



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 274**

51 Int. Cl.:  
**A61K 47/48** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05744579 .3**

96 Fecha de presentación : **29.03.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1729813**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **13.12.2006**

54 Título: **Complejos de inclusiones que comprenden piroxicam, una ciclodextrina y arginina.**

30 Prioridad: **01.04.2004 FR 04 03450**  
**21.10.2004 FR 04 11201**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**30.08.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**30.08.2011**

73 Titular/es: **PIERRE FABRE MEDICAMENT**  
**45, place Abel Gance**  
**92100 Boulogne-Billancourt, FR**

72 Inventor/es: **Freiss, Bernard;**  
**Marciacq, Florence y**  
**Lochard, Hubert**

74 Agente: **Curell Aguilá, Marcelino**

ES 2 364 274 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Complejos de inclusiones que comprenden piroxicam, una ciclodextrina y arginina.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de compuestos de inclusión solubles mediante la tecnología de los fluidos densos a presión, en particular la del CO<sub>2</sub>.

10 Numerosas sustancias activas, en particular de interés en el campo farmacéutico, presentan una solubilidad muy baja o son insolubles en agua y en consecuencia en los líquidos biológicos. Esto implica una baja biodisponibilidad de estas sustancias activas y un fuerte aumento de las dosis administradas a los pacientes para alcanzar el objetivo terapéutico fijado y por lo tanto un aumento de los posibles efectos secundarios relacionados con los tratamientos médicos.

15 Las propiedades farmacocinéticas de una sustancia determinada dependen entre otros de la afinidad de su superficie de contacto para el disolvente considerado, a saber el agua en el caso del campo farmacéutico. El aumento de la superficie específica de los polvos permite mejorar su velocidad de disolución. Ahora bien, la biodisponibilidad de principios activos se puede aumentar considerablemente si su velocidad de disolución mejora. Asimismo, la formación de complejos moleculares compuestos por una o varias sustancias activas y por una o varias moléculas hospedantes juiciosamente seleccionada(s) por su fuerte solubilidad en los líquidos biológicos puede por  
20 lo tanto permitir aumentar la disolución de la o de las sustancias activas en los líquidos biológicos.

25 En el campo farmacéutico, existe un cierto número de patentes y publicaciones que se refieren a la formación de complejos a base de ciclodextrina, en presencia de un agente de interacción con el complejo. Sin embargo, la mayoría de los documentos no proponen ningún procedimiento industrial, sino más bien el estudio de la mejora de la solubilidad de un complejo de sustancia activa/ciclodextrina por medio del agente de interacción con el complejo. Se trata en efecto de una enumeración de agentes de interacción con el complejo ensayados para un mismo principio activo, y de los resultados analíticos observados. Por otra parte, existen pocos documentos que proponen una complejación en medio supercrítico.

30 Los documentos que describen unos procedimientos de complejación con una ciclodextrina por fluido supercrítico son los siguientes:

35 Con el fin de fijar unas moléculas volátiles por inclusión, Kamihira M. *et al.* (J. of Fermentation and Bioengineering, Vol. 69, n° 6, 350-353, 1990) describen un procedimiento de extracción de compuestos aromáticos volátiles y de interceptación por inclusión en las ciclodextrinas. El geraniol y el aceite de mostaza son así extraídos por un fluido bajo presión, y después vaporizados en modo dinámico en un segundo reactor que contiene unas ciclodextrinas. La influencia de los diferentes parámetros se estudia mediante la medición del porcentaje de inclusión de los compuestos aromáticos en las ciclodextrinas. Sin embargo, la etapa de inclusión se realiza en modo dinámico y no estático. Por otra parte, la aplicación reivindicada por los autores es del todo diferente puesto que se trata de fijación  
40 de moléculas volátiles por inclusión. Por último, este procedimiento no se utiliza con unos fluidos supercríticos, sino con unos gases bajo presión.

45 Van Hees *et al.* (Pharmaceutical Research, Vol. 16, n° 12, 1999) describen en su publicación un procedimiento de inclusión de Piroxicam comercial en las β-ciclodextrinas mediante CO<sub>2</sub> supercrítico. Siendo el Piroxicam un antiinflamatorio no esteroideo poco soluble en agua, su inclusión en las β-ciclodextrinas debe permitir aumentar su solubilidad en el agua. El procedimiento consiste en disponer una mezcla de Piroxicam y de β-ciclodextrinas (ratio molar 1/2,5) en una autoclave presurizada, dejada en modo estático. Después de la despresurización, la mezcla obtenida se tritura y homogeneiza. El complejo se seca después antes de la caracterización mediante:

50 \* DSC (Differential Scanning Calorimetry)  
\* Técnica de la solubilidad diferencial  
\* Métodos espectroscópicos.

55 Estos análisis permiten concluir en lo que se refiere al porcentaje de complejación del Piroxicam con la β-ciclodextrina. No se menciona la importancia de un agente de interacción con el complejo sobre la disolución del complejo así obtenido. Por otra parte, no se utiliza ningún agente de difusión en la etapa de formación del complejo mediante CO<sub>2</sub> supercrítico en modo estático.

60 La solicitud de patente WO 03/043604 describe un procedimiento de preparación de un complejo molecular de sustancia activa en unas moléculas hospedantes. El procedimiento utiliza una etapa de difusión molecular mediante la puesta en contacto en modo estático, de un fluido denso bajo presión en presencia eventualmente de un agente de difusión: el agua.

65 Sin embargo, esta etapa está seguida por una etapa obligatoria de lavado mediante CO<sub>2</sub> supercrítico. Además, no se utiliza ningún agente de interacción con el complejo.

Diferentes documentos dan a conocer la mejora de la solubilidad de una sustancia activa mediante la adición de agente de interacción con el complejo (Redenti, E. *et al.*, J. of Pharmaceutical Sciences, Vol. 89, 1-8, 2000). Se estudia la solubilidad de la sustancia activa sola, de la sustancia activa en presencia del agente de interacción con el complejo, del complejo binario de sustancia activa/ciclodextrina y por último del complejo ternario sustancia activa/ciclodextrina/agente de interacción con el complejo. Sin embargo, ninguno de los procedimientos descritos utiliza CO<sub>2</sub> supercrítico, ni en particular una etapa de difusión molecular en modo estático utilizando un agente de difusión.

Así, Buvári-Barcza *et al.* (J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Vol. 42, 209-212, 2002) estudian la solubilidad de los complejos ácido benzoico/ $\beta$ -ciclodextrina y benceno/ $\beta$ -ciclodextrina en presencia de ácido acético. La solubilidad del complejo benceno/ $\beta$ -ciclodextrina es independiente de la concentración en ácido acético mientras que la del complejo ácido benzoico/ $\beta$ -ciclodextrina crece con el aumento en ácido acético. La interpretación de los autores es la siguiente: en el complejo ternario molécula  $\beta$ -ciclodextrina/ácido acético, los enlaces hidrógeno potenciales entre la molécula y la cavidad interna de la ciclodextrina son promotores de otras interacciones en el exterior de la ciclodextrina.

Asimismo, Mura *et al.* (J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Vol. 39, 131-138, 2001) miden la solubilidad del econazol en presencia de ciclodextrinas ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrinas) y de hidroxiaácidos (ácidos tartárico, cítrico, glucónico, málico y láctico). Los complejos ternarios se preparan mediante el mezclado físico o trituración de los 3 compuestos, co-evaporación o liofilización de una disolución que contiene los 3 compuestos. La formación de complejo ternario está controlada por DSC. Sólo la liofilización permite obtener un perfil DSC que ya no presenta el pico de fusión del econazol.

Los autores concluyen con el efecto sinérgico observado en el complejo ternario, puesto que las solubilidades observadas son hasta 20 veces más elevadas que la de un complejo binario econazol/ciclodextrina.

Los mismos autores (Int. J. of Pharmaceutics, Vol. 260, 293-302, 2003) han estudiado asimismo los complejos ternarios de tipo naproxeno/hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina/aminoácido. Los complejos citados se preparan o bien mediante co-trituración o bien mediante co-evaporación de una disolución de agua/etanol que contiene los 3 compuestos.

Piel *et al.*, (J. of Pharmaceutical Sciences, Vol. 86-4, 475-480, 1997) presentan un estudio de solubilidad de un complejo nimesulida/-L-lisina/ $\beta$ - o  $\gamma$ -ciclodextrina obtenido mediante "spray-drying" o evaporación. La solubilidad del complejo ternario es, según el pH de la disolución, hasta 3.600 veces más importante que la nimesulida sola. En este caso también, los autores hablan de un efecto sinérgico de la ciclodextrina y de la L-lisina.

Fenivesy *et al.* (Proceedings of the 7th international cyclodextrins symposium, 414-418, 1994) se interesan en la complejación de las sustancias activas terfenadina, domperidona y astemizol con la hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina en presencia de hidroxiaácidos.

Dos patentes (EP 0 991 407 y EP 1 018 340) describen la preparación de complejos ternarios sustancias activas/agente de interacción con el complejo/ciclodextrina. Los procedimientos utilizados son el amasado (kneading), el secado por pulverización (spray-drying), la evaporación o la liofilización. El procedimiento consiste o bien en preparar el complejo de la sal de la sustancia activa, o bien en poner en contacto simultáneamente los 3 compuestos durante el procedimiento.

Una patente (EP 0 153 998 A2) presentada por Chiesi *et al.* describe la preparación de complejos de piroxicam y de beta-ciclodextrina en presencia en particular de una disolución de amoniaco. Sin embargo, el procedimiento utilizado no se realiza con CO<sub>2</sub> supercrítico.

Los dos únicos documentos que tratan de la preparación de complejo mediante CO<sub>2</sub> supercrítico en presencia de agente de interacción con el complejo son los siguientes:

Siguiendo el mismo método que el citado anteriormente (Pharmaceutical Research, Vol. 16, n° 12, 1999), Van Hees *et al.* (Journal of inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, N° 44, p 271-274, 2002) describen la utilización de un agente de interacción con el complejo, la L-lisina o el trometamol, en la preparación de un complejo Piroxicam/ $\beta$ -ciclodextrina mediante CO<sub>2</sub> supercrítico.

La utilización de L-lisina o de trometamol les permite al mismo tiempo aumentar el porcentaje de inclusión del piroxicam en la beta-ciclodextrina y mejorar la disolución del complejo formado.

La caracterización se efectúa mediante:

\* DSC (Differential Scanning Calorimetry)

\* Técnica de la solubilidad diferencial

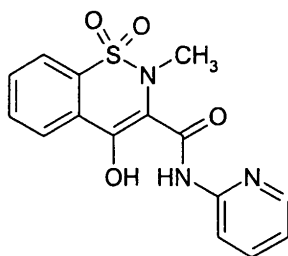
\* Cinética de disolución en medio tamponado.

Sin embargo, no se utiliza ningún agente de difusión durante esta etapa. V. Barillaro *et al.* (Proceeding of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids, Versailles, p 1897-1902, 2003) se han centrado más en la mejora que podía aportar la adición de un agente ácido de interacción con el complejo para aumentar el porcentaje de inclusión del Miconazol en unas ciclodextrinas. Se han utilizado diferentes agentes de interacción con el complejo (ácido mélico, maleico, fumárico, cítrico) así como diferentes ciclodextrinas (beta-ciclodextrina, HP-beta-ciclodextrina,  $\gamma$ -ciclodextrina, HP- $\gamma$ -ciclodextrina).

Sin embargo, la etapa de inclusión se realiza en modo dinámico y no estático.

En los dos documentos citados anteriormente, es importante por lo tanto observar que la complejación mediante fluidos supercríticos se efectúa sobre la mezcla ternaria sustancia activa/agente de interacción con el complejo/ciclodextrina y que por otra parte el agente de interacción con el complejo no es la arginina.

La molécula de piroxicam, representada anteriormente, posee una función enol y un ciclo piridina que pueden ser salificados o no según el valor de pH del medio de disolución.



Wiseman *et al.* (Arzneim.-Forsch./Drug Res. 26 (7) 1976, 1300 - 1303) han determinado en una mezcla de dioxano:agua 2:1 (v/v) el valor de pKa de la función enol (pKa ~ 2) y del ciclo piridina (pKa ~ 6,3).

Según el valor de pH del medio de disolución, la molécula de piroxicam (PX) existirá por lo tanto en diferentes formas, a saber:

pH < 2

- el ciclo piridina está protonado en ión piridinio (NH<sup>+</sup>)
- la función enol no está ionizada (-OH)

2 < pH < 7

- el ciclo piridina está protonado (NH<sup>+</sup>)
- la función enol está ionizada en enolato (O<sup>-</sup>).

Es la estructura zwitteriónica del piroxicam. En términos de conformación molecular, la estructura zwitteriónica es plana. Esta planeidad resulta de enlaces hidrógeno intramoleculares entre el anión enolato y el grupo amida por un lado y la función carbonilo y el catión piridinio por otra parte.

pH > 7

- la función enol está ionizada (O<sup>-</sup>)
- el ciclo piridina no está protonado (N).

Los inventores han descubierto de manera sorprendente que la separación de las etapas de complejación y de adición del agente de interacción con el complejo permite mejorar sustancialmente las propiedades fisicoquímicas del complejo así obtenido. Además, han observado asimismo que la utilización de la arginina como agente de interacción con el complejo cuando la sustancia activa es el piroxicam permitía obtener los complejos que tienen las propiedades más interesantes. El objetivo es mejorar la disolución *in vivo* de una sustancia activa insoluble en el agua, eso incluyendo la sustancia activa en un soporte poroso soluble y después modificando las propiedades fisicoquímicas del sistema así formado.

La presente invención se refiere por lo tanto a un procedimiento de preparación de un compuesto de inclusión soluble que comprende una o varias sustancias activas poco solubles en un medio acuoso incluidas en una o varias ciclodextrinas, caracterizado porque comprende las etapas sucesivas siguientes:

- a. poner en contacto una o varias sustancias activas con una o varias ciclodextrinas,
- b. realizar una etapa de difusión molecular mediante la puesta en contacto, en modo estático, de un fluido denso a presión con la mezcla obtenida en la etapa (a) en presencia de agua,
- 5 c. recuperar el complejo molecular sustancia activa-ciclodextrina así formado,
- d. realizar en medio semisólido una etapa que consiste en añadir y mezclar un agente de interacción con el complejo al complejo molecular sustancia activa-ciclodextrinas, siendo el agente de interacción con el complejo un ácido o una base,
- 10 e. recuperar el compuesto de inclusión soluble así formado.

En el procedimiento según la presente invención, no hay etapa de lavado mediante CO<sub>2</sub> supercrítico entre las etapas (c) y (d).

15

En otro modo de realización ventajoso, la etapa (e) está seguida por una etapa (f) de secado del compuesto de interacción soluble, ventajosamente entre 60°C y 80°C y de manera ventajosa durante una noche.

El procedimiento según la presente invención está así constituido por el encadenamiento de dos fases que son:

- formar un complejo de inclusión entre una sustancia activa y una ciclodextrina en medio supercrítico (etapas (a), (b) y (c))
- 25 - "fijar" de manera no covalente un ácido o una base en el complejo obtenido, con el fin en particular de mejorar sus propiedades fisicoquímicas (etapas (d) y (e)).

La invención describe por lo tanto un procedimiento en cinco etapas.

\* Las tres primeras etapas denominadas de maduración consisten esencialmente en una fase de difusión molecular en medio denso bajo presión, y en particular supercrítico que permite incluir unas sustancias activas en unas ciclodextrinas. El objetivo buscado durante esta fase de difusión es formar unos complejos de inclusión entre unas sustancias activas y la ciclodextrina.

30

Mediante la expresión "complejo de inclusión o complejo molecular" se entiende en el sentido de la presente invención, cualquier complejo que asocia de manera no covalente la sustancia activa y la ciclodextrina. Se trata del complejo que procede de la etapa (b) del procedimiento según la invención.

35

Mediante la expresión "compuesto de inclusión soluble" se entiende en el sentido de la presente invención, cualquier entidad formada por la asociación del ácido o de la base por una parte y del complejo molecular por otra parte. Se trata del producto final obtenido mediante el procedimiento según la invención.

40

El agente de interacción con el complejo es un ácido o una base. La elección de un agente ácido o básico dependerá de la naturaleza ácida o básica de la sustancia activa. Así, preferentemente, un agente ácido se utilizará con un complejo molecular que contiene una sustancia activa básica y un agente básico con un complejo molecular que contiene una sustancia activa ácida.

45

De manera ventajosa, el agente de interacción con el complejo se selecciona de entre un aminoácido, un ácido carboxílico, un acetato, un carboxilato, una amina o el amoniaco, ventajosamente en forma de disolución de amoniaco al 28%. De manera todavía más ventajosa, se selecciona de entre el ácido acético, el ácido tartárico, el ácido cítrico, el ácido glucónico, el ácido málico, el ácido láctico, el ácido maleico, el ácido fumárico, la L-lisina, la L-valina, la L-isoleucina, la L-arginina o el amoniaco. De manera aún más ventajosa, se trata del amoniaco.

50

Mediante la expresión "fluido denso a presión" se entiende en el sentido de la presente invención cualquier fluido utilizado a una temperatura o a una presión superior a su valor crítico. Ventajosamente, se trata del CO<sub>2</sub> puro o en mezcla con un disolvente orgánico utilizado clásicamente por el experto en la materia.

55

Mediante la expresión "sustancia activa poco soluble en un medio acuoso" se entiende en el sentido de la presente invención cualquier sustancia activa poco o nada soluble en un medio acuoso y que tiene en particular una solubilidad inferior a por lo menos 20 µg/ml. En particular, puede tratarse de un agente activo farmacéutico (se pueden citar a título de ejemplo los analgésicos, los antipiréticos, la aspirina y sus derivados, los antibióticos, los antiinflamatorios, los antiulcerosos, los antihipertensores, los neurolépticos, los antidepresivos, los oligonucleótidos que presentan una actividad terapéutica, los péptidos que presentan una actividad terapéutica y las proteínas que presentan una actividad terapéutica), cosmético o nutracéutico. Ventajosamente, se trata de una sustancia activa seleccionada de entre el grupo constituido por los derivados de anilida, los derivados de epipodofilotoxina, el minoxidil, el piroxicam, el ácido valérico, el ácido octanoico, el ácido láurico, el ácido esteárico, el ácido tiaprofénico,

60

65

el omeprazol, el econazol, el miconazol, el ketoconazol, el astemizol, la ciclobenzaprina, la nimesulida, el ibuprofeno, la terfenadina, la domperidona, el naproxeno y el eflucimibo, ventajosamente se trata del piroxicam.

5 La molécula hospedante se selecciona de entre el grupo constituido por las ciclodextrinas y su mezcla. De manera ventajosa, se trata de la  $\beta$ -ciclodextrina, de la metil- $\beta$ -ciclodextrina, de la  $\gamma$ -ciclodextrina o de la hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina. Ventajosamente, se trata de la  $\beta$ -ciclodextrina.

10 Las ciclodextrinas son unas moléculas denominadas "jaulas" porque comprenden, en el seno de su estructura, una cavidad relativamente rígida e hidrófoba que les permite atrapar o encapsular otras moléculas. El fenómeno de complejación es la resultante de una multitud de interacciones (sustrato/disolvente, disolvente/disolvente y ciclodextrina/disolvente) que llevan al estado termodinámico más estable:

- 15 (1) las interacciones de Van der Waals;  
 (2) las interacciones hidrófobas;  
 (3) los enlaces hidrógeno;  
 (4) la liberación de moléculas de agua con una energía elevada durante la sustitución por la molécula invitada;  
 (5) la liberación de la energía de tensión dentro de la molécula de ciclodextrina durante la formación del complejo.

20 Ventajosamente, el compuesto de inclusión soluble consiste en la asociación del piroxicam, de una ciclodextrina y de la arginina, ventajosamente la L-arginina.

El agente de difusión es el agua.

25 Mediante la expresión "modo estático" se entiende en el sentido de la presente invención una reacción o un procedimiento en el que todos los agentes reactivos están puestos en presencia simultáneamente y en el que se deja que se desarrolle la reacción. Por ejemplo, en la etapa (b) de la presente invención, se dispone en una autoclave la o las sustancia(s) activa(s), agua y CO<sub>2</sub> supercrítico y se deja reaccionar durante varias horas. La masa de producto no evoluciona durante la reacción. A la inversa, en modo dinámico, los agentes reactivos son aportados a medida que evoluciona la reacción o la producción. Frecuentemente, en el marco de un modo dinámico, existe una  
 30 circulación de un fluido o agitación. La masa de producto evoluciona durante la producción.

Durante la etapa (a) la sustancia activa y la ciclodextrina son introducidas en forma sólida o líquida en un recipiente en el que durante la etapa (b) se inyecta el fluido denso a presión y el agua en unas proporciones juiciosamente seleccionadas. Las condiciones de presión y de temperatura así como la duración del tratamiento están definidas,  
 35 mediante cualquier método apropiado, en función de la naturaleza de la o de las sustancias activas y de la o de las ciclodextrinas.

De manera ventajosa, la etapa (b) de difusión molecular del procedimiento según la presente invención se realiza bajo agitación.

40 El agua puede ser añadida en continuo o en discontinuo en una cantidad comprendida entre 1 y 50% en masa, preferentemente entre 10 y 25% en masa.

45 El ratio molar de sustancia activa ciclodextrina/ácido o base se podrá seleccionar de manera que asegure la mejor inclusión de la sustancia activa dentro de la ciclodextrina. Así, ventajosamente, el ratio molar de sustancia activa ciclodextrina está comprendido entre 1/1 y 1/10, ventajosamente entre 1/1 y 1/5, de manera ventajosa entre 1/2 y 1/2,5, y de manera aún más ventajosa 1/2,5. Asimismo ventajosamente el ratio molar de sustancia activa ácida o base está comprendido entre 1/1 y 1/3, ventajosamente 1/1, más ventajosamente 1/1,2.

50 El tiempo necesario para la difusión molecular de la etapa (b) se determina mediante cualquier método apropiado. Esta etapa (b) se puede reiterar tantas veces como se desee para obtener una velocidad de disolución satisfactoria. Ventajosamente, la etapa (b) dura entre aproximadamente 1 y 16 horas.

55 Las condiciones de presión y de temperatura de la etapa (b) se seleccionan de manera que favorezcan la difusión molecular. Ventajosamente, la presión del fluido supercrítico está comprendida entre 0,5 MPa y 50 MPa, y la temperatura entre 0 y 200°C.

Ventajosamente, la etapa (b) del procedimiento según la presente invención se realiza en un reactor cerrado, en particular una autoclave.

60 El procedimiento se puede llevar a cabo en "batch" o en continuo. De manera ventajosa, el procedimiento según la presente invención se realiza en "batch".

65 Ventajosamente, la etapa (b) del procedimiento según la presente invención se realiza en un reactor cerrado eventualmente agitado, alimentado por el fluido denso y la disolución de sustancia activa llegado el caso, en continuo.

\* Las dos últimas etapas ((d) y (e)) consisten en añadir y mezclar un ácido o una base al complejo de sustancia activa-ciclodextrina.

5 Este ácido o esta base interactúa según dos hipótesis plausibles: interacciones fuertes con la sustancia activa incluida en la ciclodextrina durante las etapas anteriores, y/o interacciones fuertes con el complejo formado anteriormente.

10 Esto permite mejorar principalmente las propiedades de disolución del complejo en los líquidos biológicos, y en particular el agua y eventualmente aumentar el porcentaje de inclusión de la sustancia activa en la ciclodextrina.

La mejora de las propiedades fisicoquímicas, en particular en términos de disolución del sistema formado puede tener por origen

15 - Una interacción no covalente del ácido o de la base de la sustancia activa, la ciclodextrina o las dos (complejación, salificación, etc.).

- Una variación local del pH del medio de disolución.

20 - La obtención de un sistema que presenta un eutéctico.

- Una modificación de la interfaz entre el sistema y su medio de disolución (efecto surfactante, cambio de la granulometría).

25 La etapa (d) del procedimiento se lleva a cabo en medio semisólido, no siendo el complejo disuelto en un medio acuoso antes de la adición del ácido o de la base. Este agente humidificará por lo tanto simplemente el complejo o formará una pasta con el complejo. Ventajosamente, la etapa (d) se realiza bajo agitación.

30 La presente invención describe asimismo un compuesto de inclusión soluble que comprende una o varias sustancias activas poco solubles en un medio acuoso incluidas en una o varias ciclodextrinas y un ácido o una base, susceptible de ser obtenido mediante el procedimiento según la presente invención. Ventajosamente, el porcentaje de inclusión de la sustancia activa en el compuesto de inclusión soluble según la presente invención es superior a 95% calculado mediante análisis DSC tal como se describirá a continuación, ventajosamente superior a 98%, ventajosamente próximo a 99%.

35 Ventajosamente, la solubilidad del principio activo cuando se encuentra en la forma del complejo según la presente invención es superior a 2,5 g/l, ventajosamente por lo menos igual a 3 g/l. De forma ventajosa, el porcentaje de solubilización de la sustancia activa contenida en una disolución a 4 g/l en agua medida a 38°C después de 5 y 120 minutos de agitación es superior a 63%, ventajosamente por lo menos igual a 75%. Ventajosamente, la sustancia activa es el piroxicam y la solubilidad y el porcentaje de solubilización se miden a pH = 6,3.

40 Ventajosamente, la molécula hospedante es la ciclodextrina, y la sustancia activa es el piroxicam.

45 Ventajosamente, el piroxicam está presente en el complejo según la presente invención en una estructura zwitteriónica.

50 En el marco de la presente invención, se entiende por "porcentaje de solubilización" el porcentaje de piroxicam solubilizado después de 5 a 120 minutos de agitación a 37°C de una mezcla de agua y de piroxicam. Se utilizará usualmente para medir este porcentaje una mezcla a 4 g/l de piroxicam en agua. Esta solubilización se puede medir mediante un ensayo de solubilización tal como se indica a continuación (ensayo de solubilización del piroxicam).

55 La presente invención describe además un complejo que comprende piroxicam, una ciclodextrina y arginina, caracterizado porque el porcentaje de solubilización del piroxicam contenido en una disolución a 4 g/l en agua, medido a 37°C después de entre 5 y 120 minutos de agitación, es superior a 90%, ventajosamente superior a 95%, de manera ventajosa igual a 99%.

60 Por el término "ciclodextrinas" se entiende, en el sentido de la presente invención, las ciclodextrinas, las ciclodextrinas modificadas, y sus mezclas. De manera ventajosa, se trata de la  $\beta$ -ciclodextrina, de la metil- $\beta$ -ciclodextrina, de la  $\gamma$ -ciclodextrina o de la hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina. Ventajosamente, se trata de la  $\beta$ -ciclodextrina.

65 Ventajosamente, el complejo piroxicam-ciclodextrina-arginina presenta una buena cristalinidad, de manera ventajosa, este complejo presenta menos de 40% en peso de fase amorfa, de manera aún más ventajosa menos de 30% en peso de fase amorfa, ventajosamente una cantidad de fase amorfa inferior o igual a 20% en peso.

Ventajosamente, el porcentaje de inclusión del piroxicam en el complejo piroxicam-ciclodextrina-arginina medido mediante el análisis calorimétrico diferencial tal como se describirá a continuación es superior a 98%,

ventajosamente superior a 99%, de manera ventajosa próximo a 100%.

Ventajosamente, el piroxicam está presente en el complejo en forma de una estructura zwitteriónica.

5 Los complejos piroxicam, ciclodextrina y arginina son susceptibles de ser obtenidos mediante el procedimiento según la presente invención tal como se ha descrito anteriormente.

La presente invención describe además una composición farmacéutica que comprende un complejo piroxicam-ciclodextrina-arginina, y eventualmente un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 La presente invención describe asimismo un complejo piroxicam-ciclodextrina-arginina o una composición farmacéutica como medicamento, ventajosamente que tiene una acción antiinflamatoria y ventajosamente destinado a tratar los reumatismos inflamatorios, la poliartritis, la artrosis, las tendinitis o las afecciones post-traumáticas del aparato locomotor.

15 Los ejemplos siguientes se proporcionan a título indicativo.

Los diferentes ejemplos propuestos han sido realizados con piroxicam como sustancia activa, la beta-ciclodextrina como molécula hospedante y el agua como agente de difusión. El amoniaco o la arginina han sido utilizados como agentes de interacción con el complejo.

20

### Descripción de las figuras

25 La figura 1 representa el espectro RMN del complejo obtenido según el ejemplo 7.

La figura 2 representa el espectro ROESY-NOE intramolecular del complejo obtenido según el ejemplo 7.

30 La figura 3 representa el perfil TG-DGT (análisis termogravimétrico) de la  $\beta$ -ciclodextrina utilizando el procedimiento siguiente: aumento de la temperatura de 5°C por minuto hasta 450°C y después, disminución de la temperatura 10°C por minuto hasta 80°C.

La figura 4 representa el perfil DSC de la  $\beta$ -ciclodextrina utilizando el método siguiente: equilibrado a 0°C seguido de un aumento de la temperatura 5°C por minuto hasta 240°C.

35 La figura 5 representa el perfil del análisis termogravimétrico de la L-arginina utilizando el mismo procedimiento que el de la figura 3.

La figura 6 representa el perfil DSC de la L-arginina utilizando el mismo procedimiento que el de la figura 4.

40 La figura 7 representa el perfil DSC del piroxicam utilizando el mismo procedimiento que el de la figura 6.

La figura 8 representa el perfil DSC de una muestra de piroxicam fundido a 260°C y después enfriado hasta 0°C utilizando el procedimiento de equilibrado a 205°C, de disminución de la temperatura 20°C por minuto hasta 0°C y de aumento de la temperatura 5°C por minuto hasta 220°C.

45 La figura 9 representa el perfil DSC del complejo obtenido según el ejemplo 7 utilizando el procedimiento de equilibrado a 0°C, de aumento de la temperatura 5°C por minuto hasta 240°C y después, de disminución de la temperatura 5°C por minuto hasta 80°C.

50 La figura 10 representa el perfil TG-DGT del complejo obtenido según el ejemplo 7 utilizando el procedimiento de aumento de la temperatura 5°C por minuto hasta 450°C y después, de disminución de la temperatura 10°C por minuto hasta 80°C.

55 Las figuras 11 a 16 representan la modelización molecular de la estructura minimizada del complejo de inclusión piroxicam- $\beta$ -ciclodextrina 1:2. En particular, la figura 11 representa la vista de perfil con los átomos de hidrógeno, la figura 12 representa la vista de perfil sin los átomos de hidrógeno, la figura 13 representa la vista de la cavidad por el lado del ciclo benzotiazina con los átomos de hidrógeno, la figura 14 representa la vista de la cavidad por el lado del ciclo benzotiazina sin los átomos de hidrógeno, la figura 15 representa la vista de la cavidad por el lado del ciclo piridina con los átomos de hidrógeno y la figura 16 representa la vista de la cavidad por el lado del ciclo piridina sin los átomos de hidrógeno.

60 La figura 17 representa el difractograma de rayos X del complejo obtenido según el ejemplo 7, y del complejo obtenido con el procedimiento de la patente EP 0 153 998.



Análisis:

El porcentaje de inclusión de la sustancia activa en la molécula hospedante se evalúa mediante análisis térmico diferencial (DSC).

5 Los análisis DSC de los complejos obtenidos según los ejemplos 1 a 6, han sido realizados de la manera siguiente:

Se aplica un intervalo de temperatura bajo flujo de nitrógeno al producto a ensayar, con la ayuda de un aparato DSC7 de Perkin Elmer.

10 El rendimiento de complejación se evalúa mediante la medición de la reducción (o desaparición) del pico térmico relativo a la fusión del principio activo "que se ha quedado libre" en forma cristalina.

15 El análisis DSC del complejo obtenido según el ejemplo 7 ha sido realizado de la manera siguiente:

El aparato DSC Q100 de TA Instruments ha sido calibrado con la ayuda de la señal de fusión del indio bajo un flujo de nitrógeno de 50 ml.min<sup>-1</sup>. La muestra se analiza en cabina estanca de 5°C.min<sup>-1</sup>.

20 Los análisis termogravimétricos se realizan con la ayuda del aparato TGA2950 HR de TA Instruments con el fin de determinar el campo de estabilidad térmica de las muestras. El aparato se calibra a la temperatura ambiente y con la ayuda del punto de Curie del níquel a 360,46°C. La exactitud del equilibrio se verifica mediante el análisis de una muestra de oxalato de calcio.

25 El análisis se realiza bajo un flujo de nitrógeno de 60 ml.min<sup>-1</sup> de 25°C a 450°C.

La cantidad de agua en las muestras se determina mediante coulometría con la ayuda del coulómetro Mettler KF DL 37. El aparato se calibra con el STANDARD tartrato de sodio dihidrato (% H<sub>2</sub>O = 15,66 ± 0,05%).

30 La difracción de los rayos X de polvos se realiza con el aparato y en las condiciones siguientes:

- difractómetro Philips Xpert MDP, generador Philips tensión 40kV intensidad 20 mA
- anticátodo de cobre (K<sub>alpha</sub> = 1,5418367 angstrom), filtro Ni
- ranura de entrada 1/8
- detector Xcelerator
- 35 - modo escaneo continuo
- muestra triturada en polvo sobre plaqueta
- campo angular (°2θ) 4 a 100
- duración del escaneo: 80 segundos

40 El análisis de las fases se realiza con la ayuda del programa Visual CRYSTAL.

Los espectros de difusión Raman se obtienen con el aparato y en las condiciones siguientes:

- 45 - Espectrómetro Raman Labram HR 800 de Jobin Yvon
- Temperatura: 22°C
- Muestras: polvo sobre portaobjeto de microscopio
- Longitud de onda de excitación: 752 nm, potencia del láser 10 mW sobre la muestra
- Resolución espectral 2 cm<sup>-1</sup>, volumen que difunde aproximadamente 1 μm<sup>3</sup> (red de 600 trazos)

50 El espectro RMN protón se registra en un espectrómetro DPX AVANCE Bruker a la frecuencia nominal de 400 MHz utilizando una sonda inversa de banda ancha equipada con un accesorio de gradiente de campo según el eje Z. El espectrómetro se coloca previamente en la frecuencia de resonancia del deuterio del disolvente de solubilización, en este caso el dimetilsulfóxido-d<sub>6</sub> (Eurisotop, ref. D 310B, lote A 2731). Los desplazamientos químicos se proporcionan en ppm con respecto al TMS (tetrametilsilano) utilizado como estándar interno.

55 El espectro ROESY (Rotating frame Overhauser Enhancement Spectroscopy) se obtiene aplicando el microprograma de impulsos Bruker "roesytp.2". El registro se realiza en modo fásico con 1.024 incrementos y 72 barridos por incremento, es decir una duración total de experimento de 53 horas por producto. La adquisición se realiza seleccionando una ventana espectral de 6410,256 Hz, un plazo de relajación de 2 s y un tiempo de cierre de spin de 350 ms. Previamente al registro del espectro, la muestra se desgasifica correctamente con el fin de observar el máximo de efecto NOE intra e intermolecular.

65 Debido a la baja solubilidad de los complejos en el agua y a la sensibilidad del espectrómetro RMN en posesión de los presentes inventores, se ha preferido trabajar en el dimetilsulfóxido deuteriado en el que es posible alcanzar una concentración de 2% (p/v) en complejo.

Modelización molecular: la optimización del complejo de inclusión piroxicam- $\beta$ -ciclodextrina (1:2) se realiza con el programa Hyperchem<sup>®</sup>, versión 6.02 (Hypercube, Gainsville, USA), implementado en un ordenador personal pentium III modelo HP Vectra.

5 La estructura molecular del piroxicam utilizada para los cálculos de minimización está extraída de la publicación de Jon Bordner *et al.* (Acta Cryst., 1984, C40, 989 - 990).

La estructura molecular de la  $\beta$ -ciclodextrina procede de la Cambridge Crystallographic Database (M.R. Caira *et al.*, J. Chem. Soc., Chem. Commun, 1994, 1061 - 1062).

10 La minimización de energía de la geometría y de la conformación del complejo se realiza con la ayuda del campo de fuerza MM2.

15 La simulación de las propiedades fisicoquímicas (pKa, LogD y la solubilidad) a partir de la molécula de piroxicam se realiza con el programa ACD/logD suite (ACD/labs software, Toronto, Canadá).

20 Para medir las propiedades de disolución del polvo, se disuelve el equivalente de 4 g/l de piroxicam en una disolución acuosa, a 37°C. Al cabo de 15 minutos, se efectúa una extracción, después se mide mediante HPLC la cantidad de piroxicam disuelta, y el resultado se expresa en gramos de piroxicam disuelto por litro de agua.

Según este método, la solubilidad del piroxicam puro en el agua es inferior a 0,2 g/l.

#### ENSAYO DE SOLUBILIZACIÓN DEL PIROXICAM

25 Protocolo de realización:

La dosificación del Piroxicam en la solución de disolución se realiza mediante HPLC:

30 Aparato utilizado:

Sistema HPLC WATERS:

- módulo de separación 2695,
- Detector UV 2487.

35 Condiciones cromatográficas:

Columna: WATERS X-Terra MS C18 250x4,6 mm.

40 1.1.1.1.1 Fase móvil: Vía A

60% de tampón pH=3,5 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6,81 g/l ajustado al pH con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> diluido R,  
40% de acetonitrilo

Caudal: 1 ml/min.

45 Longitud de onda del detector: 230 nm

Sensibilidad del detector: 2 AUFS

Volumen inyectado: 20  $\mu$ l

Temperatura del horno: 40°C

Tiempo de análisis: 12 minutos

50 Preparación de las disoluciones control:

Disolución control: SM: Introducir 50 mg de Piroxicam control en un frasco de 100 ml. Disolver con 20 ml de dimetilformamida y completar hasta el volumen con metanol.

55 Intervalo:

T1: Dilución a 1/20<sup>a</sup> de T3 en 40 acetonitrilo/60 agua.

T2: Dilución a 1/10<sup>a</sup> de T3 en 40 acetonitrilo/60 agua.

60 T3: Dilución a 1/100<sup>a</sup> de SM en 40 acetonitrilo/60 agua.

T4: Dilución a 1/50<sup>a</sup> de SM en 40 acetonitrilo/60 agua.

Tus: Dilución a 1/20<sup>a</sup> de SM en 40 acetonitrilo/60 agua.

Condiciones de realización de las cinéticas de disolución a 4 g/l:Realización del ensayo:5 Condiciones de realización:

En un Erlenmeyer de 100 ml, introducir una muestra de ensayo equivalente a 200 mg de Piroxicam. Añadir 50 ml de agua. Poner bajo agitación magnética a 400 rpm, en un baño termostataado a 37°C +/- 2°C. Efectuar una extracción de 2 ml bajo agitación magnética a 5, 30, 60, y 120 minutos. Filtrar las extracciones sobre un filtro de polipropileno 0,45 µm Gelman GHP Acrodisc. La disolución debe ser límpida.

Diluir la extracción a 1/200<sup>a</sup> en la fase móvil.

Metodología, expresión de los resultados:

- 15 Inyectar 20 µl de cada disolución control.
- Efectuar una regresión lineal de las superficies de los picos de Piroxicam con respecto a las concentraciones. El coeficiente de correlación debe ser superior a 0,995.
- 20 Inyectar 20 µl de las disoluciones a examinar.
- Medir el área del pico de Piroxicam en cada disolución a examinar.
- 25 Deducir la concentración X en µg/ml según la recta de regresión de los controles.
- Calcular la concentración en µg por ml de Piroxicam solubilizado multiplicando por la inversa de la dilución realizada (es decir: 200).
- 30 El porcentaje de solubilización del piroxicam se calcula dividiendo la concentración de piroxicam solubilizado por la concentración de piroxicam total de la disolución de partida.

**Ejemplo 1: Resultados obtenidos utilizando el procedimiento según la presente invención**

- 35 Se mezclan 8 gramos de piroxicam, 75 gramos de beta-ciclodextrina, y 25,2 g de agua y se introducen en un reactor de dos litros. El dióxido de carbono se introduce a continuación en el reactor bajo una presión de 200 bares y a una temperatura de 150°C. El conjunto se mantiene en estas condiciones de realización durante un tiempo de dos horas.
- 40 Después de la etapa denominada de maduración, una parte del polvo recolectado (12 g) se mezcla con 2,11 g de una disolución de amoníaco al 28%, y después se dispone en una autoclave ventilada a 60°C, durante una noche.
- El análisis DSC revela un porcentaje de inclusión del piroxicam en la ciclodextrina de 99%, siendo la disolución del piroxicam de 3,019 g/l.

**Ejemplo comparativo 2: Resultados obtenidos después de la etapa de maduración sin adición de ningún agente de interacción con el complejo**

- 50 Se mezclan 4 gramos de piroxicam, 38 gramos de beta-ciclodextrina, y 8,95 gramos de agua y se introducen en un reactor de dos litros. El dióxido de carbono se introduce a continuación en el reactor bajo una presión de 150 bares y a una temperatura de 150°C. El conjunto se mantiene en estas condiciones de realización durante un tiempo de dos horas.
- 55 Después del reposo del medio, una parte del polvo recolectado se dispone en una estufa ventilada a 60°C, durante una noche. El análisis DSC revela un porcentaje de inclusión del piroxicam en la ciclodextrina de 80%, siendo la disolución del piroxicam de 0,246 g/l.

**Ejemplo comparativo 3: Resultados obtenidos si el agente de interacción con el complejo está presente durante la etapa de maduración (b)**

- 60 Se mezclan 2 g de piroxicam, 19 g de beta-ciclodextrina, 3,75 g de agua y 1,5 g de disolución de amoníaco al 28% y se introducen en un reactor de dos litros. El dióxido de carbono se introduce a continuación en el reactor bajo una presión de 200 bares y a una temperatura de 160°C. El conjunto se mantiene en estas condiciones de realización durante un tiempo de dos horas.
- 65 Después del reposo del medio, el polvo recolectado se dispone en una estufa ventilada a 60°C, durante una noche.

El análisis DSC revela un porcentaje de inclusión del piroxicam en la ciclodextrina de 50%, siendo la disolución del piroxicam de 1,075 g/l.

5 **Ejemplo comparativo 4: Resultados obtenidos si se intenta fijar el agente de interacción a la molécula hospedante antes de la etapa de maduración (b)**

10 Se mezclan 19 g de beta-ciclodextrina, 2,11 g de disolución de amoníaco al 28% y 3,15 g de agua purificada, y se disponen en una estufa ventilada a 60°C, durante una noche. Se añaden a continuación 2 g de piroxicam y 6,57 g de agua. La mezcla se introduce después en un reactor de dos litros. El dióxido de carbono se introduce a continuación en el reactor bajo una presión de 200 bares y a una temperatura de 160°C. El conjunto se mantiene en estas condiciones de realización durante un tiempo de dos horas.

15 El análisis DSC revela un porcentaje de inclusión del piroxicam en la ciclodextrina de 92%, siendo la disolución del piroxicam de 0,23 g/l.

20 **Ejemplo comparativo 5: Resultados obtenidos si se intenta fijar el agente de interacción a la sustancia activa antes de la etapa de maduración (b)**

Se mezclan 2 g de piroxicam y 2 g de disolución de amoníaco al 28%, y se disponen en una estufa ventilada a 60°C, durante una noche. Se añaden después 14,3 g de beta-ciclodextrina y 3,3 g de agua. La mezcla se introduce a continuación en un reactor de dos litros. El dióxido de carbono se introduce a continuación en el reactor bajo una presión de 150 bares y a una temperatura de 150°C. El conjunto se mantiene en estas condiciones de realización durante un tiempo de dos horas.

25 El análisis DSC revela un porcentaje de inclusión del piroxicam en la ciclodextrina de 56%, siendo la disolución del piroxicam de 1,370 g/l.

30 **Ejemplo 6: Resultados utilizando el procedimiento según la presente invención sobre lotes de tamaño semi-industrial: 12,5 kg**

Se mezclan 1,1 kg de piroxicam, 10,6 kg de beta-ciclodextrina, 1,3 kg de agua, y se introducen en un reactor de 50 litros. El dióxido de carbono se introduce a continuación en el reactor bajo una presión de 150 bares y a una temperatura de 100°C. El conjunto se mantiene en estas condiciones de realización durante un tiempo de dos horas.

35 Una parte del polvo se dispone en una estufa a 80°C durante una noche. El análisis DSC revela un porcentaje de inclusión del piroxicam en la ciclodextrina de 89%, siendo la disolución del piroxicam de 1,937 g/l.

40 El polvo recolectado (12,6 kg) se mezcla con 2,6 kg de una disolución de amoníaco al 28%, y después se dispone en una estufa ventilada a 60°C.

45 El análisis DSC revela un porcentaje de inclusión del piroxicam en la ciclodextrina de 100%, siendo la disolución del piroxicam superior a 3 g/l.

Resumen de los resultados obtenidos

La tabla 1 siguiente reúne los resultados de los diferentes ejemplos 1 a 6 indicados anteriormente y permite constatar el valor añadido del procedimiento según la presente invención.

Tabla 1:

Procedimiento/Materias	/	Ej. 1	Ej. Comp. 2	Ej. Comp. 3	Ej. Comp. 4	Ej. Comp. 5	Ej. 6
Materias utilizadas:							
• Piroxicam	X	X	X	X	X		X
• Piroxicam previamente mezclado con el agente de interacción con el complejo						X	
• β-ciclodextrina		X	X	X		X	X
• β-ciclodextrina previamente mezclada con el agente de interacción con el complejo					X		
1ª fase: Complejación en medio CO <sub>2</sub> supercrítico		X	X		X	X	X
2ª fase: adición del agente de interacción con el complejo		X					X
1 sola fase: Complejación con el agente de interacción con el complejo en medio CO <sub>2</sub> supercrítico				X			
Porcentaje de complejación (DSC)	/	99%	80%	50%	92%	56%	100 %
Disolución (g/l)	< 0,2	3,02	0,25	1,07	0,23	1,37	> 3

**Ejemplo comparativo 7: Complejo Piroxicam,  $\beta$ -ciclodextrina, arginina**

5 Se introducen en un reactor 43 gramos de piroxicam, 384 gramos de  $\beta$ -ciclodextrina y 25 gramos de arginina, así como 61 gramos de agente de difusión (agua). El dióxido de carbono se introduce a continuación en el reactor bajo una presión de 15 MPa y a una temperatura de 100°C. El conjunto se mantiene en estas condiciones de realización durante un tiempo de una hora.

10 Sobre los complejos obtenidos, se miden la cinética de disolución y el porcentaje de solubilización tal como se ha indicado anteriormente en "Ensayo de solubilización del PIROXICAM". Los resultados se reúnen en la tabla 2 siguiente.

Tiempo (minutos)	Concentración en piroxicam ( $\mu\text{g/ml}$ )	Porcentaje de solubilización (%)
5	3863	96,6
30	3854	96,4
60	3941	98,5
120	3962	99

RMN:

15 El espectro RMN  $^1\text{H}$  de un complejo obtenido según el ejemplo 7 (figura 1) está de acuerdo con la composición química de este compuesto.

20 La señal observada a 13,5 ppm se atribuye al protón piridinio que aporta una prueba suplementaria de la existencia de una estructura zwitteriónica del piroxicam en el complejo obtenido según el ejemplo 7.

Análisis del espectro ROESY (figura 2)

25 Este estudio que permite estudiar las transferencias de magnetización entre unos protones próximos en el espacio explicará el modo de inclusión del piroxicam en la  $\beta$ -ciclodextrina y permitirá así modelizar el complejo correspondiente.

30 A partir del mapa ROESY se distinguen los efectos NOE intramoleculares (entre protones de la misma molécula), de los efectos intermoleculares (entre protones que pertenecen a moléculas diferentes). Si los efectos NOE intramoleculares son, evidentemente, instructivos en términos de análisis conformacional, se citarán sin embargo sólo los efectos NOE intermoleculares que demuestran una encapsulación del piroxicam en la  $\beta$ -ciclodextrina. El análisis del espectro ROESY registrado en un complejo obtenido según el ejemplo 7 (figuras 2) muestra claramente unos picos de relajación cruzada entre H-9/10 del piroxicam y H-5' de la  $\beta$ CD y después entre H-7, H-6, H-3 del piroxicam y H-3' de la  $\beta$ -ciclodextrina. Estos resultados están de acuerdo con un complejo de inclusión 1:2, piroxicam: $\beta$ -ciclodextrina.

35 **Análisis térmico y dosificación de agua:** El análisis termogravimétrico de la  $\beta$ -ciclodextrina (figura 3) demuestra dos transiciones a 70,6°C y 313°C. La primera corresponde a una pérdida de peso de 13,4% de acuerdo con la cantidad de agua determinada por coulometría (14,1%), y la segunda transición se atribuye a la descomposición térmica de la  $\beta$ -ciclodextrina.

40 El análisis DSC (figura 4) muestra un amplio endotermo centrado en 162°C que corresponde al fenómeno de deshidratación. El análisis termogravimétrico de la arginina (figura 5) muestra que ésta es estable hasta aproximadamente 230°C antes de descomponerse. Se observan dos endotermos en el perfil DSC (figura 6), el primero a 215,6°C (fusión o transición de fases) y el segundo a 234°C relacionado con el fenómeno de descomposición.

El perfil DSC del piroxicam muestra que la fusión interviene a 201°C con una entalpía de 104 J.g<sup>-1</sup> (figura 7).

50 Se realizan unos ciclos de calentamiento enfriamiento, en los que una muestra de piroxicam se funde a 205°C y después se enfría hasta 0°C. El perfil DSC de esta muestra (figura 8) revela la existencia de una transición vítrea a 62°C, característica del estado amorfo que cristaliza a 122°C. Un endotermo débil a 178°C seguido de un exotermo y después, de un último endotermo a 197°C traduce la existencia de varias formas cristalinas del piroxicam (polimorfismo).

55 Los dos endotermos a 178°C y 197°C estarían atribuidos respectivamente a la fusión de las formas III y II mientras que la muestra inicial antes del tratamiento térmico correspondería a la forma I (fusión a 201°C) (F. Vreecer, S. Srcici y J. Smid-Korbar, International Journal of Pharmaceutics 68 (1991) 35-41).

60 El contenido en agua del complejo obtenido según el ejemplo 7 es del orden de 10% p/p, tal como se indica en la

tabla 3 siguiente:

Tabla 3 - Resultado de las dosificaciones de agua del complejo del ejemplo 7

Complejo	Contenido de H <sub>2</sub> O (TGA)	Contenido de H <sub>2</sub> O (coulometría)
Obtenido según el ejemplo 7	9,99%	10,14 %

5 El perfil DSC del complejo obtenido según el ejemplo 7 (figura 9) no muestra las transiciones a 198-200°C y a 218°C, lo cual sugiere una inclusión próxima a 100%.

10 El perfil TG DTG del complejo obtenido según el ejemplo 7 (figura 10) muestra una transición a 191°C. Se atribuye esta transición a la descomposición de la arginina. En efecto, la primera etapa de descomposición de la arginina corresponde a una pérdida de peso del orden de 39,2% y si se tiene en cuenta el contenido en arginina en el complejo, aproximadamente 6% p/p (determinación mediante RMN), esta pérdida de peso debería ser del orden de 2,35% p/p, en un acuerdo excelente con la observada en los perfiles TG y DGT a 191°C (2,40%).

15 Modelización molecular: La estructura minimizada del complejo de inclusión piroxicam:β-ciclodextrina (1:2) se representa en las figuras 11 a 16. Esta estructura optimizada tiene en cuenta las interacciones espaciales observadas por espectrometría ROESY.

20 Tal como se indica en la publicación de G.M. Escandar (Analyst, 1999, 124, 587 - 591), la molécula de piroxicam es demasiado voluminosa (aproximadamente 6 x 13,7 Å) para ser totalmente encapsulada en una cavidad de β-ciclodextrina. Con un complejo PX:(βCD)<sub>2</sub> la molécula de piroxicam está totalmente incluida.

25 Simulación de las propiedades fisicoquímicas: variación de solubilidad del piroxicam en función del pH del medio de disolución. La estructura zwitteriónica presente entre pH 2 y 6, la solubilidad más baja. El valor de logD evoluciona en el sentido inverso. En el intervalo de pH 2 - 6, la molécula es relativamente hidrófoba, lo cual representa otra interacción favorable para la encapsulación. Entre pH 6 y pH 7,5, el zwitterión está todavía presente y el valor de solubilidad aumenta sustancialmente en función del pH. De lo cual se desprende el interés en preparar unos complejos en esta zona de pH con el fin de sumar los dos efectos solubilizantes que son la encapsulación por un lado y la salificación del piroxicam por otro lado. Los valores medidos de pH se indican a continuación: complejo  
30 según el ejemplo 7 a 13,9 mg/10 ml H<sub>2</sub>O = pH 7,87.

35 Difracciones con rayos X del complejo obtenido según el ejemplo 7 y del complejo obtenido según el procedimiento descrito en el documento EP 0 153 998: el difractograma se representa en la figura 17. El difractograma de polvo del complejo según el ejemplo 7 muestra unas rayas de difracción intensas y de buena resolución que demuestran una mejor cristalinidad de esta muestra con respecto a la del complejo según el procedimiento de la patente EP 0 153 998. Según el programa Visual CRYSTAL, el complejo obtenido según el ejemplo 7 presenta entre 16 y 20% en peso de fase amorfa.

#### 40 Ejemplo comparativo 8: complejo piroxicam, β-ciclodextrina, arginina

45 Se introducen en un reactor 400 gramos de piroxicam, 3.832 gramos de β-ciclodextrina y 253 gramos de arginina, así como 613 gramos de agente de difusión (agua). El dióxido de carbono se introduce a continuación en el reactor bajo una presión de 15 MPa y a una temperatura de 100°C. El conjunto se mantiene en estas condiciones de realización durante un tiempo de una hora.

Sobre los complejos obtenidos, se miden la cinética de disolución y el porcentaje de solubilización tal como se ha indicado anteriormente en "Ensayo de solubilización del PIROXICAM". Los resultados se reúnen en la tabla 3 siguiente.

Tiempo (minutos)	Concentración en piroxicam (μg/ml)	Porcentaje de solubilización (%)
5	3.953	98,8
30	3.895	97,3
60	3.952	98,8
120	4.041*	100
* Resultado en coherencia con la incertidumbre relacionada con la medición.		

50

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Procedimiento de preparación de un compuesto de inclusión soluble, que comprende una o varias sustancias activas poco solubles en un medio acuoso incluidas en una o varias ciclodextrinas, caracterizado porque comprende las etapas sucesivas siguientes:
- 10 a. poner en contacto una o varias sustancias activas con una o varias ciclodextrinas,
- b. realizar una etapa de difusión molecular mediante la puesta en contacto, en modo estático, de un fluido denso bajo presión con la mezcla obtenida en la etapa (a) en presencia de agua,
- 15 c. recuperar el complejo molecular sustancia activa/ciclodextrina así formado,
- d. realizar en medio semisólido una etapa que consiste en añadir y mezclar un agente de interacción con el complejo al complejo molecular sustancia activa/ciclodextrinas, siendo el agente de interacción con el complejo un ácido o una base,
- e. recuperar el compuesto de inclusión así formado.
- 20 2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el agente de interacción con el complejo es un aminoácido, un ácido carboxílico o el amoníaco, ventajosamente el amoníaco.
3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado porque el fluido denso bajo presión es el dióxido de carbono.
- 25 4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque la sustancia activa es un agente activo farmacéutico, preferentemente seleccionado de entre el grupo constituido por los analgésicos, los antipiréticos, la aspirina y sus derivados, los antibióticos, los antiinflamatorios, los antiulcerosos, los antihipertensores, los neurolépticos, los antidepresivos, los oligonucleótidos que presentan una actividad terapéutica, los péptidos que presentan una actividad terapéutica y las proteínas que presentan una actividad terapéutica, y un agente activo cosmético o nutracéutico.
- 30 5. Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque la sustancia activa se selecciona de entre el grupo constituido por los derivados de anilida, los derivados de epipodofilotoxina, el minoxidil, el piroxicam, el ácido valérico, el ácido octanoico, el ácido láurico, el ácido esteárico, el ácido tiaprofénico, el omeprazol, el econazol, el miconazol, el ketoconazol, el astemizol, la ciclobenzaprina, la nimesulida, el ibuprofeno, la terfenadina, la domperidona, el naproxeno y la eflicimiba, ventajosamente se trata del piroxicam.
- 35 6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque la presión del fluido denso está comprendida entre 0,5 MPa y 50 MPa, y la temperatura entre 0 y 200°C.
- 40 7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque la etapa (b) de difusión molecular se realiza con agitación.
- 45 8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque el agua se añade en continuo o en discontinuo en una cantidad comprendida entre 1 y 50% en masa, preferentemente entre 10 y 25% en masa.
- 50 9. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque la etapa (b) del procedimiento se lleva a cabo en un reactor cerrado eventualmente agitado, alimentado por el fluido denso y la disolución de sustancia activa llegado el caso, en continuo.

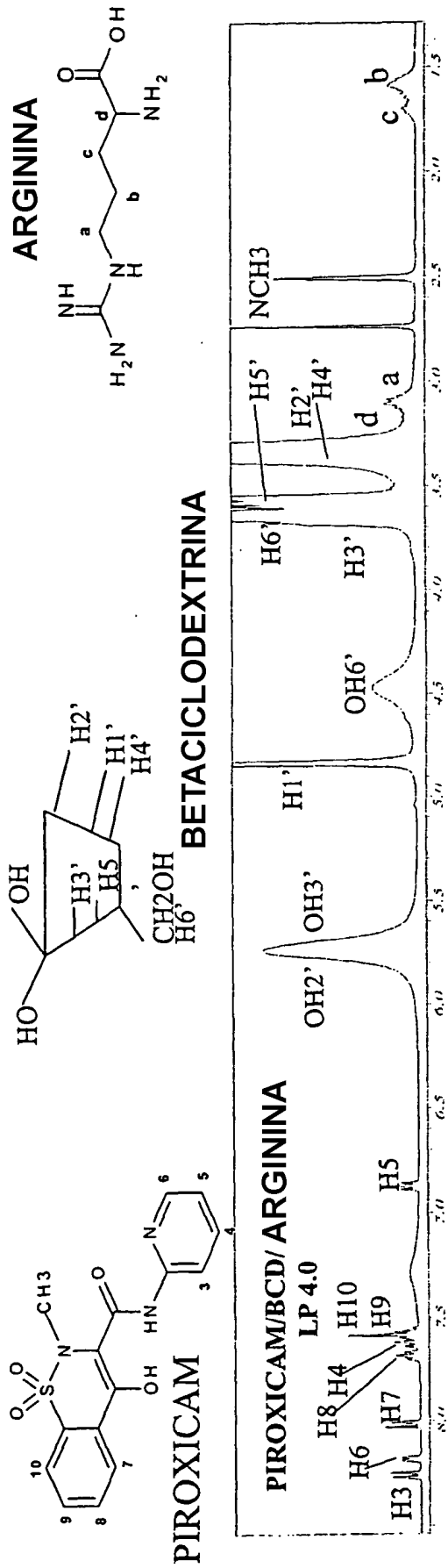


Figura 1



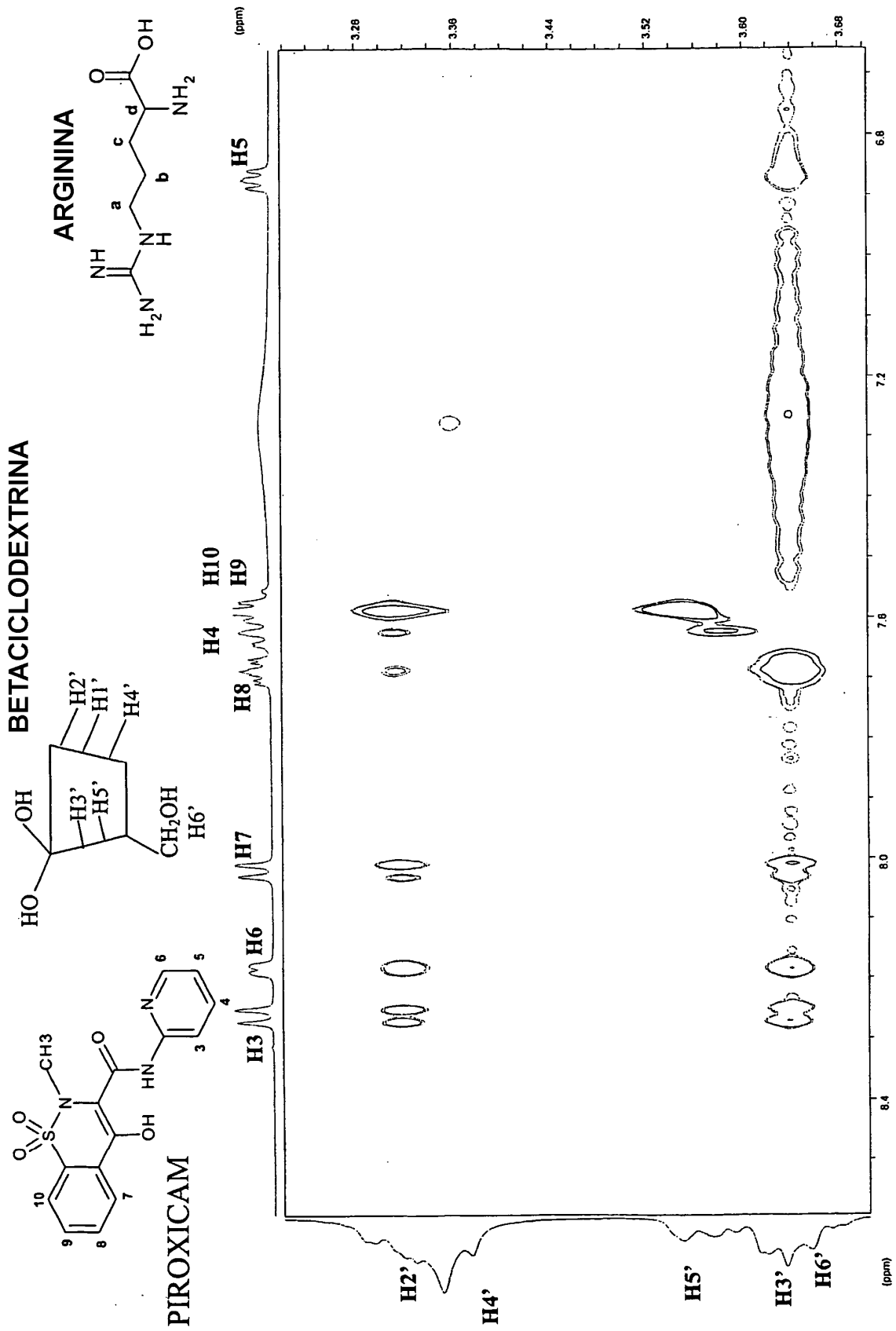


Figura 2

Tamaño: 4,9220 mg

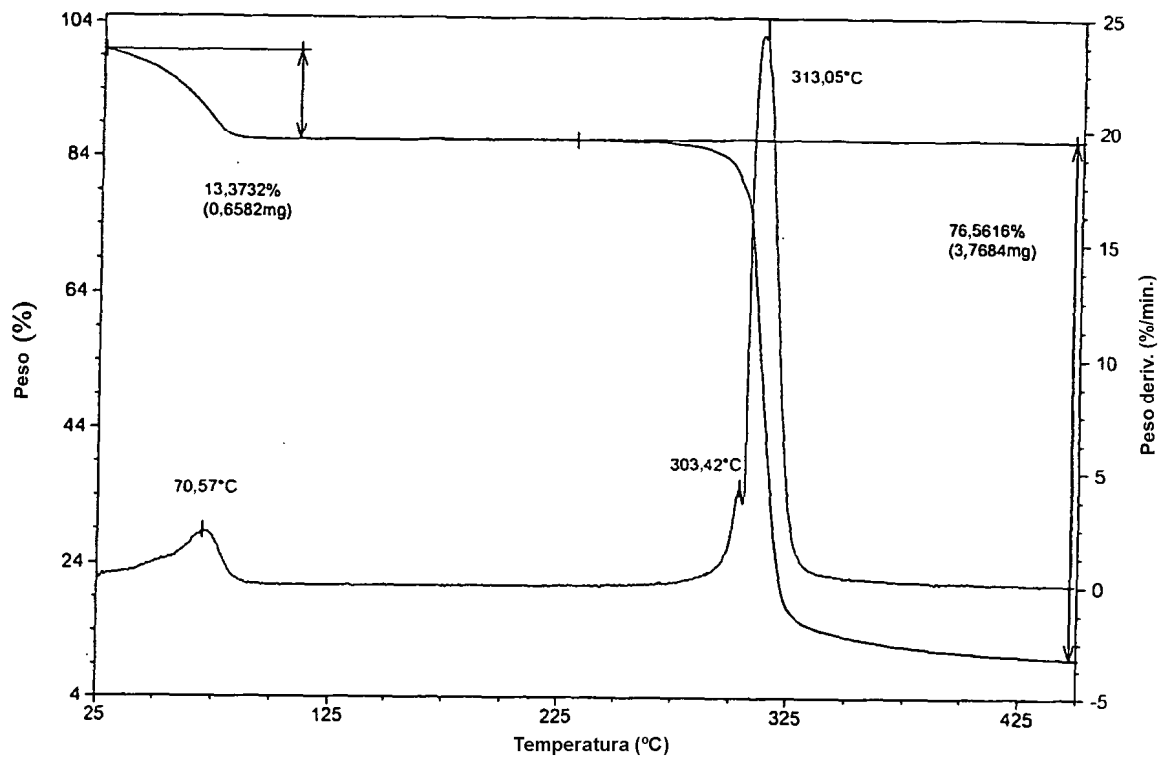


Figura 3

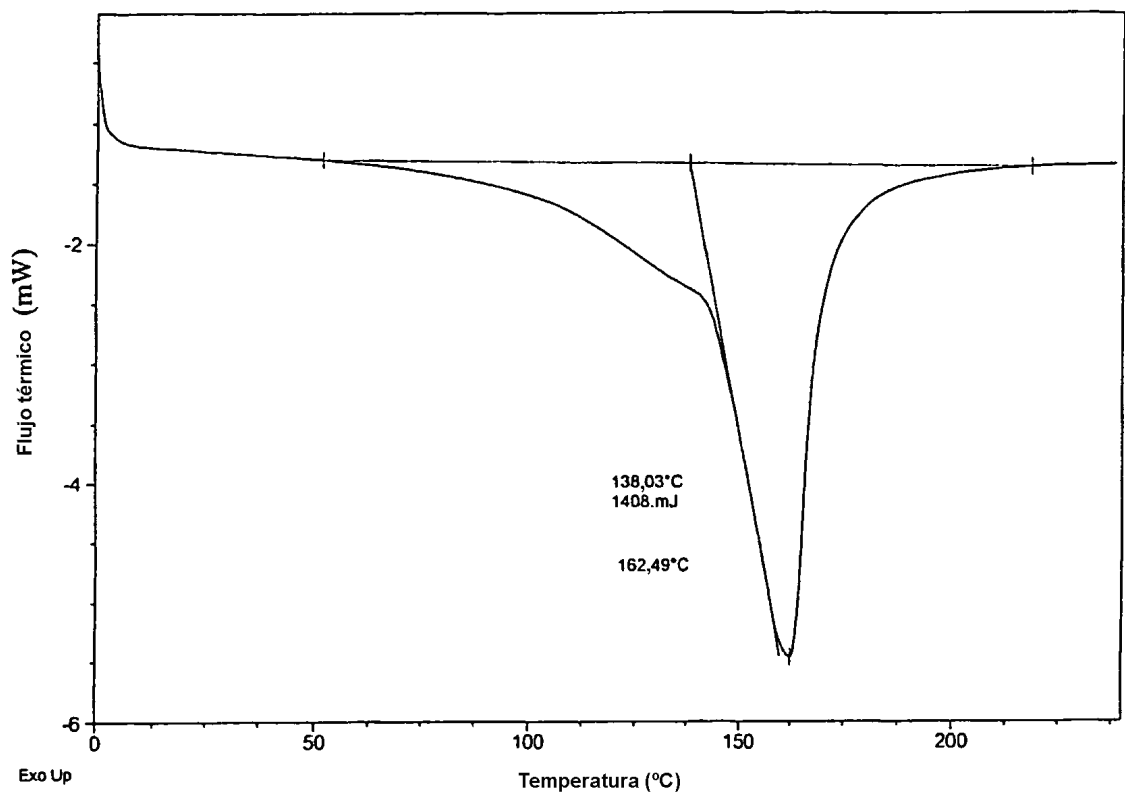


Figura 4

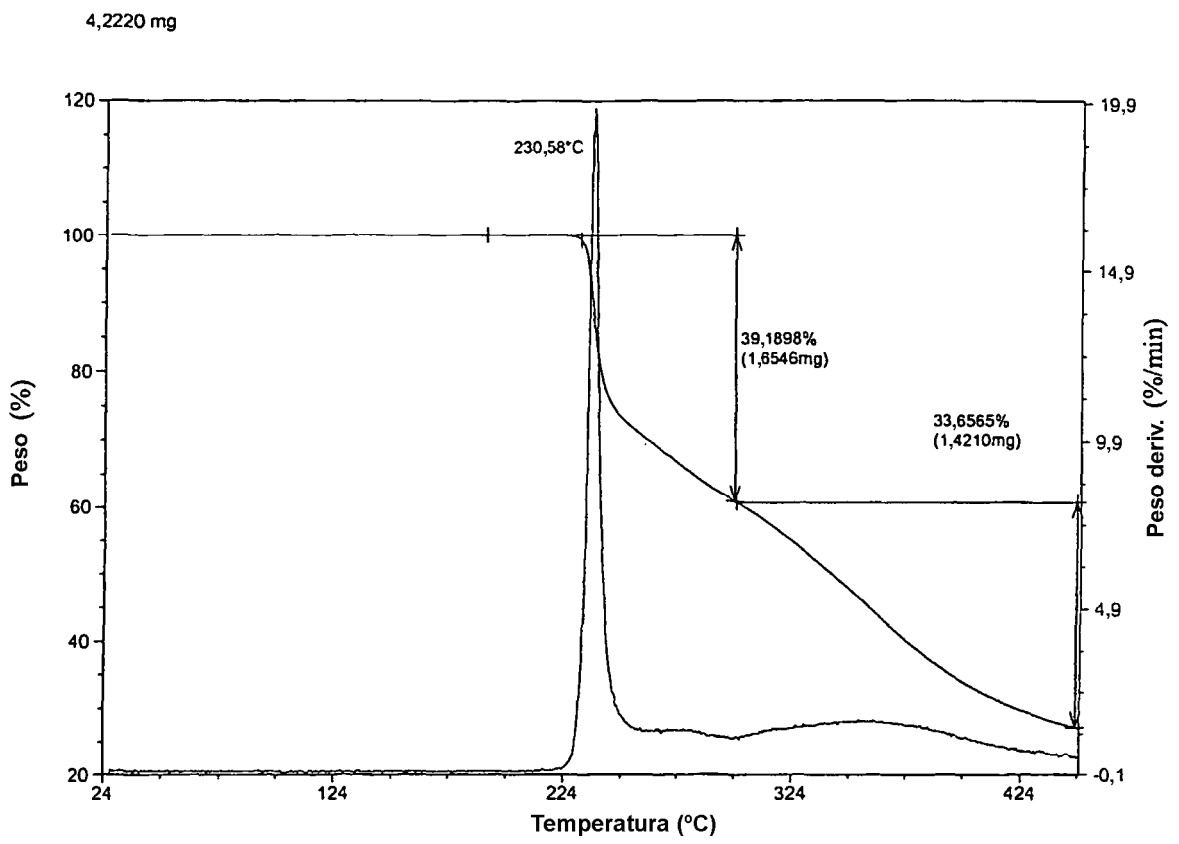


Figura 5

Tamaño: 3,6400 mg

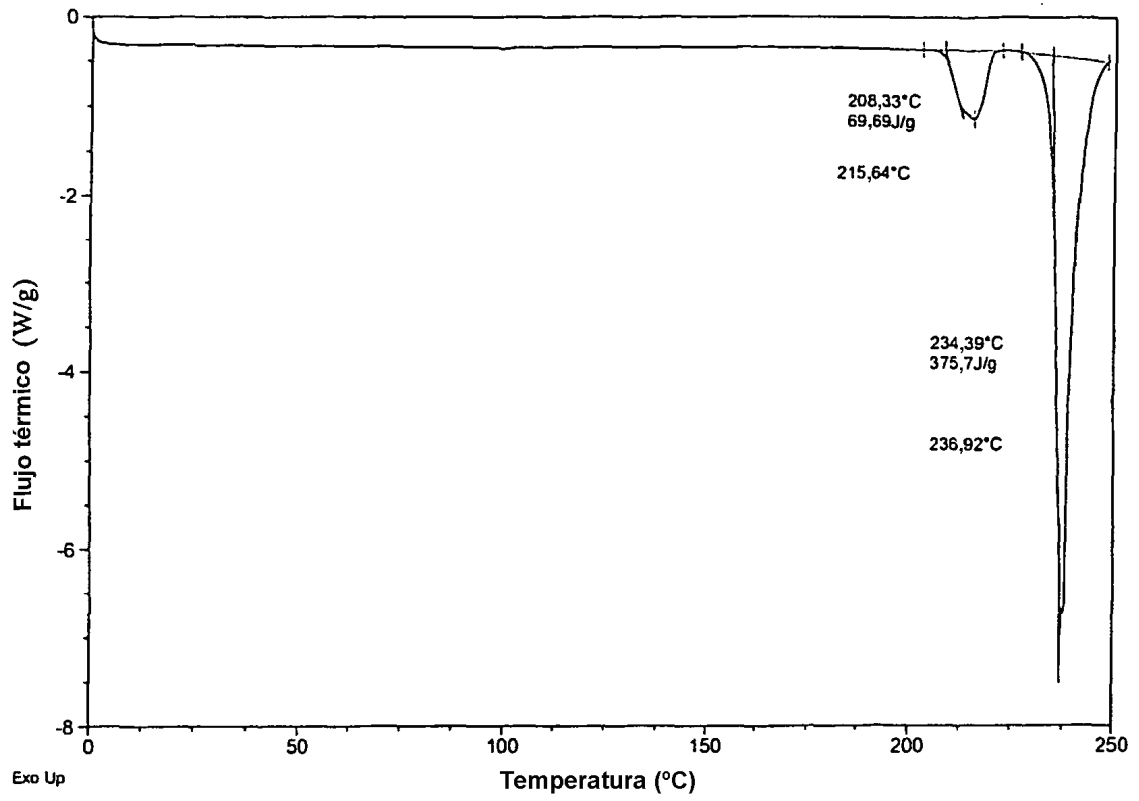


Figura 6

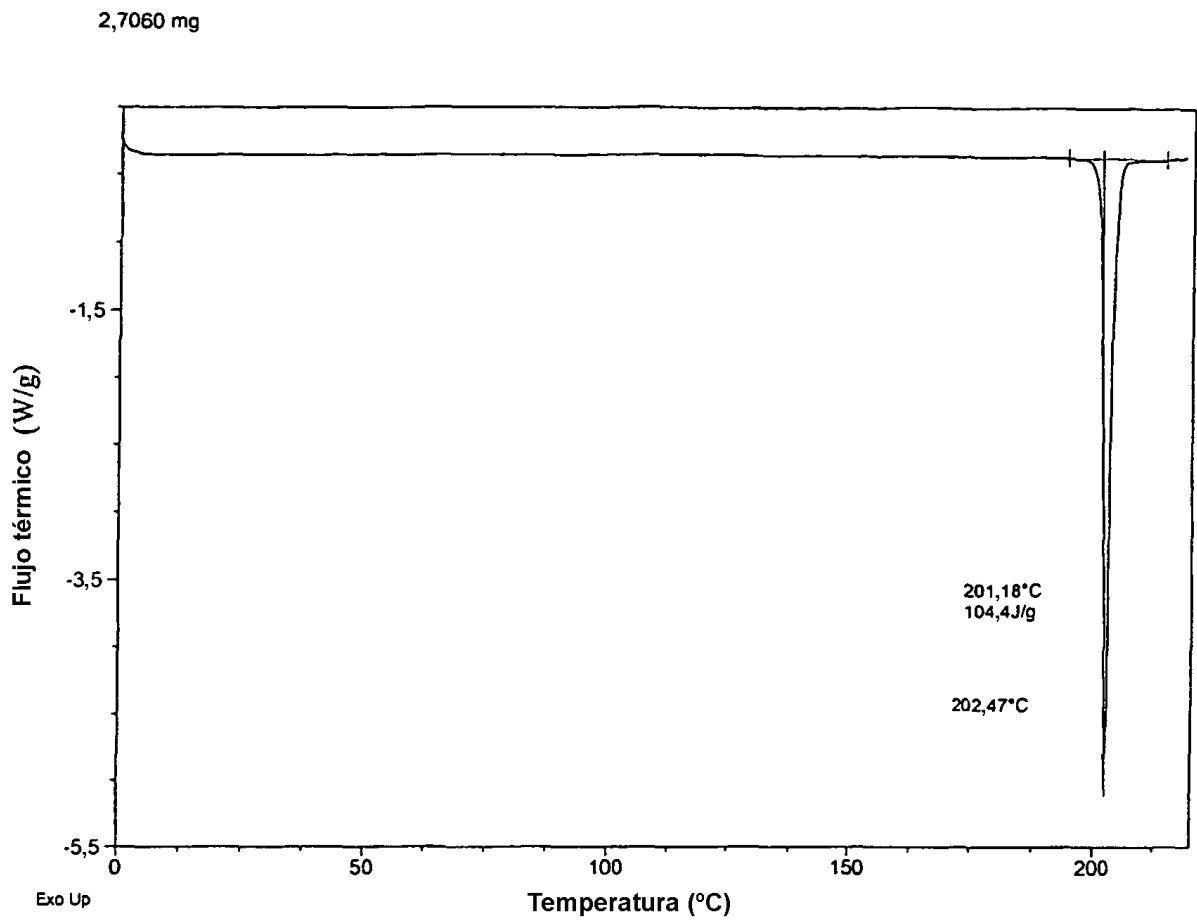


Figura 7

Tamaño: 2,2380 mg

DSC

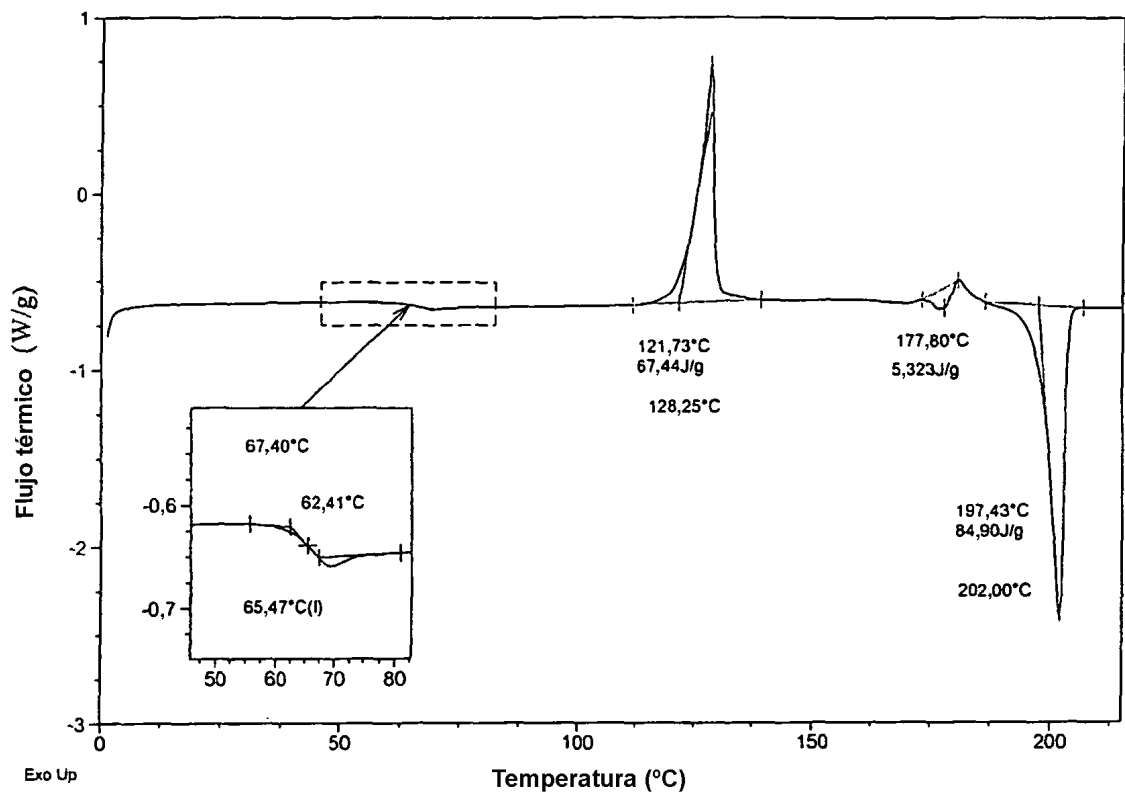


Figura 8

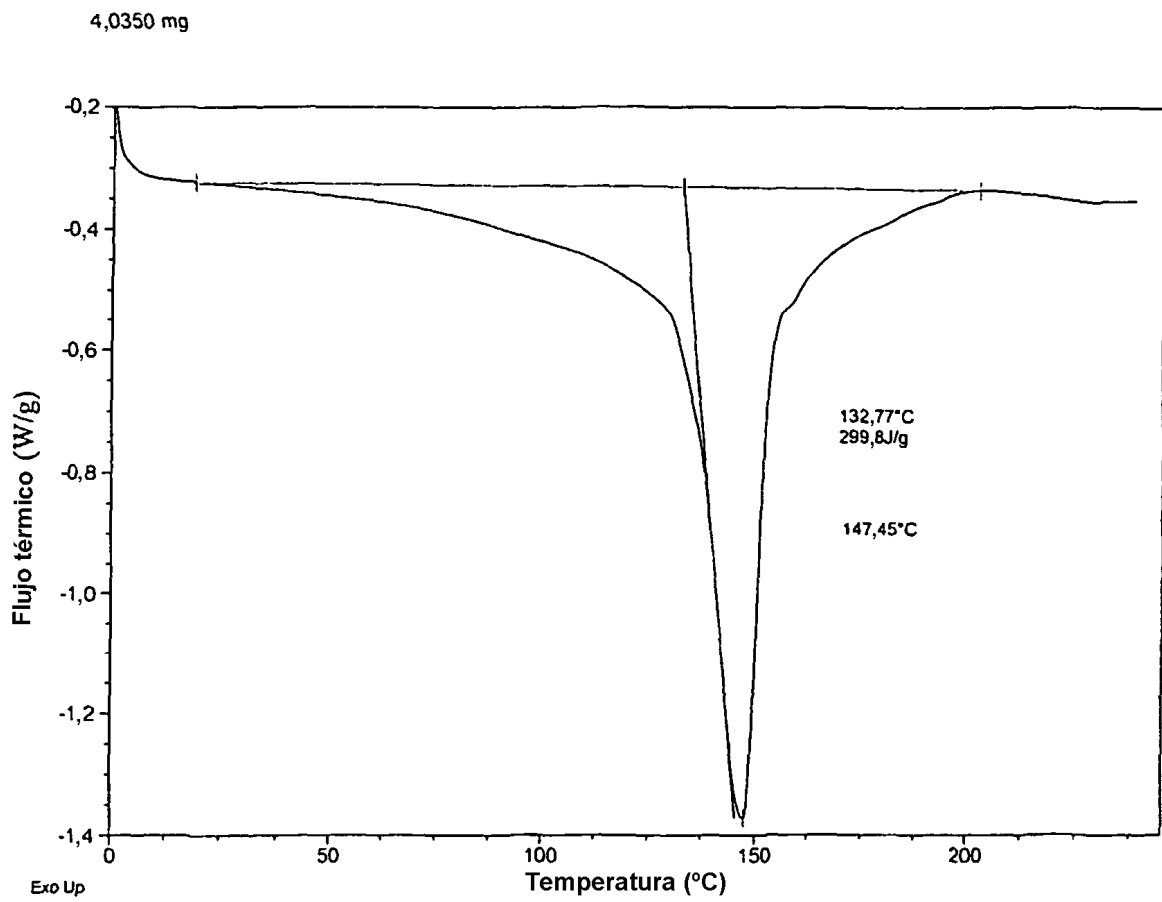


Figura 9



Tamaño: 7,9430 mg

TGA

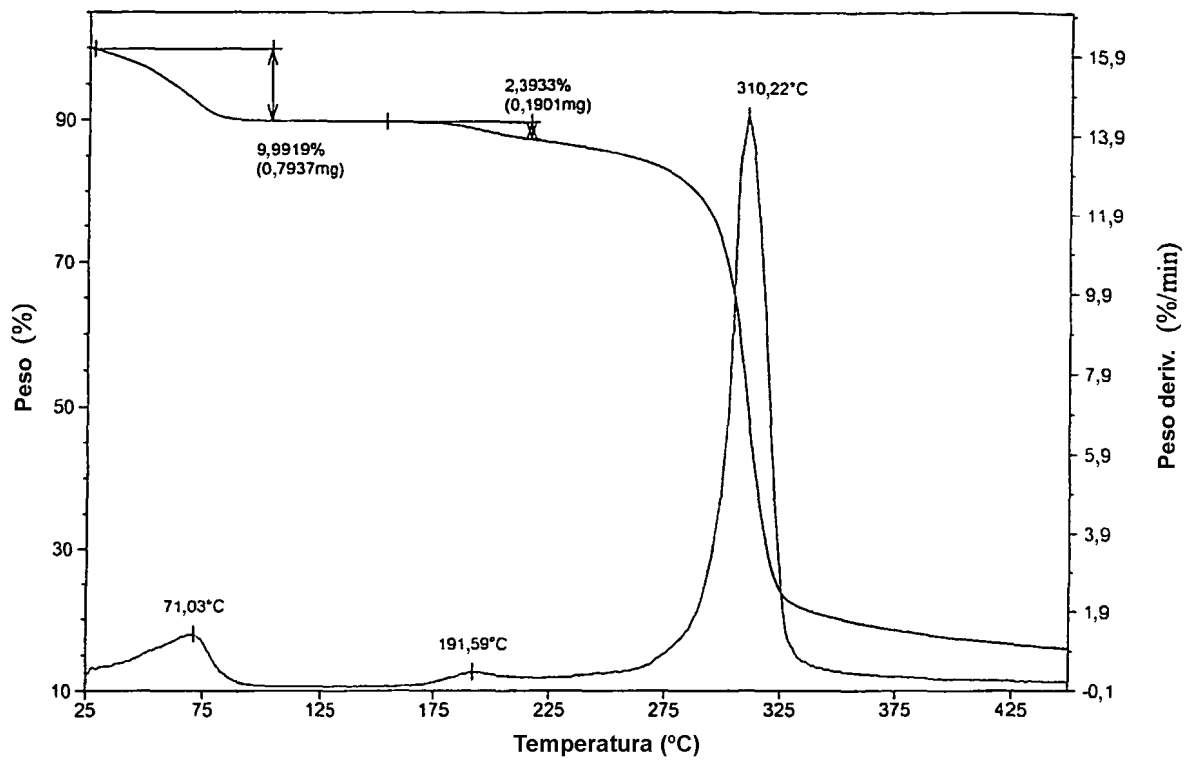


Figura 10

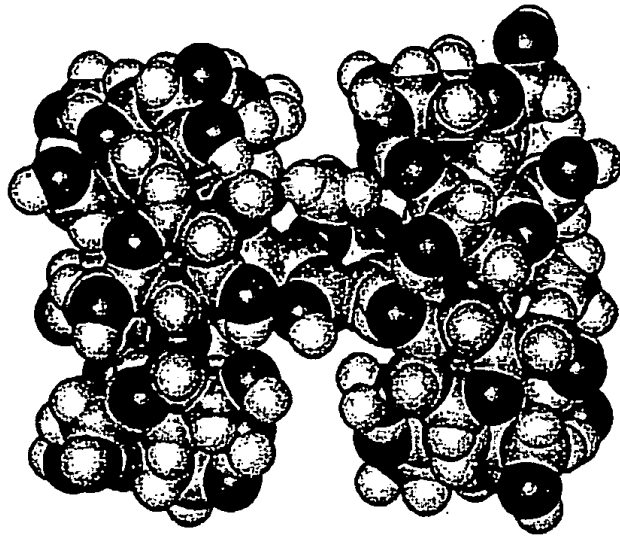


Figura 11

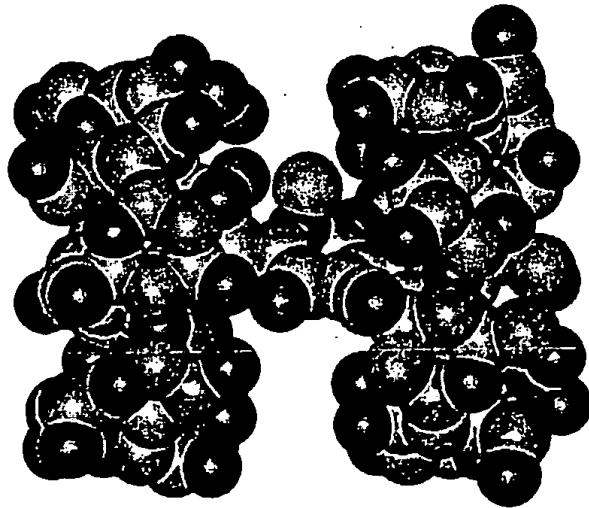


Figura 12

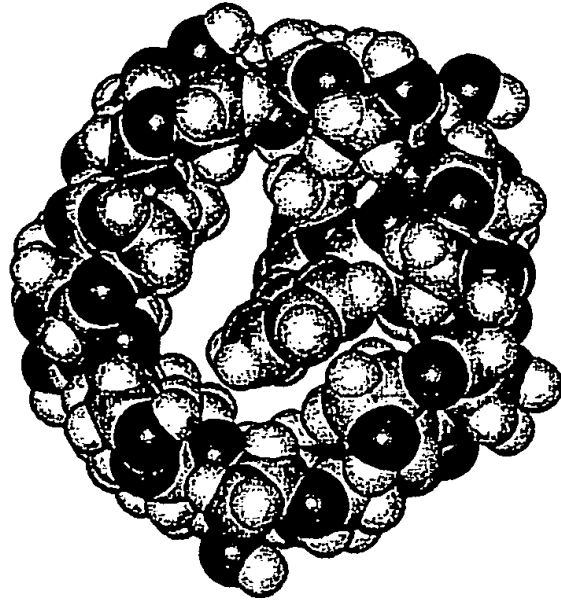


Figura 13

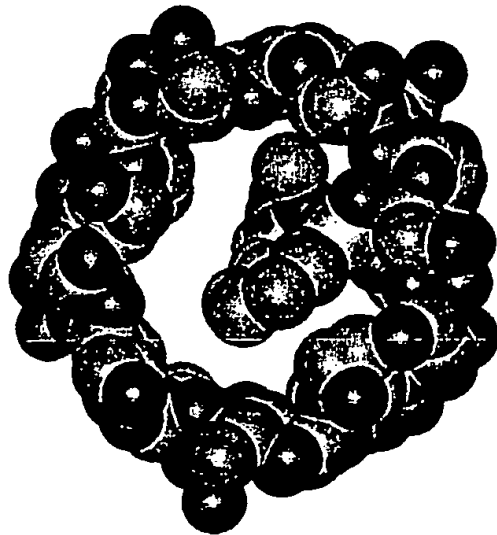


Figura 14

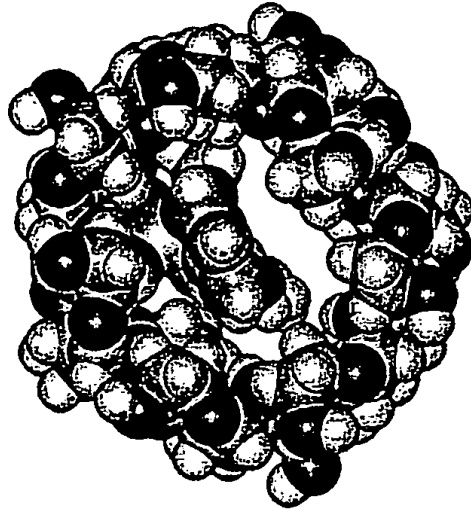


Figura 15

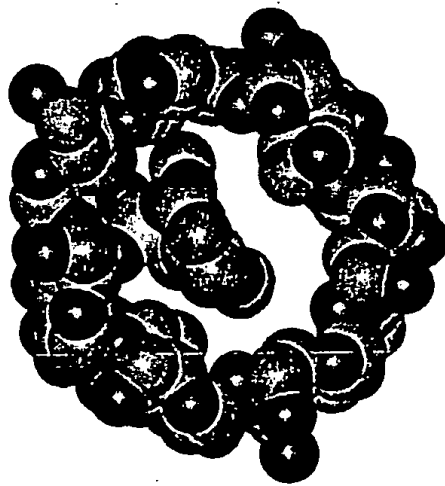


Figura 16

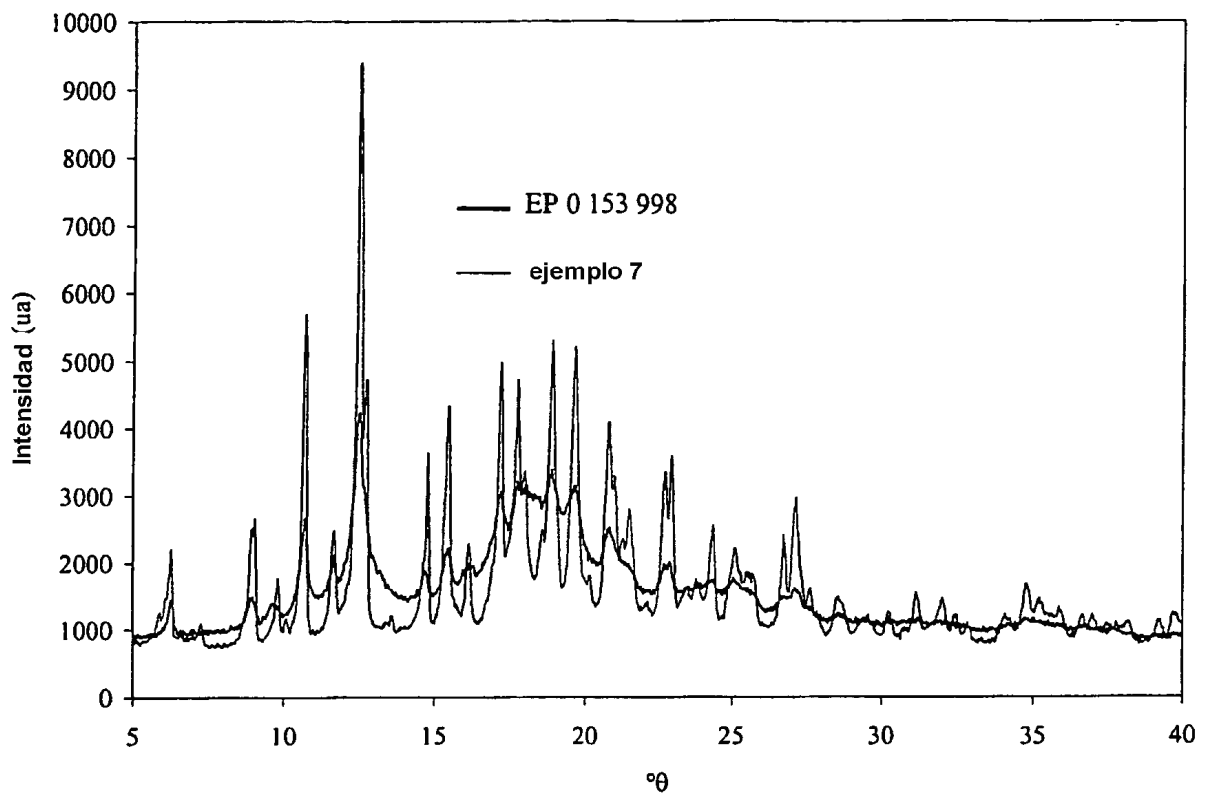


Figura 17