

FORMULACIÓN DE ENEMA

Campo de la Invención

La presente invención se relaciona con una formulación
5 adecuada para su administración rectal. La invención además se
relaciona con un enema prellenado que comprende la formulación
y con el uso de la formulación y del enema para tratar
enfermedades inflamatorias del intestino.

Antecedentes de la Invención

10 La colitis ulcerosa (UC, por sus siglas en inglés) es
una enfermedad caracterizada por la inflamación crónica de la
mucosa rectal y colónica, que afecta en la primera etapa a la
mucosa más interna. La enfermedad es recurrente, con ambas
etapas, la activa e inactiva que difieren en patología,
15 síntomas y tratamiento. No se comprende la causa subyacente de
la UC, ni se sabe qué desencadena la recurrencia de la
enfermedad entre sus formas inactiva y activa (Kobayashi et
al. "Ulcerative colitis." Nat Rev Dis Primers 2020, 6(1): 74;
Irvine, E.J. (2008) Inflamm Bowel Dis 14(4): 554-565). Los
20 síntomas de la UC activa, incluyen heces blandas progresivas
con sangre y un incremento de la frecuencia del movimiento de
los intestinos. La inflamación activa de mucosa se diagnostica
mediante endoscopia (Harbord M., et al. "Third European
Evidence-based consensus on diagnostic and management of
25 ulcerative colitis. part 2: current management." J Crohns

Colitis 2017, 11(7): 769-7842017).

Las heces contienen pus, mucosidad y sangre y frecuentemente están asociadas con calambres abdominales con urgencia para evacuar (tenesmi). La diarrea puede tener un
5 inicio insidioso o, más raramente, comenzar de forma bastante repentina. En casos severos los síntomas pueden incluir fiebre y malestar general. En etapas severas, se puede desarrollar una inflamación profunda de la pared intestinal con dolor abdominal, taquicardia, fiebre y riesgo de perforación del
10 intestino. Además, los pacientes con UC pueden sufrir manifestaciones extraintestinales tales como artralgias y artritis, eritema nodoso, pioderma gangrenoso e inflamación en los ojos. En el caso de UC en remisión o inactiva, los pacientes suelen estar libres de síntomas intestinales.

15 La extensión de la mucosa inflamada y dañada difiere entre los pacientes con UC. La UC que afecta solamente al recto se denomina proctitis ulcerosa. La afección se denomina colitis distal o del lado izquierdo cuando hay cambios inflamatorios en el lado izquierdo del colon hasta el ángulo
20 esplénico. En la UC extensa también se afecta el colon transversal y la pancolitis designa una enfermedad que afecta a el colon completo.

La inflamación activa de la mucosa se diagnostica mediante endoscopia y se caracteriza por una pérdida del
25 patrón vascular, edema, petequias, sangrado espontáneo y

exudados fibrinosos. El cuadro endoscópico es el de una inflamación continua, que comienza en el recto y se extiende proximalmente en una extensión variable hacia el colon. Las biopsias obtenidas por endoscopia y sometidas a un examen
5 histológico ayudan a diagnosticar la afección. Las causas infecciosas, que incluyen *clostridium difficile*, *campylobacter*, *Salmonella* y *Shigella*, pueden simular la UC y se pueden excluir mediante cultivos de heces.

El manejo médico de la UC se divide en tratamiento de la
10 enfermedad activa y mantenimiento de la remisión.

El manejo médico de la UC se divide en el tratamiento de la enfermedad activa y el mantenimiento de la remisión. El tratamiento de pacientes con UC activa tiene como objetivo reducir la inflamación y promover la cicatrización de colon y
15 recuperación de la mucosa. En la mayoría de los casos, la enfermedad se puede controlar con fármacos convencionales, incluidos SP, 5-ASA ((Sutherland et al. (1987) Gastroenterology 92: 1894-1898) y GCS (Domenech et al. (2014). Dig Dis 32(4): 320-327)). La enfermedad del lado izquierdo,
20 limitada al recto y al área recto-sigmoidea, frecuentemente se trata con formulaciones rectales de 5-ASA y GCS. Cuando la extensión es más proximal y/o los síntomas más severos, también se necesita GCS oral. Los GCS generalmente se usan para tratar los brotes de la enfermedad y no se recomiendan
25 para el mantenimiento de la remisión, ya que hay efectos

secundarios significativos (tal como inmunodeficiencia, insuficiencia suprarrenal, hiperglucemia, supresión del eje suprarrenal pituitario hipotalámico, osteoporosis inducida por esteroides: reducción de densidad ósea, pérdida de peso, 5 pérdida de masa muscular) inherentes al uso a largo plazo y el posible desarrollo de una enfermedad dependiente de esteroides. Los fármacos glucocorticoides actúan de forma no selectiva, por lo que a largo plazo pueden afectar muchos procesos anabólicos saludables. Por lo tanto, no se recomienda 10 el tratamiento de mantenimiento con GCS sistémico (Prantera, C. y S. Marconi (2013) *Therap Adv Gastroenterol* 6(2): 137-156). Se han desarrollado nuevas formulaciones de GCS con el objetivo de limitar la actividad sistémica y reducir las AE de GCS. Para los pacientes que se vuelven refractarios a GCS y 15 que padecen brotes severos o moderadamente severos de UC, a veces se usan agentes inmunomoduladores tal como la azatioprina/6-mercaptopurina y ciclosporina. Sin embargo, los inmunomoduladores son de acción lenta y la inducción de la remisión en estos pacientes suele ser temporal (Ford et al. 20 (2011) *Am J Gastroenterol* 106(4): 630-642).

Las opciones de tratamiento para la UC se han expandido rápidamente en los últimos años y ahora incluyen múltiples agentes biológicos y los fármacos de molécula pequeña tofacitinib y Zeposia/ozanimod además de las opciones de los 25 medicamentos anteriores (ver Ford et al. (2011) *Am J*

Gastroenterol 106(4): 630 -642, Fausel, R. y A. Afzali (2015)
 Ther Clin Risk Manag 11: 63-73, Roda et al. (2016) Clin Transl
 Gastroenterol 7: e135, Fiorino et al. (2017) Expert Opin Drug
 Saf 16 (4): 437-443; Troncone y Monteleone (2017) Expert Opin
 5 Drug Saf 16(7): 779-789; Duijvestein et al. (2018) Curr Treat
 Options Gastroenterol 16(1): 129-146; Verstockt et al. (2018)
 J Gastroenterol 53(5): 585-590 , Troncone et al. (2020) Clin
 Exp Gastroenterol 13: 131-139 y también resultados recientes
 para Zeposia/ozanimod en [https://www.healthline.com/health-](https://www.healthline.com/health-news/fda-approves-new-drug-for-ulcerative-colitis#Clinical-trial-results)
 10 news/fda-approves-new-drug-for-ulcerative-colitis#Clinical -
 trial-results).

Tres inhibidores de TNF α actualmente aprobados para el
 tratamiento de la UC de moderada a grave son infliximab,
 adalimumab y golimumab. Estos agentes se unen al TNF α ,
 15 neutralizan su actividad y evitan que se una a su receptor.
 También se ha mostrado que infliximab y adalimumab inducen la
 apoptosis de las células T y macrófagos activados. Los tres
 inhibidores de TNF α conllevan riesgos potenciales asociados
 con su uso y se deben evitar en pacientes con infecciones no
 20 controladas, insuficiencia cardíaca avanzada, afecciones
 neurológicas y en pacientes con antecedentes de malignidad,
 debido al riesgo potencial de acelerar el crecimiento de
 tumores. Se producen infecciones serias en 2%-4% de los
 pacientes tratados con anticuerpos anti TNF α (Fausel, R. y A.
 25 Afzali (2015) Ther Clin Risk Manag 11: 63-73). Otros efectos

adversos potenciales de la terapia anti-TNF α incluyen reacciones a la infusión agudas y graves, que incluyen anafilaxia, convulsiones e hipotensión. También pueden producir reacciones en el lugar de inyección y raras
5 reacciones anafilácticas con los agentes anti-TNF α administrados por vía subcutánea. Otros posibles efectos adversos incluyen neutropenia, hepatotoxicidad, enfermedad del suero, vasculitis leucocitoclástica, erupción que incluye erupción psoriasiforme y la inducción de autoinmunidad.
10 Aproximadamente un 50 % de pacientes que reciben infliximab desarrollan anticuerpos después de 2 años (Fausel, R. y A. Afzali (2015) Ther Clin Risk Manag 11: 63-73).

Se ha mostrado que los tres agentes anti-TN α son efectivos para inducir y mantener la respuesta clínica y la
15 remisión en pacientes con UC, con perfiles de seguridad bastante comparables. Independientemente del agente anti-TNF α seleccionado, la terapia combinada con azatioprina probablemente sea más efectiva para inducir la remisión que la monoterapia con anti-TNF α . Sin embargo, todavía hay hasta un
20 50% de pacientes que reciben agentes anti-TNF α quienes fallan en responder a la dosis de inducción, e incluso más pacientes quienes pierden la respuesta al agente anti-TNF α con el tiempo (Fausel, R. y A. Afzali (2015)) Ther Clin Risk Manag 11: 63-73). Vedolizumab, un inhibidor de la integrina $\alpha 4\beta 7$, fue
25 aprobado en 2014 para el tratamiento de UC. En el ensayo

GEMINI 1, se descubrió que el vedolizumab era más eficaz que el placebo para inducir y mantener la respuesta clínica, la remisión clínica y la cicatrización de la mucosa (Feagan et al. (2013) N Engl J Med 369(8): 699-710). En teoría, debido a la ubicación única de la integrina $\alpha 4\beta 7$ en los linfocitos que se dirigen al intestino, se puede esperar que el vedolizumab tenga un riesgo reducido de infecciones sistémicas y malignidad en comparación con los agentes de acción sistémica. En el ensayo GEMINI 1 no se observaron diferencias importantes entre los grupos de estudio en cuanto a los AE.

Tofacitinib es un inhibidor reversible oral, de molécula pequeña, competitivo con ATP, de las vías JAK-1 y JAK-3 y, en altas concentraciones, también de las vías TYK2 y JAK-2. Curiosamente, el tofacitinib se absorbe rápidamente después de la ingesta oral con un tiempo hasta la concentración máxima de 30 minutos, así permitir una vía de administración más cómoda para el paciente y un inicio de efecto más rápido que la mayoría de los otros fármacos utilizados en IBD (D'Amico et al. (2019) Therap Adv Gastroenterol 12: 1756284819848631). El régimen de dosificación de tofacitinib para adultos con UC de moderada a grave es de 10 mg BID durante por lo menos ocho semanas, seguido de 5 mg BID o 10 mg BID. Este régimen de dosificación se basa en datos de tres estudios fundamentales de fase III del programa de desarrollo clínico OCTAVE. Los tres estudios cumplieron sus criterios de valoración primarios

respectivos, con una proporción significativamente mayor de pacientes en remisión en la semana 8 en los estudios de inducción y en la semana 52 en el estudio de mantenimiento con tofacitinib en comparación con placebo (Paschos et al. (2018)

5 Ann Gastroenterol 31(5): 572-582).

Sin embargo, los eventos adversos observados en el programa clínico de tofacitinib UC incluyeron infecciones graves, incluidos el herpes zoster, infecciones oportunistas, neoplasias malignas (incluido el cáncer de piel no melanoma y
10 trastornos linfoproliferativos), perforación gastrointestinal y anomalías de laboratorio. La EMA y FDA concluyeron que el tofacitinib podría aumentar el riesgo de coágulos sanguíneos en los pulmones y en las venas profundas en pacientes que ya están en alto riesgo, y recomendaron que el tofacitinib se use
15 con precaución en todos los pacientes con alto riesgo de coágulos sanguíneos (FDA (2019). El ensayo de seguridad encuentra riesgo de coágulos de sangre en los pulmones y muerte con dosis más altas de tofacitinib (Xeljanz, Xeljanz XR) en pacientes con artritis reumatoide; FDA para la
20 investigación, Administración de Alimentos y Fármacos de E. U. de A.; EMA confirma que Xeljanz se debe utilizar con precaución en pacientes con alto riesgo de coágulos sanguíneos, Agencia Europea de Medicamentos EMA/92517/2020).

Zeposia u ozanimod es un modulador del receptor de
25 esfingosina 1-fosfato (S1P) que pertenece a la clase de

medicamentos de "molécula pequeña". Ozanimod se une fuertemente y específicamente a los receptores S1P 1 y 5. Al unirse a estos receptores, se cree que el ozanimod bloquea la capacidad de los linfocitos para escapar de los ganglios linfáticos, los cuales los atrapa en los ganglios linfáticos y reduce su número en la sangre, sistema nervioso central y en tejidos inflamados. La FDA aprobó recientemente el ozanimod para el tratamiento de la colitis ulcerosa activa de moderada a grave en adultos. Debido a que el ozanimod modula la función de los linfocitos, puede incrementar el riesgo de infección. Los mayores efectos adversos se presentan en ciertos pacientes quienes sufrieron un infarto de miocardio en los últimos 6 meses u otros problemas cardíacos como angina inestable o insuficiencia cardíaca. También se espera que el uso del ozanimod con terapias antineoplásicas, inmunosupresoras no corticosteroides o inmunomoduladoras, incremente el riesgo de inmunosupresión, y estos tratamientos pueden estar contraindicados. También se debe evitar el uso de vacunas vivas atenuadas durante y hasta 3 meses después del tratamiento con ozanimod.

Ustekinumab, un anticuerpo de IgG1k monoclonal completamente humano que se une con especificidad a la subunidad de proteína p40 compartida de las citocinas humanas IL12 e IL23, es el tratamiento más recientemente aprobado para la UC activa de moderada a grave en adultos.

En el programa de UNIFI fase III, los pacientes con UC activa, de moderada a grave recibieron una dosis de inducción iv del ustekinumab (130 mg o una dosis basada en el intervalo de peso de aproximadamente 6 mg/kg) o placebo, y aquellos con
5 respuesta clínica en la semana 8 fueron sometidos a una nueva aleatorización para recibir inyecciones sc de mantenimiento de 90 mg de ustekinumab (cada 8 o 12 semanas) o placebo. El porcentaje de pacientes en remisión clínica en la semana 8 y en la semana 44 fue significativamente mayor entre quienes
10 recibieron tratamiento con ustekinumab que con placebo (Sands *et al.* (2019) N Engl J Med 381(13): 1201-1214).

Los efectos secundarios más comunes del ustekinumab incluyen la infección del tracto respiratorio superior, nasofaringitis, mareos, dolor de cabeza, dolor orofaríngeo,
15 diarrea, náuseas, vómitos, prurito, dolor de espalda, mialgia, artralgia, fatiga, eritema en el lugar de inyección y dolor en el lugar de inyección.

Si bien los inhibidores de TNF y vedolizumab se usan ampliamente y se posicionan como terapias de tercera línea en
20 la UC, queda por ver cómo las nuevas terapias dirigidas por JAK e IL12 e IL23 se posicionarán en el régimen de tratamiento para la UC.

A pesar de las terapias avanzadas descritas anteriormente, los pacientes con UC con enfermedad
25 crónicamente activa, aún corren el riesgo de volverse

refractarios al tratamiento, lo que plantea un desafío médico grave y el único curso de acción restante es la colectomía. El riesgo acumulado de colectomía de 5 y 10 años es de 10 a 15% en la colitis de lado izquierdo (Fumery et al. (2018) Clin Gastroenterol Hepatol., 16(3): 343-356). Una colectomía total es una opción potencialmente curativa en UC grave, pero es una operación que cambia la vida y conlleva el riesgo de complicaciones, tal como insuficiencia de bolsa, sepsis pélvica, infertilidad en las mujeres y evacuación fecal nocturna. Por lo tanto, la cirugía se suele reservar para pacientes con enfermedad refractaria grave, urgencias quirúrgicas o pacientes con displasia o cáncer colorrectal (Hoivik et al. (2012) Inflamm Bowel Dis 18(8): 1540-1549).

Un tratamiento emergente de tercera línea para la UC es el cobitolimod (Kappaproct/DIMS0150), un oligonucleótido sintético modificado basado en (ADN) de cadena sencilla de 19 bases de longitud. El cobitolimod tiene la secuencia 5'-G*G*A*ACAGTTCGTCCAT*G*G*C-3' (SEC ID NO:1), en donde el dinucleótido CG no está metilado. La estrella representa un enlace fosforotioado.

El cobitolimod funciona como un agente inmunomodulador al dirigirse hacia el receptor tipo Toll 9 (TLR9) presente en las células inmunitarias o en la superficie de las células epiteliales. Estas células inmunitarias (en este caso, células B y células dendríticas plasmocitoides (pDC) y células

epiteliales) residen en alta abundancia en la mucosa colónica y nasal del lumen. El sistema inmunológico es el mediador clave de los cambios de la UC. La mucosa del colon y el recto de los pacientes con UC presenta una inflamación crónica y contiene células inmunitarias activas. El cobitolimod se puede administrar por vía tópica en la región de inflamación, lo cual coloca al fármaco en contacto estrecho con una gran cantidad de células diana previstas, lo que garantiza que el fármaco alcanzará un área rica en células que expresan TLR9.

La activación de estas células por cobitolimod induce varias citocinas, tal como los interferones de tipo I y la interleucina 10 (IL-10), los cuales son citocinas antiinflamatorias clásicas y se cree que son factores importantes para el efecto clínico de cobitolimod.

La eficacia clínica de cobitolimod ha sido mostrada en el ensayo clínico "COLLECT" (CSUC-01/10), el cual implicó la administración a pacientes de dosis de 30 mg de cobitolimod, en intervalos de 4 semanas y también en el ensayo clínico "CONDUCT" (CSUC-01/16) ensayo clínico, el cual implicó probar diferentes regímenes de dosificación. Los detalles del ensayo "COLLECT" se publicaron en la revista Journal of Crohns and Colitis (Atreya et al. J Crohns Colitis, 20 de mayo de 2016) y los detalles del ensayo clínico "CONDUCT" se publicaron en The Lancet Gastroenterology and Hepatology (Atreya et al. 2020. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020 Dic.; 5(12):1063-1075). En

general, los datos sobre cobitolimod respaldan una evaluación positiva de relación riesgo-beneficio para pacientes con UC crónica. Cobitolimod es seguro y bien tolerado y ha mostrado ser eficaz para inducir la respuesta clínica y la remisión en
5 pacientes con UC crónica, así como la remisión sintomática y endoscópica en pacientes con UC crónica de moderada a grave refractaria al tratamiento.

En el estudio COLLECT, el cual involucró la administración de una dosis relativamente baja (30 mg) de
10 cobitolimod, la administración tópica de cobitolimod se realizó mediante un dispositivo de catéter de pulverización, administrado durante una endoscopia. Se trata de un procedimiento médico invasivo que necesariamente es realizado por un profesional médico. Además, antes de la administración
15 tópica de cobitolimod a los pacientes, se limpió el colon de cada paciente para eliminar la materia fecal. Eso se hizo para permitir que el cobitolimod llegue a las células epiteliales intestinales dentro del colon y para que el endoscopista pueda ver la mucosa colónica. En la técnica se conocen varios
20 métodos de limpieza del colon. Por ejemplo, antes de la endoscopia, el paciente puede necesitar beber hasta 4 litros de líquido a partir del día anterior a la endoscopia. Además de un agente de limpieza activo, la preparación del intestino puede consistir en que el paciente siga una dieta restringida.
25 Tal dieta puede implicar evitar semillas y maíz, y se puede

recomendar durante varios días antes de la endoscopia. Por lo general, solo se permiten fluidos claros el día anterior al procedimiento. También hay medicamentos disponibles para la limpieza del colon, por ejemplo, Plenvu, el cual es
5 aproximadamente 1 L de un fármaco líquido el cual está diseñado para reemplazar el líquido de limpieza intestinal tradicional y de mal sabor. En resumen, dependiendo del agente laxante seleccionado, el paciente normalmente necesita beber alrededor de 1-4 L de líquido antes de la endoscopia. Este es
10 un procedimiento incómodo y perturbador e inconveniente para el paciente.

El cobitolimod mismo se suministró como una solución de cobitolimod en agua en frascos de vidrio llenados asépticamente. La administración al paciente estuvo a cargo
15 del personal de atención médica, ya que requirió cierta preparación, tal como la dilución de la solución y la transferencia hacia una jeringa adecuada para la administración a través del catéter de pulverización.

Como se indicó anteriormente, los pacientes que padecen
20 colitis ulcerosa crónica, quienes se encuentran en un estado de enfermedad activa y son refractarios a los tratamientos conocidos, plantean un serio desafío médico y, frecuentemente, el único curso de acción restante es la colectomía. Por esta razón, los pacientes tolerarán la intervención médica que
25 requiere tanto la limpieza del colon para eliminar la materia

fecal, como la administración tópica a través de un catéter rociador, a pesar de los inconvenientes y las molestias que implican tales procedimientos invasivos.

En el estudio CONDUCT, el cobitolimod se suministró en
5 frascos de vidrio de un solo uso que contenían 50 mL de solución. Antes de la dosificación, el personal del estudio transfirió la solución a un enema de plástico y después administró la solución de cobitolimod al paciente que estaba acostado sobre el lado izquierdo. Este procedimiento no
10 requirió una colonoscopia, sin embargo, aún así fue administrado por el personal del sitio y el enema no era óptimo, ya sea ni para el almacenamiento ni para su autoadministración.

Sin embargo, sería deseable desde el punto de vista
15 terapéutico proporcionar un tratamiento tópico para pacientes con colitis ulcerosa el cual, preferiblemente, pueda ser autoadministrado por el paciente y preferiblemente que no requiera ningún paso de limpieza antes de la administración. En este sentido, sería deseable disponer el cobitolimod en un
20 formato apto para la autoadministración y estable a las condiciones de distribución y almacenamiento, con ello permitir la administración del fármaco en la comodidad del domicilio del paciente, sin necesidad de una intervención médica profesional. Tal tratamiento también sería beneficioso
25 para los pacientes que toman cobitolimod como terapia de

mantenimiento (en este caso, para mantenerlos en remisión), quienes podrían estar tomando cobitolimod durante períodos prolongados, por ejemplo, varios meses o incluso años. Además, sería deseable proporcionar cobitolimod en una forma adecuada para su autoadministración en el hogar porque esto evitaría que el paciente tenga que hacer múltiples viajes a las instalaciones médicas y ocupar el tiempo de los profesionales médicos en trabajos no urgentes, lo cual ayudaría a minimizar la tensión en los sistemas de atención de la salud, en particular durante crisis de salud pública tal como la pandemia de COVID-19.

Sumario de la Invención

Los estudios realizados por los inventores han identificado que el cobitolimod es susceptible a ciertos mecanismos de degradación, por ejemplo, la oxidación de los enlaces de fosforotioato, en respuesta a diversos estímulos (luz, temperatura elevada, oxidación, ácidos) o crecimiento microbiano. Como se mencionó anteriormente, los estudios clínicos anteriores han utilizado frascos de vidrio llenados asépticamente para almacenar las preparaciones de cobitolimod antes de la administración. Los frascos de vidrio son impermeables y no reactivos, por lo que evitan la degradación del cobitolimod. Sin embargo, los frascos de vidrio utilizados en estudios previos no son adecuados para una autoadministración por parte del paciente. Como se explicó

anteriormente, cuando el cobitolimod se suministra en este formato, se deben tomar medidas adicionales antes de administrar el fármaco, como la dilución de la solución y/o la transferencia hacia un recipiente adecuado para su
5 administración. Típicamente, tal administración requiere de asistencia médica profesional y equipo médico más complejo (por ejemplo, colonoscopios), por lo cual requerir que el paciente viaje hacia un hospital o hacia una clínica.

Los enemas prellenados, los cuales el paciente se puede
10 administrar por sí mismo, serían una opción preferida. Sin embargo, los recipientes utilizados para tales enemas típicamente son de plástico (no estéril), lo que crea más problemas porque los recipientes de plástico son mucho más permeables a los gases circundantes que el vidrio. Durante el
15 almacenamiento a largo plazo, la penetración de gases tales como el oxígeno y el dióxido de carbono en el recipiente provoca la degradación del fármaco y reduce la eficacia.

Ahora se ha encontrado sorprendentemente que una formulación particular de cobitolimod proporciona
20 composiciones que son estables al almacenamiento a largo plazo. En particular, las formulaciones de la invención son resistentes a la degradación del fármaco y al crecimiento microbiano. Además, la formulación de la invención es estable cuando se usa en recipientes de plástico, que son más
25 permeables a los gases del aire circundante (por ejemplo,

oxígeno), los cuales pueden degradar el oligonucleótido, a diferencia de los frascos de vidrio. Las formulaciones en cuestión incluyen un sistema de solución amortiguadora y conservadores. Se encontró que el sistema solución
5 amortiguadora utilizado era compatible con el cobitolimod y también era adecuado para la administración rectal. En particular, el sistema solución amortiguadora puede mantener el cobitolimod cerca del pH fisiológico durante períodos prolongados, por ejemplo, hasta un año, y solo requiere
10 concentraciones bajas de conservadores para suprimir el crecimiento microbiano.

La invención también se relaciona con un enema prellenado con la formulación de la invención, que proporciona un producto que es estable durante el almacenamiento a largo
15 plazo. El recipiente de enema está adaptado adecuadamente para administrar la formulación al paciente con una incomodidad mínima y lo que asegura que se expulse sustancialmente toda la formulación.

Por lo tanto, la presente invención proporciona una
20 formulación acuosa adecuada para su administración rectal que comprende (i) un oligonucleótido que comprende la secuencia 5'-GGAACAGTTCGTCCATGGC-3' (SEC ID NO: 2), (ii) por lo menos un conservador y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico y una sal de fosfato.

25 La invención también proporciona un enema prellenado

adecuado para su autoadministración, el enema prellenado comprende:

- (a) un recipiente; y dentro del recipiente
- (b) la formulación como se describe aquí.

5 La invención también proporciona un envase que comprende uno o más enemas prellenados como se describe aquí.

La invención también proporciona una formulación como se describe aquí para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria intestinal, preferiblemente en donde la
10 enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

La invención también proporciona un método para tratar una enfermedad intestinal inflamatoria en un sujeto, el método que comprende administrar por vía rectal al sujeto la
15 formulación como se describe aquí, preferiblemente en donde la enfermedad intestinal inflamatoria es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

La invención también proporciona el uso de una formulación como se describe aquí para la fabricación de un
20 medicamento para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, preferiblemente en donde la enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

Descripción Detallada de la Invención

Todas las patentes, solicitudes de patentes y publicaciones
25 citadas aquí se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

Formulación

La invención proporciona una formulación acuosa adecuada para su administración rectal que comprende (i) un oligonucleótido que comprende la secuencia 5'-
5 GGAACAGTTCGTCCATGGC-3' (SEC ID NO:2), (ii) por lo menos un conservador y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico y una sal de fosfato.

Como se usa aquí, el término "formulación acuosa" se refiere a una formulación en la cual los diversos ingredientes
10 (oligonucleótido, conservador y los productos químicos utilizados para proporcionar la solución amortiguadora) se disuelven en un disolvente acuoso. Un disolvente acuoso comprende agua, típicamente en una cantidad de por lo menos 10% en peso del disolvente acuoso, preferiblemente en una
15 cantidad de por lo menos 25% en peso del disolvente acuoso, más preferiblemente en una cantidad de por lo menos 50% en peso del disolvente acuoso, más preferiblemente en una cantidad de por lo menos 75% en peso del disolvente acuoso. Por ejemplo, el disolvente acuoso puede ser agua, en este
20 caso, el disolvente acuoso puede consistir de agua.

Como se usa aquí, la frase "adecuado para la administración rectal" significa que la formulación o enema prellenado se puede administrar de forma segura por vía rectal, en este caso, sin causar daño al recto. Se pueden
25 encontrar más detalles sobre las diversas consideraciones para

las formulaciones rectales en Hua "Physiological and Pharmaceutical Considerations for Rectal Drug Formulations" *Frontiers in Pharmacology* (2019), vol 10, 1196 y en Jannin et al., "Rectal route in the 21st Century to treat children" *Advanced Drug Delivery Review* (2014), 73, 34-49.

Como se usa aquí, el término "oligonucleótido" se refiere a un polinucleósido formado a partir de una pluralidad de unidades de nucleósido individuales unidas. Tales oligonucleótidos se pueden obtener a partir de fuentes de ácidos nucleicos existentes, incluidos ADN genómico o ADNc, plásmidos, vectores o ADN bacteriano, pero preferiblemente se producen mediante métodos sintéticos. Los residuos de nucleósidos se pueden acoplar uno con otro mediante cualquiera de los numerosos enlaces internucleósidos conocidos. Tales enlaces internucleósidos incluyen, sin limitación, el enlace de fosfodiéster internucleósido natural o, de hecho, internucleósidos modificados tales como, pero no se limitan al, fosforotioato, fosforoditioato, alquilfosfonato, alquilfosfonotioato, fosfotriéster, fosforamidato, siloxano, carbonato, carboalcoxi, acetamidato, carbamato, morfolino, borano, tioéter, fosforamidato con puente, fosfonato de metileno con puente, fosforotioato con puente y enlaces internucleosídicos de sulfona. El término "oligonucleótido" también abarca los polinucleósidos que tienen uno o más enlaces internucleosídicos estereoespecíficos (por ejemplo,

enlaces (Rp)- o (Sp)-fosforotioato, alquifosfonato o fosfotriéster). Como se usa aquí, los términos "oligonucleótido" y "dinucleótido" están expresamente previstos para incluir polinucleósidos y dinucleósidos que
5 tienen cualquiera de tales enlaces internucleósidos, ya sea que el enlace comprenda o no, un grupo fosfato. En ciertas modalidades preferidas, estos enlaces internucleosídicos pueden ser enlaces de fosfodiéster, fosforotioato o fosforoditioato, o combinaciones de los mismos.

10 El término "oligonucleótido" también abarca los polinucleósidos que tienen sustituyentes adicionales que incluyen, sin limitación, grupos proteicos, grupos lipófilos, agentes intercalantes, diaminas, ácido fólico, colesterol y adamantano. El término "oligonucleótido" también comprende
15 cualquier otro polímero que contenga nucleobase, incluidos, sin ser una limitación, ácidos nucleicos peptídicos (PNA), ácidos nucleicos peptídicos con grupos fosfato (PHONA), ácidos nucleicos bloqueados (LNA), oligonucleótidos con esqueleto de morfolino y oligonucleótidos que tienen secciones de la
20 estructura principal con enlazadores de alquilo o enlazadores de amino. El enlazador de alquilo puede ser ramificado o no ramificado, sustituido o no sustituido y quiralmente puro o una mezcla racémica.

Los oligonucleótidos pueden incluir nucleósidos de
25 origen natural, nucleósidos modificados o mezclas de los

misimos. Como se usa aquí, el término "nucleósido modificado" es un nucleósido que incluye una base heterocíclica modificada, una fracción de azúcar modificada o una combinación de los mismos. En algunas modalidades, el nucleósido modificado
5 es un nucleósido de pirimidina o purina no natural, como se describe aquí. En algunas modalidades, el nucleósido modificado es un ribonucleósido sustituido en 2', un arabinonucleósido o un arabinósido sustituido en 2'-desoxi-2'.

Como se usa aquí, el término "un oligonucleótido
10 híbrido" es un oligonucleótido que tiene más de un tipo de nucleósido.

Aquí, el término "oligonucleótido" incluye los oligonucleótidos híbridos y quiméricos. Un "oligonucleótido quimérico" es un oligonucleótido que tiene más de un tipo de
15 enlace internucleósido dentro de su estructura de secuencia. Un ejemplo preferido de tal oligonucleótido quimérico es un oligonucleótido quimérico que comprende una región de fosforotioato, fosfodiéster o fosforoditioato y enlaces no iónicos tales como enlaces alquilfosfonato o
20 alquilfosfonotioato (US5635377 y US5366878).

Aquí, el término "oligonucleótido" también incluye variantes circulares y oligonucleótidos circulares.

Preferiblemente, el oligonucleótido comprende por lo menos un fosfodiéster de origen natural, o un enlace
25 internucleósido de fosforotioato o fosforoditioato modificado,

sin embargo, los enlaces preferidos o modificaciones de la estructura principal incluyen, sin ser una limitación, los metilfosfonatos, metilfosfonotioatos, fosfotriésteres, fosfotiotriésteres, fosforotioatos, fosforoditioatos, 5 profármacos de triéster, sulfonas, sulfonamidas, sulfamatos, formacetal, N-metilhidroxilamina, 2' OMe (grupo oximetilo en la posición 2'), carbonato, carbamato, morfolino, boranofosfonato, fosforamidatos, especialmente aminofosforamidatos primarios, fosforamidatos N3 y 10 fosforamidatos N5, y también se tiene previstos los enlaces estereoespecíficos (por ejemplo, enlaces (Rp)- o (Sp)- fosforotioato, alquilfosfonato o fosfotriéster).

La fracción de azúcar del nucleósido puede ser una fracción de azúcar no natural. Aquí, una "fracción de azúcar 15 de origen natural" es una fracción de azúcar que se produce de forma natural como parte de un ácido nucleico, por ejemplo, ribosa y 2'-desoxirribosa, y una "fracción de azúcar de origen no natural" es cualquier azúcar que no se produce de forma natural como parte de un ácido nucleico, pero que se puede 20 usar en la estructura principal de un oligonucleótido, por ejemplo, pero sin una limitación, hexosa. La arabinosa y derivados de arabinosa son ejemplos de fracciones de azúcar preferidos.

Se prefieren frecuentemente los oligonucleótidos 25 modificados o sustituidos sobre las formas nativas debido a las

propiedades deseables tales como, por ejemplo, absorción celular mejorada, afinidad mejorada por el ácido nucleico diana y estabilidad incrementada en presencia de nucleasas. Un oligonucleótido generalmente se compone de más de diez (10) y hasta cien (100) o más desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos, aunque preferiblemente entre aproximadamente ocho (8) y aproximadamente cuarenta (40), más preferiblemente entre aproximadamente ocho (8) y aproximadamente veinte (20). El tamaño exacto dependerá de muchos factores, los cuales a su vez dependen de la función última o del uso del oligonucleótido. El oligonucleótido se puede generar de cualquier manera, incluida la síntesis química, la replicación de ADN, la transcripción inversa o una combinación de las mismas.

El oligonucleótido en la formulación de la invención comprende la secuencia 5'-GGAACAGTTCGTCCATGGC-3' (SEC ID NO:2). El oligonucleótido en la formulación de la invención puede consistir en la secuencia 5'-GGAACAGTTCGTCCATGGC-3' (SEC ID NO: 2), en este caso, el oligonucleótido puede ser un oligonucleótido que tiene la secuencia 5'-GGAACAGTTCGTCCATGGC-3' (SEC ID NO: 2).

Típicamente, por lo menos un dinucleótido CG en el oligonucleótido no está metilado. Por lo tanto, el oligonucleótido puede tener la secuencia 5'-GGAACAGTTCGTCCATGGC-3' (SEC ID NO:2), en donde el dinucleótido CG no está metilado.

Típicamente, por lo menos un nucleótido en el oligonucleótido tiene una modificación de la estructura principal de fosfato. La modificación de la estructura principal típicamente es un fosforotioato o una modificación
 5 de fosforoditioato. Típicamente, la modificación de estructura principal se localiza en el extremo 5' y/o 3' del oligonucleótido.

Los enlaces de fosforotioato se pueden ilustrar con asteriscos (*) en una secuencia, por ejemplo, en la secuencia:
 10 5'-G*G*A*ACAGTTCGTCCAT*G*G*C-3' (SEC ID NO:1), en donde el dinucleótido CG no está metilado. Preferiblemente, el oligonucleótido tiene la secuencia 5'-
 G*G*A*ACAGTTCGTCCAT*G*G*C-3' (SEC ID NO:1), en donde el dinucleótido CG no está metilado, en este caso, el
 15 oligonucleótido en la formulación de la invención puede consistir de la secuencia 5'-G*G*A*ACAGTTCGTCCAT*G*G*C-3' (SEC ID NO:1), en donde el dinucleótido CG no está metilado.

De esa manera, típicamente el oligonucleótido es cobitolimod.

20 La concentración del oligonucleótido (preferiblemente cobitolimod) utilizada no está particularmente limitada y puede ser cualquier concentración que brinde un beneficio terapéutico al paciente. Típicamente, el oligonucleótido (preferiblemente cobitolimod) está presente en la formulación
 25 en una concentración de por lo menos 0.1 mg/ml, por ejemplo,

por lo menos 0.5 mg/ml, o por lo menos 1 mg/ml, por lo menos 1.5 mg/mL, por lo menos 2.0 mg/mL o por lo menos 2.5 mg/mL. El oligonucleótido (preferiblemente cobitolimod) puede estar presente en la formulación en una cantidad inferior a 25 5 mg/ml, típicamente menor que 20 mg/mL, por ejemplo, menor que 15 mg/mL. Así, típicamente, el oligonucleótido (preferiblemente cobitolimod) está presente en la formulación en una cantidad desde 0.1 a 25 mg/mL, preferiblemente desde 0.5 a 20 mg/mL. Típicamente, el oligonucleótido 10 (preferiblemente cobitolimod) está presente en la formulación en una concentración desde 0.5 a 15 mg/mL. Preferiblemente, el oligonucleótido está presente en la formulación en una concentración desde 2.5 a 12.5 mg/mL.

El oligonucleótido (preferiblemente cobitolimod) puede 15 estar presente en la formulación en una concentración de aproximadamente 2.5 mg/mL. El oligonucleótido (preferiblemente cobitolimod) puede estar presente en la formulación en una concentración de aproximadamente 5 mg/mL. El oligonucleótido (preferiblemente cobitolimod) puede estar presente en la 20 formulación en una concentración de aproximadamente 10 mg/mL.

El por lo menos un conservador puede ser cualquier conservador conocido por las personas experimentadas en la técnica, siempre que el conservador pueda suprimir el crecimiento microbiano sin degradar el oligonucleótido. La 25 formulación puede comprender un tipo de conservador.

Alternativamente, la formulación puede comprender dos o tres tipos de conservadores.

Típicamente, la concentración total de conservadores en la formulación es menor que 1% en peso de la formulación, típicamente menor que 0.5% en peso de la formulación, preferiblemente menor que 0.2% en peso de la formulación. La concentración total de conservadores en la formulación puede ser desde 0.001 a 1% en peso de la formulación, por ejemplo, desde 0.005 a 0.5% en peso de la formulación, preferiblemente desde 0.01 a 0.2% en peso de la formulación.

Típicamente, el por lo menos un conservador comprende uno o más parabenos. El por lo menos un conservador puede consistir en uno o más parabenos. El término "parabenos" es suficientemente conocido en el campo de la química de las formulaciones y típicamente se refiere a los parahidroxibenzoatos o ésteres del ácido parahidroxibenzoico.

Los parabenos adecuados serían conocidos por las personas experimentadas en la técnica. Por ejemplo, el conservador puede comprender uno o más parabenos seleccionados de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, heptilparabeno, isobutilparabeno, isopropilparabeno, bencilparabeno y sales de los mismos. El conservador puede comprender uno o más parabenos seleccionados de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, heptilparabeno, isobutilparabeno, isopropilparabeno,

bencilparabeno y sales de sodio de los mismos.

Típicamente, el por lo menos un conservador comprende Na-metilparabeno y/o Na-propilparabeno. Preferiblemente, el por lo menos un conservador se selecciona del grupo que
5 consiste de Na-metilparabeno, Na-propilparabeno y mezclas de los mismos. Por ejemplo, el por lo menos un conservador puede consistir de una mezcla de Na-metilparabeno y Na-propilparabeno.

La concentración total de parabenos típicamente es menor
10 que 1% en peso de la formulación, típicamente menor que 0.5% en peso de la formulación, preferiblemente menor que 0.2% en peso de la formulación. La concentración total de parabenos en la formulación puede ser desde 0.001 a 1% en peso de la formulación, por ejemplo, desde 0.005 a 0.5% en peso de la
15 formulación, preferiblemente desde 0.01 a 0.2% en peso de la formulación. Preferiblemente, la formulación comprende desde 0.01 a 0.2% en peso de una mezcla de Na-metilparabeno y Na-propilparabeno.

La solución amortiguadora comprende ácido cítrico y una
20 sal de fosfato. Las personas experimentadas en la técnica sabrán cómo preparar una solución amortiguadora en un pH determinado al mezclar soluciones madre de los dos componentes. Preferiblemente, la sal de fosfato es hidrogenofosfato disódico (Na_2HPO_4).

25 La formulación típicamente tiene un pH de por lo menos

6.0, preferiblemente de por lo menos 6.5. La formulación típicamente tiene un pH de no más de 8.5, preferiblemente de no más de 8. Típicamente, la formulación tiene un pH en el intervalo de 6.0 a 8.0, en este caso, la solución
5 amortiguadora mantiene el pH de la formulación en el intervalo de 6.0 a 8.0. Preferiblemente, la formulación tiene un pH en el intervalo de 6.5 a 8.0, en este caso, la solución amortiguadora mantiene el pH de la formulación en el intervalo de 6.5 a 8.0.

10 De esa manera, típicamente la formulación comprende (i) un oligonucleótido el cual es cobitolimod, (ii) por lo menos un conservador que comprende uno o más parabenos y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico y una sal de fosfato. Por ejemplo, la formulación puede comprender (i)
15 un oligonucleótido el cual es cobitolimod, (ii) por lo menos un conservador que comprende uno o más parabenos y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico e hidrogenofosfato disódico (Na_2HPO_4).

La formulación puede comprender (i) un oligonucleótido
20 el cual es cobitolimod en una cantidad desde 0.1 a 25 mg/mL, preferiblemente desde 0.5 a 15 mg/mL, (ii) por lo menos un conservador que comprende uno o más parabenos en una cantidad desde 0.001 a 1% en peso de la formulación y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico y una sal
25 de fosfato, la formulación que tiene un pH desde 6.0 a 8.0,

preferentemente un pH en el intervalo de 6.5 a 8.0.

La formulación puede comprender (i) un oligonucleótido el cual es cobitolimod en una cantidad desde 0.1 a 25 mg/mL, preferiblemente desde 0.5 a 15 mg/mL, (ii) por lo menos un
5 conservador que comprende Na-metilparabeno y/o Na-propilparabeno, en donde el por lo menos un conservador está presente en una cantidad desde 0.001 a 1% en peso de la formulación y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico e hidrogenofosfato disódico (Na_2HPO_4), la
10 formulación que tiene un pH desde 6.0 a 8.0, preferiblemente un pH en el intervalo de 6.5 a 8.0.

La formulación puede comprender (i) un oligonucleótido el cual es cobitolimod en una cantidad desde 0.1 a 25 mg/mL, preferiblemente desde 0.5 a 15 mg/mL, (ii) una combinación de
15 Na-metilparabeno y Na-propilparabeno en una cantidad desde 0.001 a 1% en peso de la formulación y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico e hidrogenofosfato disódico (Na_2HPO_4), la formulación que tiene un pH desde 6.0 a 8.0, preferiblemente un pH en el intervalo de 6.5 a 8.0.

20 *Enema prellenado*

La invención también proporciona un enema prellenado adecuado para la autoadministración, el enema prellenado que comprende:

- (a) un recipiente; y dentro del recipiente
- 25 (b) la formulación como se describe aquí.

Típicamente, el enema prellenado es adecuado para la autoadministración por vía rectal. De esa manera, típicamente el enema puede ser administrado por el propio paciente, sin ningún equipo o conocimiento médico especializado.

5 Las personas experimentadas en la técnica serán muy conscientes de que se pueden usar varios recipientes de enema posibles para una administración rectal. Típicamente, los recipientes son recipientes de plástico.

Típicamente, el recipiente comprende una botella
10 comprimible. Por ejemplo, la botella puede estar hecha de un material que se comprime fácilmente con la mano, con ello forzar a la formulación a salir del recipiente. La forma de la botella también puede facilitar la compresión. Por ejemplo, la botella comprimible puede ser una botella con forma de
15 acordeón. En las botellas, los pliegues permiten una fácil compresión de la botella y una expulsión eficaz de la formulación del interior.

Típicamente, la botella está formada de polietileno. Preferiblemente, la botella está formada de polietileno de
20 baja densidad. El material del que está formada la botella también puede comprender pequeñas cantidades de otros aditivos, por ejemplo, agentes de opacidad tales como dióxido de titanio o colorantes.

La botella típicamente es de un tamaño adecuado para
25 contener una cantidad terapéuticamente útil de la formulación.

Típicamente, la botella tendrá un volumen de 50 mL de la formulación. La botella típicamente tiene una altura de entre 4 y 12 cm, preferiblemente desde 6 a 9 cm, típicamente alrededor de 7 a 9 cm. La botella típicamente tiene un diámetro desde 3 a 6 cm, preferiblemente desde 4 a 5 cm.

El recipiente típicamente comprende un aplicador adecuado para dispensar la formulación. De esa manera, cuando se comprime la botella, la formulación es expulsada del recipiente a través del aplicador. De esa manera, típicamente, el aplicador está formado de un material el cual es blando, para no causar lesiones, pero que tampoco se rompe fácilmente. El aplicador puede estar formado de plástico. Típicamente, el aplicador está formado de polietileno, preferiblemente de polietileno de baja densidad. El material del que está formado el aplicador también puede comprender pequeñas cantidades de otros aditivos, por ejemplo, agentes de opacidad tal como el dióxido de titanio, colorantes u otros materiales plásticos en pequeñas cantidades, tal como la poliamida y el copolímero de polietileno-polivinilacetato.

Típicamente, el aplicador comprende una punta adecuada para su inserción en el recto. La punta tiene desde 4 a 15 cm de largo, típicamente desde 4 a 10 cm de largo, preferiblemente de 5 a 6 cm de largo. La punta del aplicador se puede lubricar para facilitar la administración.

Típicamente, el recipiente del enema prellenado

comprende una botella comprimible y un aplicador adecuado para dispensar la formulación, en donde el aplicador comprende una punta adecuada para su inserción en el recto, en donde ambos, la botella y el aplicador están formados de polietileno. El
5 recipiente del enema prellenado puede comprender una botella en forma de acordeón y un aplicador adecuado para dispensar la formulación, en donde el aplicador comprende una punta adecuada para su inserción en el recto, en donde ambos, la botella y el aplicador están formados de polietileno.
10 Preferiblemente, ambos la botella y el aplicador están hechos de polietileno de baja densidad.

El aplicador puede comprender una válvula de retención. Típicamente, la válvula de retención comprende un resorte y un soporte de resorte. La válvula de retención regula el flujo de
15 la formulación fuera del recipiente y solamente permite que la formulación fluya fuera del recipiente a través del aplicador si se aplica suficiente presión al recipiente. Típicamente, cuando se alivia la presión, la válvula de retención se cierra con ello evitar el reflujo de la formulación de regreso dentro
20 de la botella.

El enema prellenado además puede comprender una tapa, la cual cubre y protege el aplicador hasta que se usa el enema prellenado.

La cantidad de formulación dentro del recipiente no está
25 particularmente limitada y puede ser cualquier cantidad que

suministre un beneficio terapéutico al paciente. Típicamente, la cantidad de la formulación dentro del recipiente no es mayor que 60 mL, por ejemplo desde 20 a 60 mL, preferiblemente desde 30 a 60 mL, más preferiblemente desde 40 a 60 mL. La
5 cantidad de la formulación dentro del recipiente puede ser de aproximadamente 50 mL. En algunos casos, la cantidad de formulación dentro del recipiente puede ser de aproximadamente 30 mL.

El enema prellenado típicamente comprende una sola dosis
10 unitaria del oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod. El término "dosis unitaria única" se refiere a la formulación del oligonucleótido repartido en una dosis que comprende la cantidad del compuesto especificado.

Típicamente, el enema prellenado comprende desde 100 a
15 650 mg del oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod. Por ejemplo, el enema prellenado puede comprender una dosis desde 100 a 350 mg del oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod. El enema prellenado puede comprender una dosis desde 350 a 650 mg del oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod. El enema
20 prellenado puede comprender una dosis desde 150 a 350 mg del oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod. El enema prellenado puede comprender una dosis de aproximadamente 125 mg del oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod. El enema prellenado puede comprender una dosis de aproximadamente 250
25 mg del oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod. El enema

prellenado puede comprender una dosis de aproximadamente 500 mg del oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod.

Por lo tanto, la invención proporciona un enema prellenado adecuado para una autoadministración, el enema
5 prellenado que comprende:

(a) un recipiente que comprende una botella comprimible y un aplicador adecuado para dispensar la formulación, en donde el aplicador comprende una punta adecuada para su inserción en el recto, preferiblemente en donde la botella y
10 el aplicador están hechos de plástico, preferiblemente en donde el aplicador además comprende una válvula de retención;

(b) una formulación adecuada para su administración rectal que comprende un oligonucleótido, preferiblemente cobitolimod, (ii) por lo menos un conservador que comprende
15 uno o más parabenos y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico y una sal de fosfato.

Por ejemplo, el enema prellenado puede comprender:

(a) un recipiente que comprende una botella en forma de acordeón y un aplicador adecuado para dispensar la
20 formulación, en donde el aplicador comprende una punta adecuada para la inserción en el recto, en donde la botella y el aplicador están formados de polietileno, preferiblemente en donde el aplicador comprende una válvula de retención; y dentro del recipiente

25 (b) una formulación adecuada para su administración

rectal que comprende (i) un oligonucleótido el cual es cobitolimod en una cantidad desde 0.1 a 25 mg/mL, preferiblemente desde 0.5 a 15 mg/mL, (ii) por lo menos un conservador que comprende uno o más parabenos en una cantidad
5 desde 0.001 a 1% en peso de la formulación y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico y una sal de fosfato, la formulación que tiene un pH desde 6.0 a 8.0, preferiblemente un pH en el intervalo de 6.5 a 8.0.

El enema prellenado puede comprender:

10 (a) un recipiente que comprende una botella en forma de acordeón y un aplicador adecuado para dispensar la formulación, en donde el aplicador comprende una punta adecuada para su inserción en el recto, en donde ambos, la botella y el aplicador están formados por polietileno,
15 preferiblemente polietileno de baja densidad, preferiblemente en donde el aplicador comprende una válvula de retención; y dentro del recipiente;

(b) una formulación adecuada para su administración rectal que comprende (i) un oligonucleótido el cual es
20 cobitolimod en una cantidad desde 0.1 a 25 mg/mL, preferiblemente desde 0.5 a 15 mg/mL, (ii) por lo menos un conservador que comprende Na-metilparabeno y/o Na-propilparabeno, en donde el por lo menos un conservador está presente en una cantidad desde 0.001 a 1% en peso de la
25 formulación y (iii) una solución amortiguadora que comprende

ácido cítrico e hidrogenofosfato disódico (Na_2HPO_4), la formulación que tiene un pH desde 6.0 a 8.0, preferiblemente un pH en el intervalo de 6.5 a 8.0.

El enema prellenado puede comprender:

5 (a) un recipiente que comprende una botella en forma de acordeón y un aplicador adecuado para dispensar la formulación, en donde el aplicador comprende una punta adecuada para su inserción en el recto, en donde ambos, la botella y el aplicador están formados de polietileno,
10 preferiblemente polietileno de baja densidad, preferiblemente en donde el aplicador comprende una válvula de retención; y dentro del recipiente;

(b) una formulación adecuada para una administración rectal que comprende (i) un oligonucleótido el cual es
15 cobitolimod en una cantidad desde 0.1 a 25 mg/mL, preferiblemente desde 0.5 a 15 mg/mL, (ii) una combinación de Na-metilparabeno y/o Na-propilparabeno en una cantidad desde 0.001 a 1% en peso de la formulación y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico e hidrogenofosfato
20 disódico (Na_2HPO_4), la formulación que tiene un pH desde 6.0 a 8.0, preferiblemente un pH en el intervalo de 6.5 a 8.0.

Envase

La invención también proporciona un envase que comprende uno o más enemas prellenados como se describe aquí.

25 Típicamente, el envase comprende un gas de envasado. El

gas de envasado puede ser cualquier gas que ayude a evitar la degradación de la formulación. Preferiblemente, el gas de envasado es nitrógeno.

El envase suele ser un envase tipo blíster, que
5 comprende una o más bolsas en las cuales se sellan uno o más
enemas prellenados. Típicamente, cada enema prellenado se
sella en una sola bolsa, en este caso, cada enema prellenado
se envasa individualmente. Las personas experimentadas en la
técnica conocerán suficientemente los materiales adecuados
10 para el envasado en blísteres los cuales actúan como barrera
contra los gases en el entorno externo. El envase de blíster
típicamente comprende un blíster sellado con una lámina de
tapa. Los materiales típicos para el blíster incluyen los
plásticos tal como tereftalato de polietileno (PET),
15 polietileno (PE), alcohol etilenvinílico (EVOH). La lámina de
tapa típicamente comprende una capa de barrera de metal, por
ejemplo, una capa de barrera de aluminio, y puede comprender
otras capas para reforzar el envase, tal como capas de
plástico y/o papel. Por ejemplo, el envase de blíster puede
20 comprender un blíster hecho de tres capas, tal como una capa
de PET/PE, una capa de EVOH (alcohol etilenvinílico) y una
capa de PE. La lámina de tapa puede comprender capas de papel,
aluminio y PE.

La una o más bolsas típicamente contienen un gas de
25 envasado, preferiblemente nitrógeno.

Uso medico

La invención también proporciona una formulación como se describe aquí para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria intestinal. Preferiblemente, la enfermedad
5 inflamatoria del intestino es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

La formulación típicamente se administra por vía tópica a las membranas mucosas. Preferiblemente, la formulación se administra por vía rectal. La formulación se puede administrar
10 por vía rectal con el uso del enema prellenado como se describe aquí. Típicamente, la formulación se autoadministra con el uso del enema prellenado como se describe aquí.

La invención también proporciona un método para tratar una enfermedad inflamatoria del intestino en un sujeto, el
15 método que comprende administrar por vía rectal al sujeto la formulación como se describe aquí. Preferiblemente, la enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

Como se usa aquí, el término "sujeto" se refiere a un
20 sujeto/paciente humano. Los términos "sujeto" y "paciente" se usan de forma intercambiable aquí.

Típicamente, la formulación se administra con el uso del enema prellenado como se describe aquí. Preferiblemente, la formulación es autoadministrada por el sujeto con el uso del
25 enema prellenado como se describe aquí.

Típicamente, el sujeto no ha sido sometido a una limpieza colónica antes de la administración. Por lo tanto, para cualquier sujeto como se describe aquí, y para cualquier formulación o enema prellenado como se describe aquí, típicamente, el sujeto no ha sido sometido a limpieza colónica antes de la administración. Por lo tanto, una ventaja del enema prellenado de la invención es que no se requieren pasos de preparación complejos para la administración eficaz de la formulación.

10 Tal como se usa aquí, la referencia hacia un sujeto "que no se ha sometido a una limpieza del colon" pretende definir un sujeto que no se ha sometido a una limpieza del colon en un período de tiempo anterior a la administración de la formulación para reducir la cantidad de materia fecal en el colon tratado con el oligonucleótido. De ese modo, típicamente el sujeto no ha sido sometido a una limpieza colónica durante 1 hora antes del tratamiento con la formulación, típicamente durante 4 horas antes del tratamiento con la formulación, preferiblemente durante 8 horas antes del tratamiento con la formulación, más preferiblemente durante 12 horas antes del tratamiento con la formulación, más preferiblemente durante 24 horas antes del tratamiento con la formulación, más preferiblemente durante 48 horas antes del tratamiento con la formulación.

25 Típicamente, la limpieza colónica se puede efectuar

mediante cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, la administración de un laxante.

Típicamente, el sujeto tiene materia fecal luminal. Típicamente, el sujeto tiene materia fecal la cual recubre o
5 está próxima a las células epiteliales del colon tratadas con la formulación que comprende el oligonucleótido. El sujeto puede tener material fecal en el lumen que no esté directamente en contacto con las células epiteliales del colon tratadas con la formulación que comprende el oligonucleótido.
10 El sujeto puede tener material fecal en el lumen que recubre o está próximo a las células epiteliales del colon tratadas con la formulación que comprende el oligonucleótido y material fecal en el lumen que no está directamente en contacto con las células epiteliales del colon tratadas con el oligonucleótido.
15 Más preferiblemente, la cantidad de la materia fecal es la cantidad normal la cual se esperaría en un paciente que nunca se ha sometido a una limpieza del colon.

La invención también proporciona el uso de una formulación como se describe aquí para la fabricación de un
20 medicamento para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal. Preferiblemente, la enfermedad inflamatoria del intestino es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

Como se usa aquí, el término enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) se refiere a un grupo de afecciones
25 inflamatorias del colon y del tracto gastrointestinal. Los

principales tipos de IBD son la colitis ulcerosa (UC, por sus siglas en inglés) y la enfermedad de Crohn. La principal diferencia entre la UC y la enfermedad de Crohn es la ubicación y la naturaleza de los cambios inflamatorios. La enfermedad de Crohn puede afectar cualquier parte del tracto gastrointestinal, desde la boca hasta el ano, mientras que la UC está restringida al colon y al recto. En algunos casos, no se puede hacer un diagnóstico definitivo de la enfermedad de Crohn o UC debido a idiosincrasias en la presentación. En estos casos se puede hacer un diagnóstico de colitis indeterminada. Otras formas de IBD incluyen, entre otras, colitis colágena, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis por derivación, enfermedad de Behçet y colitis indeterminada.

Típicamente, la enfermedad inflamatoria intestinal es la colitis ulcerosa (UC).

La enfermedad de colitis ulcerosa (UC) es suficientemente conocida por las personas experimentadas en la técnica. La colitis ulcerosa tratada de acuerdo con la presente invención puede involucrar el tratamiento de proctitis ulcerosa, colitis distal o del lado izquierdo, colitis extensa, pancolitis y reservoritis. Típicamente, el paciente sufre de colitis ulcerosa del lado izquierdo.

Los pacientes con UC típicamente presentan un espectro de gravedad de la enfermedad que va desde la remisión hasta la

actividad grave. La evaluación clínica se puede utilizar para clasificar a los pacientes con UC en 4 subgrupos de actividad de la enfermedad como se define en D'Haens, Gastroenterology 2007; 132: 763-786, cuya totalidad se incorpora aquí como

5 referencia: (1) remisión (≤ 2 o 3 deposiciones/día, sin presencia de sangre y/o pus en las deposiciones, sin síntomas sistémicos); (2) enfermedad levemente activa (3 o 4 deposiciones/día y/o la presencia de sangre y/o pus en las deposiciones menos de una vez al día, sin síntomas sistémicos

10 de fiebre o pérdida de peso); (3) enfermedad moderadamente activa (>4 deposiciones/día y/o la presencia diaria de sangre y/o pus) con síntomas sistémicos mínimos; y (4) enfermedad gravemente activa (>6 deposiciones con sangre/día y evidencia de toxicidad, demostrada por fiebre, taquicardia, anemia o

15 velocidad de sedimentación eritrocítica ESR). Las evaluaciones clínicas se pueden clasificar con otras puntuaciones, por ejemplo, la Puntuación de Mayo, o variaciones de la misma, u otros índices.

Típicamente, el paciente padece de UC de moderada a

20 grave. Preferiblemente, el paciente padece de UC desde moderada a grave tal como se define anteriormente. Por ejemplo, el paciente puede estar padeciendo de UC del lado izquierdo desde moderada a grave.

Como se usan aquí, las palabras "tratamiento" y "que

25 trata" se deben entender como que comprenden el tratamiento

y/o la mejora y/o la prevención o la reducción del agravamiento/empeoramiento de los síntomas de una enfermedad o afección, así como el tratamiento de la causa de la enfermedad o condición, y puede incluir revertir, reducir o detener los
5 síntomas, signos clínicos y patología subyacente de una condición de una manera para mejorar o estabilizar la condición de un sujeto.

En particular, en el contexto de la colitis ulcerosa, "tratar" típicamente se refiere a inducir una respuesta o
10 remisión en un paciente que tiene colitis ulcerosa activa. Así, típicamente, el oligonucleótido es para inducir la respuesta o la remisión de la colitis ulcerosa activa en un paciente. Inducir la respuesta significa mejorar el estado de un paciente, por ejemplo, al reducir y/o detener los síntomas
15 y signos clínicos de la enfermedad activa. Inducir la remisión significa hacer que un paciente pase de un estado en donde se considera que se encuentra en una etapa activa de la enfermedad a un estado en donde se considera que está en remisión. "Que trata" se puede referir a mantener a un
20 paciente en remisión.

La inducción de la respuesta o remisión en pacientes con UC generalmente se evalúa mediante uno o más de los resultados de la endoscopia, la histología, los registros del paciente y los resultados de la calidad de vida. Por lo tanto, la
25 referencia a la inducción de respuesta o remisión incluye la

inducción de uno o más de la remisión endoscópica, la respuesta endoscópica, remisión histológica, respuesta histológica, respuesta o remisión determinada por el médico o por los resultados registrados por el paciente, y respuesta o
5 remisión determinada por la calidad de vida. Esto típicamente se puede evaluar por referencia a uno o más índices estándares.

Típicamente, la colitis ulcerosa es una colitis ulcerosa crónica activa, en este caso, el paciente que padece una
10 colitis ulcerosa crónica que se encuentra en una fase activa.

Como se usa aquí, el término "colitis ulcerosa crónica activa" se refiere a pacientes con colitis ulcerosa, la cual es tanto activa como crónica. La colitis ulcerosa activa típicamente es como se define aquí, en este caso, el paciente
15 no está en remisión. La colitis ulcerosa típicamente es una condición crónica (de largo plazo) que alterna entre fases activas y menos activas. Como entenderían las personas experimentadas en la técnica, un paciente que padece colitis ulcerosa crónica pasa por las fases activas ("brotes" o
20 recaídas) con síntomas más extremos intercalados con períodos en los cuales el paciente experimenta síntomas más leves o está en remisión. Por lo tanto, el término "CU crónica activa" generalmente se refiere a un paciente con UC crónica quien se encuentra en un estado de enfermedad activa.

25 El paciente puede estar padeciendo de UC crónica activa

desde moderada a grave. El paciente puede estar padeciendo de UC crónica activa desde moderada a grave del lado izquierdo.

Preferiblemente, la referencia aquí a "que trata" se refiere a inducir una respuesta o remisión en un paciente que
5 tiene colitis ulcerosa crónica activa. Así, típicamente, el oligonucleótido es para inducir una respuesta o la remisión de la colitis ulcerosa activa crónica en un paciente.

La inducción de respuesta o remisión en pacientes con UC se puede determinar de acuerdo con uno o más índices
10 estándares de la enfermedad. Los índices de enfermedad típicos incluyen, sin ser una limitación, los mencionados a continuación; (i) actividad de la enfermedad determinada por la actividad de la enfermedad clínica y bioquímica, (ii) actividad de la enfermedad determinada por la actividad de la
15 enfermedad endoscópica, (iii) actividad de la enfermedad determinada por índices compuestos de actividad de la enfermedad clínica y endoscópica, (iv) calidad de vida, (v) actividad de enfermedad histológica. Estos índices se discuten en D'Haens (ibid).

20 Los índices basados en la actividad de la enfermedad determinada por la actividad clínica y bioquímica de la enfermedad incluyen el Índice de Gravedad de Truelove y Witts; Índice de Powell-Tuck (San Marcos); índice de actividad clínica (Rachmilewitz); índice de actividad (Seo); Evaluación
25 Global del Médico; Índice Lichtiger (Truelove Modificado y

Witts Severity); Evaluación Global de Investigadores; Índice de Actividad de Colitis Clínica Simple; Mejora Basada en Puntajes de Síntomas Individuales; Puntuación Clínica de la Colitis Ulcerosa; y remisión definida del paciente. Estos
5 índices se discuten en D'Haens (ibid).

Los índices basados en la actividad de la enfermedad determinada por la actividad de la enfermedad endoscópica incluyen la evaluación sigmoidoscópica de Truelove y Witts; Puntuación de Baron; Evaluación Sigmoidoscópica de Powell-
10 Tuck; Índice Endoscópico (Rachmilewitz endoscópico); Índice Sigmoidoscópico; Puntuación del Grado de Inflamación Sigmoidoscópica; Evaluación de Proctosigmoidoscopia Flexible de Puntuación de Mayo; Evaluación de la Apariencia de Mucosa de Sutherland; y puntuación Baron modificada. Estos índices se
15 discuten en D'Haens (ibid).

Los índices basados en la actividad de la enfermedad determinada por los índices de actividad de enfermedad clínica y endoscópica compuesta incluyen la Puntuación de Mayo (puntuación Clínica de Mayo/Índice de Actividad de la
20 enfermedad); Puntuación de Mayo modificada y el Índice de Sutherland (Índice de actividad de la enfermedad/Índice de Actividad de la Enfermedad de la UC). Los índices de la Puntuación de Mayo y Sutherland se discuten en D'Haens (ibid).

Los índices basados en la calidad de vida incluyen el
25 Formulario de Calificación de las Preocupaciones de los

Pacientes con IBD; y el Cuestionario de Enfermedad Inflamatoria Intestinal (IBDQ). Estos índices se discuten en D'Haens (ibid).

Los índices basados en la actividad histológica de la enfermedad incluyen los discutidos en D'Haens (ibid) tal como el Índice de Geboes y el Índice de Riley y otros índices tales como el Índice Histológico de Nancy y el Índice de Histopatología de Robarts.

El índice preferido para evaluar a los pacientes con UC en el desarrollo de fármacos clínicos es la Puntuación de Mayo y las Puntuaciones de Mayo Modificadas, tal como se describe en las directrices de las agencias reguladoras, la Agencia Médica Europea (EMA) y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) (Documento Guía: Ulcerative Colitis: Trial Endpoints Guidance for Industry, agosto de 2016, número de expediente FDA-2016-D-2319; EMA, Directriz sobre el desarrollo de nuevos medicamentos para el tratamiento de la colitis ulcerosa, 21 de julio de 2016).

El Índice de Actividad Clínica (Rachmilewitz) es un índice que toma en cuenta 7 variables: número de deposiciones, sangre en las deposiciones, evaluación global del investigador del estado sintomático, dolor o calambres abdominales, temperatura debido a colitis, manifestaciones extraintestinales y hallazgos de laboratorio. Esto se discute más en D'Haens (ibid) y Rachmilewitz D., BMJ 1989; 298: 82-86,

cuya totalidad se incorpora aquí como referencia. La determinación del índice de actividad clínica (Rachmilewitz) produce una puntuación para un paciente que oscila entre 0 y 29 puntos (las puntuaciones más altas significan una enfermedad más grave).

La remisión clínica se puede considerar como una puntuación del índice de actividad clínica (Rachmilewitz) ≤ 4 puntos. La respuesta determinada por el índice de Actividad Clínica (Rachmilewitz) significa que el paciente tiene una puntuación más baja después del tratamiento que antes del tratamiento.

La Puntuación de Mayo es un índice que tiene en cuenta 4 elementos: frecuencia de las deposiciones, sangrado rectal, hallazgos de la endoscopia y Evaluación Global del Médico (PGA). Esto se discute adicionalmente en D'Haens (ibid) y Schroeder KW et al., N Engl J Med 1987; 317: 1625-1629, cuya totalidad se incorpora aquí como referencia. La determinación de la Puntuación de Mayo produce una puntuación que oscila entre 0 y 12 puntos (las puntuaciones más altas significan una enfermedad más grave). Además de los cuatro elementos específicos, también se mide la evaluación funcional de un paciente que no se debe incluir en el cálculo del índice de 12 puntos, pero se debe usar como una medida del bienestar general al determinar la puntuación PGA.

La Puntuación de Mayo para cada uno de los 4 elementos

se determina como se establece en la siguiente Tabla.

Puntaje	Frecuencia de deposiciones ^b	Sangrado rectal ^c	Evaluación global del médico ^d	Hallazgo de colonoscopia/sigmoidoscopia
0	Número normal de deposiciones para este paciente	No se ve sangre	Normal o sin enfermedad	Enfermedad normal o inactiva
1	1 a 2 deposiciones más que lo normal	Rayas de sangre con heces menos de la mitad del tiempo	Enfermedad leve	Enfermedad leve (eritema, patrón vascular disminuido, friabilidad leve)
2	3 a 4 deposiciones más que lo normal	Sangre evidente en las heces la mayor parte del tiempo	enfermedad moderada	Enfermedad moderada (eritema marcado, falta de patrón vascular, friabilidad, erosiones)
3	5 o más deposiciones más que lo normal	Pasó sangre sola	Enfermedad severa	Enfermedad grave (sangrado espontáneo, ulceración)

^bCada paciente funciona como su propio control para establecer el grado de anormalidad de la frecuencia de las deposiciones.

^cLa puntuación de sangrado diario representa el sangrado más grave del día.

^dLa evaluación global del médico reconoce los otros 3 criterios, el registro diario del malestar abdominal y la sensación general de bienestar del paciente, y otras observaciones, tal como los hallazgos físicos y el estado funcional del paciente.

La remisión de acuerdo con la Puntuación de Mayo se puede definir como la resolución completa de (1) frecuencia de

deposiciones (frecuencia de deposiciones normal), (2) sangrado rectal (sin sangrado rectal), (3) puntaje de evaluación funcional del paciente (generalmente bien), (4) resultados de la endoscopia (normales) y una puntuación de PGA de 0. La
 5 respuesta de acuerdo con lo determinado por la Puntuación de Mayo generalmente requiere una mejora (una disminución mínima de 1 punto desde el inicio de estudio) en la puntuación de PGA y una mejora en por lo menos otra evaluación clínica (frecuencia de deposiciones, sangrado, valoración funcional
 10 del paciente, hallazgos endoscópicos) y sin empeoramiento en ninguna otra valoración clínica.

Alternativamente, la remisión clínica se puede definir como una Puntuación de Mayo de 0 y la mejoría clínica (respuesta) como una disminución desde el inicio de estudio en
 15 la Puntuación de Mayo ≥ 3 puntos.

Alternativamente, la remisión clínica puede definirse como una Puntuación de Mayo de 0 y una mejora clínica (respuesta) como una disminución desde el valor inicial de estudio en la Puntuación de Mayo ≥ 3 puntos (o una disminución
 20 de ≥ 2 puntos si la Puntuación de Mayo inicial era de ≤ 3 puntos).

Alternativamente, la remisión como se determina por la Puntuación de Mayo se puede definir como que requiere subpuntuaciones de 0 tanto para la sigmoidoscopia como para el
 25 sangrado rectal y una puntuación de 0 o 1 para la frecuencia

de deposiciones y las subpuntuaciones de PGA. La respuesta se puede definir como una disminución desde el inicio de estudio en el Puntaje de Mayo ≥ 3 puntos; la respuesta clínica se puede definir como una disminución desde el inicio de estudio en la Puntuación de Mayo (sin la puntuación secundaria de endoscopia, también conocida como Puntuación de Mayo Parcial) ≥ 2 puntos, y la respuesta endoscópica se puede definir como una disminución desde el inicio en la subpuntuación endoscópica ≥ 1 punto.

Alternativamente, la remisión clínica se puede definir como una Puntuación de Mayo total de ≤ 2 puntos sin subpuntuación individual > 1 punto, la respuesta clínica puede definirse como una disminución desde el inicio de estudio en la puntuación total de Mayo ≥ 3 puntos y $\geq 30\%$ y una disminución en la subpuntuación de sangrado rectal ≥ 1 punto o una subpuntuación absoluta de sangrado rectal de 0 o 1, y la cicatrización de la mucosa se puede definir como una subpuntuación absoluta de endoscopia de 0 o 1.

En una modalidad, los pacientes que tienen colitis ulcerosa activa tienen una Puntuación de Mayo > 2 . Los pacientes quienes se encuentran en una fase de remisión de la colitis ulcerosa suelen tener una Puntuación de Mayo ≤ 2 .

La Puntuación de Mayo modificada está relacionada con la Puntuación de Mayo, la cual se definió anteriormente. La Puntuación de Mayo modificada es cualquier modificación de la

Puntuación de Mayo. La lectura central para la evaluación de endoscopia es ahora un estándar en el desarrollo de fármacos. Las recomendaciones de la FDA para la Puntuación de Mayo modificada son que la puntuación de la
5 colonoscopia/sigmoidoscopia tiene menos en cuenta la friabilidad en el grado 1. Además, la FDA recomienda eliminar la PGA de la puntuación, ya que incluye un grado de evaluación subjetiva. Esas dos modificaciones son generalmente las que se conocen como la Puntuación de Mayo Modificada.

10 Los valores de remisión y respuesta para la Puntuación de Mayo modificada se definen en el desarrollo clínico y pueden variar ligeramente entre los diferentes fármacos. Se puede encontrar información adicional en "Ulcerative Colitis: Clinical Trial Endpoints Guidance for Industry" que se
15 encuentra en <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM515143.pdf>.

La inducción de la remisión de la UC puede estar de acuerdo con los criterios establecidos en S.P.L. Travis,
20 Aliment Pharmacol Ther 2011; 34: 113-124, la totalidad de la cual se incorpora aquí como referencia, en este caso, el cese completo del sangrado rectal, la urgencia y el incremento de la frecuencia de las deposiciones, confirmado preferiblemente por cicatrización endoscópica de la mucosa.

25 Alternativamente, la inducción de la respuesta o remisión

puede estar de acuerdo con los criterios establecidos en E.F. Stange, *Journal of Crohn's and Colitis* (2008) 2, 1-23; S.P.L. Travis, *Journal of Crohn's and Colitis* (2008) 2, 24-62; K. Geboes, *Gut* 2000; 47: 404-409; la totalidad de los cuales se
 5 incorporan aquí por referencia.

La inducción de respuesta o remisión en pacientes con enfermedad de Crohn se puede determinar de acuerdo con uno o más índices estándares de enfermedad. Los índices típicos incluyen el índice de actividad de la enfermedad de Crohn
 10 (CDAI). El CDAI se analiza en Love, "Pharmacotherapy for Moderate to Severe Inflammatory Bowel Disease: Evolving Strategies", *Am J Manag Care*. 2016;22:S39-S50; Peyrin-Biroulet et al. "Defining disease severity in inflammatory bowel diseases: current and future directions" *Clin Gastroenterol*
 15 *Hepatol*. 2015; pii: S1542-3565(15)00787-00789. doi: 10.1016/j.cgh.2015.06.001; y Ungar et al. "Advances in the development of new biologics in inflammatory bowel disease", *Annals of Gastroenterology* (2016) 29, 243-248. Los índices alternativos para evaluar a los pacientes con enfermedad de
 20 Crohn incluyen el índice de Harvey-Bradshaw y el Cuestionario de Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

CDAI es una puntuación compuesta que toma en cuenta una gran cantidad de síntomas asociados con la enfermedad de Crohn, incluida la cantidad de heces líquidas o blandas; dolor
 25 abdominal; Bienestar general; presencia de complicaciones

(presencia de dolores articulares (artralgia) o artritis franca; inflamación del iris o uveítis; presencia de eritema nodoso, pioderma gangrenoso o úlceras aftosas; fisuras, fístulas o abscesos anales; otras fístulas; fiebre durante la
5 semana previa); uso de lomotil u opiáceos para la diarrea; presencia de una masa abdominal; valor de hematocrito; y porcentaje de desviación del peso estándar. La remisión clínica de acuerdo con el CDAI generalmente se indica con una puntuación de <150.

- 10 El sujeto tratado de acuerdo con la presente invención típicamente es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a la terapia antiinflamatoria y/o muestra o ha mostrado previamente una respuesta inadecuada, una pérdida de respuesta o intolerancia a por lo menos un inmunomodulador,
- 15 inhibidor de $\text{TNF-}\alpha$, anti-integrina, inhibidores de JAK o inhibidor de IL-12/IL-23 (también conocidos como terapias avanzadas). El sujeto tratado de acuerdo con la presente invención típicamente es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a la terapia antiinflamatoria.
- 20 El sujeto tratado de acuerdo con la presente invención típicamente es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a por lo menos un inmunomodulador. El sujeto tratado de acuerdo con la presente invención típicamente es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante
- 25 a por lo menos un inhibidor de $\text{TNF-}\alpha$.

De esa manera, típicamente, el sujeto ha recibido previamente o está recibiendo terapia antiinflamatoria, preferiblemente terapia antiinflamatoria para UC y/o terapia inmunomoduladora, inhibidora de TNF- α o anti-integrina, 5 preferiblemente tal terapia para UC.

Las terapias antiinflamatorias para la UC se discuten aquí y generalmente incluyen corticosteroides orales y glucocorticosteroides (GCS, por sus siglas en inglés), sulfasalazina y 5-ASA. De esa manera, el sujeto tratado de 10 acuerdo con la presente invención típicamente es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a los GCS, sulfasalazina y/o 5-ASA. Típicamente, el sujeto tratado de acuerdo con la presente invención es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a los corticosteroides 15 orales.

Los inmunomoduladores, los inhibidores de TNF- α y las antiintegrinas se analizan aquí y generalmente incluyen azatioprina, 6-mercaptopurina y productos biológicos, incluidos los inhibidores de TNF- α infliximab y biosimilares y 20 derivados de los mismos, golimumab y biosimilares y derivados de los mismos, adalimumab y biosimilares y derivados de los mismos y anti-integrinas vedolizumab y biosimilares y derivados de los mismos. De esa manera, el sujeto tratado de acuerdo con la presente invención típicamente es refractario o 25 responde de manera insuficiente o es intolerante a

azatioprina, 6-mercaptopurina, infliximab y biosimilares y derivados de los mismos, golimumab y biosimilares y derivados de los mismos, adalimumab y biosimilares y derivados de los mismos y anti-integrina vedolizumab y biosimilares y derivados de los mismos. Típicamente, el sujeto tratado de acuerdo con la presente invención es refractario o responde de manera insuficiente, o es intolerante a la azatioprina y/o 6-mercaptopurina. Típicamente, el sujeto tratado de acuerdo con la presente invención es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a infliximab y/o adalimumab. El sujeto tratado de acuerdo con la presente invención puede ser refractario o responder de manera insuficiente o ser intolerante a los inhibidores de JAK (por ejemplo, tofacitinib). El sujeto tratado de acuerdo con la presente invención puede ser refractario o responder de manera insuficiente o ser intolerante al inhibidor de IL-12/IL23 (por ejemplo, ustekinumab).

Una enfermedad refractaria o una enfermedad que responde de manera insuficiente a la terapia típicamente es una enfermedad en donde los signos y síntomas de la enfermedad activa persisten a pesar de un historial de por lo menos un curso de terapia, por ejemplo, terapia antiinflamatoria o terapia inmunomoduladora, en el contexto de la presente invención. Por lo general, en el contexto del tratamiento de la CU, los signos y síntomas de la enfermedad activa persisten

a pesar de los antecedentes de dos o más ciclos de terapia antiinflamatoria o terapia inmunomoduladora. Un curso típico de tratamiento con terapia antiinflamatoria o inmunomoduladora para la UC sería suficientemente entendido por una persona
5 experimentada en la técnica, y típicamente involucraría un número suficiente de dosis en una dosificación suficiente para inducir la remisión en un paciente típico.

La intolerancia a la terapia, por ejemplo, la terapia antiinflamatoria o la terapia inmunomoduladora, incluidas las
10 denominadas terapias avanzadas, en el contexto de la presente invención, significa que la terapia ha causado efectos secundarios en el sujeto que no son tolerados, por ejemplo, que típicamente conducen a una interrupción de la terapia.

Típicamente, el sujeto ha recibido previamente o está
15 recibiendo ácido aminosalicílico (5-ASA), preferiblemente una terapia con 5-ASA para UC.

Típicamente, el sujeto ha recibido previamente o está recibiendo Glucocorticosteroides orales (GCS), preferiblemente una terapia oral con GCS para UC.

20 Por lo general, el sujeto el cual es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a la terapia antiinflamatoria muestra o ha mostrado previamente una respuesta inadecuada o pérdida de respuesta (en este caso, es refractario) o intolerancia a la terapia rectal, oral y/o
25 parenteral. Tratamiento con GCS (incluido tratamiento sin GCS

debido a un efecto secundario anterior).

Por lo general, el sujeto quien es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a la terapia antiinflamatoria tiene antecedentes o un estado actual de una
5 respuesta inadecuada (por ejemplo, refractario a los esteroides) a, dependencia de esteroides OR, pérdida de respuesta a OR, intolerancia a tratamiento con GCS. Los esteroides/GCS típicamente habrán sido recibidos por el sujeto en el curso del tratamiento de la colitis ulcerosa.

10 Refractario a los esteroides generalmente se refiere a un sujeto que carece de una respuesta clínica significativa, en este caso, muestra signos y síntomas de colitis ulcerosa persistentemente activa, a pesar de un historial de por lo menos un ciclo de tratamiento con esteroides, por ejemplo, un
15 régimen de inducción que incluía una dosis equivalente a la prednisona de 40-60 mg diarios durante un período de 30 días para una administración oral o durante un período de 7 a 10 días para una administración intravenosa (IV).

La dependencia de esteroides generalmente se refiere a un
20 paciente que no puede reducir los esteroides por debajo del equivalente a 10 mg/d de prednisolona dentro de los 3 meses posteriores al inicio de los esteroides, sin colitis ulcerosa activa recurrente, o que tiene una recaída dentro de los 3 meses posteriores a la suspensión de los esteroides.

25 La intolerancia al tratamiento con GCS generalmente

significa que el sujeto ha experimentado efectos secundarios no tolerados por el sujeto después del tratamiento con GCS, tal como, sin ser una limitación, el síndrome de Cushing, osteopenia/osteoporosis, hiperglucemia, insomnio o infección.

5 Típicamente, el sujeto el cual es refractario o responde insuficientemente o es intolerante a un inmunomodulador muestra o ha mostrado previamente una respuesta inadecuada o pérdida de respuesta (en este caso, es refractario) o intolerancia a un inmunomodulador. Por ejemplo, el sujeto el
10 cual es refractario o responde de manera insuficiente o es intolerante a un inhibidor de TNF- α muestra o ha mostrado previamente una respuesta inadecuada o pérdida de respuesta (en este caso, es refractario) o intolerancia a un inhibidor de TNF- α .

15 Una respuesta inadecuada o pérdida de respuesta a un inmunomodulador generalmente significa que los signos y síntomas de colitis ulcerosa activa persisten a pesar del tratamiento previo con por lo menos un inmunomodulador, por ejemplo, un régimen de 8 semanas de azatioprina oral (≥ 1.5
20 mg/kg) o 6-mercaptopurina (≥ 0.75 mg/kg).

La intolerancia a un inmunomodulador típicamente significa que el sujeto ha experimentado náuseas/vómitos, dolor abdominal, pancreatitis, anomalías en las pruebas de función hepática (LFT), linfopenia, mutación genética de la
25 tiopurina metiltransferasa (TPMT), o infección u otros efectos

secundarios después de recibir un inmunomodulador.

Una respuesta inadecuada o pérdida de respuesta a un inhibidor de TNF- α significa que los signos y síntomas de colitis ulcerosa activa persisten a pesar del tratamiento
5 previo con por lo menos un inhibidor de TNF- α , tal como el régimen de inducción de 4 semanas (o las dosis recomendadas de acuerdo con lo etiquetado actualmente) de infliximab (5 mg/kg (IV), 2 dosis con por lo menos 2 semanas de diferencia) o un biosimilar o derivado del mismo; golimumab (200/100 mg (SC), 2
10 dosis con por lo menos 2 semanas de diferencia) o un biosimilar o derivado del mismo; o adalimumab (160/80 mg (SC), 2 dosis con por lo menos 2 semanas de diferencia) o un biosimilar o derivado del mismo o recurrencia de los síntomas durante la dosis de mantenimiento después de un beneficio
15 clínico previo.

La intolerancia a un inhibidor de TNF- α significa una reacción relacionada con la infusión, desmielinización, insuficiencia cardíaca congestiva, infección u otros efectos secundarios después de recibir un inhibidor de TNF- α .

20 Una respuesta inadecuada o pérdida de respuesta a una antiintegrina significa que los signos y síntomas de colitis ulcerosa activa persisten a pesar del tratamiento previo con una antiintegrina, por ejemplo, un régimen de por lo menos 10 semanas de vedolizumab 300 mg (IV) o un biosimilar o derivado
25 del mismo, o como se recomienda en lo etiquetado actualmente,

o recurrencia de los síntomas durante la dosificación de mantenimiento después de un beneficio clínico previo.

Típicamente, al sujeto se le ha diagnosticado colitis ulcerosa del lado izquierdo, en este caso, colitis distal, 5 incluida la proctosigmoiditis. Por ejemplo, el sujeto puede haber sido diagnosticado con colitis ulcerosa del lado izquierdo de moderada a grave.

Típicamente, el sujeto es electivo para colectomía.

Como se usa aquí, el término "colectomía" se refiere a la 10 resección quirúrgica de cualquier extensión del intestino grueso (colon). Aquí, la colectomía incluye, pero no se limita a, hemicolectomía derecha, hemicolectomía izquierda, hemicolectomía extendida, colectomía transversa, sigmoidectomía, proctosigmoidectomía, operación de Hartmann, 15 colostomía de "doble barril" o Mikulicz, colectomía total (también conocida como operación de Lane), colectomía total procto-colectomía y colectomía subtotal. Como se usa aquí, la frase "electiva para colectomía" se refiere a un sujeto que puede elegir someterse al procedimiento de colectomía que no 20 es de emergencia con base en la evaluación del médico y el cirujano. Los sujetos electivos para colectomía pueden ser, entre otros, sujetos refractarios a la terapia disponible (para colitis ulcerosa) o intolerantes a la terapia disponible (para colitis ulcerosa). Esto difiere de la colectomía de 25 emergencia, la cual es una intervención aguda para sujetos con

enfermedades o lesiones agudas y que requieren atención médica inmediata. La frase también incluye a sujetos que son elegidos para colectomía.

La invención también proporciona la formulación como se describe aquí o el enema prellenado como se describe aquí para su uso en la prevención de la recurrencia de la colitis ulcerosa activa en un paciente.

Por lo tanto, la formulación se puede usar como terapia de mantenimiento. En el contexto de este aspecto de la presente invención, la referencia a la prevención de la recurrencia de la colitis ulcerosa activa pretende referirse a la prevención de la recurrencia de la fase activa de la enfermedad, en este caso, mantener a un paciente en remisión y proporcionar una terapia de mantenimiento. Por lo tanto, la presente invención se refiere al uso de la formulación como se describe aquí para prevenir la recurrencia o la recaída en la fase activa de la colitis ulcerosa. La formulación como se presentó aquí anteriormente se puede usar como terapia de mantenimiento para prevenir la recurrencia o la recaída de los síntomas asociados con la colitis ulcerosa activa y/o para mejorar la condición del paciente.

El paciente puede ser cualquier paciente o sujeto como se describe aquí. Por ejemplo, el paciente puede estar padeciendo de cualquier tipo de colitis ulcerosa como se describe aquí. Típicamente, al sujeto se le ha diagnosticado colitis ulcerosa

del lado izquierdo, en este caso, colitis distal, incluida la proctosigmoiditis.

Típicamente, el paciente ha sido tratado previamente por colitis ulcerosa activa, por ejemplo, el paciente puede haber
5 recibido previamente uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de la colitis ulcerosa activa. El uno o más agentes terapéuticos pueden comprender el oligonucleótido de la SEC ID NO:2 como se describe aquí. El uno o más agentes terapéuticos pueden comprender cualquier otro agente
10 terapéutico usado para tratar la colitis ulcerosa, como se describe aquí.

El uso del cobitolimod como terapia de mantenimiento se describe en WO 2020/099585, cuyo contenido se incorpora como referencia.

15

Ejemplos

Ejemplo 1: estudios de degradación

En el caso del cobitolimod, la principal impureza observada en la sustancia de fármaco (y el producto de fármaco) es la principal impureza relacionada con el producto
20 el N-3'PO/N-5'PO con el tiempo de retención relativo (RRT, por sus siglas en inglés) de 0.95-0.96 (con el uso de HPLC IP-RP). Esta impureza se forma por oxidación de un fosfotioato al PO correspondiente, en este caso, un átomo de azufre se sustituye por un átomo de oxígeno. La impureza resultante tiene una
25 estructura más parecida al ADN endógeno regular en comparación

con el cobitolimod.

Durante los estudios iniciales de degradación forzada, el compuesto se sometió a un ciclo de secado por congelación (5 repeticiones) durante 5 días sin que se detectara degradación alguna.

La estabilidad térmica del cobitolimod a 50°C y 80°C también se probó durante 4 días. El almacenamiento de las muestras a 50°C no dio como resultado ninguna degradación del compuesto. A 80°C se registró una degradación significativa de aproximadamente 4% del área después de cuatro días. Los datos de LC/MS muestran que a una alta temperatura hay un incremento en los niveles de impureza de PO y también un incremento en los productos de depurinación y pirimidación, aunque estos están en niveles bajos. Estos productos de degradación son típicamente esperados para este tipo de oligonucleótido.

Se han realizado más estudios de degradación forzada por pH (ácido, base), oxidación y fotoexposición en muestras del mismo lote.

La exposición a ácido, peróxido y fotoexposición dio lugar a diversos grados de degradación.

No se observó degradación para las muestras expuestas a base.

La exposición al ácido y al peróxido dio lugar a un incremento de impurezas de PO- y N-1 y un incremento de los primeros picos de elución. Además, la foto exposición dio

lugar a un ligero incremento de las impurezas de PO y N-1. Como cobitolimod tiene una estructura principal de internucleotídico PO/PS, en la presencia de peróxido de hidrógeno, el PS se convierte en PO que forma la impureza PO
5 del cobitolimod.

Procedimientos analíticos:

Pureza, Impurezas y Ensayo por IP-RP-HPLC

La pureza, las impurezas y el ensayo del cobitolimod se determinan mediante IP-RP HPLC. Se prepara una solución
10 nominal de muestra de 0.5 mg/mL en agua purificada. El analito se eluye en una columna analítica C18, se mantiene bajo control de temperatura, con el uso de un sistema de disolvente gradiente. La detección se realiza por UV a 260 nm.

Pureza e Impurezas por IEX HPLC

15 La pureza e impurezas del cobitolimod también se pueden determinar mediante IEX HPLC. Se prepara una solución nominal de muestra de 1 mg/mL en agua purificada. El analito se eluye en una columna analítica DNAPac-100, se mantiene bajo control de temperatura, con el uso de un sistema de solución de
20 solución amortiguadora gradiente. La detección se realiza por UV a 260 nm.

Conclusión

El Cobitolimod muestra sensibilidad a la degradación bajo ciertas condiciones de almacenamiento. En particular, la
25 temperatura elevada, la exposición a ácidos y los agentes

oxidantes conducen a la degradación del cobitolimod. La degradación menor se podría detectar por exposición a la luz.

Ejemplo 2 - Formulaciones de enema y estudios de estabilidad

5 Se han fabricado varios lotes de solución rectal de cobitolimod, incluido un lote de 31 mg/50mL (V2263) y lotes de 250 mg/50 mL (V3009, V3080) y 500 mg/50 mL (V3045, V3081, V3112). La Tabla 2 siguiente resume las principales diferencias entre los diferentes lotes.

10 Tabla 1 - Componentes incluidos en los lotes de enema

15	Componente
	Cobitolimod
	Na-metilparabeno
	Na-propilparabeno
	Ácido cítrico anhidro
	Hidrogenofosfato de disodio dihidrato
	Agua, purificada

Tabla 2 - Principales diferencias entre lotes

20	Parámetro	Lote V2263	Lote V3009	Lote V3045	Comentario
	Concentración	31 mg/50 mL	250 mg/50 mL	500 mg/50 mL	Incremento de concentración de 500 mg/50 mL después de los resultados del estudio clínico CSUC-01/16 disponibles
25	Sistema de cierre del envase	Envase de PE con aplicador de PVC blando	Recipiente de PE con aplicador de PE blando	Recipiente de PE con aplicador de PE blando	Cambio de aplicador para los lotes prototipo por adsorción de parabeno al material de PVC

	Fabricación	Planta piloto 3.25 kg	Planta piloto 6.5 kg	Planta piloto 4.6 kg	Ninguno
5	Formación de ampollas y lavado con nitrógeno de los blísteres	No	Sí	Sí	Reduce potencialmente la oxidación de API y las pérdidas de agua.

El lote V3080 tiene la misma composición igual que el V3009. Los lotes V3081 y V3112 tienen la misma composición que V3045.

10 La solución rectal de cobitolimod se fabrica al disolver en agua los seis componentes de la Tabla 1. Todos los componentes son solubles en agua. Las sales de sodio de los parabenos y el fosfato disódico dihidrato son más solubles en un pH neutro a básico. El ácido cítrico anhidro es el
15 componente ácido. El fosfato disódico dihidrato y el ácido cítrico anhidro son el sistema de solución amortiguadora de la solución. La API se agrega como el último paso para garantizar que la solución sea conservada y se almacene en solución amortiguadora.

20 **Datos de estabilidad**

Sumario de estabilidad y conclusión

Los datos de estabilidad para la solución rectal de cobitolimod a 250 mg/50 mL y 500 mg/50 mL están disponibles hasta el momento hasta por 24 meses. La solución rectal de
25 cobitolimod en concentraciones de por lo menos 250 mg/50 mL es

estable hasta 24 meses cuando se almacena a 2-8 °C (humedad relativa ambiental, RH) y 25°C (40% RH) y hasta 6 meses cuando se almacena a 40°C (25% RH).

Protocolo de estabilidad

5 Los protocolos de estabilidad del lote de estabilidad indicativa a 31 mg/50 mL se describen en la Tabla 3. Este lote se fabricó manualmente con el uso de la botella de enema inicial sugerida por el fabricante con un aplicador de PVC blando (V2263) y se colocó en estabilidad (posición
10 horizontal). Las botellas de enema no estaban en blísteres.

Tabla 3 - Estabilidad de programa, solución rectal de cobitolimod, 31 mg/50 mL (lote V2263)

	Temperatura de almacenamiento	Inicial	1 m	3 m	6 m	9 m	12 m
15	25°C/40%RH	A B C	A	A	A	A	A, B
	40°C/25% RH		A	A	A, B	-	-

A: apariencia, color de la solución, pH, ensayo de API, pureza del API, ensayo de conservadores y pureza de conservadores

B: Calidad microbiológica

20 C: Identidad del API e identidad de conservadores

El programa de estabilidad para el lote V3009 a 250 mg/50 mL (en el sistema de cierre de recipiente en blíster final: botella de PE y aplicador de PE blando) se describe en la Tabla 4.

25 *Tabla 4 - Estabilidad de programa para la solución rectal*

de cobitolimod, 250 mg/50 mL (lote V3009)

5

Temperatura de almacenamiento	Inicial	1 m	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m	24 m	36 m	48 m*
5°C	A, B, C	-	A	A	A	A, B	A	A, B	A, B	A, B
25°C/40%RH		A	A	A	A	A, B	A	A, B	A, B	-
40°C/25% RH		A	A	A, B	-	-	-	-	-	-

A: Apariencia, color de la solución, pH, ensayo de API, pureza de API, ensayo de conservadores y pureza de conservadores

B: Calidad microbiológica

10 C: Identidad de API, identidad de conservadores

* punto de tiempo opcional

El programa de estabilidad para el lote V3045 a 500 mg/50 mL (en el sistema de cierre de recipiente en blíster final: botella de PE y aplicador de PE blando) se describe en la Tabla 5.

15 *Tabla 5 - Estabilidad de programa para la solución rectal de cobitolimod, 500 mg/50 mL (Lote V3045)*

20

Temperatura de almacenamiento	Inicial	1 m	3 ms	6 ms	9 m	12 m	18 m	24 m	36 m	48m*
5°C	A B C	-	A	A	A	A, B	A	A, B	A, B	A, B
25°C/40%RH		A	A	A	A	A, B		A, B	A, B	-
40°C/25% RH		A	A	A, B	-	-	-	-	-	-

A: apariencia, color de la solución, pH, ensayo de API, pureza de API, ensayo de conservadores y pureza de conservadores

B: Calidad microbiológica

25 C: Identidad de API, identidad de conservadores

* punto de tiempo opcional

El programa de estabilidad del producto de medicamento en investigación para los lotes V3080 y V3081 se describe en la Tabla 6.

5 *Tabla 6 - Programa de estabilidad para la solución rectal de cobitolimod, 250 mg/50 mL (lote V3080) y 500 mg/50 mL (lote V3081)*

10	Temperatura de almacenamiento	Inicial	1 m	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m	24 m	36m*
	5°C	A B C	-	A	A	A	A, B	A	A, B	A
	25°C/40%RH		A	A	A, B	-	-	-	-	-
	40°C/25% RH		A	A, B	-	-	-	-	-	-

A: apariencia, color de la solución, pH, ensayo de API, pureza de API, ensayo de conservadores y pureza de conservadores

15 B: Calidad microbiológica

C: Identidad de API, identidad de conservadores

* punto de tiempo opcional

Ejemplo 3 - Estudios de estabilidad

Se llevaron a cabo extensos estudios de estabilidad en diferentes lotes, como se detalló anteriormente en los programas de estabilidad. Los datos se presentan a continuación.

Datos de estabilidad

Los resultados del programa de estabilidad para el lote V3009 a 250 mg/50 mL se presentan en la Tabla 7 (5°C), la

Tabla 8 (25°C) y en la Tabla 9 (40°C).

Los resultados del programa de estabilidad para el lote V3045 a 500 mg/50 mL se presentan en la Tabla 10 (5°C), la Tabla 11 (25°C) y en la Tabla 12 (40°C).

5 Los resultados del programa de estabilidad para el lote V3080 a 250 mg/50 mL se presentan en la Tabla 13 (5°C), la Tabla 14 (25°C) y en la Tabla 15 (40°C).

Los resultados del programa de estabilidad para el lote de V3081 a 500 mg/50 mL se presentan en la Tabla 16 (5°C), la
10 Tabla 17 (25°C) y en la Tabla 18 (40°C).

Tabla 7. Estabilidad de solución rectal de cobitolimod, 250 mg/50 mL, lote V3009 (5 °C/RH ambiental)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m	24 m
5	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Cobitolimod de ensayo	90-110%	107	107	107	109	106	109	109
10	Pureza de cobitolimod (HPLC)*								
	- Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.1	4.6	4.2	4.6	3.9	4.2	4.6
	- Pureza	≥ 90.0% de área	95.9	95.4	95.8	95.4	96.1	95.8	95.4
	Impureza de degradación principal								
	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.7	1.4	1.7	1.0	1.3	1.5
15	Pureza de conservadores								
	ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)								
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd	<1	Nd	<1
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd	<1	Nd	<1
20	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	0.1	0.1	0.3	0.1	0.2	0.1

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 8. Estabilidad de solución rectal de cobitolimod, 250 mg/50 mL, lote V3009 (25°C/40%RH)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	1 m	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m	24 m
5	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Cobitolimod de ensayo	90-110%	107	104	106	106	108	105	105	103
10	Pureza de cobitolimod (HPLC)*									
	- Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.1	4.8	4.8	4.9	5.6	5.7	7.0	8.7
	- Pureza	≥ 90.0% de área	95.9	95.2	95.2	95.1	94.5	94.3	93.0	91.3
	Impureza de degradación principal									
	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.8	2.1	2.0	2.6	2.2	2.9	3.4
15	Pureza de conservadores ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.01	0.02	0.04	0.05	0.07	0.11	0.13
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4)									
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd	Nd	<1	Nd	<1
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd	Nd	<1	Nd	<1
20	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	-0.1	-0.4	-0.7	-1.5	-1.4	-3.0	-3.9

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 9. Estabilidad de solución rectal de cobitolimod, 250 mg/50 mL, lote V3009 (40°C/25% RH)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	1 m	3 m	6 m
5	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Ensayo cobitolimod	90-110%	107	104	104	102
10	Pureza de cobitolimod (HPLC)*					
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.1	4.8	6.1	7.8
	Pureza de cobitolimod	≥ 90.0% de área	95.9	95.2	93,9	92.2
	Impureza de degradación principal					
	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.8	2.4	2.7
15	Pureza de conservadores ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.05	0.13	0.23
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4)					
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<10	Nd	Nd	37
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<10	Nd	Nd	<10
	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	-0.6	-1.7	-3.2

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 10. Estabilidad solución rectal de cobitolimod 500 mg/50 mL, lote V3045 (5°C/RH ambiental)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m	24 m
5	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
10	Cobitolimod de ensayo	90-110%	101	103	104	105	108	106	108
	Pureza de cobitolimod (HPLC)*								
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	5.5	5.2	5.1	5.4	5.3	5.3	5.6
	Pureza	≥ 90.0% área	94.5	94.8	94.9	94.7	94.7	94.7	94.4
	Impureza de degradación principal								
15	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	2.2	2.3	1.8	2.0	2.0	2.0	2.4
	Pureza de conservadores ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
20	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4)								
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd	<1	Nd	<1
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd	<1	Nd	<1
	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.0

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 11. Estabilidad de solución rectal de cobitolimod 500 mg/50 mL, lote V3045 (25°C/40%RH)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	1 m	3 m	6 m	9 m	12 m
5	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Cobitolimod de ensayo	90-110%	101	103	101	102	104	104
10	Pureza de cobitolimod (HPLC)*							
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	5.5	5.8	5.3	6.0	6.6	7.0
	Pureza	≥ 90.0% área	94.5	94.2	94.8	94.0	93.4	93.0
	Impureza de degradación principal							
	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	2.2	2.5	2.6	2.6	3.0	3.3
15	Pureza de conservadores ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.01	0.02	0.04	0.05	0.06
	Calidad microbiana (Ph.Eur.5.1.4)							
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd	Nd	<1
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd	Nd	<1
20	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	-0.1	-0.4	-0.7	-0.7	-1.4

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 12. Estabilidad solución rectal de cobitolimod 500 mg/50 mL, lote V3045 (40°C/25%RH)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	1 m	3 m	6 m
5	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Cobitolimod de ensayo	90-110% (225.0 - 275.0 mg/50mL)	101 (506.8)	102 (511.2)	100 (497.7)	97 (486.2)
10	Pureza de cobitolimod (HPLC)*					
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	5.5	6.0	6.4	8.9
	Pureza de cobitolimod	≥ 90.0% área	94.5	94.0	93.7	91.2
	Impureza de degradación principal					
	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	2.2	2.6	2.8	2.8
15	Pureza de conservadores					
	ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.05	0.12	0.20
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)					
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<10	Nd	Nd	Nd
	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	-0.6	-1.8	-3.4

20 Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

25

Tabla 13. Estabilidad solución rectal de cobitolimod, 250 mg/50 mL, lote V3080 (5 °C/RH ambiental)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m
5	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Cobitolimod de ensayo	90-110%	103	106	106	106	106	107
	Pureza de cobitolimod (HPLC)*							
10	Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.3	4.5	4.4	4.6	4.2	4.5
	Pureza de cobitolimod	≥ 90.0% de área	95.8	95.5	95.6	95.4	95.8	95.5
	Impureza de degradación principal							
15	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.3	1.3	1.5	1.1	1.4
	Pureza de conservadores ácido p-hidroxibenzoico	Reporte (mg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)							
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<1	Nd	Nd	Nd	<1	Nd
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<1	Nd	Nd	Nd	<1	Nd
	Evaporación, cambio de peso	≤5.0%	-	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1

20 Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 14. Estabilidad de solución rectal de cobitolimod, 250 mg/50 mL, lote V3080 (25°C/40%RH)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	1 m	3 m	6 m
5	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Cobitolimod de ensayo	90-110%	103	104	104	104
10	Pureza de cobitolimod (HPLC)*					
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.3	4.2	5.1	5.4
	Pureza de cobitolimod	≥ 90.0% área	95.8	95.8	94.9	94.6
	Impureza de degradación principal					
15	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.3	1.9	2.3
	Pureza de conservadores ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.01	0.02	0.04
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)					
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<1	Nd	Nd	<1
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<1	Nd	Nd	<1
	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	-0.1	-0.3	-0.8

Nd: No determinado.

20 * Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 15. Estabilidad solución rectal de cobitolimod, 250 mg/50 mL, lote V3080 (40 °C/25% RH)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	1 m	3 m
	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple
5	Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple
	Cobitolimod de ensayo	90-110%	103	102	102
	Pureza de cobitolimod (HPLC)*				
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.3	5.0	6.2
	Pureza de cobitolimod	≥ 90.0% de área	95.8	95.0	93.9
	Impureza de degradación principal				
10	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.8	2.4
	Pureza de conservadores				
	ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.05	0.13
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)				
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<1	Nd	<1
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<1	Nd	<1
15	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	-0.7	-2.0

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 16. Estabilidad solución rectal de cobitolimod, 500 mg/50 mL, lote V3081 (5 °C/RH ambiental)

	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m
	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

5	Cobitolimod de ensayo	90-110%	103	105	106	107	106	108
	Pureza de cobitolimod (HPLC)*							
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.3	4.4	4.4	4.6	4.3	4.5
	Pureza de cobitolimod	≥ 90.0% área	95.7	95.6	95.7	95.4	95.7	95.5
	Impureza de degradación principal							
10	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.3	1.3	1.4	1.1	1.4
	Pureza de conservadores							
	ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01
15	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)							
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<1	Nd	Nd	Nd	<1	Nd
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<1	Nd	Nd	Nd	<1	Nd
	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

20 **Tabla 17. Estabilidad solución rectal de cobitolimod, 500 mg/50 mL, lote V3081 (25 °C/40%RH)**

25	Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	1 m	3 m	6 m
	Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

5	pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Cobitolimod de ensayo	90-110%	103	104	105	106
	Pureza de cobitolimod (HPLC)*					
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.3	4.4	4.8	5.2
	Pureza de cobitolimod	≥ 90.0% de área	95.7	95.6	95.3	94.8
10	Impureza de degradación principal					
	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.3	1.7	2.1
	Pureza de conservadores					
	ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.01	0.02	0.06
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)					
15	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<1	Nd	Nd	<1
	TYMC	≤10 ² cfu/g	<1	Nd	Nd	<1
	Evaporación, cambio de peso	≤5.0%	-	-0.1	-0.2	-0.8

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Tabla 18. Estabilidad de solución rectal de cobitolimod, 500 mg/50 mL, lote V3081 (40°C/25% de RH)

Prueba	Criterios de aceptación	Inicial	1 m	3 m
Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple
Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple
pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	Cumple

5	Cobitolimod de ensayo	90-110%	103	102	103
	Pureza de cobitolimod (HPLC)*				
	Suma de impurezas	≤10.0 % área	4.3	4.5	5.7
	Pureza de cobitolimod	≥ 90.0% de área	95.7	95.5	94.3
	Impureza de degradación principal				
10	- RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.1	1.5	1.9
	Pureza de conservadores				
	ácido p-hidroxibenzoico	Notificación (mg/mL)	0.01	0.04	0.12
	Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)				
	TAMC	≤10 ³ cfu/g	<1	Nd	<1
20	TYMC	≤10 ² cfu/g	<1	Nd	<1
	Evaporación, cambio de peso.	≤5.0%	-	-0.7	-2.0

Nd: No determinado.

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

15 **Conclusión**

Se obtuvieron datos de estabilidad para la solución rectal de cobitolimod a 250 mg/50 mL y 500 mg/50 mL. Los resultados muestran que una solución rectal de cobitolimod de acuerdo con la presente invención, en concentraciones de
20 ambos, de 250 mg/50 mL y de 500 mg/50 mL, es estable en ambas condiciones, las ambientales y cuando se expone a temperatura y/o humedad elevadas.

Ambas concentraciones muestran una estabilidad similar en el intervalo de las condiciones probadas.

25 **Ejemplo 4 - Estudio de estabilidad comparativo en enemas**

prellenados

Se comparó la estabilidad del cobitolimod en agua (como se describe, por ejemplo, en WO 2021/037764) y en la presente formulación de enema. Además, también se evaluó la estabilidad en agua conservada (agua + parabeno). La composición de las formulaciones respectivas se muestra en la Tabla 19.

Cada formulación se llenó en botellas de enema y se sometió a un estudio de estabilidad durante un máximo de 12 meses a 40°C +/- 2°C (75% RH +/- 5% RH).

Tabla 19. Composición de las formulaciones utilizadas en el estudio de estabilidad comparativo en botellas de enema

	Lote V3131 (agua)	Lote V3132 (agua con conservador)	Lote V3133 (formulación de enema)
Cobitolimod	X	X	X
Metilparabeno de sodio	-	X	X
Propilparabeno de sodio	-	X	X
Ácido cítrico anhidro	-	-	X
Hidrogenofosfato de disodio dihidrato	-	-	X
Agua	X	X	X

Los resultados se presentan en la Tabla 20.

Tabla 20. Estabilidad comparativa de cobitolimod en diferentes formulaciones (40°C/75%RH)

Prueba	Criterios de aceptación	V3131 (agua)		V3132 (agua con conservador)		V3133 (formulación actual de enema)	
		0 m	1 m	0 m	1 m	0 m	1 m
Apariencia	Solución clara	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Color de la solución	Incoloro, NMT B9	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
pH	6.5-8.0	Cumple	Cumple	9.3	8.7	Cumple	Cumple
Cobitolimod de ensayo	90-110%	102%	99%	103%	101%	105%	103%
Pureza del cobitolimod (HPLC)*							
- Impureza de degradación principal RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)	≤4.0 % área	1.9%	3.2%	1.8%	2.3%	1.7%	2.3%
- Suma de impurezas	≤10.0 % área	5.2%	6.9%	5.1%	5.8%	5.0%	5.7%
- Pureza del cobitolimod	≥ 90.0% área	94.8%	93.1%	94.9%	94.2%	95.0%	94.3%
Calidad microbiana (Ph. Eur.5.1.4.)							
TAMC	≤10 ³ cfu/g	<1	<1	<1	<1	<1	<1
TYMC	≤10 ² cfu/g	<1	<1	<1	<1	<1	<1

* Umbral de notificación: ≥0.15% de área

Conclusión

Los datos de la impureza de degradación principal (RRT 0.96-0.98 (N-3'PO/N-5'PO)) y de las impurezas totales muestran que el cobitolimod es más estable en la formulación de la presente invención de lo que es en una formulación del cobitolimod y agua.

Además, los datos muestran que la degradación no surge únicamente de cualquier posible contaminación microbiana en la botella, sino también de la oxidación. En particular, los datos de pH muestran que la formulación con agua con conservador (lo que elimina cualquier problema de posible contaminación microbiana) aún se degradó a un nivel inaceptable. Por el contrario, la formulación de la presente invención no se degradó de la misma manera.

Otros aspectos de la invención se establecen en las siguientes cláusulas numeradas:

1. Una formulación acuosa adecuada para una administración rectal que comprende (i) un oligonucleótido que comprende la secuencia 5'-GGAACAGTTCGTCCATGGC-3' (SEC ID NO:2), (ii) por lo menos un conservador y (iii) una solución amortiguadora que comprende ácido cítrico y un fosfato sal.

2. La formulación de acuerdo con la cláusula 1 en donde el por lo menos un conservador comprende uno o más parabenos, preferiblemente en donde el por lo menos un conservador se selecciona del grupo que consiste de Na-metilparabeno, Na-

propilparabeno y mezclas de los mismos.

3. La formulación de acuerdo con cualquier cláusula anterior donde la formulación tiene un pH en el intervalo de 6.0 a 8.0, preferiblemente en donde la formulación tiene un pH
5 en el intervalo de 6.5 a 8.0.

4. La formulación de acuerdo con cualquier cláusula anterior, en donde la sal de fosfato es hidrogenofosfato de disodio.

5. La formulación de acuerdo con cualquier cláusula anterior, en donde por lo menos un dinucleótido CG en el
10 oligonucleótido no está metilado.

6. La formulación de acuerdo con cualquier cláusula anterior, en donde por lo menos un nucleótido en el oligonucleótido tiene una modificación de estructura
15 principal.

7. La formulación de acuerdo con la cláusula 6, en donde la modificación de estructura principal es una modificación de estructura principal de fosfato representada por un fosforotioato o una modificación de fosforoditioato.

20 8. La formulación de acuerdo con la cláusula 6 o la cláusula 7, en donde la modificación de estructura principal está ubicada en el extremo-5' y/o -3' del oligonucleótido.

9. La formulación de acuerdo con cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el oligonucleótido tiene la
25 secuencia 5'-GGAACAGTTCGTCCATGGC-3' (SEC ID NO:2), en donde el

dinucleótido CG no está metilado.

10. La formulación de acuerdo con cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el oligonucleótido tiene la secuencia 5'-G*G*A*ACAGTTCGTCCAT*G*G*C-3' (SEC ID NO: 1), en
5 donde el dinucleótido CG no está metilado.

11. La formulación de acuerdo con cualquier cláusula anterior, en donde el oligonucleótido es cobitolimod.

12. La formulación de acuerdo con cualquier cláusula anterior en donde el oligonucleótido está presente en la
10 formulación en una concentración desde 0.5 a 15 mg/mL, preferiblemente en donde el oligonucleótido está presente en la formulación en una concentración desde 2.5 a 12.5 mg/mL.

13. La formulación de acuerdo con cualquier cláusula anterior en donde el oligonucleótido está presente en la
15 formulación en una concentración de aproximadamente 2.5 mg/mL.

14. La formulación de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en donde el oligonucleótido está presente en la formulación en una concentración de aproximadamente 5 mg/mL.

20 15. La formulación de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en donde el oligonucleótido está presente en la formulación en una concentración de aproximadamente 10 mg/mL.

25 16. Un enema prellenado adecuado para una autoadministración, el enema prellenado que comprende:

(a) un recipiente; y dentro del recipiente (b) la formulación como se define en cualquiera de las cláusulas 1 a 15.

17. El enema prellenado de acuerdo con la cláusula 16, en donde el recipiente comprende una botella comprimible, 5 preferiblemente en donde la botella comprimible es una botella con forma de acordeón.

18. El enema prellenado de acuerdo con la cláusula 17, en donde la botella está formada con polietileno, preferiblemente en donde la botella está formada de polietileno de baja 10 densidad.

19. El enema prellenado de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 16 a 18, en donde el recipiente además comprende un aplicador adecuado para dispensar la formulación.

20. El enema prellenado de acuerdo con la cláusula 19 en 15 donde el aplicador comprende una punta adecuada para su inserción en el recto.

21. El enema prellenado de acuerdo con la cláusula 19 o la cláusula 20 en donde el aplicador está formado de polietileno, preferiblemente en donde el aplicador está 20 formado de polietileno de baja densidad.

22. El enema prellenado de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 16 a 21, en donde el recipiente comprende una botella en forma de acordeón y un aplicador adecuado para dispensar la formulación, en donde el aplicador comprende una 25 punta adecuada para su inserción en el recto, en donde ambos,

la botella y el aplicador están hechos de polietileno, preferiblemente en donde ambos la botella y el aplicador están hechos de polietileno de baja densidad.

23. El enema prellenado de acuerdo con cualquiera de las
5 cláusulas 16 a 22, en donde la cantidad de formulación dentro del recipiente es desde 20 a 60 mL, preferiblemente en donde la cantidad de formulación dentro del recipiente es de aproximadamente 50 mL.

24. Un envase que comprende uno o más enemas prellenados
10 como se define en cualquiera de las cláusulas 16 a 23.

25. Un envase de acuerdo con la cláusula 24, en donde el envase además comprende un gas de envasado, preferiblemente en donde el gas de envasado es nitrógeno.

26. El envase de acuerdo con la cláusula 24 o la cláusula
15 25, en donde el envase es un envase de blíster, y en donde el envase de blíster comprende uno o más bolsas en los cuales se sellan uno o más enemas prellenados.

27. El envase de acuerdo con la cláusula 26, en donde una o más bolsas contienen un gas de envasado, preferiblemente en
20 donde el gas de envasado es nitrógeno.

28. Una formulación de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 15 para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria intestinal, preferiblemente en donde la enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa o la
25 enfermedad de Crohn.

29. La formulación para su uso de acuerdo con la cláusula 28, en donde la formulación se administra por vía rectal con el uso del enema prellenado como se definió en cualquiera de las cláusulas 16 a 23, preferiblemente en donde la formulación se autoadministra con el uso del enema prellenado como se definió en cualquiera de las cláusulas 16 a 23.

30. Un método para tratar una enfermedad inflamatoria intestinal en un sujeto, el método que comprende administrar por vía rectal al sujeto la formulación como se definió en cualquiera de las cláusulas 1 a 15, preferiblemente en donde la enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn.

31. El método de acuerdo con la cláusula 30, en donde la formulación se administra con el uso del enema prellenado como se define en cualquiera de las cláusulas 16 a 23, preferiblemente en donde la formulación es autoadministrada por el sujeto con el uso del enema prellenado como se definió en cualquiera de las cláusulas 16 a 23.

32. El uso de una formulación como se definió en cualquiera de las cláusulas 1 a 15 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, preferiblemente en donde la enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn.

LISTADO DE SECUENCIAS

SEC ID NO: 1

5'-G*G*A*ACAGTTCGTCCAT*G*G*C-3', donde el asterisco (*)
5 indica un enlace fosforotioato

SEC ID NO: 2

5'-GGAACAGTTCGTCCATGGC-3'