastadoras de la diarrea acuosa en animales de compañía, tales como las mascotas no humanas de sangre caliente.

En las modalidades del método de la invención, la composición, formulación o producto es una composición de proantocianidinas del *C. lechleri* que es una formulación entérica o con recubrimiento entérico. En otra modalidad, la composición de proantocianidinas del *C. lechleri* farmacéuticamente aceptable es una formulación no entérica. En las modalidades del método, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* es SB 300, SP 303 o crofelemer. En una modalidad, el animal no humano es un animal de compañía joven o juvenil. En una modalidad, el animal no humano es un animal de compañía adulto. El método de la invención no se limita particularmente a las especies del animal de compañía y puede incluir, por ejemplo, especies

caninas, felinas y de roedores como se describe en la presente. En modalidades particulares, el animal de compañía es un perro, un cachorro, un gato y o un gatito. Se entenderá que, tal como se utiliza en la presente, los términos
5 «composición» y «formulación» pueden utilizarse de forma intercambiable.

En otras modalidades del método anterior del polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* o una composición que
10 comprende el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra al animal en una cantidad de al menos 1 mg a 500 mg, o en una cantidad de 5 mg a 250 mg; o en una cantidad de 10 mg a 200 mg. En una modalidad, el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* o una composición que
15 comprende el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra al animal en una dosis de tratamiento de 20 mg a 100 mg. En una modalidad el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* o una composición que comprende el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra al animal en
20 una dosis del tratamiento de 20 mg a 50 mg, por ejemplo, 40 mg. En una modalidad, el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* o una composición que comprende el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra al animal en una dosis de tratamiento de 40 mg. En una modalidad, el

polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* o una composición que comprende el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra al animal en una dosis de tratamiento de 60 mg a 100 mg, por ejemplo, 80 mg. En una
5 modalidad, el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* o una composición que comprende el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra al animal en una dosis de tratamiento de 80 mg. En incluso otras modalidades del método, la composición de polímeros de
10 proantocianidinas del *C. lechleri* se administra como polvo reconstituido con un líquido seleccionado de electrolitos orales, leche, sustituto de la leche, solución salina fisiológica o agua. En otras modalidades del método, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*
15 se administra como un bolo, tal como una píldora, comprimido o cápsula. En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra de forma oral. En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* se encuentra en forma
20 sólida masticable, por ejemplo, píldora, comprimido, cápsula u otra forma sólida que se administra de forma oral a un animal de compañía que lo necesita, especialmente perros y gatos. En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* se proporciona en una

formulación blanda y masticable, que se denomina también en la presente forma blanda masticable, que se administra de forma oral a un animal de compañía que lo necesita, especialmente perros y gatos. La forma sólida masticable o la forma blanda masticable se saboriza comúnmente, por ejemplo, con sabor a carne de vaca, sabor a pollo o sabor a pescado, por ejemplo, para el gusto del animal al cual se administra. La forma de dosificación sólida masticable o blanca masticable puede moldearse en cuanto a forma, tamaño y/o configuración o conformación que es adecuada y apropiada para la administración oral al animal de compañía. Además, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* puede administrarse en la comida o bebida de un animal.

En las modalidades del método, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* puede encontrarse en una variedad de formas particularmente adecuadas para el animal que se somete a tratamiento, por ejemplo, un perro. Por ejemplo, la composición puede encontrarse en forma de gel, una pasta o una pasta en gel, que se puede administrar al animal mediante aplicación tópica, por ejemplo, en el paladar de la boca del animal. En algunos casos, la composición que contiene polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* incluye ingredientes farmacéuticamente aceptables y/o se

produce en una forma que proporciona un producto que tiene una consistencia o textura que el animal puede masticar, mascar o morder. En un caso particular, la composición que contiene polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* incluye ingredientes farmacéuticamente aceptables y/o se produce o formula en una forma que proporciona un producto que tiene una consistencia o textura masticable, por ejemplo, una formulación masticable semiblanda o blanda. En algunos casos, la composición puede incluirse en un dispositivo de administración que puede ser una jeringa, por ejemplo, una jeringa sin aguja. En algunas modalidades del método, la composición en diversas formas comprende micropartículas o nanopartículas poliméricas que contienen la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*. En una modalidad, las micropartículas o nanopartículas poliméricas son sensibles al pH.

En una modalidad particular, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, llamada también formulación o producto de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* en la presente, es una formulación saborizada, masticable que se administra de forma oral para el tratamiento de la diarrea, tal como la CID en perros. En una modalidad particular, la formulación masticable es una forma

sólida tal como, de modo no taxativo, un comprimido, píldora o cápsula. En una modalidad particular, la formulación masticable es una forma sólida que es blanda o semiblanda y que el animal puede masticar y tragar fácilmente. En una
5 modalidad particular, la forma sólida masticable contiene sustancias saborizadas o saborizantes con el fin de que resulten más sabrosas para el animal al cual son administradas de forma oral. En una modalidad, la forma sólida masticable tiene sabor a carne de vaca o está
10 saborizada de acuerdo con el gusto de un animal particular que se va a tratar, tal como sabor a verduras, pescado o pollo. En otra modalidad, la forma sólida masticable que comprende una formulación polimérica de proantocianidinas del *C. lechleri*, por ejemplo, SP 303 o SB 300, se administra de
15 forma oral una vez o dos veces por día una cantidad de dosificación de 0.1 mg/kg a 50 mg/kg; o en una cantidad de 0.5 mg/kg a 30 mg/kg; o en una cantidad de 0.5 mg/kg a 25 mg/kg. Otros rangos de dosificación más específicos pueden ser de 0.1 mg/kg a 0.5 mg/kg; o de 0.1 mg/kg a 0.3 mg/kg; o
20 de 0.2 mg/kg a 0.3 mg/kg; o de 0.4 mg/kg a 1.5 mg/kg; o de 0.8 mg/kg a 10 mg/kg; o de 1 mg/kg a 4 o 5 mg/kg. Otras cantidades de dosificación pueden ser de aproximadamente 0.1 mg/kg; 0.2 mg/kg; 0.3 mg/kg; 0.4 mg/kg 0.5 mg/kg; 0.6 mg/kg; 0.7 mg/kg; 0.8 mg/kg; 1 mg/kg; 2 mg/kg; 3 mg/kg; 4 mg/kg; o 5

mg/kg, y similares, dependiendo del peso o masa corporal del animal de compañía. En una modalidad particular, la forma sólida masticable es una forma masticable blanda con sabor a carne de vaca de la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* que se administra de forma oral en una cantidad de dosificación de 2 mg/kg o 4 mg/kg para un animal, tal como un animal canino, dos veces por día. En otra modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra durante tres días. En otra modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* es SP-303.

A modo de ejemplo, los perros pueden tener un peso generalmente entre 2 kg y 80 kg. Para los perros, la dosis de composición de polímeros o polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, por ejemplo, SP 303 o SB 300, puede oscilar entre 0.5 mg/kg y 25 mg/kg, más particularmente, 2 mg/kg, y puede ajustarse como corresponda de acuerdo con el peso corporal del animal. Para otros animales de compañía de diferentes pesos y masa corporal, las dosis pueden ajustarse en consecuencia.

En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* tiene recubrimiento

entérico para la liberación dirigida del ingrediente farmacéutico activo (API, por sus siglas en inglés) en el intestino. En una modalidad el ingrediente activo o API es crofelemer, por ejemplo, SP 303. En una modalidad, el
5 ingrediente activo está presente en una cantidad de dosificación de 1 mg a 100 mg; o 10 mg a 50 mg, o en una cantidad de dosificación de 20 mg a 50 mg, o de manera alternativa, particularmente para perros más grandes (de más de 20 kg), una cantidad de dosificación de 60 mg a 100 mg. En
10 una modalidad particular, la cantidad de dosificación es 40 mg del ingrediente activo y, en modalidades alternativas, particularmente para perros más grandes, la cantidad de dosificación es 80 mg del ingrediente activo. En una modalidad, la dosis es una suspensión reconstituida que
15 contiene micropartículas de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* con recubrimiento entérico (por ejemplo, 40 mg de SP 303 activo) en una cantidad de 4 mg/mL en 10 mL para un animal de compañía de aproximadamente 20 kg tal como un perro. Véanse, por ejemplo, los Ejemplos 1, 2, 3 y 5. En una
20 modalidad, el producto recubierto entérico comprende micropartículas o nanopartículas que contienen la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* o extracto botánico del *C. lechleri*. En una modalidad, el producto recubierto entérico comprende micropartículas o

nanopartículas que contienen como activo la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, que es SP 303, para dosificar, por ejemplo, en una cantidad de 2 mg/ml por día (o por dosis, 2 veces por día) durante 3 días.

5

En una modalidad, los métodos mejoran la salud intestinal y controlan la diarrea en los animales de compañía afectados proporcionando un polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri* en una cantidad eficaz para controlar o tratar la
10 diarrea en los animales de compañía tratados. En una modalidad el polímero de proantocianidinas es una formulación, composición o extracto del *Croton lechleri*. En una modalidad, el polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri* es una composición más purificada que contiene el
15 polímero de proantocianidinas u oligómero, tales como composiciones de SB 300 o crofelemer descritas en la presente. En una modalidad, el polímero de proantocianidinas es una formulación, composición o extracto botánico del *Croton lechleri*. En una modalidad, la formulación,
20 composición o extracto botánico del *Croton lechleri* se encuentra en forma de pasta o gel. En una modalidad particular, la composición o formulación comprende perlas (nano o micropartículas) que comprenden SB 300 o SP 303 con recubrimiento entérico y se administra de forma oral a los

animales que lo necesitan. En una modalidad particular, la composición o formulación es un producto masticable y comprende perlas (nano o micropartículas) que comprenden SB 300 o SP 303 con recubrimiento entérico. En una modalidad particular, el producto con recubrimiento entérico se administra de forma oral a un perro o animal de compañía, una vez por día o dos veces por día. En una modalidad particular, el producto con recubrimiento entérico se administra de forma oral a un perro o animal de compañía, dos veces por día, durante un día o múltiples días, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días o durante dos semanas. En algunas modalidades, el producto se administra de forma oral durante múltiples días consecutivos, por ejemplo, al menos dos o tres días consecutivos. En una modalidad específica, los microgránulos recubiertos entéricos de la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, tal como el crofelemer (por ejemplo, SP 303), se administran de forma oral a un animal de compañía tal como un perro afectado con diarrea en una dosis de 2 mg/kg por día o dos veces por día, o 4 mg/kg por día o dos veces por día. En una modalidad, la dosis se administra durante tres días.

En una modalidad, la composición, formulación o producto de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* se proporciona

en un método para tratar la diarrea inducida por quimioterapia (CID) en animales de compañía, especialmente perros, como se describe en la presente. En una modalidad particular, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* es entérica recubierta, comprende nano o micropartículas y es una forma de dosificación oral, sólida y masticable.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

10

La **FIG. 1** muestra una gráfica de barras de la puntuación fecal diaria según se determina en el estudio descrito en el Ejemplo 3. Los días se indican en el eje x; la puntuación fecal diaria se indica en el eje y. En cada una de las agrupaciones de las barras en la gráfica de día, la primera de las tres barras (la barra más a la izquierda) indica el fármaco de tratamiento con «recubrimiento entérico»; la segunda de las tres barras (barra central) indica el fármaco de tratamiento con «recubrimiento no entérico»; y la tercera de las tres barras (la barra más a la derecha) indica el tratamiento con placebo.

15
20

La **FIG. 2** muestra una gráfica del porcentaje de pacientes que responden al tratamiento en función del día de tratamiento de

acuerdo con el estudio descrito en el Ejemplo 5. El tratamiento A indica el grupo de tratamiento que recibió el producto SP-303 crofelemer y el tratamiento B indica el grupo de tratamiento que recibió el placebo durante el estudio.

5 Como se muestra en la **FIG. 2**, la respuesta en el grupo de tratamiento con SP-303 resultó mayor que la del grupo de tratamiento con placebo en todos los días en al menos 10 %. De acuerdo con el estudio, un paciente que responde al tratamiento fue un perro que tuvo heces formadas sin ningún

10 seguimiento de heces no formadas, cada día.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La diarrea es un aumento en la frecuencia, fluidez o volumen

15 de las heces. En un problema común en animales de compañía, tales como perros y gatos, y se caracteriza por la duración (aguda frente a crónica), la ubicación anatómica y el mecanismo fisiopatológico. Uno de los mecanismos fisiopatológicos más comunes es la diarrea secretora

20 provocada por el transporte anormal de iones en las células epiteliales intestinales. Las causas más comunes de la diarrea secretora en perros y gatos son los mediadores anormales que provocan cambios en el adenosín monofosfato cíclico intratecelular (cAMP, por sus siglas en inglés), el

guanosín monofosfato cíclico (cGMP, por sus siglas en inglés), el calcio y/o las proteínas cinasas, que, a su vez, provocan un aumento en la secreción de iones de cloruro. Dichos mediadores, incluyen, de modo no taxativo, hormonas entéricas endógenas o neuropéptidos, productos de células inflamatorias, endotoxinas bacterianas, laxantes, ácidos grasos, ácidos biliares y diversos tipos de fármacos.

La diarrea inducida por quimioterapia (CID) puede ocurrir en animales de compañía, particularmente perros, que se someten a tratamiento o terapia para diversos tipos de cánceres. Los fármacos, agentes y compuestos utilizados para tratar cánceres pueden provocar diarrea como un efecto secundario, similar a la situación en humanos que se tratan por cánceres o tumores. De manera ilustrativa, la diarrea puede ser el resultado de un tratamiento con quimioterapia o radiación de animales de compañía, tales como perros, para cánceres, tales como linfomas; linfoma maligno; cáncer de piel y tumores, por ejemplo, mastocitomas; tumores de la glándula mamaria; sarcomas del tejido blando; melanomas; cánceres de huesos, por ejemplo, los osteosarcomas y osteocarcinomas. Determinadas razas de animales de compañía, por ejemplo, los perros, especialmente aquellos genéticamente consanguíneos o aquellos de determinadas razas, tienen incidencias de

cánceres específicos más altas que las normales. Por lo tanto, los cánceres que requieren métodos y composiciones de tratamiento de la invención pueden tener una base genética, pero también pueden deberse a una o más causas ambientales o espontáneas. Las presentes composiciones y métodos proporcionan tratamientos para la diarrea que se asocian con la terapia y los tratamientos para el cáncer de los animales de compañía, tales como los perros que reciben tratamientos con quimioterapia o radiación.

10

Los métodos y composiciones de tratamiento contra la diarrea que se describen en la presente no se limitan a la CID relacionada con un tipo o causa de cáncer particular, y pueden ser ventajosos para tratar o prevenir la diarrea de diversos tipos, formas y composiciones que surgen de la quimioterapia y tratamientos para el cáncer. Se encuentra disponible una variedad de fármacos quimioterapéuticos para el tratamiento de diversos tipos de cánceres en animales de compañía, por ejemplo, perros. Los fármacos pueden utilizarse solos o en combinación y pueden provocar diarrea, es decir, el pasaje de heces acuosas en un período de 24 horas. Muchos de los mismos agentes quimioterapéuticos se utilizan para tratar cánceres en pacientes humanos y también pueden provocar diarrea. Los ejemplos de fármacos quimioterapéuticos

que se pueden asociar con la provocación de diarrea en especies caninas que se someten al tratamiento para el cáncer incluyen, de modo no taxativo, actinomicina D, L-asparaginasa, carboplatino, clorambucilo, cisplatino, 5 ciclofosfamida, citarabina, doxorubicina, lomustina, metotrexato, mitoxantrona, vinblastina, vincristina. La L-asparaginasa, carboplatino, ciclofosfamida, doxorubicina y vincristina se incluyen entre los fármacos contra el cáncer que se utilizan con más frecuencia.

10

Se utilizan frecuentemente protocolos de múltiples fármacos como tratamientos con quimioterapia en los perros. Algunas combinaciones de fármacos que se han utilizado para el tratamiento del cáncer en los perros incluyen, de forma

15 ilustrativa, vincristina/L-asparaginasa/ciclofosfamida/doxorrubicina/metotrexato/prednisolona; vincristina//doxorubicina; doxorubicina/ciclofosfamida/vincristina/prednisolona; vincristina/L-

20 asparaginasa/ciclofosfamida/doxorrubicina/prednisolona; vincristina/ciclofosfamida/ doxorubicina; doxorubicina/ciclofosfamida; ciclofosfamida/vincristina/prednisolona/L-asparaginasa/doxorrubicina; doxorubicina/carboplatino

(osteosarcoma); prednisolona/L-asparaginasa/vincristina/ciclofosfamida/doxorubicina/radiación (quimioterapia).

- 5 Dos fármacos quimioterapéuticos que están aprobados para usar específicamente en perros incluyen fosfato de toceranib (PALLADIA), un inhibidor de la tirosina cinasa aprobado para el tratamiento de mastocitomas de grado 2 o 3; y mastinib (KINAVET-CA1® o MASTIVET), un inhibidor receptor de la
10 tirosina cinasa aprobado para el tratamiento de mastocitomas caninos no resecables.

Sin ánimo de limitarnos a la teoría, en animales caninos, la acción directa de fármacos citotóxicos utilizados en el
15 tratamiento con quimioterapia para dividir las células en el tracto gastrointestinal (GI) provoca efectos negativos habitualmente en un período de 1 a 5 días, y ocasionalmente hasta 10 días luego de iniciar el tratamiento. Un patrón típico implica anorexia el día 1, seguido de vómitos y/o
20 diarrea el día 2-3. Se requiere de tratamiento sintomático para mitigar los efectos de la deshidratación que se asocia con la diarrea. Dicho tratamiento implica comúnmente la administración de líquidos intravenosos, electrolitos, antieméticos, protectores del intestino, reguladores de

acidez y/o antibióticos. Si la toxicidad GI provoca daño epitelial, existe mayor peligro de sepsis y neutropenia, ya que la mucosa de los intestinos se vuelve una barrera menos efectiva para la translocación bacteriana.

5

Actualmente no existen productos en el mercado con propiedades antisecretoras que traten eficazmente la diarrea, independientemente de la causa, en animales de compañía, tales como perros y gatos. En la actualidad, los objetivos principales de la terapia sintomática incluyen la restauración y mantenimiento del balance de líquidos y electrolitos, las modificaciones en la dieta y la administración de antimicrobianos y antihelmínticos, si se justifica, a un animal afectado. En vista de los efectos adversos en relación con la administración de fármacos quimioterapéuticos, las presentes formulaciones y métodos proporcionan una clase necesaria, ventajosa y eficaz de fármacos que reduce las pérdidas de líquidos y electrolitos que se asocian con la diarrea y la diarrea grave.

20

Tal como se utiliza en la presente, los animales de compañía tratados mediante los métodos de la presente invención son animales no humanos domesticados, llamados también mascotas, que típica y principalmente se tienen para la compañía, el

entretenimiento emocional o social y/o la terapia o protección de una persona y, los cuales, no se tienen habitualmente por el rendimiento, producción, investigación o valor agrícola. A menos que se indique de otra manera, el uso del término «animal» en la presente indica mamíferos de sangre caliente, no humanos de una cantidad de especies diferentes que son considerados compañeros o mascotas para los humanos. De manera ilustrativa, y de modo no taxativo, los métodos de la invención son útiles para tratar y/o prevenir diversas formas de diarrea en animales de compañía tales como perros; gatos; conejos (conejos alojados); hurones; roedores/roedores de bolsillo tales como ratones, jerbos, hámsteres, chinchillas, ratas y cobayos que no son de laboratorio. Como guía general y de modo no taxativo, los pesos corporales de algunos tipos de animales de compañía pueden caer en los siguientes rangos aproximados: perros (2 kg-100kg); gatos (2 kg-20kg); conejos (0.4 kg-5kg); hurones (0.5 kg-2kg); jerbos (40 g-130g); hámsteres (50 g-150g); ratas (200 g-700g); y cobayos (100 g-1.2kg). En una modalidad preferida, el animal de compañía tratado por diarrea mediante el uso de los métodos y productos de la invención es un perro. En otra modalidad preferida, el animal de compañía tratado por diarrea mediante el uso de los métodos y productos de la invención es un gato.

En una modalidad, la formulación y el producto proporcionado por la presente invención para su uso para tratar diversos tipos de diarrea acuosa en perros actúa eficazmente en la
5 última etapa fisiológica en la manifestación de la diarrea acuosa, independientemente de la causa, normalizando el flujo de agua y iones en el lumen intestinal del animal. De acuerdo con la invención, un tratamiento óptimo para la diarrea acuosa abordaría directamente la pérdida de agua sin provocar
10 estreñimiento, afectando la actividad peristáltica normal o alterando la absorción corporal normal de otros fármacos o la función fisiológica normal de los intestinos. El abordaje de la pérdida de agua que se asocia con la diarrea acuosa a través de los métodos de la invención ofrece una mejora en la
15 calidad de vida de los perros y proporciona beneficios adicionales al dueño del perro. Las composiciones de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* que contienen crofelemer o un extracto botánico del *C. lechleri*, así como también las composiciones de SB 300 y SP 303 descritas en la
20 presente, proporcionan productos que actúan normalizando el flujo de iones y agua en el lumen intestinal, cuya disfunción es la última etapa común para la manifestación de la diarrea acuosa. Además, los canales que regulan este flujo de iones y agua, que incluyen canales CFTR y CaCC, que son los sitios de

acción de los productos gastrointestinales de la invención, se encuentran presentes generalmente en mamíferos. Como resultado, dichos productos pueden ser eficaces para combatir la diarrea acuosa, independientemente de la causa, y se
5 presentan como eficaces para prevenir las ramificaciones debilitantes y devastadoras de la diarrea acuosa en animales de compañía.

En vista de los efectos no agradables y debilitantes de la
10 diarrea en animales no humanos, los métodos de la presente invención proporcionan un nuevo medio para tratar la diarrea en animales de compañía afectados. Los métodos de la invención proporcionan tratamiento de la diarrea que es el resultado de una cantidad de fuentes y causas diferentes, por
15 ejemplo, en perros y gatos, con una cantidad eficaz de una composición de polímeros de proantocianidinas de una especie *Croton* o especie *Calophyllum*, o con un látex, extracto o extracto botánico de complemento alimenticio derivado de esta. El tratamiento eficaz de la diarrea con una composición
20 de polímeros de proantocianidinas del *Croton lechleri*, o con un látex, extracto o extracto botánico de complemento alimenticio derivado de esta es ventajoso en vista de la falta de dichos tratamientos para animales de compañía domésticos que padecen diarrea y afecciones relacionadas.

El crofelemer, por ejemplo, SP 303 que se describe a continuación, es un extracto purificado de una especie *Croton* tal como la *Croton lechleri* que contiene uno o más
5 ingredientes con fuertes propiedades antisecretoras y un único modo de acción. De acuerdo con la presente invención, el crofelemer y las formas de este se utilizan para tratar la diarrea en animales de compañía, tales como perros y gatos, y otras especies de animales de compañía. Más específicamente,
10 el mecanismo de acción de las composiciones de polímeros de proantocianidinas o extractos purificados tales como el crofelemer es a través de la inhibición del canal iónico de cloruro de la proteína reguladora de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR, por sus siglas
15 en inglés) y los canales iónicos de cloruro activados con calcio (CaCC, por sus siglas en inglés). La composición de polímeros de proantocianidinas actúa bloqueando la secreción del canal iónico de cloruro y la pérdida de agua de gran volumen anexa que produce diarrea, normalizando así el flujo
20 de iones de cloruro y agua en el tracto gastrointestinal (GI).

La invención proporciona métodos orientados a tratar el problema debilitante de la diarrea acuosa de diversas causas

en animales de compañía no humanos jóvenes y adultos, por ejemplo, perros. Los métodos son eficaces para reducir y/o aliviar la diarrea acuosa o la CID en dichos animales no humanos que lo necesitan. En particular, los métodos están dirigidos a tratar la diarrea, particularmente la diarrea acuosa/secretora, provocada por cualquier cantidad de factores que conducen a la diarrea en animales de compañía. A modo de ejemplo, un animal puede sufrir de diarrea como resultado de una infección, tal como una infección bacteriana, infección viral, infección parasítica/protozoaria (*Giardia*), condiciones ambientales, pancreatitis, tratamientos inducidos con quimioterapia, dieta no adecuada, ingesta de tierra y contaminantes no saludables, y similares, solos o en combinación con otros agentes infecciosos, enfermedad o condiciones ambientales, en animales de compañía jóvenes y adultos. La invención proporciona además formulaciones y composiciones sumamente adecuadas para tratar la diarrea en perros jóvenes y adultos. Sin ánimo de ser taxativos, los animales «jóvenes» o «juveniles» tienen generalmente un año de edad o son menores de edad, mientras que los animales «neonatales» tienen generalmente dos semanas de edad o menos.

La presente invención hace referencia particularmente a tratar la diarrea acuosa, la diarrea acuosa aguda o la CID en animales de compañía jóvenes o adultos, tales como perros,
5 con formulaciones y composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente antidiarreico que comprende un polímero de proantocianidinas obtenido de una especie *Croton* spp., preferentemente la *Croton lechleri* (*C. lechleri*). La
10 composición de polímeros de proantocianidinas se obtiene también de una especie *Calophyllum* spp., en particular la *Calophyllum inophyllum*. En una modalidad específica, la composición farmacéuticamente aceptable comprende un polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri*. En una modalidad
15 particular, el polímero de proantocianidinas consiste en perlas protegidas de forma entérica, que incluyen perlas entéricas que incluyen SB 300 o SP 303.

Tratamiento de la diarrea inducida por quimioterapia (CID) en 20 perros

En una modalidad particular, los presentes métodos y productos proporcionan un tratamiento necesario de diarrea inducida por quimioterapia (CID) en perros. La diarrea grave

es un efecto secundario frecuente de los fármacos quimioterapéuticos que se administran con más frecuencia. Si se deja sin tratar, la CID en los perros puede dar lugar a efectos que son similares a aquellos que experimentan los seres humanos, por ejemplo, pérdidas de líquidos y electrolitos, lo cual puede provocar deshidratación, desequilibrio de electrolitos e insuficiencia renal; carencias nutricionales a partir de la alteración del tránsito gastrointestinal y la digestión; y mayor riesgo de complicación infecciosa. La eficacia del tratamiento oncológico subyacente puede ponerse en peligro si la gravedad de la CID exige reducciones en la absorción, frecuencia y/o dosificación de la quimioterapia. Las veterinarias prescriben a veces fármacos utilizados por seres humanos en un esfuerzo por tratar la CID en los perros, sin embargo, hace falta información clínica complementaria con respecto a la eficacia o la dosificación. Además, administrar una formulación humana potencialmente desagradable a un perro resulta difícil con frecuencia y puede llevar a una incertidumbre adicional que rodea la cantidad que realmente ingiere el animal. Los ejemplos de tipos de fármacos quimioterapéuticos y combinaciones de fármacos, así como también sus efectos luego de la administración, se establecieron anteriormente en la presente.

En algunas modalidades, los métodos, composiciones y formulaciones que se describen en la presente pueden proporcionarse de forma profiláctica a un animal que se somete

5 a quimioterapia, inclusive radiación, tratamiento para el cáncer para reducir, anular, disminuir o eliminar los efectos adversos consiguientes y los síntomas de la diarrea antes que estos estén presentes y/o se vuelvan demasiado graves. Debido a que la diarrea puede surgir en un período de 1-5 días o en

10 un período de 2-3, luego del tratamiento con quimioterapia, los métodos de tratamiento, composiciones y formulaciones de la invención pueden administrarse a un animal que lo necesita en un tiempo predeterminado antes que el animal reciba el tratamiento con quimioterapia teniendo en cuenta los tiempos

15 generales de la aparición de la diarrea, de acuerdo con lo anterior, así como también según el criterio del personal veterinario. Además, los métodos de tratamiento, composiciones y formulaciones como se describen en la presente pueden proporcionarse el día que el animal recibe

20 tratamiento con quimioterapia o de forma simultánea con este. Asimismo, los métodos de tratamiento, composiciones y formulaciones pueden administrarse también después del comienzo de la diarrea, por ejemplo, lo antes posible luego de la aparición de los síntomas, para contrarrestar los

efectos adversos, reducir las pérdidas de líquidos y electrolitos por parte del animal y/o restaurar el balance de electrolitos adecuado, la hidratación y balance de líquidos en el sistema del animal. Se entenderá que un animal que lo
5 necesita puede recibir las composiciones y formulaciones de la invención una vez o más de una vez, por ejemplo, dos, tres, cuatro o más veces por día, ya sea que la administración se produzca antes, simultáneamente o el mismo día, o luego de la administración de uno o más fármacos para
10 la quimioterapia.

Para tratar la CID en perros, se proporciona por medio de la presente invención una composición, formulación o producto de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*,
15 particularmente diseñado para perros. Dicho producto agradable para los caninos constituye una composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* recubierta entérica que es una forma sólida saborizada, por ejemplo, con sabor a carne de vaca, masticable, preferentemente masticable
20 y blanda, que se administra de forma oral a un perro que necesita el tratamiento de la CID. En una modalidad, el producto se administra al animal que lo necesita dos veces por día. Como se describe en la presente, la consistencia y/o el sabor de la forma de dosificación oral sólida no pretende

ser taxativo. El producto de tratamiento con polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* tiene un mecanismo de acción antisecretor demostrado; este actúa localmente en los intestinos y se absorbe mínimamente de forma sistémica.

5 Además, este no altera la motilidad gastrointestinal, no tiene efectos significativos en los canales iónicos intestinales que funcionan de forma normal y el transporte de electrolitos o líquidos, y no tiene ningún efecto secundario diferente del placebo. Estas características aumentan

10 adicionalmente por su falta de efecto en la absorción y/o metabolismo de fármacos para la quimioterapia coadministrados, de forma oral o por medio de otras vías de administración. Sin tener la intención de limitarnos por la teoría, el producto de la invención actúa normalizando el

15 flujo de excedente de iones y agua en el lumen intestinal. El flujo de excedente de iones y agua en el lumen intestinal es la última etapa común para la manifestación de la diarrea acuosa. Como resultado, el producto puede ser eficaz en el tratamiento de la diarrea acuosa que se asocia con la CID, o

20 independientemente de la causa, en este sentido. A modo de ejemplo, después de la dosificación oral durante dos o tres días, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* (por ejemplo, crofelemer o SP 303) junto con la ORS, puede producir una reducción significativa en la diarrea

acuosa, como se demuestra mediante la reducción del pasaje de heces acuosas, así como también la menor duración de la diarrea, urgencia y deshidratación.

5 En una modalidad particular relacionada con el tratamiento de la CID en perros, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* es un producto sólido masticable, preferentemente, un producto sólido, masticable blando que tiene sabor a carne de vaca para el tratamiento de
10 la diarrea, tal como la CID, en perros. En una modalidad, el producto masticable blando se administra de forma oral en una cantidad de 2 mg/kg, más particularmente, dos veces por día. El producto que contiene polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* se formula como micropartículas recubiertas
15 entéricas como el ingrediente activo para la liberación dirigida en el intestino del perro. En una modalidad, el ingrediente activo del polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* es crofelemer o SP 303. En una modalidad particular, el ingrediente activo está presente en una cantidad de
20 dosificación de 40 mg. En una modalidad, el producto recubierto entérico comprende micropartículas o nanopartículas que contienen la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* o el extracto botánico del *C. lechleri*.

En términos generales, «tratar» un animal de acuerdo con los presentes métodos hace referencia al logro u obtención de un efecto fisiológico y/o farmacológico deseado, ya sea
5 profiláctico, terapéutico o ambos. Tal como se utiliza en la presente, «tratar» o «tratamiento» puede hacer referencia a la mejora, prevención, inhibición, reversión, atenuación, alivio, anulación, mitigación, supresión, reducción, merma, disminución, estabilización, erradicación, cura o eliminación
10 de los efectos nocivos de una enfermedad o afección, o el avance o agravamiento de la enfermedad o afección. Por ejemplo, el tratamiento exitoso puede implicar aliviar uno o más síntomas de una enfermedad o afección, aunque no necesariamente todos los síntomas de la enfermedad o
15 afección, o atenuar los síntomas o el desarrollo de la enfermedad o afección. Curar o eliminar la enfermedad o afección del animal es un resultado óptimo de la práctica de los métodos de la invención. El tratamiento de los animales de compañía de acuerdo con los presentes métodos puede ser
20 terapéutico o profiláctico.

De acuerdo con la invención, el tratamiento de un animal que lo necesita implica típicamente el uso o la administración de una cantidad eficaz o una cantidad terapéuticamente eficaz de

un polímero de proantocianidinas o una composición de polímeros de proantocianidinas de una especie de *Croton* spp., particularmente la *C. lechleri*, ya sea entérica o no entérica. La cantidad eficaz hace referencia a la cantidad (volumen) de composición, y similares, que induce una respuesta deseada en el animal en cuestión tras su administración o suministro al animal. De manera óptima, una cantidad eficaz produce un efecto terapéutico con pocos o virtualmente ningún efecto adverso o en ausencia de citotoxicidad en el animal. De manera alternativa, se supera cualquier efecto adverso que se asocia con una cantidad eficaz de manera óptima mediante el beneficio terapéutico logrado.

Los métodos de tratamiento de la invención están dirigidos a la mejora, prevención, inhibición, reversión, atenuación, alivio, anulación, mitigación, supresión, reducción, disminución, merma, estabilización, erradicación, cura o eliminación de la diarrea y/o sus síntomas asociados que afectan negativamente la salud, el crecimiento y capacidad de supervivencia de los animales de compañía jóvenes y adultos. En una modalidad, la diarrea es diarrea acuosa/secretora. Dicha diarrea puede ser un signo clínico de la enfermedad gastrointestinal (GI) en un animal; esta puede reflejar

también trastornos primarios fuera del sistema digestivo, por ejemplos, los trastornos que afectan el intestino grueso o el intestino delgado. Los métodos descritos en la presente son adecuados también para tratar la diarrea que es el resultado de una infección, tal como una infección bacteriana, en animales de compañía que pueden tener afecciones o trastornos comórbidos que provocan diarrea mediante mecanismos diferentes implicados en sus patogénesis, por ejemplo, diarrea osmótica, diarrea secretora, diarrea episódica o diarrea infecciosa e inflamatoria. En una modalidad, el animal de compañía joven o adulto puede sufrir de diarrea que se asocia con la inflamación del revestimiento del colon, tal como la colitis o la colitis aguda, que puede ser causada por infección o inflamación del intestino.

15

Tratamiento de otras formas de diarrea

La diarrea osmótica se asocia con la absorción de agua en los intestinos, la cual depende de la absorción adecuada de solutos. Si se retienen cantidades excesivas de solutos en el lumen intestinal, el agua no se absorberá y provocará diarrea. La diarrea osmótica es típicamente el resultado de la ingestión de un sustrato poco absorbido, por ejemplo, un carbohidrato o ion divalente o de la malabsorción de

20

cualquier tipo, tal como la incapacidad de absorber determinados carbohidratos. La diarrea secretora se produce cuando la secreción de agua en el lumen del intestino excede la absorción. En condiciones normales, se secretan grandes volúmenes de agua en el lumen intestinal delgado pero una gran parte de esta agua se absorbe eficazmente antes de llegar al intestino grueso.

La diarrea secretora puede ser el resultado de la exposición de un animal a toxinas (enterotoxinas) de determinados tipos de bacterias, tales como la toxina del cólera de *Vibrio cholerae* y la toxina termolábil de *E. coli*. La diarrea masiva se provocada a partir de dichos organismos como consecuencia de sus toxinas que activan fuertemente la adenilil ciclase, la cual provoca un aumento prolongado en la concentración intracelular del AMP cíclico dentro de los enterocitos de las criptas. Este aumento, a su vez, provoca la apertura prolongada de los canales de cloruro que contribuyen con la secreción de agua desde las criptas, permitiendo así la secreción descontrolada de agua. Estas toxinas bacterianas pueden afectar también el sistema nervioso entérico, que da lugar a un estímulo independiente de secreción de agua.

La diarrea inflamatoria e infecciosa puede ser provocada por la interrupción del epitelio del intestino debido a patógenos microbianos o virales. Comúnmente, el epitelio del tubo digestivo está protegido contra lesiones por medio de una cantidad de mecanismos que conforman la barrera gastrointestinal. Sin embargo, la barrera gastrointestinal puede ser vulnerada y provoca diarrea. La destrucción del epitelio no provoca solamente la fuga de suero y sangre en el lumen sino también se asocia a menudo con la destrucción significativa del epitelio absorbente. Cuando se produce esto, la absorción de agua se vuelve sumamente ineficaz y provoca diarrea. Los responsables patogénicos que se asocian frecuentemente con la diarrea infecciosa incluyen bacterias, tales como *E. coli*, *Campylobacter* y *Salmonella*; virus, tales como rotavirus, coronavirus, parvovirus y norovirus; y protozoos, tales como la especie de coccidia, *Cryptosporium* y *Giardia*. Además, la respuesta del sistema inmunitario a las afecciones inflamatorias en el intestino contribuye enormemente al desarrollo de la diarrea. Se estimulan los glóbulos blancos activados para producir y secretar mediadores inflamatorios y citocinas que estimulan la secreción. Un componente secretor se impone, por lo tanto, y agrava una diarrea inflamatoria. Asimismo, las especies reactivas de oxígeno producidas por los leucocitos pueden

dañar o destruir las células epiteliales intestinales, las cuales se reemplazan con células inmaduras que son generalmente escasas en las enzimas en el borde en cepillo y transportadores necesarios para la absorción de nutrientes y agua. Por lo tanto, los componentes de una diarrea osmótica (malabsorción) proporcionan patología y problemas adicionales para un animal de compañía afectado.

En algunos casos, la diarrea en animales de compañía es el resultado de una combinación de la invasión de bacterias infecciosas y factores no infecciosos. Con frecuencia, las causas no infecciosas de la diarrea en animales de compañía jóvenes o adultos se consideran que son factores que pueden predisponer o contribuir a la susceptibilidad de un animal a agentes y causas infecciosas de la diarrea. Ya sea que la causa de la diarrea en animales sea infecciosa o no infecciosa, se altera la absorción de los líquidos desde el intestino y pueden producirse desequilibrios mortales de electrolitos. Los animales afectados pierden líquidos, se deshidratan rápidamente y sufren pérdida de electrolitos y acidosis. Aunque los agentes infecciosos pueden provocar un daño inicial al intestino del animal, la muerte real por diarrea acuosa (diarrea grave) en animales es habitualmente una consecuencia de la deshidratación, acidosis y pérdida de

electrolitos, lo cual puede ser difícil de reponer en cantidad y tiempo adecuado. Por consiguiente, los métodos y formulaciones de la invención son adecuados para tratar diversas formas de diarrea, por ejemplo, la diarrea
5 secretor/acuosa y la CID, y los síntomas de la diarrea, tales como la deshidratación y la pérdida de electrolitos, en un esfuerzo por reducir y/o eliminar la diarrea y evitar una deshidratación más grave o incluso la muerte del animal de compañía.

10

Proantocianidinas y taninos obtenidos de extractos vegetales

Las proantocianidinas son tipos de taninos condensados que se encuentran en una gran cantidad de plantas y se clasifican
15 como hidrolizables o condensados. Los taninos y, en particular, las proantocianidinas están incluidos en muchas plantas utilizadas en la medicina tradicional como tratamiento o profilaxis para la diarrea (Véase, p. ej., Yoshida et ál., 1993, *Phytochemistry*, 32:1033; Yoshida et
20 ál., 1992, *Chem. Pharm. Bull.*, 40:1997; Tamaka et ál., 1992, *Chem. Pharm. Bull.*, 40:2092).

Las proantocianidinas se componen de al menos dos o más unidades de monómeros que pueden ser de la misma estructura

monomérica o una diferente. Las unidades monoméricas (denominadas generalmente «leucoantocianinas») son generalmente flavonoides monoméricos que incluyen catequinas, epicatequinas, galocatequinas, galoepicatequinas, flavanoles, flavonoles, flavan-3,4-dioles, leucoantocianinas y antocianidinas. Las cadenas de polímeros se basan por lo tanto en diferentes unidades estructurales, creando una amplia variación de proantocianidinas poliméricas y una gran cantidad de isómeros posibles (Hemingway et ál., 1982, *J. C. S. Perkin*, 1:1217). Los polímeros más grandes de las unidades 3-ol flavonoides son predominantes en la mayoría de las plantas y a menudo tienen pesos moleculares promedio por encima de 2.000 daltons (Da), que contienen 6 o más unidades (Newman et ál., 1987, *Mag. Res. Chem.*, 25:118).

15

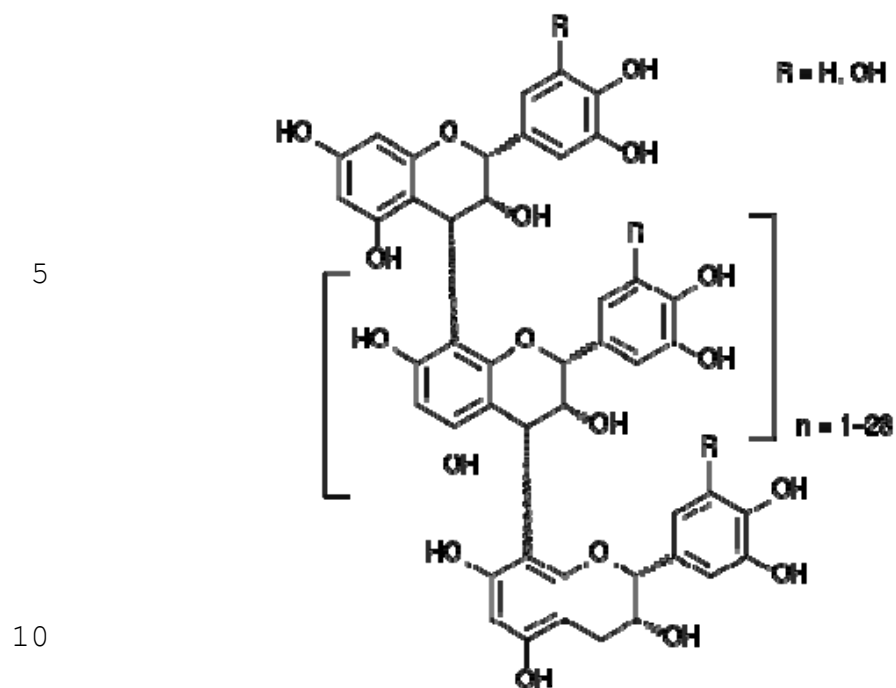
Los polímeros de proantocianidinas y la proantocianidina se encuentran en una gran variedad de plantas, especialmente aquellas que tienen un hábito leñoso de crecimiento (por ejemplo, *Croton* spp. y *Calophyllum* spp.). Una cantidad de especies de árboles *Croton* diferentes, que incluyen *Croton sakutaris*, *Croton gossypifolius*, *Croton palanostima*, *Croton lechleri*, *Croton erythrochilus* y *Croton draconoides*, que son endémicos para Sudamérica, produce un látex viscoso rojo llamado Sangre de drago. El látex viscoso rojo es conocido

20

por sus propiedades medicinales. Por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5,211,944 describe el aislamiento de una composición soluble y acuosa de polímeros de proantocianidinas del *Croton* spp. (véase también, Ubillas et al., 1994, *Phytomedicine*, 1:77). El aislamiento de una composición soluble y acuosa de polímeros de proantocianidinas de *Calophyllum inophyllum* en la patente estadounidense n.º 5,211,944.

En una modalidad, un polímero de proantocianidinas del *C. lechleri*, o una composición de este es crofelemer. El Crofelemer (CAS 148465-45-6) es una proantocianidina oligomérica de diversas longitudes de cadena que se obtiene de la sangre de drago de la *Croton lechleri*, un árbol de la familia *Euphorbiaceae*, que se extrae de manera sostenible conforme a las prácticas laborales de comercio justo en la Amazonia. Este tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 1900 Da a aproximadamente 2700 Da. Los monómeros que incluyen crofelemer comprenden catequina, epicatequina, galocatequina y epigalocatequina. La longitud de cadena del crofelemer oscila entre aproximadamente 3 y aproximadamente 30 unidades con una longitud de cadena promedio de aproximadamente 7 u 8 unidades. El crofelemer tiene la fórmula química: $(C_{15 \cdot n}H_{12 \cdot n+2}O_{6.5 \cdot n})$, donde n = cantidad

de unidad) y una masa molecular de 860-9100 g/mol (aproximadamente 2500 Da). El mecanismo antiselector de acción del crofelemer implica el direccionamiento e inhibición de dos canales de cloruro intestinales distintos, a saber, el canal regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), que es un canal Cl^- estimulado con cAMP, y el canal de cloruro activado por calcio (CaCC), según lo informado, por ejemplo, por Tradtrantip, L. et ál., 2010, "Crofelemer, an Antisecretory Antidiarrheal Proanthocyanidin Oligomer Extracted from *Croton lechleri*, Targets Two Distinct Intestinal Chloride Channels", Mol. Pharmacol., 77(1):69-78). Una estructura general del crofelemer se muestra a continuación. En la estructura, una H en la posición R de la estructura hace referencia a la procianidina; un OH en la posición R de la estructura hace referencia a la prodelphinidina.



De acuerdo con una modalidad de la invención, el crofelemer o una formulación o composición farmacéuticamente aceptable que comprende crofelemer se utiliza en los métodos de tratamiento como el polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri*.

En una modalidad, SP 303, una proantocianidina oligomérica del *Croton lechleri*, (conocida también como crofelemer) es el polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri*, o una formulación o composición farmacéuticamente aceptable que comprende SP 303, que es adecuada para usar en los métodos de tratamiento de la invención. El SP-303 (R. Ubillas et ál., 1994, *Phytomedicine*, 1:77-106) está compuesto en gran medida por oligómeros de proantocianidinas purificadas (-)-

epigallocatequina, (+)-galocatequina, (-)-epicatequina y (+)-catequina y es adecuado para uso en las formulaciones y composiciones entéricas y no entéricas para su administración en los métodos de tratamiento que se describen en la presente.

En otra modalidad, el SB 300, un extracto de polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri*, es el polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri*, o una formulación o composición farmacéuticamente aceptable que comprende SB 300, que es adecuado para usar en los métodos de tratamiento de la invención. El SB 300, como se describe, por ejemplo, por Fischer, H. et ál., (2004, *J. Ethnopharmacol.*, 93(2-3):351-357) proporciona un extracto de producto natural que es particularmente tratable para formulaciones y composiciones entéricas y no entéricas, y es sumamente funcional y rentable en los métodos de tratamiento que se describen en la presente.

20

Una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri* y que se emplea en los métodos de tratamiento de la invención puede obtenerse del *C. lechleri*, por ejemplo, como se describe en

WO 00/47062 para Shaman Pharmaceuticals, Inc., cuyo contenido se incorpora en la presente y se formula como un suplemento alimenticio o nutricional, o formulación nutracéutica.

- 5 En otras modalidades, las composiciones útiles en los métodos de la invención comprenden un látex en bruto obtenido de una especie de *Croton* o una especie de *Calophyllum*, o un extracto obtenido de una especie de *Croton* o una especie de *Calophyllum*, las cuales no son específicamente composiciones
- 10 de polímeros de proantocianidinas poliméricas. Los ejemplos de extractos se describen en Persinos et ál., 1979, *J. Pharma. Sci.*, 68:124 y Sethi, 1977, *Canadian J. Pharm. Sci.*, 12:7.
- 15 En una modalidad, el polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri* se formula con un recubrimiento entérico o matriz en una variedad de formatos de dosificación conocidos en la técnica (véanse, por ejemplo, WO 00/47062 y las patentes estadounidenses n.º 7,441,744 y 7,323,195, cuyos contenidos
- 20 se incorporan en la presente memoria y se describen brevemente más adelante. En otra modalidad, el polímero de proantocianidinas es una formulación sin recubrimiento o matriz entérica. Tanto las formas entéricas como las no entéricas del polímero de proantocianidinas del *Croton*

lechleri, por ejemplo, SB 300 o SP 303, están destinadas a ser usadas en los métodos de la presente invención.

Preparación de composiciones y formulaciones de polímeros de proantocianidinas

La composición de polímeros de proantocianidinas eficaz para tratar la diarrea secretora de acuerdo con la invención está compuesta por unidades monoméricas de leucoantocianinas. Más particularmente, la composición se compone de polímeros de proantocianidinas de 2 a 30 unidades flavonoides, preferentemente 2 a 15 unidades flavonoides, más preferentemente 2 a 11 unidades flavonoides y lo más preferentemente un promedio de 7 a 8 unidades flavonoides con un peso molecular de promedio numérico de aproximadamente 2500 Da. La composición de polímeros de proantocianidinas es preferentemente soluble en una solución acuosa. Se prefiere el uso de un polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* en los métodos de acuerdo con la invención; tal como un polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* puede estar en forma de composición farmacéuticamente aceptable.

Los ejemplos de composiciones poliméricas de proantocianidinas útiles en la presente invención se aíslan o

purifican preferentemente a partir del *Croton* spp., a saber, *Croton lechleri*, o *Calophyllum* spp., mediante cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, la composición de polímeros de proantocianidinas puede aislarse de una especie

5 de *Croton* spp. o *Calophyllum* spp., mediante el método descrito en la patente estadounidense n.º 5,211,944 o en Ubillas et ál. (1994, *Phytomedicine*, 1:77-106, llamado SP 303 en la presente), los cuales se incorporan a la presente mediante esta referencia. Se describen otros métodos de aislamiento en

10 las patentes estadounidenses n.º 7,556,831 y 8,067,041 (Ejemplo 2), cuyos contenidos se incorporan en la presente memoria. La solicitud PCT PCT/US00/02687, publicada como WO 00/47062, cuyo contenido se incorpora en la presente memoria, describe también un método para fabricar una composición

15 polimérica de proantocianidinas aislada del *Croton* spp. o *Calophyllum* spp., y formulaciones entéricas de los suplementos nutricionales del polímero de proantocianidinas, así como también los métodos de su preparación. Otro método ilustrativo para aislar el polímero de proantocianidina del

20 *C. lechleri* (por ejemplo, el crofelemer) se encuentra en las patentes estadounidenses n.º 7,341,744 y 7,323,195, cuyos contenidos se incorporan de forma expresa en la presente memoria. Como se describió anteriormente, las formas purificadas de SP 303 y SB 300 del polímero de

proantocianidinas oligoméricas del *Croton lechleri* son adecuadas para su uso en los métodos de tratamiento de la invención.

5 En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas puede aislarse generalmente por medio del siguiente proceso, tal como se proporciona en la patente estadounidense n.º 7,341,744, cuyo contenido se incorpora en la presente memoria. El látex recolectado de plantas de
10 *Croton lechleri* se mezcla con agua purificada (preferentemente una parte de látex y dos partes de agua purificada). Se deja asentar cualquier material insoluble en la solución de látex, por ejemplo, dejando la mezcla a 4 °C durante la noche (12 horas). El sobrenadante se bombea lejos
15 del residuo y se extrae con un alcohol de cadena corta tal como el n-butanol. La extracción se realiza preferentemente múltiples veces, por ejemplo, tres veces. Luego de cada extracción, la fase de alcohol se desecha y se conserva la fase acuosa. La fase acuosa se concentra, por ejemplo, usando
20 un dispositivo de ultrafiltración con una membrana de corte de 1 kD. Esta membrana puede ser una membrana de celulosa con baja adhesión proteica o, de manera alternativa, se puede utilizar una membrana de polipropileno, teflón o nylon. La membrana utilizada debe ser compatible con la acetona. El

objetivo de la ultrafiltración es quitar el agua del material.

Lo retenido de la ultrafiltración se concentra luego hasta la
5 sequedad, por ejemplo, usando secadores de bandeja a
aproximadamente 37 °C (± 2 °C). El material seco se disuelve
posteriormente en agua y se somete a cromatografía en una
columna de intercambio catiónico (por ejemplo, una columna de
CM-Sefarosa) y una columna de exclusión por tamaño (por
10 ejemplo, una columna LH-20). En el sistema de dos columnas
preferido, el material se pasa por una columna de CM-Sefarosa
y luego por una de LH-20 en una serie. Específicamente, el
material disuelto se carga en la columna de intercambio
catiónico y luego se lava con agua purificada. El material de
15 polímero de proantocianidinas se eluye de una columna de
intercambio catiónico con una solución de acetona acuosa
(preferentemente acetona al 30 %), cargando así el material
de polímero de proantocianidinas en la columna de exclusión
molecular. La columna de exclusión molecular se desconecta de
20 la columna de intercambio catiónico y el material se eluye
luego a partir de la columna de exclusión molecular con una
solución de acetona acuosa (preferentemente acetona al 45 %).
Las fracciones se recolectan y monitorean con un detector UV,
por ejemplo, a una longitud de onda de 460 nm. Las fracciones

que contienen el material de polímero de proantocianidinas se combinan y concentran, por ejemplo, mediante ultrafiltración mediante el uso, por ejemplo, de una membrana de corte de 1 kD (como se describió anteriormente para la etapa de ultrafiltración antes de las etapas de cromatografía). Lo retenido se puede concentrar luego hasta la sequedad usando un método de secado adecuado, tal como, de modo no taxativo, un evaporador giratorio, a una temperatura de aproximadamente 37 °C (± 2 °C). Otras metodologías de secado adecuadas incluyen, de modo no taxativo, el secado con bandejas y el secado por pulverización. El ejemplo 10 de la patente estadounidense n.º 7,341,744 proporciona metodología adicional no taxativa para preparar una composición que comprende polímero de proantocianidinas, que se puede utilizar de acuerdo con la invención. Un protocolo detallado para aislar un extracto de polímero de proantocianidinas enriquecido adecuado para su uso en los métodos de la invención se describe en WO 00/47062 como se indicó en la presente anteriormente.

20

Métodos de tratamiento y aplicaciones de uso

La invención se dirige a métodos para tratar la diarrea, especialmente la diarrea acuosa, que es el resultado de

diversas causas patogénicas y no patogénicas, por ejemplo, enfermedad o afección, pancreatitis, condiciones ambientales, infección bacteriana, parasítica, protozoaria, viral, infección por helmintos o parasitaria, dieta no adecuada, CID, etc., en animales de compañía jóvenes y adultos. Los métodos implican administrar a un animal de compañía que necesita dicho tratamiento, una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un polímero de proantocianidinas de una especie de *Croton* o especie de *Calophyllum* en una cantidad eficaz para tratar la diarrea. En modalidades preferidas, el polímero de proantocianidinas es de una especie de *Croton*, a saber, *Croton lechleri*. Tratar la diarrea puede implicar reducir la gravedad y duración de la diarrea en el animal. Tratar la diarrea puede implicar también aumentar la capacidad de supervivencia del animal que se somete a tratamiento, por ejemplo, reduciendo o eliminando la deshidratación en el animal. En una modalidad, la diarrea es diarrea secretora o acuosa. Tratar los animales afectados con diarrea con el polímero de proantocianidinas del *Croton lechleri* da lugar a una mejora del bienestar general de los animales de manera que sus sistemas inmunitarios naturales pueden funcionar en el mantenimiento del bienestar general y en la lucha contra problemas secundarios u otros, reduciendo así la morbilidad y mortalidad.

Además, los métodos de la invención incluyen también métodos para prevenir o reducir la frecuencia o gravedad de la diarrea en animales de compañía jóvenes y adultos que han estado expuestos a se sospecha que han estado expuestos a afecciones o patógenos que pueden provocar diarrea. Por ejemplo, cuando se sabe o se sospecha que un animal de compañía ha estado en contacto con otro animal o mascota con diarrea o una enfermedad o afección que provoca diarrea, al animal de compañía que tiene o ha estado en contacto con un animal infectado o enfermo o sus heces o fluidos corporales, se le puede administrar una composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* de la invención para prevenir la enfermedad diarreica o al menos reducir la frecuencia o gravedad de la enfermedad o los síntomas de esta.

En una modalidad de la invención, los métodos están dirigidos a tratar animales de compañía no humanos, incluidos animales adultos y animales jóvenes, que sufren de diarrea acuosa o CID, que se sospechó o se sospecha que han estado en contacto con uno u otros más animales que plantean el riesgo de provocar una afección diarreica en el animal de compañía. En las modalidades, los métodos están dirigidos a tratar un

animal de compañía o mascota, de modo no taxativo, con un peso de hasta 40 kg, 50 kg, o 60 kg, en promedio, 20 kg.

De acuerdo con los métodos de la invención, los animales de
5 compañía jóvenes y adultos pueden tratarse con un polímero de
proantocianidinas del *C. lechleri*, por ejemplo, SB 300, con
crofelemer (por ejemplo, SP 303), o un extracto botánico
derivado del *C. lechleri*, durante uno, dos, tres, cuatro,
cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez días, etc. El polímero
10 de proantocianidinas del *C. lechleri* puede administrarse al
animal en días consecutivos o de forma intermitente, tal como
día por medio, cada dos días, cada tres días, cada cuatro
días y similares. En una modalidad, el polímero de
proantocianidinas del *C. lechleri* se administra a un animal
15 de compañía durante dos o tres días consecutivos en una o dos
dosis por día. Los métodos presentes proporcionan el
tratamiento de un animal de compañía que sufre o está en
peligro de sufrir diarrea, particularmente, diarrea acuosa,
con un polímero de proantocianidinas del *C. lechleri*, o
20 composición de este, proporcionando una cantidad adecuada y
distribución apropiada del polímero de proantocianidinas en
los intestinos del animal con el fin de tratar la diarrea y/o
sus síntomas y curar la diarrea de forma óptima en el animal.

En una modalidad de los métodos de tratamiento de la diarrea, una forma de dosificación oral sólida, que incluye una formulación masticable, especialmente una formulación blanda, masticable de un polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* como se describe en la presente, se administra de forma oral a un animal de compañía que lo necesita.

En una modalidad de los métodos de tratamiento de la diarrea de la invención, se administra una suspensión de una formulación del polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* de forma oral a animales, jóvenes o adultos, (o a aquellos expuestos o que se sospecha que han estado expuestos a condiciones o agentes que provocan diarrea) en un volumen de 1 a 50 mL, por ejemplo, 10 mL. A modo de ejemplo, se puede administrar un volumen de 10 mL de una suspensión oral que contiene 40 mg del polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* a un perro de 20 kg en una dosis de 2 mg/kg dos veces por día durante tres días (o seis dosis de tratamiento).

20

En una modalidad particular, puede proporcionarse una formulación o composición que comprende un extracto botánico derivado del *C. lechleri*, SB 300, o SP 303, en una forma de dosificación, por ejemplo, un gel, una pasta o pasta en gel;

o una forma masticable, por ejemplo, una forma de dosificación sólida, masticable blanda o dura, o formulación de suspensión que se administra de forma oral a una animal de compañía joven o adulto dos veces por día durante tres días, preferentemente, tres días consecutivos. En una modalidad particular, la formulación comprende perlas (nano o micropartículas) que comprenden SB 300 o SP 303 con recubrimiento entérico y se administra de forma oral al animal. La forma de dosificación, en modalidades específicas, contiene 20 a 50 mg del ingrediente activo, particularmente 40 mg. Los métodos y formulaciones son especialmente adecuadas para normalizar la formación de heces en un período de tiempo corto, por ejemplo, menos de una semana o menos de dos semanas; para mitigar la pérdida de peso; y para reducir los costos de los cuidados paliativos, las terapias de rehidratación, por ejemplo, la rehidratación oral, en un animal de compañía tratado afectado con diarrea.

De acuerdo con los métodos descritos, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* reduce el flujo de cloruro a lo largo de las células epiteliales intestinales y reduce el movimiento de fluidos en el lumen intestinal, lo cual provoca pérdida de líquidos y deshidratación asociada con la diarrea secretora. Por lo

tanto, las formulaciones farmacéuticamente aceptables y los métodos de la invención son útiles en las aplicaciones profilácticas y terapéuticas para el tratamiento de la diarrea acuosa/secretora de diversas causas, especialmente
5 para prevenir los síntomas de deshidratación y la pérdida de electrolitos que acompañan la diarrea, por ejemplo, la diarrea acuosa/secretora.

En una modalidad, los animales de compañía jóvenes y adultos
10 pueden tratarse de forma profiláctica con una composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, tal como SB 300 o SP 303, en forma entérica o no entérica, para prevenir o reducir el riesgo o gravedad de los efectos debilitantes de la diarrea acuosa y sus síntomas asociados, por ejemplo, la
15 deshidratación y la pérdida de peso. De acuerdo con el método de tratamiento, se administra una composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* a animales de compañía jóvenes y adultos, en un momento adecuado, para proteger a los animales contra brotes de diarrea provocados típicamente
20 por infección, enfermedad y/o condiciones ambientales adversas. Además, de acuerdo con el método de tratamiento, una composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, por ejemplo, una forma de dosificación oral sólida, que incluye una forma masticable, se administra a animales de

compañía jóvenes y adultos de forma profiláctica, en un momento adecuado antes de recibir un tratamiento para el cáncer, por ejemplo, quimioterapia, para proteger a los animales contra los brotes de diarrea que se asocian típicamente con dicho tratamiento para el cáncer o son una consecuencia de este. Administrar una composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* a animales de compañía puede servir para aliviar o reducir el riesgo de que los animales sufran de una forma de diarrea más grave o severa con respecto a los animales a los que no se les proporciona la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* antes o durante un brote de enfermedad o infección o antes de sucumbir ante la CID. En las modalidades, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* puede proporcionarse como una formulación entérica o no entérica y puede ser, por ejemplo, SB 300 o SP 303.

La dosis y el régimen de administración de la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* se determinan por medio de la habilidad del médico y dependerá de las condiciones ambientales y la salud de los animales a tratar. Los animales pueden tratarse de forma profiláctica con una composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*

de acuerdo con la invención, por ejemplo y de modo no taxativo, durante uno a siete días, uno a seis días, uno a cuatro días, uno a tres días, o uno o dos días antes de la aparición de los síntomas o la enfermedad. El régimen de
5 tratamiento puede implicar uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete o más días, de la administración de la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* a los animales, modificado o ajustado según sea necesario o deseado, una o múltiples veces, por ejemplo, dos veces, tres
10 o cuatro veces por día. Los animales pueden observarse y monitorearse de forma regular para determinar sus mejoras de salud y el aumento de peso.

Formulaciones farmacéutica y fisiológicamente aceptables

15

La composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* puede proporcionarse en cualquier forma fisiológica, farmacéutica o terapéuticamente aceptable. La composición farmacéuticamente aceptable puede formularse para su
20 administración oral como, de forma ilustrativa, pero de modo no taxativo, polvos; cristales; gránulos; partículas pequeñas, que incluyen partículas con un tamaño en el orden de los micrómetros, por ejemplo, microesferas y microcápsulas; partículas con un tamaño en el orden de los

mililitros, partículas con un tamaño en el orden de los nanómetros, por ejemplo, nanopartículas; perlas; microesferas; granulados; píldoras; comprimidos; microcomprimidos; comprimidos compactados o triturados de
5 comprimidos; comprimidos moldeados o triturados de comprimidos; y en cápsulas, que son blandas o duras y contienen la composición como un polvo, partícula, perla, solución o suspensión. Como se indicó anteriormente, dichos comprimidos, píldoras, cápsulas, formas masticables blandas y
10 similares pueden contener un aditivo con sabor para la palatabilidad y/o facilidad en la administración oral al animal que lo necesita. La composición farmacéuticamente aceptable puede formularse también para la administración oral como una solución o suspensión en un líquido acuoso,
15 como un líquido incorporado en una cápsula de gel, como un gel, como una pasta o pasta en gel, como una composición, formulación o producto masticable o como cualquier otra formulación conveniente para su administración. La composición puede ser una forma masticable blanda que está
20 saborizada. La composición puede formularse para la administración rectal, como un supositorio, enema u otra forma conveniente. La composición polimérica de proantocianidinas puede proporcionarse también como un sistema de liberación controlada (véase, p. ej., Langer,

1990, Science 249: 1527-1533). La composición puede formularse como un suplemento nutricional o suplemento alimenticio, por ejemplo, como se describe en WO 00/47062, para la administración a un animal que lo necesita, de
5 acuerdo con la presente invención.

La formulación farmacéuticamente aceptable puede incluir también cualquier tipo de excipientes, aditivos, portadores o vehículos farmacéuticamente aceptables. Como lo entenderá un
10 experto en la técnica, dichos ingredientes, excipientes, aditivos, portadores o vehículos farmacéuticamente aceptables pueden combinarse para producir una forma o forma de dosificación administrable mencionada anteriormente. A modo de ejemplo no taxativo, se pueden agregar diluyentes o
15 rellenos, tales como dextratos, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, lactosa, celulosa, caolín, manitol, cloruro de sodio, almidón seco, sorbitol, sacarosa, inositol, azúcar en polvo, bentonita, celulosa microcristalina o hidroxipropilmetilcelulosa a la composición de polímeros de
20 proantocianidinas para aumentar el volumen de la composición. Asimismo, se pueden agregar aglutinantes, tales como, de modo no taxativo, almidón, gelatina, sacarosa, glucosa, dextrosa, melazas, lactosa, goma arábiga, alginato de sodio, extracto de musgo irlandés, goma panwar, mucílago de cáscaras de

isabgol, carboximetilcelulosa, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, Veegum y arabogalactano de almidón, polietilenglicol, etilcelulosa, y ceras a la formulación para aumentar sus características cohesivas. Además, se pueden

5 agregar lubricantes, tales como, de modo no taxativo, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, aceites vegetales hidrogenados, polietilenglicol, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, leucina, carbowax, laurilsulfato de sodio y laurilsulfato de magnesio a la

10 formulación. Se pueden agregar también deslizantes, tales como, de modo no taxativo, dióxido de silicio coloidal o talco para mejorar las propiedades de flujo de una formulación en polvo. Asimismo, se pueden agregar desintegrantes, tales como, de modo no taxativo, almidones,

15 arcillas, celulosas, ácidos algínicos, gomas, polímeros reticulados (por ejemplo, croscarmelosa, crospovidona y glicolato de almidón sódico), Veegum, metilcelulosa, agar, bentonita, celulosa y productos madereros, esponja natural, resinas de intercambio catiónico, ácido algínico, goma guar,

20 pulpa de cítrico, carboximetilcelulosa o laurilsulfato de sodio con almidón para facilitar la desintegración de la formulación en el intestino.

En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticamente aceptables contienen la composición de polímeros de proantocianidinas con un recubrimiento entérico, además de otro vehículo farmacéuticamente aceptable. En una modalidad, 5 la composición de polímeros de proantocianidinas puede comprimirse directamente en un comprimido o píldora. El comprimido o píldora puede no tener excipientes y ser de una dureza y friabilidad farmacéuticamente aceptable, opcionalmente, con un lubricante, por ejemplo, de modo no 10 taxativo, estearato de magnesio y recubierto entérico. En otra modalidad, las composiciones farmacéuticamente aceptables que contienen la composición de polímeros de proantocianidinas incluyen, de manera alternativa, una o más sustancias que neutralizan el ácido gástrico y/o las enzimas 15 o intentan prevenir la secreción de ácido gástrico. Estas formulaciones pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica (véase, por ej., los métodos descritos en Remington's "The Science and Practice of Pharmacy," 22.a edición, jefe de redacción: Lloyd V. Allen, Jr., 20 Pharmaceutically acceptable Press, Royal Pharmaceutically acceptable Society, Londres, Reino Unido, 2013; y la patente estadounidense n.º 7,323,195).

En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas se formula con una sustancia que protege el polímero de proantocianidinas y/o la composición de polímeros del ambiente del estómago. Para tal protección, la

5 composición de polímeros de proantocianidinas puede tener recubrimiento entérico. Los recubrimientos entéricos incluyen aquellos recubrimientos que permanecen intactos en el estómago, pero disolverán y liberarán el contenido de la forma de dosificación una vez que llega al intestino delgado.

10 Se prepara una gran cantidad de recubrimientos entéricos con ingredientes que tienen grupos ácidos tales como, en el pH muy bajo en el estómago, es decir, pH 1.5 a 2.5, tales grupos ácidos no están ionizados y el recubrimiento permanece en forma insoluble y no desintegrada. En niveles de pH más

15 altos, tal como en el ambiente del intestino, el recubrimiento entérico se convierte en una forma ionizada que puede disolverse para liberar la composición de polímeros de proantocianidinas. Otros recubrimientos entéricos permanecen intactos hasta que son degradados por medio de enzimas en el

20 intestino delgado y otros se rompen luego de una exposición definida a la humedad, de manera que los recubrimientos permanecen intactos hasta que pasan a los intestinos delgados. Una variedad de polímeros es útil para la preparación de recubrimientos entéricos y la aplicación de un

recubrimiento entérico a la composición de polímeros de proantocianidinas puede lograrse mediante cualquier método conocido en la técnica para aplicar recubrimientos entéricos, como se puede encontrar, por ejemplo, y de modo no taxativo, en las patentes estadounidenses n.º 7,323,195 y 7,341,744, que se incorporan a la presente mediante esta referencia.

En otra modalidad, la composición farmacéuticamente aceptable de la composición de polímeros de proantocianidinas se formula como gránulos con recubrimiento entérico o polvo (microesferas con un diámetro de 300-500 micrones) que se proporcionan en cápsulas de gelatina de cubierta dura o se suspenden en una solución oral para la administración pediátrica. El polvo o gránulos de la composición de polímeros de proantocianidinas con recubrimiento entérico pueden mezclarse también con alimentos o bebidas, particularmente para su administración a animales jóvenes o particularmente enfermos. Dichas preparaciones se pueden preparar utilizando técnicas conocidas en la técnica. Además, los gránulos y el polvo de la composición de polímeros de proantocianidinas pueden prepararse usando cualquier método conocido en la técnica, tal como, de modo no taxativo, cristalización, secado por pulverización o cualquier método de molienda, preferentemente mediante el uso de

mezclador/granuladora de alta velocidad, como se describe, por ejemplo y de modo no taxativo, en la patente estadounidense n.º 7,323,195, que se incorpora a la presente mediante esta referencia.

5

En otras modalidades, la composición de polímeros de proantocianidinas se encuentra en forma de una suspensión acuosa que se mezcla con excipientes adecuados. Los ejemplos de excipientes no taxativos que son adecuados para la
10 fabricación de la suspensión acuosa incluyen, agentes de suspensión, por ejemplo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia; agentes dispersantes o humectantes, que pueden ser fosfátidos de
15 origen natural, por ejemplo, lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetileneoxicetanol, o
20 productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol, por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por

ejemplo, monooleato de polietileno sorbitán. Las suspensiones acuosas pueden contener también uno o más conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de n-propilo o etilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes y uno o
5 más agentes edulcorantes, por ejemplo, sacarosa, sacarina o aspartamo.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de
10 agua proporcionan la composición de polímeros de proantocianidinas mezclada con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se ejemplifican a través de aquellos que
15 se describieron anteriormente. Los excipientes adicionales, por ejemplo, agentes colorantes, saborizantes y edulcorantes pueden estar presentes también en los polvos, gránulos y la suspensión acuosa final de fácil dispersión.

20

En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas es un gel o formulación en gel. En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas es una formulación de pasta. En una modalidad, la formulación

de pasta contiene un extracto botánico purificado que proviene del *C. lechleri*. En otra modalidad, la formulación de pasta contiene perlas con recubrimiento entérico que comprenden SB 300 o SP 303. En una modalidad, la formulación de pasta contiene perlas de SB 300 protegidas entéricas. En una modalidad, el gel o pasta se incluye o carga previamente en un dispositivo dosificador, tal como una jeringa, por ejemplo, una jeringa sin aguja u otro tipo de aplicador o sistema de administración, especialmente para la administración oral. Una formulación de gel o pasta es particularmente adecuada para su administración a animales jóvenes, pero también es aplicable a animales adultos, especialmente aquellos que están muy enfermos. En una modalidad, el gel o pasta no está incluido en un dispositivo dosificador, pero se administra al paladar del animal, particularmente uno que está demasiado incapacitado o enfermo para comer y beber, evitando así una administración oral u otro modo de administración. En una modalidad, el gel comprende partículas poliméricas sensibles al pH, tales como micropartículas o nanopartículas para permitir la absorción dependiente de pH del compuesto activo en las células y/o la liberación dependiente de pH del compuesto activo en diferentes entornos de pH en un animal. Los procesos para generar gránulos y partículas que comprenden la composición

de polímeros de proantocianidinas o una forma comprimible de esta son como se conoce y se lleva a la práctica en la técnica y como se proporciona, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 7,341,744, cuyo contenido se incorpora
5 mediante esta referencia. En una modalidad, los geles se preparan para la administración oral y contienen copolímeros, tales como, poloxámeros y plurónicos de distintos tipos, por ejemplo, Plurónico F.

10 En otras modalidades, la composición de polímeros de proantocianidinas se encuentra en una formulación de pasta, preferentemente para la administración oral, o en forma de dosificación sólida, tal como una forma de dosificación sólida masticable que es blanda, preferentemente para la
15 administración oral. A modo de ejemplo, una pasta oral puede comprender, de modo no taxativo, un vehículo o excipiente oleoso, tal como un vehículo oleoso hidrofóbico, un agente de basificación, un agente saborizante y un agente colorante. Los ejemplos ilustrativos y no taxativos de vehículos oleosos
20 hidrofóbicos incluyen aceite vegetal, triglicérido o polipropilenglicol, así como también un agente espesante, por ejemplo, estearato de aluminio. Los agentes saborizantes pueden incluir, por ejemplo, sabor a fruta, sabor a menta, sabor a miel, sabor a carne de vaca, sabor a pollo, sabor a

pescado, saber a vegetales y otros saborizantes orgánicos y naturales que los expertos en la técnica conocen. Los agentes colorantes pueden incluir, por ejemplo, óxido de hierro o dióxido de titanio. De manera alternativa, el vehículo oleoso
5 puede ser parafina líquida u otras ceras adecuadas, que incluyen un agente espesante. En una modalidad, la pasta o formulación sólida contiene perlas con SB 300 o SP 303 recubierto de forma entérica, que se administra a un animal de compañía, tal como, por ejemplo, un perro o un gato, en
10 una dosis de 2 mg/kg o en una dosis de 4 mg/kg. Más particularmente, una pasta o formulación sólida que contiene micropartículas o perlas de SB 300 o SP 303 con recubrimiento entérico se administra al animal en una dosis de 2 mg/kg, dos veces por día, durante uno, dos, tres o más días. En una
15 modalidad, la pasta o forma sólida que contiene micropartículas de SB 303 con recubrimiento entérico se administra dos veces por día a un animal de compañía que la necesita. En una modalidad, una cantidad eficaz del polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* como ingrediente activo
20 se formula en una forma masticable, tal como un comprimido, píldora o cápsula que se administra de forma oral y se saboriza para que resulte agradable para un animal de compañía. En una modalidad, las micropartículas de SP 303 con recubrimiento entérico se formulan en una composición o

producto saborizado, masticable y blando para su administración oral al animal, por ejemplo, un perro.

En otra modalidad, las suspensiones oleosas pueden formularse suspendiendo el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* como ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como la parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Las preparaciones orales pueden incluir agentes saborizantes como se mencionó anteriormente y agentes saborizantes para mejorar la palatabilidad. Pueden agregarse también a dichas composiciones conservantes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, un antioxidante tal como el ácido ascórbico.

Las composiciones farmacéuticas del polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* utilizadas en los métodos de la invención pueden encontrarse también en forma de una emulsión de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, tal como la parafina líquida o mezclas de estos aceites. Los ejemplos de agentes

emulsionantes incluyen, de modo no taxativo, fosfátidos de origen natural, por ejemplo, semillas de soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán y
5 productos de condensación de ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán. Pueden incluirse agentes saborizantes, colorantes y edulcorantes en las emulsiones.

10 Los jarabes y elixires que contienen el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* pueden formularse también con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones pueden contener también un emoliente, un conservante y
15 agentes saborizantes y colorantes. Las composiciones farmacéuticas pueden encontrarse en forma de una suspensión oleaginosa o acuosa inyectable o administrable de forma oral, estéril. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica utilizando agentes
20 humectantes o dispersantes y agentes de suspensión, tales como aquellos que se mencionaron anteriormente. La preparación farmacéutica estéril también puede ser una solución o suspensión estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una

solución en 1,3-butanodiol. Los vehículos y solventes aceptables e ilustrativos que se pueden utilizar en las preparaciones incluyen agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Se pueden incluir también
5 cosolventes, por ejemplo, etanol, propilenglicol o polietilenglicoles. Además, se pueden utilizar aceites fijos, estériles, por ejemplo, cualquier aceite fijo y blando tal como mono o diglicéridos, empleados convencionalmente como solventes o medios de suspensión. Asimismo, se pueden
10 utilizar ácidos grasos, tales como el ácido oleico y similares en preparaciones inyectables.

Formas de dosificación y administración

15 En una modalidad, para tratar la diarrea acuosa, que incluye la CID, en animales de compañía, por ejemplo, de modo no taxativo, perros y gatos, la composición de polímeros de proantocianidinas se encuentra en polvo, por ejemplo, forma de polvo que puede reconstituirse. En otra modalidad, para
20 tratar la diarrea acuosa, que incluye la CID, en animales de compañía, por ejemplo, de modo no taxativo, perros y gatos, la composición de polímeros de proantocianidinas se encuentra en forma de dosificación sólida, por ejemplo, una forma masticable sólida. La composición puede tener recubrimiento

entérico o no tener recubrimiento entérico. La forma en polvo de la composición de polímeros de proantocianidinas utilizada para el tratamiento se reconstituye o mezcla con líquido, tal como electrolitos orales, leche o un sustituto de la leche, 5 agua, solución salina fisiológica para producir una forma o suspensión líquida. El sustituto de la leche es generalmente una fuente de proteína de distintos orígenes (por ejemplo, leche de una especie distinta, soja o huevos) y energía (lactosa o grasa) proporcionada a animales jóvenes para 10 sustituir la leche de la madre. La forma de dosificación sólida masticable puede saborizarse, por ejemplo, con sabor a carne de vaca, pollo o pescado, para la óptima palatabilidad del animal que se está tratando.

15 En una modalidad, la forma en polvo de la composición de polímeros de proantocianidinas se proporciona en forma de dosificaciones individuales en paquetes, por ejemplo, formas de dosificación empaquetadas, en la que algunos paquetes individuales se proporcionan para uso en un régimen de 20 tratamiento. En determinadas modalidades, la forma de dosificación empaquetada total contiene de 0.5 mg a 1000 mg de la composición de polímeros de proantocianidinas. En otras modalidades, la dosificación empaquetada total contiene de 1 mg a 100 mg, 5 mg a 500 mg, 10 mg a 50 mg, 50 mg a 200 mg,

100 a 300 mg, 100 a 250 mg, o 250 mg de la composición de polímeros de proantocianidinas. La cantidad de dosis individuales que se pueden empaquetar y se proporcionan de forma conjunta no pretende ser taxativa y puede incluir, por ejemplo, una a veinte dosis empaquetadas, una a diez dosis empaquetadas; dos, cuatro, seis, ocho, diez, doce o más dosis empaquetadas, así como también cantidades de dosis empaquetadas intermedias con respecto a las anteriores, para la eficacia de uso, el manejo y para la eficacia comercial.

10 Los expertos en la técnica observarán que debido a la mayor pureza de las composiciones tales como el SP-303 o crofelemer y el SB-300, será necesario usar más en peso de SB-300 que SP-303 en formulaciones para lograr la misma cantidad del ingrediente activo de la composición de polímeros de proantocianidinas. El SB-300, por lo general, tiene

15 aproximadamente 67 % en peso de la composición de polímeros de proantocianidinas mientras que el SP-303 tiene mayor pureza, por ejemplo, 99-100 %.

20 En una modalidad, la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* se administra o suministra a un animal de compañía joven o adulto afectado con diarrea y que la necesita proporcionando el compuesto en forma de dosificación sólida masticable. En una modalidad, la

composición de polímeros de proantocianidinas formulada como bolo, es decir, una píldora, cápsula, comprimido o forma sólida masticable se administra de forma oral a los animales afectados con diarrea o síntomas de esta directamente en la boca. En algunas modalidades, el régimen de tratamiento comprende administrar una dosis de 0.05 mg/kg a 100 mg/kg; o una dosis de 0.1 mg/kg a 100 mg/kg, o una dosis de 0.1 mg/kg a 10 mg/kg; o una dosis de 0.5 mg/kg a 50 mg/kg; o una dosis de 0.5 mg/kg a 25 mg/kg; o una dosis de 1 mg/kg a 25 mg/kg; o una dosis de 2 mg/kg a 10 mg/kg, o una dosis de 1 mg/kg a 5 mg/kg; así como también aumentos de dosis entremedio, de un producto de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* teniendo en cuenta el peso del animal de compañía. En una modalidad particular, el régimen de tratamiento comprende administrar una dosis de 2 mg/kg o 4 mg/kg del producto, por ejemplo, como se adopta por medio de una dosis por animal que lo necesita durante un período de tiempo determinado, por ejemplo, una, dos o tres veces por día, durante uno, dos, tres o más días. El producto puede proporcionarse a los animales en una formulación recubierta entérica o recubierta no entérica. El producto puede proporcionarse a un animal que lo necesita en partes de la dosis completa, en la que las partes se administran uno o más veces por día. De manera alternativa, la dosis completa puede administrarse a un

animal que lo necesita, una o dos o más veces por día. En una modalidad particular, el tratamiento abarca una dosis total de 40 mg proporcionada dos veces por día (20 mg/dosis) a un animal que pesa aproximadamente 20 kg. Para animales más grandes, aquellos que pesan más de 20 kg, preferentemente menos de 40 kg, la dosificación es de 80 mg y se suministra dos veces por día. En una modalidad, el producto dosificado es la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, SP 303, en forma entérica o no entérica, por ejemplo, una forma en polvo reconstituida o una forma de dosificación sólida, que incluye una forma sólida masticable, opcionalmente saborizada de acuerdo con la/s preferencia/s de gusto particular del animal que se va a tratar, en una dosis de aproximadamente 2 mg/kg o en una dosis de aproximadamente 4 mg/kg. En una modalidad, el producto dosificado es la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, SB 300 o SP 303, en una forma entérica. En una modalidad, el producto dosificado es la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, SB 300 o SP 303, en una forma no entérica.

Las vías de administración del producto de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* a los animales afectados no

pretenden ser taxativas. De manera ilustrativa, la administración puede ser mediante cualquier vía de administración preferida, conveniente o adecuada, que incluye, oral, bucal, dental, periodontal, mediante fuente de alimentos (alimentación animal), fuente de nutrición, o fuente de libación, ótica, inhalación, endocervical, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intracranial, intralinfática, intraocular, intraperitoneal, intrapleural, intratecal, intratraqueal, intrauterina, intravascular, intravenosa, intravesical, intranasal, oftálmica, perfusión biliar, perfusión cardíaca, espinal, sublingual, tópica, transdérmica, intravaginal, rectal, ureteral o uretral. En determinadas modalidades, la vía oral, bucal y la bebida y/o alimento de suplemento son vías particularmente adecuadas. En una modalidad, el producto es una formulación acuosa y se proporciona al animal como una solución oral o directamente desde una botella pronta para usar (RTU, por sus siglas en inglés) dirigida a la cavidad esofágica con el fin de alcanzar más eficazmente el intestino/tubo digestivo para una actividad óptima. En una modalidad relacionada, la administración puede ser también mediante la inclusión en la dieta regular o especial del animal, tal como en una comida funcional para los animales o los animales de compañía. En una modalidad particular, el producto es una forma sólida

masticable y saborizada, tal como un comprimido, píldora, cápsula, gránulo u otra forma administrable de forma oral, sólida y adecuada.

- 5 Las formas de dosificación pueden incluir, de modo no taxativo, oral, inyectable, transdérmica, aerosol, que incluye aerosol medido, productos masticables o gránulos, cápsulas, cápsula que contiene partículas recubiertas, nanopartículas o gránulos, cápsula que contiene partículas de
- 10 liberación retardada, cápsula que contiene partículas de liberación prolongada, concentrados, cremas y cremas reforzadas, cremas en supositorios, discos, aderezos, elíxires, emulsiones, enemas, películas o fibras de liberación prolongada, gases, geles, geles medidos, gránulos,
- 15 gránulos de liberación retardada, gránulos efervescentes, implantes, inhalantes, complejos de lípidos inyectables, liposomas inyectables, inserciones o dispositivos, inserciones de liberación prolongada, dispositivos intrauterinos, jaleas, líquidos, líquidos de liberación
- 20 prolongada, lociones, lociones reforzadas, aceites, ungüentos, ungüentos reforzados, pastas, pastillas, pellas, polvos, polvos reconstituidos, polvos de liberación prolongada, polvos medidos, soluciones, gotas, soluciones concentradas, soluciones/gotas de formación de gel, esponjas,

aerosoles, aerosoles medidos, supositorios, suspensiones, suspensiones/gotas, suspensiones de liberación prolongada, jarabes, comprimidos/píldoras, comprimidos/píldoras masticables, comprimidos/píldoras que contienen partículas recubiertas (nano o micropartículas), comprimidos/píldoras de liberación retardada, comprimidos/píldoras de dispersión, comprimidos/píldoras efervescentes, comprimidos/píldoras de liberación prolongada, comprimidos/píldoras que se desintegran de forma oral, cintas, pastillas/grageas u otras formas. Las dosificaciones pueden proporcionarse como formulaciones de suspensión, sólidas o líquidas, composiciones, formulaciones y composiciones farmacéuticamente aceptables, formulaciones y composiciones fisiológicamente aceptables y pueden incluir portadores, excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica y fisiológicamente aceptables como se conoce y utiliza en la técnica.

Para la administración oral, el producto de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* o una composición de este, se encapsula y formula preferentemente con portadores adecuados y similares, en formas de dosificación sólidas. Los ejemplos no taxativos de portadores, excipientes, diluyentes

y vehículos adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábica, fosfato de calcio, alginatos, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, gelatina, jarabe, metilcelulosa, metil y propilhidroxibenzoatos, talco, magnesio, estearato, agua, aceite mineral, aceites comestibles y similares. Las formulaciones pueden incluir también agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes de suspensión y emulsionantes, agentes conservantes, agentes edulcorantes y/o agentes saborizantes. Las composiciones se pueden formular para que proporcionen una liberación rápida, sostenida o retrasada del ingrediente activo después de la administración al animal mediante el uso de protocolos y métodos muy conocidos en la técnica. Las formulaciones pueden incluir también compuestos o sustancias que reducen la degradación proteolítica y promueven la absorción tal como, por ejemplo, agentes activos de superficie.

Como observarán los expertos en la técnica, la dosis específica puede calcularse de acuerdo con el peso corporal, la masa corporal o la superficie corporal aproximada del animal, o el volumen de espacio o masa corporal que ocupará. La dosis depende también de la vía de administración

particular seleccionada por el médico. Los expertos en la técnica realizan de forma habitual un ajuste adicional de los cálculos necesarios para determinar una dosificación adecuada para el tratamiento, por ejemplo, mediante el uso de ensayos y procedimientos analíticos adecuados, tales como los que se han descrito para determinados compuestos (por ejemplo, Howitz et ál., Nature, 425:191-196, 2003). Las dosificaciones exactas se pueden determinar de acuerdo con estudios de dosis-respuesta estándares. Las dosis terapéuticamente eficaces para el tratamiento de animales afectados pueden determinarse, valorando la cantidad de producto activo proporcionado al animal para llegar al efecto terapéutico deseado, mientras que se mantienen los efectos secundarios.

Para uso en el tratamiento de la diarrea acuosa o la CID y los síntomas de estas en animales de compañía jóvenes y adultos de acuerdo con los métodos de la invención, se administra una forma terapéuticamente aceptable de la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, particularmente se administra de forma oral, en una cantidad que varía entre 0.1 y 100 mg/kg por día, una vez por día, dos veces o más diariamente. En otras modalidades, la cantidad puede variar entre aproximadamente 0.1 y aproximadamente 25 mg/kg/día, una vez, dos veces o más

diariamente; o entre aproximadamente 0.1 y aproximadamente 10 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente; o entre aproximadamente 0.1 y aproximadamente 5 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente; o entre aproximadamente 0.1 y aproximadamente 0.5 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente; o entre aproximadamente 0.5 y aproximadamente 25 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente. En otras modalidades, la dosis puede ser 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, etc., así como también cantidades de dosis graduales entremedio. En incluso otras modalidades, la cantidad puede variar entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente; o entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente, o entre aproximadamente 1 y aproximadamente 4 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente; o entre aproximadamente 0.1 y aproximadamente 4 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente, o entre aproximadamente 2 mg/kg/día y aproximadamente 4 mg/kg/día, una vez, dos veces o más diariamente. En otras modalidades, las cantidades anteriores de la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* se administran, por ejemplo, dos veces por día, tres veces por día, cuatro veces

por día o más de cuatro veces por día, en vez de una vez por día.

En otras modalidades, para los métodos de tratamiento, una
5 dosis adecuada para el producto de polímeros de
proantocianidinas del *C. lechleri*, o la composición de
polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* tal como SP
303 o SB 300, puede variar entre aproximadamente 0.01 mg y
aproximadamente 1000 mg, ya sea diariamente o múltiples veces
10 al día. En una modalidad, una dosis adecuada puede variar
entre aproximadamente 0.1 mg y aproximadamente 100 mg o entre
1 mg y aproximadamente 10 mg, ya sea diariamente o múltiples
veces al día. En una modalidad, una dosis adecuada puede
variar entre aproximadamente 10 mg y aproximadamente 350 mg,
15 ya sea diariamente o múltiples veces al día. En una
modalidad, una dosis adecuada puede oscilar entre
aproximadamente 20 mg y aproximadamente 400 mg, ya sea
diariamente o múltiples veces al día. En una modalidad, una
dosis adecuada puede oscilar entre aproximadamente 50 mg y
20 aproximadamente 100 mg, ya sea diariamente o múltiples veces
al día; entre aproximadamente 100 mg y aproximadamente 250
mg, ya sea diariamente o múltiples veces al día. En una
modalidad, una dosis adecuada puede oscilar entre
aproximadamente 40 mg y aproximadamente 300 mg, ya sea

diariamente o múltiples veces al día. Se entenderá que los rangos incluyen las cantidades más bajas y más elevadas específicas, así como también las cantidades entremedio. Las dosis administradas múltiples veces al día pueden

5 proporcionarse durante días consecutivos, por ejemplo, dos días, tres días, cuatro días, cinco días, seis días, siete días o más, en algunas modalidades. Una dosis administrada múltiples veces al día puede abarcar dos, tres, cuatro, cinco, seis o más veces al día. La invención incluye otros

10 programas de dosificación, tales como cada dos días, o cada tres día, cada cuatro día, etc. Además, un experto en la técnica observará que las dosis y cantidades administradas al animal pueden variar y pueden ser inferiores o superiores a los rangos y cantidades representativos que se mencionaron

15 anteriormente, dado el amplio rango de pesos de los animales de compañía que se someten al tratamiento, así como también las diferencias entre las especies de animales. En una modalidad, el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* es SB 300 o SP 303. En una modalidad, el polímero de

20 proantocianidinas del *C. lechleri* es SB 300 o SP 303 con recubrimiento entérico. En una modalidad, el polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* es SB 300 o SP 303 con recubrimiento no entérico.

En algunas modalidades, las dosis diarias, que incluyen múltiples dosis diarias, por ejemplo, dos veces o tres veces al día del producto de polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* pueden ser 0.1 mg, 0.5 mg, 1 mg, 2 mg, 4 mg, 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 40 mg, 50 mg, 80 mg, 100 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 500 mg (o entremedio) por animal. Las aproximaciones cercanas de estas dosis se encuentran incluidas también en los métodos. Los programas de administración se pueden modificar también para lograr una concentración terapéuticamente eficaz del polímero de proantocianidinas del *C. lechleri* para tratar la diarrea y sus síntomas como se describe en la presente. A modo de ejemplo específico e incluso no taxativo, una cantidad de dosificación adecuada para uso en los métodos de acuerdo con la invención es 2 mg/kg administrada dos veces por día o 4 mg/kg/dosis administrada dos veces por día. En algunas modalidades, el compuesto puede administrarse una vez por día, dos veces por día, tres veces por día, 4 veces por día, 5 veces por día, 7 veces por día o 10 veces por día. A menudo la dosificación se divide en partes iguales administradas a lo largo del día, sin embargo, en algunas modalidades, relacionadas con tratar síntomas más graves o arraigados, puede resultar útil diseñar el programa de administración de

dosis de manera que la mayor parte del tratamiento diario sea administrada en un momento determinado del día, por ejemplo, la primera parte del día. A modo de ejemplo, se puede administrar una primera dosis al animal y luego se puede
5 administrar una segunda dosis (o posterior) luego de una cantidad predeterminada de horas, por ejemplo, luego de 1 a 3 horas, 1 a 6 horas, 1 a 12 horas o entremedio de estas. En algunas modalidades, aproximadamente el 50 % 60 %, 70 % o 80 % de la dosificación se administra en la primera mitad del
10 día. En otras modalidades, puede ser más apropiado administrar la mayor parte de la dosificación en la mitad final del día de manera que aproximadamente 50 %, 60 %, 70 % o 80 % de la dosificación se administra en la mitad final del día.

15

Se comprenderá que el médico puede determinar la cantidad de dosificación administrada a la luz de las circunstancias pertinentes, que incluyen la gravedad de la enfermedad, afección o síntomas de esta que se están tratando, la forma
20 del producto que será administrado, la edad, el peso, y la respuesta del animal individual que recibe el tratamiento, así como también la vía de administración elegida.

Los métodos de la invención abarcan además la administración de formulaciones farmacéuticamente aceptables de la composición de polímeros de proantocianidinas ya sea solas o en combinación con otros suplementos o agentes para el

5 tratamiento o la mejora de los síntomas de la diarrea secretora, tales como los agentes de rehidratación, electrolitos (por ejemplo, sodio, potasio, magnesio, cloruro y formulaciones de estos), antibióticos, protectores del revestimiento interno del intestino, tales como, la caolín,

10 la pectina o el líquido de bismuto y absorbentes fluidos, tales como la atapulgita. Otros agentes pueden incluir agentes antimotilidad. Se pueden emplear otros productos biológicos naturales, por ejemplo, *Lactobacillus* o

Streptococcus faecium, o probióticos, como aditivos para

15 restaurar el equilibrio natural de la flora intestinal en animales de compañía jóvenes o adultos afectados.

20

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Evaluación de la administración oral de una composición de polímeros de proantocianidinas del *Croton lechleri*, crofelemer (SP 303), en perros.

Se describe en este Ejemplo un estudio multicéntrico de demostración conceptual de perros que padecen diarrea acuosa aguda. El estudio se realiza en clínicas veterinarias para proporcionar un ambiente controlado. El estudio es un formato doble ciego, aleatorizado en bloques para comparar cinco grupos de tratamiento distintos de acuerdo con la causa de la diarrea, con cada uno de cinco grupos con placebo relacionados, así como también un análisis global. El estudio implica la inscripción de perros que presentan diarrea acuosa aguda general durante menos de tres días. Se realiza un examen clínico exhaustivo de cada perro para determinar si la causa de la diarrea es la quimioterapia, infección bacteriana, pancreatitis, dieta no adecuada o infección por *Giardia*. Cada una de estas cinco causas se considera un subgrupo y los perros con cualquier otra causa de diarrea quedan excluidos del estudio.

20

Los perros participantes son hospitalizados en una clínica durante cuatro días y se tratan de acuerdo con su

clasificación de peso con 2-4 mg/kg de microgránulos con recubrimiento entérico que comprenden la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* (crofelemer); (rango de dosificación de acuerdo con la variabilidad en el tamaño y peso de la especie canina) o un placebo con recubrimiento entérico, dos veces al día durante tres días. Además, todos los perros participantes se tratan de acuerdo con el «tratamiento estándar» (SOC, por sus siglas en inglés) para la diarrea que incluye fluidos orales e intravenosos para la rehidratación y medicaciones específicas para la enfermedad tales como el fenbendazol para la infección por *Giardia*, el control del dolor para la pancreatitis y un antiemético para los vómitos (citrato de maropitant). Los criterios de valoración que se evalúan son la consistencia de las heces, una puntuación gastrointestinal general, la duración de la diarrea, la frecuencia de la defecación, el apetito, la actitud y la temperatura corporal. Los perros son examinados dos veces al día durante cuatro días y son evaluados usando dos sistemas de puntuación validados: los sistemas de puntuación fecal de Nestle Purina y Waltham. Las muestras de las heces se toman una vez al día para establecer o confirmar la causa de la diarrea y medir el contenido de materia seca de las heces. Se estudian también los análisis de química sanguínea. El diseño contempla la evaluación de

datos por subgrupo, y en su totalidad, a lo largo de un rango de criterios de valoración clínicos pertinentes. Como resultado, el estudio puede permitir la confirmación de los beneficios clínicos para todos o algunos de estos subgrupos
5 de diarrea acuosa aguda y general.

Para el estudio de demostración conceptual, se proporciona SP 303 en los paquetes del artículo de prueba. Cada paquete de artículo de prueba se etiqueta con el número de animal de
10 prueba y la secuencia de doce paquetes asignados por animal registrado en el estudio de prueba, es decir, Perro 1, Paquete 1 de 12, etc. Cada perro recibe doce paquetes durante el curso del estudio, dado que cada perro del estudio recibe seis tratamientos totales. Cada paquete contiene 250 mg del
15 artículo de prueba (SP 303) y es suficiente para tratar un perro de 20 kg durante un tratamiento. Por lo tanto, se requiere un total de dos paquetes por tratamiento para tratar un perro que pesa hasta 40 kg. La dosis para el tratamiento es de 2 mg/kg, dos veces al día, durante seis tratamientos
20 (tres días). Cada paquete de 250 mg del artículo de prueba contiene 40 mg de ingrediente activo o placebo y se reconstituye en una suspensión agregando 10 mL de agua de grifo para producir una suspensión de 4 mg/mL del ingrediente activo. Por lo tanto, para que un perro de 20 kg reciba la

dosis de prueba (20 kg x 2 mg/kg x 4 mg/mL), al perro se le da una dosis de 10 ml de la suspensión.

Ejemplo 2

5

Evaluación de la eficacia clínica de la administración oral de una composición de polímeros de proantocianidinas del *Croton lechleri*, crofelemer (SP 303), para el tratamiento de la diarrea en los perros

10

Este Ejemplo se dirige a un estudio controlado, aleatorizado y ciego realizado por veterinarios que usan animales caninos obtenidos a través de organizaciones de rescate, refugios y dueños que son clientes para evaluar la eficacia clínica de la administración oral de un producto de la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*, a saber, crofelemer SP 303 para tratar la diarrea. Los investigadores no tienen acceso a la asignación de tratamientos hasta la conclusión del estudio. Se reclutó un mínimo de 60 perros por sitio de ensayo durante un período de 4 meses de distintas clínicas veterinarias de la misma área geográfica. Se les ofrece a las organizaciones de rescate, refugios y dueños un incentivo financiero para que inscriban sus animales en el ensayo. Se da consentimiento para que los animales sean

recluidos en el sitio del estudio durante un período máximo de 6 días. Durante el primer período de reclusión de 24 horas, se evalúa la gravedad de la diarrea a través del examen, observación del veterinario o asistente y el aporte del propietario. Si, al final de las primeras 24 horas de reclusión, se determina que el animal tiene una puntuación fecal inicial de 6 o más, tal animal se inscribe en el ensayo, se selecciona aleatoriamente y recluye durante un período de 5 días, es decir que el tratamiento comienza al inicio de las segundas 24 de reclusión.

Un objetivo del estudio es confirmar la eficacia clínica del SP 303 producto crofelemer administrado de forma oral para aliviar los signos clínicos de la diarrea en los perros. Este estudio proporciona también datos para respaldar los estudios de eficacia fundamental para evaluar el producto crofelemer en el tratamiento de la diarrea inducida por quimioterapia (CID), así como también las indicaciones de diarrea acuosa/diarrea aguda más general en los perros.

20

Se utiliza una aleatorización en bloques con un tamaño de bloque de 6 en el estudio. Los criterios de valoración clínicos primarios que se evalúan incluyen la consistencia fecal y la duración de la diarrea; los criterios de

valoración secundarios incluyen la seguridad, la actitud / actividad de los perros tratados. El consentimiento escrito se obtiene para la inscripción de todos los perros en el estudio. Los perros adecuados para el estudio incluyen machos y hembras de cualquier raza entre 4 meses y 12 años de edad, y que tienen un peso entre 2 kg y 50 kg. Solamente se admiten en el estudio los perros que presentan diarrea y tienen una puntuación fecal de 6 o más (es decir, heces líquidas, acuosas con poca materia particulada). Todos los perros admitidos en el estudio se encuentran al día en cuanto a vacunas contra el parvovirus y son examinados minuciosamente para determinar la inclusión final. Los perros deben haber tenido diarrea durante 3 días o menos para ser elegibles.

15 Criterios de exclusión: No se admiten en el estudio los perros que tienen otras afecciones médicas o que se están tratando debido a otras afecciones médicas, así como también los perros con una puntuación fecal de 4 o menos. Se excluyen los perros con diarrea con sangre y sospecha de parvovirosis.

20 No participan en el estudio los perros que fueron tratados con cualquier medicación prohibida en un período de 7 días desde la firma del consentimiento informado del dueño.

Inclusión final: Solamente se mantienen en el estudio los perros diagnosticados con *Giardia*, infección intestinal bacteriana aguda, CID, pancreatitis y dieta no adecuada y que pueden completar el tratamiento. Cada perro se coloca en uno de los cinco subgrupos. Todos los subgrupos se analizan de forma separada y todos los subgrupos se combinan juntos como un grupo para su análisis por separado. Las medicaciones prohibidas incluyen Metronidazol, Albendazol, Forti Flora, Centrina y Sulfadimetoxina. Se permite el tratamiento con medicación de rescate, de conformidad con el criterio del investigador principal (PI, por sus siglas en inglés).

Artículos de prueba y dosificación: Se suministran dos artículos de prueba a los médicos/PI. Los artículos se empaquetan de forma individual para cada perro en el estudio, es decir que solamente se proporciona un número de código por parte del patrocinador en cada paquete. Un artículo de prueba es SP 303 (crofelemer) en una dosificación de 2 mg/kg. Un segundo artículo de prueba es placebo, por ejemplo, solución salina. La forma de dosificación final son microgránulos de SP 303 con recubrimiento entérico que se administran al perro en una pequeña cantidad de agua: 20 mg del ingrediente activo (SP 303) por 1 mL de agua, directamente en la boca, administrado por un técnico veterinario entrenado. La dosis

del activo se basa en el peso del animal. Cada perro se trata dos veces al día durante tres días - seis dosis totales.

Evaluaciones: El evaluador (veterinario, asistente o técnico)

5 realiza las siguientes evaluaciones: 1) Se determina una puntuación fecal al inicio y en los días de tratamiento 1, 2, 3, 4 y 5 del estudio de acuerdo con el sistema de puntuación de heces que se presenta a continuación:

	Descripción	Puntuación
10	Heces secas y duras	1
	Heces ideales, firmes y bien formadas que no dejan marcas cuando se recogen	2
	Heces bien formadas con superficie levemente húmeda que dejan marcas cuando se recogen, casi pegajosas al tacto	3
15	Húmeda suave que comienza a perder forma	4
	Muy húmeda y suave, amorfa	5
	Líquida viscosa con alguna materia particulada	6
	Heces líquidas, acuosas con poca materia	7
	Diarrea acuosa grave, sin ninguna materia particulada visible	8
20	Diarrea hemorrágica	9

El evaluador puntúa también la actitud/actividad general, el estado de deshidratación y el apetito al inicio en los días

1-5, de acuerdo con los parámetros que se enumeran a continuación:

5	Actitud/actividad	Puntuación
	Normal	0
	Levemente disminuida	1
	Moderadamente disminuida	2
	Gravemente disminuida, el animal no es receptivo	3
10	Hidratación	Puntuación
	Normal	0
	Cambio leve	1
	Cambio moderado	2
	Cambio severo, necesita fluido IV	3
	Apetito	Puntuación
	Normal	0
	Comió la mayoría	1
	Comió poco	2
	No comió	3

Además, el evaluador toma e informa la temperatura corporal de cada perro. Asimismo, se registra la cantidad de episodios de defecación por día mediante la observación del animal respecto a los valores iniciales en todo el período de tratamiento.

Documentación: Para la documentación, se proporcionan documentos originales adecuados al sitio del estudio; los documentos se mantienen en cada archivo médico del animal y se completan a medida que el estudio avanza. El personal del sitio ingresa los datos registrados en los documentos originales al inicio del estudio usando un software de

captura de datos electrónicos (EDC, por sus siglas en inglés). Un monitor de estudio clínico visita los sitios para verificar que todos los datos en el sistema EDC coincidan con los documentos originales para cada animal.

5

Procedimiento: La evaluación de diagnóstico para todos los perros antes de ingresar en el estudio incluye: Historial médico: Duración y signos clínicos; Historial de vacunas; Historial alimenticio; Entorno/historia: Potencial de dieta no adecuada: comida, cuerpo extraño, basura, abono, estiércol; Sucesos estresantes: embarque, cuidado, viaje, hospitalización, cambio en la rutina de la familia, mudanza reciente, etc.; Radicaciones recientes; Examen físico/evaluación clínica: color de la membrana mucosa, hidratación, postura, actividad/actitud, estado físico, palpitación abdominal, exploración rectal, observación de la defecación del animal, es decir, tenesmo, signos de dolor, características de las heces, etc.; Prueba de laboratorio: se recolectan las heces durante la exploración rectal. La presencia o aparición de parásitos se determina mediante frotis directa y flotación que incluye flotación del sulfato de cinc, huevos, larvas, *Giardia*, protozoos movibles. Laboratorios clínicos extraídos: CBC/SMAC y panel de diarrea antes de la inscripción y al final del período de

10
15
20

tratamiento. El panel de diarrea para analizar el *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, el virus del moquillo canino, el parvovirus en caninos 2, la toxina alfa de *Clostridium perfringens*, *Cryptosporidium* spp., *Giardia* y la *Salmonella* spp. Se pueden realizar otras pruebas según lo considere necesario o adecuado el veterinario.

Si un perro cumple los criterios para participar en el estudio, el evaluador procede a completar la hoja de evaluación para el día 1 y administra la primera dosis. El evaluador administra y prescribe también, según su criterio, cualquier otra medicación necesaria y registra el tratamiento en el formulario de informe de casos con medicación concomitante. El evaluador también califica al perro en los días 2, 3 y 5. Los perros se tratan dos veces al día durante tres días (6 dosis totales) y se observan durante cinco días. Para cada perro, el estudio culmina luego de cinco días, independientemente del resultado. Se completa el formulario de informe del caso de terminación del estudio adecuado para cada animal.

Retiros: Cualquier animal que no cumpla con el programa de tratamiento es retirado del estudio. Cualquier animal que padezca problemas relacionados, por ejemplo, lesiones,

durante el transcurso del tratamiento es retirado del estudio. Los datos registrados hasta el tiempo de retiro o la terminación del estudio, el que sea menor, se utilizan en el análisis de datos para el estudio.

5

Eventos adversos: Todos los eventos adversos se informan en la hoja de recopilación de datos. El investigador del estudio toma la decisión inicial sobre la base de la relación del evento adverso con el tratamiento asignado.

10

Métodos estadísticos: El estudio es un estudio prospectivo de comparación, aleatorizado y doble ciego del polímero SP 303 de proantocianidinas del *C. lechleri* que se compara con el placebo en perros con diarrea aguda. Los objetivos de los análisis estadísticos son establecer la eficacia y seguridad del producto de prueba para aliviar los signos clínicos de la diarrea en los perros. Se define un centro de estudio como un sitio de administración del tratamiento bajo el control y supervisión del mismo PI. Los datos se analizan para cada uno de los 5 subgrupos y para la población completa en el estudio.

20

Métodos de aleatorización: Se genera una única lista de aleatorización usando SAS PROC PLAN con el fin de aleatorizar

el estudio. La lista de aleatorización se genera en bloques permutados con un tamaño mayor que dos a efectos de minimizar el sesgo en la asignación en el sitio del estudio. La lista indica solamente el código de tratamiento para el tratamiento
5 asignado. Se emiten sobres con claves para descifrar el código para cada animal al sitio de estudio con el fin de romper el ciego de un animal en caso de emergencia. Los centros de estudio se agrupan para todos los análisis estadísticos.

10

Variables de eficacia: Las variables de eficacia primarias del estudio son las puntuaciones fecales veterinarias (registradas en una escala de 7 puntos, donde 7 son los peores síntomas de la diarrea) registradas al inicio y en los
15 días 1-5 de la dosificación. Los criterios de valoración de eficacia primarios son el cambio de las puntuaciones fecales iniciales en cada día de dosificación (días 1-5). El cambio de las puntuaciones fecales iniciales se computa como puntuación fecal inicial menos la puntuación fecal durante el
20 período de tratamiento, es decir, un cambio positivo de la puntuación inicial indica una mejora en los síntomas de la diarrea.

Variables de eficacia secundarias: Las variables de eficacia secundarias medidas para cada animal incluyen la actitud/actividad; la hidratación; la temperatura corporal; la cantidad de defecaciones por día; la consistencia de las heces; y el apetito. La actitud/actividad, la hidratación, el apetito y la consistencia de las heces del animal se miden en una escala de 0-3, donde 3 es la calificación más grave. Las calificaciones se realizan en cada animal al inicio del estudio y en los días 1-5 del período de tratamiento. La temperatura corporal (en °C) se mide al inicio el estudio y en los días 1-5 del tratamiento. Las variables de eficacia secundarias son el cambio de los valores iniciales para cada variable en cada día de tratamiento (días 1-5).

Variables de seguridad: Variables de seguridad primarias: Las variables de seguridad primarias son los eventos adversos que se observan para cada animal durante el período de tratamiento. Determinación del tamaño de la muestra: El estudio es un estudio de fase temprana del compuesto de SP 303/crofelemer en el tratamiento de la diarrea en los perros; no está hecho estadísticamente para la verificación de hipótesis.

Población de análisis: Una población con intención de tratar (ITT, por sus siglas en inglés) consiste en todos los sujetos que están inscriptos en el estudio y que reciben al menos una dosis de la medicación del estudio. El análisis de los
 5 criterios de valoración de eficacia primarios y secundarios se realiza en la población ITT. Todos los análisis de seguridad se realizan en la población ITT.

Análisis de características iniciales y demográficas: Las
 10 características iniciales y demográficas se resumen para todos los animales en la población de seguridad. Las variables continuas se muestran mediante estadística general (media, mediana, tamaño de la muestra, desviación estándar, mínimo y máximo) por grupo de tratamiento. Las variables
 15 categóricas se resumen mediante conteos y porcentajes por grupo de tratamiento.

Análisis de variables primarias: El siguiente análisis se somete a prueba en cada punto de tiempo (días de tratamiento
 20 1-5) en un nivel de significación unilateral de $\alpha = 0.025$ relativa a las variables primarias: $H_{a0}: \mu_T \leq \mu_P$ vs. $H_{a1}: \mu_T > \mu_P$, donde μ_T es el cambio promedio respecto a la puntuación fecal inicial para el grupo de tratamiento con SP 303 y μ_P es el cambio promedio respecto a la puntuación fecal inicial para

el grupo con placebo. La hipótesis se somete a prueba usando una prueba F para el efecto del tratamiento desde un análisis ANOVA mediante el uso de un modelo lineal que contiene términos para el grupo de tratamiento y puntuación fecal inicial en cada punto de tiempo. La estadística general (media, mediana, tamaño de la muestra, desviación estándar, mínimo y máximo) se computa por grupo de tratamiento en cada punto de tiempo (días de tratamiento 1-5). Además, se computa el cambio del grupo de tratamiento ajustado desde las puntuaciones fecales medias iniciales a partir del modelo ANOVA en cada punto de tiempo.

Análisis de variables secundarias: Para cada una de las variables secundarias, se realiza un análisis ANOVA usando un modelo lineal con términos para el grupo de tratamiento y valor inicial del parámetro en cada punto de tiempo. La estadística general se calcula por grupo de tratamiento en cada punto de tiempo. Se computa el cambio del grupo de tratamiento ajustado desde los medios iniciales a partir del modelo ANOVA en cada punto de tiempo.

Análisis de las variables de seguridad: Para los análisis de seguridad, se calcula la estadística general. Se observan todos los eventos adversos (AE, por sus siglas en inglés)

para cada animal desde la inscripción hasta la conclusión del estudio. Los eventos adversos relacionados con el tratamiento se resumen por grupo de tratamiento. Un evento adverso relacionado con el tratamiento es un evento adverso con una fecha de inicio o luego de la primera fecha de tratamiento para un animal. Si un evento adverso no tiene una fecha de inicio, se considera relacionado con el tratamiento. Antes del análisis, todos los eventos adversos (AE) se codifican usando el Diccionario Médico Veterinario para Actividades de Regulación (VMedDRA, por sus siglas en inglés). De acuerdo con estos términos codificados, los AE se resumen usando los términos preferidos y la clase orgánica del sistema. Se enumeran todos los AE.

Valores faltantes: Para todos los análisis estadísticos realizados sobre los criterios de valoración primarios y secundarios, se realiza un análisis del caso complejo, es decir, no se ingresa ningún valor faltante. Además, no se realiza ningún análisis intermedio formal durante este estudio.

Ejemplo 3

Tratamiento de la diarrea en perros con la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* (SB 300)

Este Ejemplo describe un estudio a pequeña escala en los
5 perros que padecen diarrea y son tratados con la composición
SB 300 de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*. El
estudio controlado y cegado se realizó en tres pequeñas
clínicas veterinarias de animales en Bogotá, Colombia. Un
objetivo del estudio era evaluar la eficacia clínica del SB
10 300 administrado de forma oral para aliviar los signos
clínicos de la diarrea en los perros tratados. El estudio
evaluó 48 perros que fueron sometidos a aleatorización en
bloques en tres grupos. Un grupo se trató con comprimidos
recubiertos entéricos de SB 300 en una dosificación de
15 aproximadamente 4 mg/kg/dosis; un segundo grupo se trató con
placebo; y un tercer grupo se trató con una forma no entérica
de SB 300 como un polvo en una dosificación de
aproximadamente 4 mg/kg/dosis. Los animales de prueba
incluyeron tanto perros machos como hembra de al menos 20 kg
20 de peso corporal. Se dosificó a los animales dos veces al día
durante tres días (6 dosis) y fueron observados durante 5
días.

Los artículos de prueba empleados en el estudio fueron los siguientes:

Artículo de prueba 1: Extracto purificado de SB 300 del
5 *Croton lechleri*; dosis mínima de aproximadamente 4 mg/kg;
forma de dosificación: comprimidos con recubrimiento
entérico; 1 comprimido dos veces al día.

Artículo de prueba 2: Extracto purificado de SB 300 del
10 *Croton lechleri*; dosis mínima de aproximadamente 4 mg/kg;
forma de dosificación: forma en polvo no entérica para
aderezos de la comida, dos veces al día. Como alternativa, el
polvo se disuelve en una pequeña cantidad de agua y se
administra de forma oral con una jeringa si un perro no lo
15 comió.

Artículo de prueba 3: Placebo (forma de dosificación sin el
producto SB 300 activo). Para asegurar el cegamiento del
estudio, el 50 % del placebo se formuló como comprimidos y el
20 50 % se formuló como polvo, dosificado dos veces al día.

Para evaluar los animales adecuados para el estudio y los
resultados de los tratamientos del estudio, se midió la

consistencia de las heces usando un sistema de puntuación fecal / de heces de 1 a 9, como se muestra a continuación.

5	Descripción	Puntuación
	Heces desmenuzables, secas y duras (como balas)	1
	Heces secas y duras	2
	Heces ideales, firmes y bien formadas que no dejan marcas cuando se recogen	3
10	Heces bien formadas con superficie levemente húmeda que dejan marcas cuando se recogen, casi pegajosas al tacto	4
	Húmeda suave que comienza a perder forma	5
	Muy húmeda y suave, amorfa	6
15	Líquido viscoso con alguna materia particulada	7
	Heces líquidas, acuosas con poca materia particulada	8
20	Diarrea acuosa grave, sin ninguna materia particulada visible	9

Los perros con una puntuación de 5 o más participaron en el estudio. Un veterinario determinó las puntuaciones fecales una vez por día en los días 1, 2, 3, 4 y 5 del estudio durante un total de 5 días. Todos los perros recibieron

tratamiento de «atención médica estándar» además de SB 300.

Dicho tratamiento de atención médica estándar se describe en el Ejemplo 1. Los criterios de valoración primarios incluyeron la consistencia fecal y la duración de la diarrea; los criterios de valoración secundarios incluyeron la seguridad, el estado de deshidratación y la actitud/actividad de los animales del estudio.

La tabla que sigue a continuación presenta los resultados del estudio del tratamiento con perros, que mostró que hubo una reducción en las puntuaciones fecales desde el día 1 al día 5 que resultó significativo entre el grupo de tratamiento que recibió el tratamiento con SB 300 con revestimiento entérico y el grupo que recibió el placebo ($P = 0.0413$, Prueba F ANOVA).

20

Grupo	Reducción en la puntuación fecal Día 1 a Día 5
Grupo de tratamiento con recubrimiento entérico de SB 300	3.583
Placebo	2.833

El estudio descrito en este Ejemplo demostró que hubo una diferencia significativa en la reducción de puntuaciones fecales entre el día 1 y el día 5, indicando así que el SB 300 fue eficaz en el tratamiento de la diarrea. Véase la FIG.

5 1. Los resultados del estudio mostraron también que se asoció un recubrimiento entérico con la actividad de la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri* del SB 300 utilizada para tratar los animales del estudio. Los resultados del estudio respaldaron el tratamiento eficaz de
10 la diarrea acuosa/secretora (diarrea del intestino delgado) en comparación con otros tipos de diarrea. Las conclusiones adicionales sacadas del estudio fueron que la enfermedad que se resuelve por sí misma requirió que los perros fueran observados más seguido que una vez por día para identificar
15 las diferencias entre los grupos y que los perros requirieron hospitalización o localización en refugios y/o centros de rescate a efectos de controlar la recopilación de datos.

Ejemplo 4

20

Formulación oral, sólida y masticable que contiene la composición de polímeros de proantocianidinas del *C. lechleri*.

Se presenta en este Ejemplo una formulación de dosificación oral, sólida, masticable y representativa que comprende micropartículas (perlas) de SP 303 con recubrimiento entérico. Para su administración a los animales, tales como perros, y como se indicó anteriormente, se proporciona la formulación de forma oral y el animal que se está tratando la mastica y la traga. La formulación sólida, masticable y blanda que contiene las perlas de SP 303 con recubrimiento entérico incluye los siguientes componentes y no pretende ser taxativa.

Componente	Cantidad (g)
Esferas entéricas de SP 303	12.0
Almidón de maíz	37.5
Fosfato dicálcico	22.5
Omalass	259.8
PC-0125, con sabor a carne de vaca en polvo artificial	60.0

5

Acortamiento de masa aglutinada	7.5
Glicerina, USP	110.0
Aceite de pescado Menhaden	7.5
Aceite de soja	75.0
Tenox 20	0.7
Polietilenglicol	75.0

10

De manera ilustrativa, la formulación masticable y blanda es una mascada blanda de 2.5 g para perros. El ingrediente omalass es melaza seca utilizada como edulcorante.

15 La formulación oral, sólida y masticable administrada como placebo en el estudio incluyó los mismos ingredientes como se enumeró para la formulación anterior, excepto que las perlas entéricas de SP 303 (ingrediente activo) no estaban presentes, y el ingrediente omalass se utiliza en una
20 cantidad de 271.8 g.

Se proporciona en la presente una formulación entérica representativa de las micropartículas (perlas) que comprenden la composición de polímeros/polímeros de las

117

proantocianidinas del *C. lechleri* (por ejemplo, SB 300 o SP 303) para uso en los estudios como se describe en los Ejemplos:

5

Componente	% p/p	g/lote
Capa que contiene fármacos		
SP 303 o SB 300	23.0	229.8
Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	1.1	11.5
Esferas de celulosa microcristalina (MCC)	45.9	458.7
Recubrimiento de sellado		
HPMC	1.3	12.7
Citrato de trietilo	0.1	1.3
Recubrimiento entérico		
Eudragit® L30D55	17.9	178.5
Citrato de trietilo	1.8	17.9
Talco	8.9	89.3
Total	100.0	999.6

Como los médicos especializados observarán, la finalidad del recubrimiento entérico es permitir que el ingrediente activo (API), por ejemplo, el SP 303, sobreviva al pH bajo del estómago y pase de forma segura al intestino donde el recubrimiento entérico se disuelve y se libera el activo. La preparación del ingrediente activo con recubrimiento entérico implica típicamente un proceso de tres etapas, que incluyen:

Etapa 1: Una partícula de celulosa microcristalina (MCC, por sus siglas en inglés) se recubre con el ingrediente activo. Preferentemente, se obtiene un mínimo de 50 % de recubrimiento.

Etapa 2: Se aplica un subrecubrimiento. El subrecubrimiento no agrega mucho peso a la perla general, pero sirve para preparar la partícula de MCC para el recubrimiento entérico.

Etapa 3: Se aplica un recubrimiento entérico (recubrimiento superior). El recubrimiento entérico típicamente explica un aumento de peso de entre 30 % y 45 % de la partícula.

Para una formulación entérica final que es el resultado del proceso, la capa de fármaco aplicada (wp en granulados) es 52.6 %; el subrecubrimiento aplicado (wg) es 2 %; y el recubrimiento superior entérico aplicado (wg) es 40 %.

La perla final (partícula) pesa aproximadamente 1 g, en la que el ingrediente activo constituye aproximadamente 23 % del peso. El valor 23 % se puede utilizar para determinar la cantidad de perlas que se deben agregar a la formulación final para obtener la dosis deseada. Un rango objetivo para el % de API en un forma masticable y blanda varía entre 15 % y 70 %. En algunos casos, se aumenta el % de API en la formulación a 50 %.

10

EJEMPLO 5

Introducción

Este Ejemplo resume los resultados de un estudio multicéntrico, con tres grupos, cegado y aleatorizado (Cana001) que evaluó la eficacia clínica del compuesto SP-303 para aliviar los signos clínicos asociados con diarrea secretora en los perros. El producto Canalevia™ utilizado en el estudio es una formulación específica para perros de crofelemer, SP-303, el ingrediente farmacéutico activo que se aísla y purifica a partir del árbol de *Croton lechleri* que se cultiva de forma sostenida. El producto del estudio es una formulación masticable, con sabor a carne de vaca, dos veces por día, con recubrimiento entérico y oral, SP-303, desarrollada para el tratamiento de la diarrea acuosa o

secretora y las formas graves de esta, así como también la diarrea inducida por quimioterapia o CID, en perros, sin afectar la motilidad intestinal del animal. El producto de SP-303 no se absorbe sistémicamente, pero actúa localmente en el tracto gastrointestinal. La Canalevia™ es segura, ya que se ha evaluado en un modelo canino en al menos 50x de dosis sin ninguna lesión considerable.

Objetivo y descripción general del estudio

10

El objetivo del estudio era investigar las diferencias del grupo de tratamiento en el cambio del valor inicial de la consistencia y frecuencia fecal en los perros con diarrea acuosa durante una exposición de tres días a SP-303 o placebo. Esto fue una prueba del estudio conceptual con el objetivo para definir las evaluaciones y el análisis estadístico que informan un diseño del ensayo para el FDA para un estudio de Canalevia™ de perros, regulador fundamental. Los veterinarios o los técnicos veterinarios entrenados realizaron este estudio de demostración conceptual, controlado con placebo, aleatorizado y cegado durante un período de cinco meses, usando animales obtenidos a través de organizaciones de rescate, refugios y de dueños que son clientes. Se evaluaron treinta y nueve perros en el

estudio de acuerdo con una puntuación de seis puntos de formación de heces como se describe en la tabla de puntuación fecal que sigue a continuación. Los perros se registraron en el ensayo si se determinó que estos tienen una puntuación fecal de inicio de 4 o 5. Se excluyeron los perros con diarrea con sangre (es decir, puntuación fecal de 6) y/o aquellos que se sospecha que tienen parvovirus. Luego del registro, cada perro fue confinado y se le administró tratamiento al inicio de la confirmación de puntuación.

10

Protocolo del estudio y recopilación de datos

Para ser registrados en el estudio, los perros tuvieron que cumplir con los siguientes criterios: Una puntuación fecal de 4 o 5 (heces acuosas o líquidas con poca o ninguna materia particulada); macho o hembra; intacto o esterilizado; entre 2 meses y 12 años de edad; peso entre 2 y 40 kg; y cualquier raza o mezcla. Los criterios de exclusión para este estudio fueron los siguientes: perros con otras afecciones médicas que, según la opinión del investigador, los excluirían de ser registrados en el estudio; Puntuación fecal de 3 o inferior; perros con diarrea con sangre y/o que se sospecha que padecen parvovirus; y perros que han sido tratados con cualquier medicación prohibida dentro de los 7 días a partir de la

inscripción.

Los perros se asignaron aleatoriamente con una relación 1:1 a uno de dos grupos de tratamiento. Los tratamientos fueron SP-
5 303 (crofelemer), (Tratamiento A), dosificado de forma oral en ~2mg/kg BID (dosificado en realidad en un paquete de 40 mg para animales que pesan entre 2 y 20 kg y dos paquetes de 40 mg para perros que pesan entre 20 y 40 kg) y placebo (Tratamiento B). La administración del tratamiento comenzó
10 luego que el perro cumpliera con los criterios de inscripción de la puntuación de formación de heces igual a 4 (heces líquidas, acuosas) o 5 (diarrea acuosa grave), de acuerdo con la escala de puntuaciones fecales que se muestra a continuación.

15

Escala de puntuaciones fecales

20

5

Puntuación	Descripción de las heces
1	Heces bien formadas con superficie levemente húmeda que dejan marcas cuando se recogen
2	Blandas o muy blandas, húmedas, amorfas
3	Líquidas viscosas con alguna materia particulada
4	Heces líquidas, acuosas con poca materia particulada
5	Diarrea acuosa grave, sin ninguna materia particulada visible
6	Diarrea hemorrágica

10

15

20

Las evaluaciones de inicio que incluyeron un examen físico, historial médico (si estaba disponible), hematología (CBC), química y examen fecal, se realizaron en cada perro. Para los perros en los refugios, se planificó que se tomaran seis evaluaciones de puntuaciones fecales por día durante cada uno de los tres días de tratamiento y un día de seguimiento adicional. Para los perros inscriptos en las clínicas, la recopilación de datos podría ser menor, debido a que los

animales podrían ser liberados luego de cuatro tratamientos si se curó la diarrea. Por consiguiente, el período de tratamiento para los perros del refugio consistió en tratamientos administrados cada 10 a 12 horas comenzando
5 luego del primer tratamiento (T_0) y concluyó luego que se administraron un total de 6 tratamientos. El período de tratamiento para los perros de propiedad del cliente fue el mismo que se indicó anteriormente con la excepción que el tratamiento podría concluirse luego del segundo bloque de
10 tratamiento (es decir, 4 tratamientos) si se curó la diarrea. Durante su tiempo en el estudio, los perros estuvieron en cautiverio en el sitio y se les proveyó agua y fueron alimentados con la dieta standard que se ofreció en el sitio del ensayo. Se proporcionó el tratamiento médico estándar
15 según sea necesario.

Se confiscó cada perro y estos fueron dosificados dos veces por día durante el transcurso de períodos de tratamiento (bloques) de 3 x 24 horas por un total de 6 dosis. De acuerdo
20 con el estudio, se definió un bloque de tratamiento como un período de 24 horas durante el cual se administran dos tratamientos. El primer bloque de tratamiento comienza en el momento de la administración de la primera dosis (T_0). Las dosis se administraron con 10 y 12 horas de diferencia. Como

se indicó, los perros inscriptos en el estudio fueron asignados al azar a SP-303 (crofelemer) (Tratamiento A) o placebo (Tratamiento B), pero a efectos del análisis, no se les informó a los evaluadores del estudio sobre si las asignaciones del tratamiento correspondían al tratamiento con SP-303 o con placebo.

Evaluaciones y definiciones de criterios de evaluación

Los criterios de valoración de la puntuación fecal se definieron usando la tabla que sigue a continuación. En este estudio, la puntuación más baja en la escala de puntuaciones fecales fue 1 (heces húmedas, bien formadas) y la puntuación fecal más alta fue un 6 (diarrea hemorrágica). Podría registrarse también una evaluación como «sin heces» en los casos en los que el perro no dejó ninguna hez para su evaluación a la hora señalada. Usando los datos del tratamiento con fármacos, la primera dosis de la administración del artículo de prueba se identificó y etiquetó como hora cero (período inicial). La última evaluación fecal antes de la hora cero fue la puntuación fecal inicial; por protocolo esta puntuación fue un 4 o un 5. La administración del tratamiento y las evaluaciones fecales se registraron por fecha y hora de manera que las se les

podría asignar a las puntuaciones una hora con respecto a la primera dosis. Las puntuaciones en las primeras 24 horas luego de la primera dosis se agruparon en el Bloque 1 (Día 1); 25 a 48 horas en el Bloque 2 (Día 2); 49 a 72 horas en el Bloque 3 (Día 3). Las observaciones continuaron desde las horas 72 a 96 en el Bloque 4 (Día 4).

El evaluador (veterinario o asistente) realizó las siguientes evaluaciones diarias: Se obtuvieron las puntuaciones fecales al inicio cada 4 horas durante el período de tratamiento de 3 bloques y el período de observación usando la tabla de puntuación fecal que se presentó anteriormente. Se indicaron episodios de tenesmo o corrida rápida con o sin producción de heces en caso de ser observados. La actitud general, la actividad, el estado de hidratación, el apetito y la reacción con respecto a la palpitación abdominal y temperatura corporal del perro se puntuaron de acuerdo con las escalas utilizadas en la técnica

El tiempo para las últimas heces no formadas, TLUS, se calculó a partir de las puntuaciones fecales registradas. El TLUS se definió como el tiempo transcurrido entre la primera dosis/hora cero y las últimas heces no formadas. Las heces no formadas se definieron de 3 maneras diferentes: (1) una

puntuación fecal de 2, 3, 4, 5 o 6; (2) una puntuación fecal de 3, 4, 5 o 6; y (3) una puntuación fecal de 4, 5 o 6. Si un perro no tuvo una puntuación fecal posterior al inicio que fue una hez no formada, entonces el TLUS se fijó igual a cero. En este estudio, la definición de TLUS estuvo limitada a las puntuaciones fecales en las 72 horas siguientes a la primera dosis, que es la terminación del período de dosificación. Se analizó la proporción de perros con signos atenuados de diarrea acuosa aguda. La cura de la diarrea se definió como una puntuación fecal de 1 o 2 en cualquier hora posterior al inicio. Los perros que no tuvieron una puntuación registrada de 1 o 2 fueron considerados no curados.

Se consideró también otro análisis de pacientes que responden al tratamiento exploratorio. Para cada día posterior al inicio, se mostraron las puntuaciones fecales para cada perro ordenadas por hora. Se establecieron las siguientes pautas: (a) las puntuaciones de 3, 4, 5 o 6 se consideraron como heces blandas y (b) las puntuaciones de 1 o 2 o ninguna hez durante 18 horas se consideraron como heces bien formadas. Las puntuaciones se examinaron clínicamente conforme a este marco y se codificó cada perro como un paciente que responde al tratamiento o un paciente que no responde al tratamiento cada día posterior al inicio.

Los criterios de valoración de exploración considerados en el presente estudio fueron los siguientes:

- 5 Resolución de la diarrea: definida como la obtención de una hez formada (es decir, puntuación de 1 o 2) en cualquier momento durante el período de estudio.

- 10 Análisis de pacientes que responde al tratamiento: definido como la obtención de una hez formada (es decir, puntuación de 1 o 2) en cualquier bloque de tratamiento de 24 horas durante el período de estudio. Medición tomada durante el tratamiento y período de observación.

- 15 Bloque de tratamiento: Un bloque de tratamiento fue un período de tiempo de 24 horas. Hubo tres bloques de tratamiento en este estudio. El primer bloque de tratamiento duró entre T_0 y T_{24} donde T_0 es el tiempo de la administración de la primera dosis. Hubo también un bloque de observación
20 que comenzó 12 horas luego de la administración de la dosis final y duró hasta 24 horas.

Material de investigación y administración

Se utilizaron dos materiales de investigación en este estudio: fármaco activo (SP-303) y placebo. Los dos materiales se formularon como perlas recubiertas entéricas (EC, por sus siglas en inglés) y se envasaron en paquetes que

5 contienen 250 mg de perlas EC que representan tanto el producto veterinario de investigación (IVP, por sus siglas en inglés) como el placebo. Los paquetes IVP con 250 mg de perlas EC contuvieron 40 mg de la sustancia activa, crofelemer (SP-303). Se le asignó a cada paquete de fármaco

10 activo y placebo un código específico de tratamiento. La distinción entre IVP y paquete de placebo no se dio a conocer. Cada paquete se etiquetó con un número para fines de aleatorización. Se ordenó a los sitios asignar un paquete a un perro de acuerdo con la entrada secuencial de cada perro

15 en cada sitio. La formulación final de IVP consistió en ingredientes considerados seguros para uso con animales. El placebo contuvo los mismos ingredientes de formulación que en el material de prueba menos el ingrediente activo de SP-303.

Cada dosis se administró de forma oral de acuerdo con el peso

20 del perro a ~2-4 mg/kg en una cura canina, tal como, de modo no taxativo, la fórmula de alergia GREENIES PILL POCKET®. Los perros que pesan < 20 kg recibieron un (1) paquete por tratamiento por un total de seis (6) paquetes. Los perros que pesan > 20 kg, pero < 40 kg recibieron dos (2) paquetes por

tratamiento por un total de doce (12) paquetes.

Análisis de puntuaciones fecales

5 Se recopilaron inicialmente los datos para 48 perros en el estudio: 24 perros en el Tratamiento A (SP-303) y 24 perros en el Tratamiento B (placebo). Luego que los 48 perros completaron el estudio, el patrocinador tomó la decisión de suspender la parte cegada del estudio con la intención de
10 evaluar los datos. La población de análisis para los parámetros de criterio de valoración fue la población evaluable (por protocolo) y se define como todos los perros que completaron el estudio y tuvieron evaluaciones de puntuación fecal suficientes en la fase de tratamiento y la
15 fase de observación para el análisis de criterios de valoración. Un total de 26 sitios de investigación participaron en este estudio, de los cuales 21 inscribieron un total de 48 perros. De los 48 perros inscriptos, 39 fueron incluidos en la población evaluable. Se excluyeron del
20 análisis nueve perros, designados con los números 067, 128, 130, 145, 146, 175, 199, 205, 207 debido a la informalidad en la recopilación de datos y registro de observaciones. Por lo tanto, se analizó un total de 39 perros, 23 perros en el Tratamiento A (SP-303) y 16 perros en el Tratamiento B

(placebo). El perro 001, que se incluyó en este análisis, no tuvo una puntuación fecal inicial registrada en la base de datos. Una nota del sitio indica, «su puntuación fecal varió entre 4 y 5 todo el fin de semana». La primera dosis para este perro fue un lunes por lo que esta fue una observación previa al tratamiento.

La puntuación fecal inicial media en ambos grupos de tratamiento fue de 4.2. Solamente un perro en el análisis estuvo debajo del requisito de entrada por protocolo. El perro 038 se inscribió por protocolo con una puntuación fecal de 4, aunque apenas antes del primer tratamiento, se registró una puntuación de 3. Por lo tanto, este perro se registró con una puntuación inicial de 3. Se analizó la proporción de perros con signos atenuados de diarrea acuosa aguda. La resolución de la diarrea se definió como una puntuación fecal de 1 o 2 en cualquier hora posterior al inicio. Los perros que no tuvieron una puntuación de 1 o 2 registrados fueron considerados no curados.

20

Tiempo para las últimas heces no formadas (TLUS)

Los perros en el Tratamiento A tuvieron un TLUS promedio más corto que aquellos que recibieron el Tratamiento B usando los

3 métodos. Mediante el uso de la prueba de rango logarítmico para comparar las gráficas de Kaplan-Meier, se abordó la significancia estadística, pero no cruzada para 2 de los métodos, el Método 1 y el Método 2. El Tratamiento A pareció funcionar mejor conforme a un requisito más estricto para una hez formada.

Tiempo para las últimas heces no formadas (72 horas)

10	Tratamiento	Método 1	Método 2	Método 3
	Tratamiento A promedio (h)	56.0	42.0	24.2
	Tratamiento B promedio (h)	66.0	56.3	28.5
15	Valor P de rango logarítmico	0.065	0.070	0.706

Nota: En el Método 1, una hez no formada fue una puntuación fecal de 2, 3, 4, 5 o 6.

En el Método 2, una hez no formada fue una puntuación fecal de 3, 4, 5 o 6.

En el Método 3, una hez no formada fue una puntuación fecal de 4, 5 o 6.

Resolución de la diarrea

Usando una definición de la resolución de diarrea con una puntuación fecal de 1 o 2 en cualquier tiempo posterior al inicio, 21 de 23 (91.3 %) de los perros tratados con SP-303 (Tratamiento A) respondieron al tratamiento. Esto contrasta con los perros tratados con placebo (Tratamiento B), donde 8 de 16 (50.0 %) de los perros respondieron al tratamiento. Estas tasas de respuesta respaldan la conclusión que una proporción más grande de perros con SP-303 (Tratamiento A) respondió en comparación con el placebo (Tratamiento B). El valor p doble de la prueba exacta de Fisher fue 0.0073.

Evaluación clínica de pacientes que responden al tratamiento

Conforme al marco descrito anteriormente en «Definiciones de criterios de valoración», cada perro se codificó como un paciente que responde al tratamiento o un paciente que no responde al tratamiento a diario. El perro 202 (Tratamiento B) no se incluyó en el análisis ya que los datos eran demasiado escasos para realizar una determinación. Con un fundamento similar, el perro 001 no pudo evaluarse el Día 2.

Como se observa en la FIG. 2 y en la tabla que sigue, la respuesta de los perros que reciben el Tratamiento A (SP-303)

fue mayor que la de los perros que reciben el Tratamiento B (placebo) durante todos los bloques de tratamiento en al menos 10 %. Un paciente que responde al tratamiento es un perro que tuvo heces formadas sin ningún seguimiento de heces no formadas, día a día. Mediante el uso de la prueba exacta de Fisher, una diferencia significativa ocurrió luego del tercer bloque de tratamiento, el período de observación (Día 4). Debido a la falta de seguimiento, los tamaños de la muestra el Día 4 fueron aproximadamente la mitad de los otros días.

Todos los perros recibieron 6 dosis durante el período de tratamiento. Sin embargo, no todos los perros fueron evaluados más allá del Bloque 3 (es decir, durante la fase de observación). Cabe señalar que solamente aquellos perros con puntuaciones fecales que se informaron más de 72 horas del T_0 se incluyeron en el análisis estadístico de la fase de observación (T_{73} a T_{96}).

Una prueba de Cochran-Mantel-Haenszel estratificada de día proporcionó evidencia que la respuesta clínica de los perros que reciben el Tratamiento A fue mayor que la de los perros que reciben el Tratamiento B ($p = 0.013$). Mediante el uso de la prueba exacta de Fisher, una diferencia significativa

ocurrió luego del período de tratamiento, el Día 4 ($p=0.046$).

Sin embargo, debido a que los mismos perros aparecieron en cada una de las evaluaciones diarias, se consideró también un modelo alternativo. Se ajustó un modelo de medidas repetidas logísticas que explica las correlaciones dentro de cada perro. Este modelo fue indicativo de la importancia a lo largo del período posterior al tratamiento con un valor de 0.059.

Respuesta clínica por día

10 De acuerdo con un período de tratamiento de 24 horas

15

20

	Bloque de tratamiento (día)	Tratamiento A	Tratamiento B	Valor p doble
		N=23 n(%)	N=16 n (%)	
5	1 (T ₀ a T ₂₄)	4/23 (17,4%)	1/15 (6,7%)	0.630 ^a
	2 (T ₂₅ a T ₄₈)	11/22 (50.0%)	5/15 (33.3%)	0.500 ^a
	3 (T ₄₉ a T ₇₂)	16/23 (69.6%)	8/15 (53.3%)	0.492 ^a
	4 (Observación) -- (T ₇₃ a T ₉₆)	11/12 (91.7%)	4/9 (44.4%)	0.046 ^a
	Última evaluación ^d	19/23 (82.6%)	8/15 (53.3%)	0.073 ^a
10	Comparación de			
	Proporciones en			0.013
	todo el			
15	estudio ^b			
	Comparación de			0.059
	Evaluaciones			
20	repetidas ^c			

Nota: Las puntuaciones de 4, 5 o 6 se consideraron como heces blandas/paciente que no responde al tratamiento y las puntuaciones de 1 o 2 o ninguna vez durante 18 horas se consideraron como heces bien formadas/paciente que responde al tratamiento, ya que el mecanismo de acción no crea constipación de heces.

^a De la prueba exacta de Fisher que compara las tasas de respuestas para cada día.

^b De la prueba CMH estratificada por día.

^c Del modelo de mediciones repetidas logísticas.

5 ^d La «última evaluación» incluye datos del período de observación y el Bloque de Tratamiento 3 para aquellos perros que no tuvieron puntuaciones de observación.

10 Un análisis de la última observación generalizada produjo respuestas de 83 % y 53 % para los Tratamientos A y B, respectivamente. Esto proporciona un valor p exacto de Fisher de $p = 0.073$. Sin embargo, el cociente de probabilidades es 4.2, y esto lo convierte a un tamaño de efecto de Cohen de
15 0.79, que se considera grande. El análisis de respuesta al tratamiento sirvió exitosamente como criterio de valoración primario del estudio.

Este análisis demuestra la persistencia del efecto, con
20 perros que tienen más días con resolución de diarrea que sin diarrea, como se indica mediante un análisis de la separación de las curvas. La prueba exacta de Fisher reconoce que los animales pueden exponerse a causas adicionales de diarrea acuosa o secretora durante el transcurso del estudio. La

prueba de Cochran reconoce que cualquier perro que es un paciente que responde al tratamiento durante el bloque de tratamiento 1 es más probable que sea un paciente que responde al tratamiento durante el bloque de tratamiento 2 y más allá.

Conclusión

El presente estudio evaluó la eficacia de los perros aleatorizados para 2 grupos de tratamiento, SP-303 y placebo en forma cegada. Una definición de resolución simple de cualquier puntuación fecal posterior el inicio igual a 1 o 2 respalda la conclusión que el Tratamiento A (tratamiento con SP-303) es superior al Tratamiento B (placebo), ($p = 0.007$). La comparación del tiempo para las últimas heces no formadas en un período de 72 horas donde se define una hez no formada como puntuación fecal de 3 a 6, abordó la significancia estadística. Finalmente, usando juicio clínico y un criterio donde las puntuaciones fecales de 1 y 2 y sin heces durante 18 horas fueron pacientes que responden al tratamiento, el Tratamiento A fue superior todos los días y se aproximó a la significancia el Día 4, aunque el seguimiento no estuvo disponible para todos los perros hasta el Día 4.

De manera adicional, usando juicio clínico y un criterio donde las puntuaciones fecales de 1 y 2 y sin ninguna hez durante 18 horas se consideraron pacientes que responden al tratamiento, el Tratamiento A fue superior en todos los
5 períodos de tratamiento de 24 horas. Cabe señalar que las evaluaciones no estuvieron disponibles para todos los perros a través de la fase de observación (luego del tratamiento) con una comparación de la proporción de los pacientes que responden al tratamiento a lo largo de todo el estudio que
10 indica que el Tratamiento A, crofelemer, es superior ($p = 0.013$).

El estudio incluyó todos los sujetos y todas las causas de la diarrea acuosa permitidos dentro de los criterios de
15 inscripción. Dado que se espera que las horas de observación puedan ser más largas en los refugios y con un tamaño del estudio de inscripción total más grande, sería ventajoso explorar más el refugio y los subgrupos clínicos. Se pueden considerar también otros subgrupos, tales como la etiología
20 de la diarrea, la dieta y los patrones de alimentación.

Los resultados obtenidos del estudio que se describen en este Ejemplo respaldan la conclusión que el tratamiento con SP-303 es superior al del placebo, donde el 91 % de los perros

tratados con SP-303 logran una hez formada durante el estudio frente al 50 % de los perros tratados con placebo.

Los resultados obtenidos de este estudio respaldan también
5 las propiedades antisecretoras y el mecanismo de acción del SP-303 como se describe en la presente. El producto de SP-303 actúa de forma local en el intestino y se absorbe mínimamente de forma sistémica. Este no altera la motilidad gastrointestinal, no tiene efectos significativos en los
10 canales iónicos intestinales que funcionan de forma normal y el transporte de electrolitos o líquidos, y no tiene ningún efecto secundario diferente del placebo. Estas características aumentan adicionalmente por su falta de efecto en la absorción y/o el metabolismo de fármacos de
15 quimioterapia coadministrados, de forma oral o por medio de otras vías de administración. El SP-303 actúa normalizando el flujo de iones y agua de exceso en el lumen intestinal. Debido a que el flujo de iones y agua de exceso en el lumen intestinal es la última etapa común para la manifestación de
20 la diarrea aguda, el SP-303 (Canalevia™) ofrece tratamiento efectivo de la diarrea aguda en los perros, independientemente de la causa, inclusive la CID.

Todas las patentes, solicitudes de patente y publicaciones mencionadas o citadas en la presente se incorporan en su totalidad mediante esta referencia a todos los efectos.

5 Se entiende que los ejemplos y las modalidades descritas en la presente tienen fines ilustrativos únicamente y que se sugerirán a los expertos en la técnica diversas modificaciones o cambios en vista de estos y se deben incluir dentro del espíritu y ámbito de la presente solicitud y el
10 alcance de las reivindicaciones adjuntas. Debe entenderse que los métodos y materiales adecuados se describen en la presente para la práctica de las modalidades, sin embargo, los métodos y materiales que son similares o equivalentes a los descritos en la presente se pueden utilizar en la
15 práctica o prueba de la invención y las modalidades descritas.