

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 556**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/41** (2006.01)  
**A61K 31/415** (2006.01)  
**A61K 31/44** (2006.01)  
**A61K 31/455** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05013209 .1**  
96 Fecha de presentación: **22.12.1999**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1588706**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.10.2005**

54 Título: **COMPRIMIDOS DE VALSARTÁN.**

30 Prioridad:  
**23.12.1998 EP 98811257**  
**23.12.1998 EP 98811258**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**06.02.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**06.02.2012**

73 Titular/es:  
**NOVARTIS AG**  
**LICHTSTRASSE 35**  
**4056 BASEL, CH**

72 Inventor/es:  
**Ganter, Sabina Maria y**  
**Wagner, Robert Frank**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

**ES 2 373 556 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

Comprimidos de Valsartán

5 El angiotensinógeno, una  $\alpha 2$ -macroglicoproteína, se divide por la enzima renina en el decapeptido angiotensina I, que es por sí mismo solo muy ligeramente biológicamente activo. En la siguiente etapa de la cascada, dos otros aminoácidos se transforman completamente por la acción de la enzima angiotensina convertidora de la enzima (ACE), que principalmente se une en el endotelio, con la formación de la angiotensina II. Esta última se considera que es uno de los más poderosos vasoconstrictores naturales.

10 La angiotensina II interactúa con receptores específicos en la superficie de la célula diana. Por ahora, el éxito se ha logrado en identificar los subtipos del receptor que son, por ejemplo, designados receptores AT<sub>1</sub> y receptores AT<sub>2</sub>. Estudios en el sistema angiotensina-renina, particularmente en relación con la hipertensión, han incrementado casi exponencialmente durante la última década. Como resultado, el número de receptores para la Angiotensina II han sido identificados y algunos de ellos han sido clonados y analizados. Recientemente, se han hecho considerables esfuerzos para identificar las sustancias que se unen al receptor AT<sub>1</sub>, con compuestos activos de esta naturaleza siendo denominados frecuentemente antagonistas de la angiotensina II. Como consecuencia de la inhibición del receptor AT<sub>1</sub>, estos antagonistas pueden, por ejemplo, ser empleados como antihipertensivos o para tratar la insuficiencia cardíaca congestiva.

Los receptores AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub>, también se han estudiado por su distribución y propiedades biológicas y se han mostrado, a pesar de una homología del 30%, que tiene una distribución y actividad muy diferente.

20 El receptor AT<sub>1</sub>, que juega una parte importante en la regulación de la presión sanguínea, se ha encontrado en la corteza suprarrenal, riñón, útero etc. A un nivel celular se ha encontrado en fibroblastos, macrófagos y células del músculo liso (SMC).

En contraste, el receptor AT<sub>2</sub> se ha encontrado principalmente en tejidos fetales pero también en adultos especialmente en tejido patológico tal como en cardiopatía isquémica. En este documento, se ha localizado en células endoteliales y fibroblastos.

25 El objetivo de los estudios descritos a continuación es evaluar la distribución de los receptores AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> en el pulmón humano utilizando esencialmente la inmunocitoquímica y las metodologías de hibridación in situ.

30 Anteriormente, se han fabricado anticuerpos específicos contra los epitopes del receptor AT<sub>1</sub> pero ninguna de tales herramientas específicas existe para el receptor AT<sub>2</sub>. Por lo tanto, los estudios histológicos dependerán de los antagonistas del receptor radio-marcado junto con autoradiografía que dio solamente una localización del tejido relativamente crudo. En los últimos dos años, sin embargo, los anticuerpos específicos bien caracterizados para el receptor humano se han hecho disponibles y por lo tanto han sido utilizados en los estudios confiados en lo sucesivo.

## Métodos y Materiales

## 1. Anticuerpo y especificidad de la sonda de hibridación in situ (ISH) y titulación

35 Con el fin de confirmar la especificidad de los estudios de inmunocitoquímica (ICC) e ISH, los bloques incrustados de parafina de (corteza y médula) suprarrenal humana normal, se obtienen de los archivos del Pathology Dept., University Hospital, Ghent, Belgium, y se utilizan como material de prueba. Los receptores AT<sub>1</sub> se conocen por estar predominantemente localizados en la corteza suprarrenal y AT<sub>2</sub> en la médula.

40 Para los estudios de pulmón humano, el material control se obtiene de las autopsias donde los pacientes han muerto de causas diferentes de enfermedad pulmonar por ejemplo accidentes fatales. Parte de este material proviene de Ghent como anteriormente, algunos de los archivos del Pathology Dept. of The Pennsylvania Hospital, Philadelphia, USA. El tejido que contiene vías aéreas pequeñas se selecciona ya que parecen ser más sensibles a la lesión.

45 Todas las muestras se han fijado en formalina estandarizada al 10%, tan rápido como sea posible después de la muerte, se deshidratan y se incrustan en cera de parafina. Secciones de 3-5  $\mu$ m se cortan y montan en láminas de vidrio recubiertas de silano.

Con el fin de minimizar cualquiera de las variaciones en el tratamiento, pares de secciones secuenciales se montan sobre cada lámina, una para la exposición del anticuerpo AT<sub>1</sub> y la otra para AT<sub>2</sub>. Hasta 20 láminas se tratan al mismo tiempo, de modo que, con la excepción del anticuerpo primario, todos los reactivos incluyendo el cromógeno son idénticos. El espesor de la sección por lo tanto, es la única variable que no podría ser totalmente controlada.

2. Anticuerpos

Dos anticuerpos del receptor AT<sub>1</sub>, de Santa Cruz Inc., San Diego, CA, USA, (clones N 10 y 306) se probaron y encontraron para dar la distribución del receptor de la corteza suprarrenal idéntica.

5 La principal parte del estudio se hace con un anticuerpo del receptor AT<sub>2</sub> disponible de Santa Cruz (clon C18) el cual se prueba y se encuentra que proporciona el patrón de tinción idéntico en el pulmón y la médula suprarrenal como el primero.

Todos los anticuerpos se han probado rigurosamente por los proveedores comerciales e individuales para especificidad y reactividad cruzada.

3. Sondas para ISH

10 Los productos de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) se prepararon y utilizaron de la siguiente manera:

15 Los oligonucleótidos específicos para receptor de la angiotensina II humana del tipo I (número de acceso GenBank M93394) y receptor de la angiotensina II del tipo II (número de acceso GenBank U15592) fueron diseñados utilizando el programa software Oligo 5.0 para regiones homólogas de ambas secuencias (Tabla 1). ADNc a partir de tejido de hueso humano se preparó siguiendo los métodos estándar (Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989). Para PCR los siguientes pares de cebador oligonucleótido fueron utilizados: receptor de la angiotensina II del tipo I, 5'-CTggCTgACTTATgCTTTTTACTgACT-3' y 5'-gATgCAGgTgACTTTggCTACA-3'; (tamaño del producto de PCR 236 pares de base) y para el receptor de la angiotensina II del tipo II, 5'-ATTTACTCCTTTTggCTACTCTTCCTC-3' y 5'-ggTCACgggTTATCCTgTTCTTC-3' (tamaño del producto PCR 489 pares de base). Las amplificaciones de PCR fueron realizadas con 10 ng de ADNc plantilla utilizando un equipo MJ Research PCR Cycle y los siguientes ciclos de PCR: 1) 94 °C/2 min, 2) 94 °C/10 seg, 60 °C/30 seg, 72 °C/15 seg para 35 ciclos, utilizando High Fidelity Taq polimerasa (Boehringer Mannheim) con los componentes proporcionados en el kit del fabricante. Los productos de las amplificaciones de PCR se identificaron por electroforesis a través de un gel al 0.8% de agarosa/TBE (Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989). Para confirmar la identidad de los productos de las amplificaciones de PCR, el ADN fue eluido del gel y se clonó en el vector de clonación A/T pMOSBlue (Amersham). Las colonias que contienen un inserto de ADN del tamaño correcto (Tabla 1) fueron secuenciadas completamente en ambas cadenas para confirmar su identidad.

30 Cada sonda, tanto sentido como anti-sentido para el AT<sub>1</sub> y anti-sentido solo como se describen anteriormente, se marcan con fluoresceína (FITC) y la presencia de ARNm en las células detectadas después de la hibridación con la sonda y el uso de una sonda anti-FITC de ratón más el sistema de detección de fosfatasa alcalina fosfatasa anti-alcalina (APAAP). Esta técnica de marcación mejora la detección de números muy bajos de copias.

4. Inmunocitoquímica

35 Para todos los anticuerpos el procedimiento es de la siguiente manera. Secciones de 5 µm primero se tratan mediante técnicas de recuperación de antígenos, junto con microondas, en solución reguladora de citrato (pH 6.0).

40 La exposición es durante 20 minutos y las láminas se dejan enfriar en la solución reguladora. Cuando los anticuerpos son policlonales de cabra, el método peroxidasa anti-peroxidasa (PAP) con diaminobenzidina (DAB) como cromógeno se utiliza, de otro modo para policlonales de conejo el sistema APAAP con nueva Fucsina se utiliza. Las secciones en primer lugar se bloquean con 1% de albúmina de suero de bovino (BSA) durante 30 minutos para bloquear los receptores no-especificos, después mediante la incubación con el anticuerpo primario durante 30 minutos a temperatura ambiente. Cada anticuerpo se titula y las diluciones óptimas son las siguientes:

Anticuerpos Utilizados	Tejido Pulmonar	Suprarrenal
AT <sub>1</sub> Clon N 10	1:200	1:500
Clon N 306	1:200	1:500
AT <sub>2</sub> Clon C 18	1:150	1:500

Como control negativo, para el policlonal de conejo un suero negativo de Dako (Prosan, Ghent, Belgium) se utiliza, para los policlonales de cabra se omite el anticuerpo primario.

ISH

- 5 Secciones de 5 µm se desparafinaron y luego se expusieron a hibridación “in situ” siguiendo técnicas bien establecidas. Las secciones primero se tratan con solución de pre-hibridación durante 20 minutos a 55°C. Luego se lavan antes de la exposición a las sondas durante la noche a 55°C. Después de otro lavado, se tratan con un anticuerpo anti-FITC de ratón y el sistema APAAP de detección para la localización de los mensajes específicos. Para el receptor AT<sub>1</sub>, la sonda sentido es el control negativo, para el receptor AT<sub>2</sub>, la sonda se omite.

Análisis de imágenes

- 10 Con el fin de determinar la intensidad de la tinción cuantitativamente, las láminas se vieron en el Leica MR500 y la cantidad de tinción por unidad de área del tejido se registra en píxeles siguiendo la instrucción del Leica. Esto se hace para establecer las relaciones de AT<sub>1</sub> con el receptor AT<sub>2</sub> en diferentes regiones. Estas son a) epitelio de las vías respiratorias, b) el interstium sub-epitelial, c) SMC al rededor de vasos sanguíneos y d) glándulas mucosas.

Resultados

- 15 Estudios de distribución suprarrenal

Distribución de AT<sub>1</sub>: Los dos anticuerpos dan el siguiente patrón de distribución en la corteza suprarrenal, que es la tinción distintiva alrededor de las células del músculo liso circundante de los vasos sanguíneos y también en la red intersticial en y alrededor de los fibroblastos según lo previsto. No hay tinción de las células endoteliales.

- 20 Distribución de AT<sub>2</sub>: El anticuerpo se analiza contra la médula suprarrenal, donde se ve una fuerte tinción de las células suprarrenales de feocromocitomas.

ISH: Ambas sondas antisentido dan un cuadro similar.

Pulmón Control

- 25 Distribución de AT<sub>1</sub>: Se ve una tinción muy clara de las células intersticiales subyacentes del epitelio de las vías respiratorias (sub-epitelial) y también las márgenes de la célula del músculo liso (SMC) circundante de los vasos sanguíneos. Además los macrófagos también son positivos.

Distribución de AT<sub>2</sub>: Este receptor parece que se asocia fuertemente con las células epiteliales de las vías respiratorias, con tinción densa del borde del cepillo. Las células positivas también se ven en algunas de las glándulas mucosas, en algunas células endoteliales vasculares y en los fibroblastos, condrocitos y macrófagos. No hay tinción de SMC.

- 30 ISH: De nuevo las sondas dan un cuadro similar. En particular la sonda de AT<sub>2</sub> da una fuerte señal en las células endoteliales y solo en algunas glándulas mucosas.

Análisis de imagen

La distribución de la proteína y por lo tanto del receptor según se representa por intensidad de la tinción i.e. píxeles por µm<sup>2</sup> del tejido se da en la siguiente tabla.

Anticuerpo	Epitelial de las Vías Aéreas	Sub-Epitelial	Glándulas	SMC
AT <sub>1</sub>	0.00	8	0.00	10
AT <sub>2</sub>	5	0-1	5	0.00

- 35 La presencia de los receptores de la angiotensina II, en la corteza suprarrenal y la médula previamente se ha demostrado por ambos medios bioquímicos e histológicos. Los datos se obtienen con ambos anticuerpos comercialmente disponibles y suministrados en privado, ambos confirmando estos hallazgos pero también estableciendo la fiabilidad de la inmunocitoquímica instantánea y la metodología ISH.

En vista de los resultados de estos estudios, la distribución de los receptores AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> en tejidos pulmonares normales y enfermos tiene que ser comparada, con el fin de determinar las distribuciones específicas de AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> y las relaciones.

5 Previamente se ha demostrado la presencia de los receptores AT<sub>1</sub> en el pulmón bioquímicamente y ahora su localización celular exacta se ha demostrado. Esta información es vital para establecer las proporciones de los receptores AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> en diferentes regiones del pulmón bajo condiciones normales y patológicas.

Los datos sobre la distribución especialmente del receptor AT<sub>2</sub>, son totalmente nuevos, ya que no existen datos previos en cuanto a su presencia o distribución. Varios puntos importantes se originan de este estudio.

10 En primer lugar la presencia del receptor AT<sub>2</sub> sobre las células epiteliales bronquiales de las vías aéreas pequeñas. Como ya es conocido, se considera que este receptor es anti-fibrótico, anti-proliferativo y pro-apoptótico. Por consiguiente favorecer o reducir la expresión en las células epiteliales tiene efectos profundos en el reemplazo de la célula epitelial, desarrollo de la hiperplasia e incluso un papel en el desarrollo del cáncer de pulmón.

15 En segundo lugar, la presencia de cantidades considerables de la proteína en el borde del cepillo de las células epiteliales podría estar asociada con la cantidad de secreción mucosa como algunas de las células epiteliales de las glándulas mucosas también se ha demostrado que llevan el receptor. A partir de los datos ISH, algunas glándulas contienen un nivel alto de ARNm.

Finalmente, la presencia del receptor AT<sub>2</sub> en las células endoteliales vasculares ahora ha sido confirmada tanto por hibridación inmunocitoquímica e in situ. Su distribución que es tanto poco frecuente como no sobre todas las células de un vaso particular se ha encontrado.

20 Estos estudios confirman y amplían los datos existentes en la presencia y distribución de la angiotensina II del tipo AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> en el pulmón humano. La presencia del receptor AT<sub>2</sub> en las células epiteliales de las vías respiratorias pequeñas tiene considerable consecuencias para la comprensión de enfermedades originadas de la alteración en la función de estas células.

25 Muy poco se conoce de la localización de los receptores AT en el pulmón humano y acerca de su distribución, favorecer o reducir la expresión y la relación en tejido pulmonar normal o enfermo. Para este estudio, las muestras se recolectaron a partir de pulmón normal, y de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) ± hipertensión.

Muestras de pulmón

Estas han sido obtenidas de los siguientes grupos de pacientes todos definidos clínicamente.

30	NN	(n=3)	-	no-fumadores, tejido normal
	C	(n=5)	-	fumadores pero de otro modo normal
	COPD	(n=8)	-	COPD positivo, BP normal
	COPD/H	(n=3)	-	COPD más hipertensión
	H	(n=4)	-	fumadores con BP elevado

35 Las vías aéreas se diseccionaron cuidadosamente de los pulmones inmediatamente después de retirar el pulmón del paciente para la resección del tumor u otras razones. La región se selecciona cuidadosamente por estar libre de cualquier tejido canceroso. Los bloques pequeños luego se fijan en 4% de paraformaldehído, durante 2h a temperatura ambiente antes de incrustarlos en cera de parafina. Esto es para asegurar la integridad estructural óptima y la retención de la actividad antigénica.

40 Métodos para establecer la localización del receptor

a) Inmunocitoquímica (ICC). Se probaron 2 x anticuerpos AT<sub>1</sub>, Santa Cruz (clones N-10 y 306). Un anticuerpo AT<sub>2</sub> también se ha ensayado, Santa Cruz (clon C 18).

Imágenes digitales mostradas:

Distribución del receptor AT<sub>2</sub> en células epiteliales bronquiales incluyendo el borde del cepillo y en las células de la glándula mucosa.

La sección adyacente teñida del receptor AT<sub>1</sub> que ilustra la muy diferente distribución en las células del músculo liso, fibroblastos/estroma y macrófagos.

5 Análisis del pulmón de pacientes humanos

10 Todo el material obtenido a la fecha ha sido seccionado y teñido por ICC para la localización de ambos receptores AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> con apropiados controles negativos. El análisis de imagen se ha iniciado con lecturas de una sección por paciente a la fecha (este es un proceso lento como las líneas de base tienen para adherir rígidamente a). Las mediciones se han hecho del epitelial y sub-epitelial y de los vasos sanguíneos. Este análisis que se hace de una manera "ciego" con el fin de no poder hacer ningún comentario diferente del hecho que algunos "pacientes" claramente tienen niveles bien alejados a partir de la media. Las discrepancias debido a la variación del espesor de la sección y la tinción han sido minimizadas haciendo el ICC de AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> simultáneamente con secciones secuenciales. De esta manera, el mismo lote de cromógeno también podría ser utilizado.

15 Los hallazgos de una localización del pulmón epitelial para el receptor AT<sub>2</sub> tienen un número de consecuencias. Como se ha demostrado que este receptor es anti-proliferativo, anti-fibrótico y pro-apoptótico su expresión inducida se anticipa que tiene consecuencias para un número de enfermedades pulmonares; por ejemplo que fumando solo tiene cualquier influencia. Es un papel en tales condiciones fibróticas como síndrome de dificultad respiratoria del adulto (ARDS), o incluso en la reducción de la capacidad proliferativa del epitelio en cáncer de pulmón.

Resultados

20 Localización del receptor

Todos los anticuerpos y ribosondas se probaron sobre corteza suprarrenal normal y médula donde ambos tipos de receptor se conocen por estar presentes en abundancia relativa.

El proceso se repite en tejido de pulmón normal donde somos capaces de detectar ambos receptores AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> y su ARNm. La localización es de la siguiente manera:

25 AT<sub>1</sub> - en células del músculo liso, fibroblastos/estroma, macrófagos. Esto es medianamente previsible excepto la intensidad y número de los receptores en pulmón normal es muy alto.

AT<sub>2</sub> - en células epiteliales bronquiales (especialmente el borde del cepillo), en glándulas mucosas (algunas). Además, en las células endoteliales vasculares, fibroblastos, macrófagos y células del cartílago.

30 Esto es un hallazgo totalmente inesperado y novedoso, que necesita ser investigado más a fondo. La localización de la célula epitelial y la glándula mucosa se confirma por el contenido de proteína y ARNm, la localización del borde del cepillo se relaciona con la secreción mucosa.

DISTRIBUCIÓN DE LA ANGIOTENSINA AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> EN LOS PULMONES DE PACIENTES CON BRONQUITIS CRÓNICA COMPARADA CON LOS CONTROLES

Grupo	Epitelial		Sub-epitelial		Relación
	AT <sub>1</sub>	AT <sub>2</sub>	AT <sub>1</sub>	AT <sub>2</sub>	AT <sub>1</sub> (Epitelial)/AT <sub>2</sub> (Sub-epitelial)
Control (1)	0.02	7.15	4.07	0.01	0.56
Fumadores - N=4					
Control (2)	0.02	9.49	6.45	1.3	0.67
No-Fumadores N=5					

(continuación)

Grupo	Epitelial		Sub-epitelial		Relación AT <sub>1</sub> (Epitelial)/AT <sub>2</sub> (Sub-epitelial)
	AT <sub>1</sub>	AT <sub>2</sub>	AT <sub>1</sub>	AT <sub>2</sub>	
Control (3) Fumadores Hipertensión	0.1	7.97	11.02	0.04	1.38
COPD Fumadores Sin hipertensión N=7	0.10	6.84	19.64	0.11	2.87
COPD Fumadores Hipertensión N=3	0.30	6.01	6.12	0.05	1.01

5 El equipo Leica (anализador de imagen MR 500) traduce la intensidad de la tinción en una escala gris (0-250), cada unidad que es un píxel. Esto nos permite cuantificar los datos exactamente.

Estos datos se basan en análisis de imagen del paciente. Los datos se expresan como píxeles por unidad de área de tejido teñido positivamente y la media de cinco campos por portaobjeto.

10 Como se puede tomar de estos resultados, la relación de la distribución de AT<sub>1</sub> en el sub-epitelial y AT<sub>2</sub> en el epitelial en tejido de pulmón normal es significativamente inferior a 1, mientras que esta relación está cerca de o arriba de 1 en tejidos pulmonares enfermos. Las formas epiteliales del revestimiento interno de la tráquea y el bronquio principal. El incremento de la relación del receptor AT<sub>1</sub>/AT<sub>2</sub> en la región sub-epitelial bronquial del pulmón de pacientes con bronquitis crónica comparada con el control es principalmente debido a niveles elevados del receptor AT<sub>1</sub> encontrado en los fibroplastos y los macrófagos circundantes del epitelio de las vías respiratorias y refleja el incremento de los niveles de inflamación y de la fibrosis vista en COPD.

15 Los anteriores resultados demostraron claramente que los receptores AT<sub>1</sub>, que modulan la angiotensina II se localizan en el tejido pulmonar subepitelial y especialmente la distribución en el correspondiente tejido pulmonar se incrementa. Por consiguiente, la inhibición de la angiotensina II por medio de los antagonistas del receptor AT<sub>1</sub> conduce a disminuir la obstrucción en las vías aéreas.

20 Adicionalmente, los experimentos muestran que la distribución de AT<sub>2</sub> en tejido pulmonar epitelial, especialmente en el correspondiente tejido enfermo, por ejemplo principalmente sobre las células epiteliales bronquiales, y también en células estructurales de los alvéolos, por ejemplo en glándulas mucosas de los alvéolos, se incrementa. Como los receptores AT<sub>2</sub> son anti-proliferativos, anti-fibróticos y pro-apoptóticos, su modulación es útil para el tratamiento de formas específicas de enfermedades y afecciones pulmonares, especialmente para el tratamiento de síndrome de dificultad respiratoria en adultos (ARDS) y para reducir la capacidad proliferativa del epitelio en cáncer de pulmón y de mama, adicionalmente, para el tratamiento de síndrome de asepsia, formas de lesión pulmonar, tales como neumonía, aspiración del contenido gástrico, trauma de pecho, shock, quemaduras, embolia grasa, bypass cardiopulmonar, toxicidad del O<sub>2</sub>, pancreatitis hemorrágica, inflamación intersticial y broncoalveolar, proliferación de células intersticiales y epiteliales, acumulación de colágeno, fibrosis.

Distribución del receptor en tejido de mama normal y en pacientes con cáncer de pecho

30 Las muestras de mama incluidas en este estudio se reclutan al azar de los archivos del Pathology Dept, University Hospital, Ghent. Todas se han fijado en formalina, se procesan en cera de parafina y se ha hecho un diagnóstico de su estado patológico por los patólogos del departamento. Dieciséis casos han sido incluidos: 14 carcinomas ductales invasivos, un carcinoma coloide invasivo y un carcinoma lobular invasivo.

La inmunocitoquímica se realiza sobre secciones de tejido incrustadas en cera de parafina utilizando los anticuerpos policlonales para AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> utilizados en el estudio del pulmón junto con el método de complejo estreptavidina-biotina-peroxidasa como antes.

- 5 Con el fin de proporcionar un posible modelo para probar los antagonistas del receptor, líneas celulares que se originan de tejidos de pecho humano también se estudian para su contenido de receptor. Esto puede proporcionar un útil modelo de trabajo in vitro para posteriores estudios bioquímicos y citológicos.

Resultados

- 10 Los datos obtenidos demostraron claramente la presencia de los receptores del tipo 1 y 2 de la angiotensina II, en tejido de mama humano normal con AT<sub>2</sub> que se encuentra en el revestimiento del epitelio cuboidal de los ductos y AT<sub>1</sub> predominantemente presente en las células mioepiteliales ductales. Toda la tinción fue suprimida omitiendo el anticuerpo primario de la incubación.

En todos los casos el tejido conectivo fue positivo para el receptor AT<sub>1</sub> junto con ninguna (11/16) a débil (5/16) tinción de las células de cáncer. Para el receptor AT<sub>2</sub>, lo opuesto se observó con todos los carcinomas que son positivos y casi ninguna reactividad estromal (1/16).

- 15 Los resultados de las líneas celulares probadas fueron muy interesantes con un patrón de tinción diferente que se ve en cada uno. Los cultivos a corto plazo de células epiteliales mamarias normales fueron fuertemente positivos para el receptor AT<sub>1</sub>, pero teñido solo débilmente para el receptor AT<sub>2</sub>.

Carcinomas de mama

Paciente	AT <sub>1</sub>			AT <sub>2</sub>	
	Carcinoma	Estroma		Carcinoma	Estroma
1	invasivo, interm. carcinoma ductal diferenciado - grado 2 clasificación Bloom-Richardson	-	++	++	-
2	invasivo, interm. adenocarcinoma ductal diferenciado	-	+++	++ focal	-
3	invasivo, carcinoma ductal pobremente diferenciado - carcinoma ductal in situ	-	++	+	-
4	invasivo, interm. carcinoma ductal diferenciado - carcinoma ductal extensivo in situ	-	+	++	-
5	carcinoma coloide invasivo	-	++	++	-
6	invasivo, interm. carcinoma ductal diferenciado - carcinoma ductal in situ	+	+	+++	-
7	invasivo, carcinoma ductal bien diferenciado - carcinoma ductal grande in situ	-	++	++	-
8	invasivo, carcinoma ductal pobremente diferenciado - carcinoma ductal in situ	+	++	+++	-
9	invasivo, carcinoma ductal bien diferenciado	-	+	++ focal	-
10	invasivo, carcinoma ductal pobremente diferenciado - carcinoma ductal in situ	-	+	+	-
11	invasivo, carcinoma ductal pobremente diferenciado - carcinomas multifocales in situ	-	++	++	-



(continuación)

Paciente	AT <sub>1</sub>			AT <sub>2</sub>	
	Carcinoma de Mama	Carcinoma	Estroma	Carcinoma	Estroma
12	invasivo, carcinoma ductal pobremente diferenciado	-	+++	++	+
13	invasivo, carcinoma pobremente diferenciado	+	++	++	-
14	invasivo, carcinoma ductal pobremente diferenciado - carcinomas ductales severos in situ	-	++focal	++	-
15	invasivo, carcinoma ductal pobremente diferenciado - carcinomas ductales severos in situ	+	+++	+	-
16	invasivo, carcinoma lobular - carcinoma intraductal cribriforme	+	+	+	-

Conclusiones

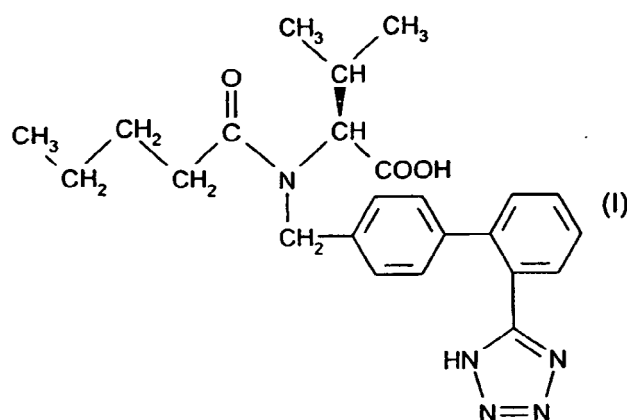
- 5 Como se puede ver de estos resultados, la presencia del receptor AT<sub>1</sub> en células epiteliales normales parece ser muy diferente a la del pulmón. Sin embargo, el tipo de célula epitelial es mioepitelial mientras que el receptor AT<sub>2</sub> en ambos tejidos se encuentra en células epiteliales cuboidales. Al mismo tiempo, la tinción estromal positiva para el receptor AT<sub>1</sub> es el mismo para ambos tejidos. Esto último está claramente unido a la presencia de fibroblastos en la matriz extracelular.
- 10 La presencia del receptor AT<sub>2</sub> en las células de carcinoma y de manera extensa y reproducible, es sorprendente. Los tipos de célula descritos en este documento que llevan los receptores específicos proporcionan un modelo in vitro ideal para dichos estudios.
- Estos experimentos demostraron claramente el efecto sorprendente que en el modelo instantáneo utilizando células de carcinoma de mama, los receptores AT<sub>1</sub> principalmente se distribuyen en el estroma mientras que los receptores AT<sub>2</sub> principalmente podrían estar verificados en las células de carcinoma.
- 15
- Todos estos sorprendentes resultados demostraron claramente que cualquier antagonista del receptor AT<sub>1</sub> o modulador del receptor AT<sub>2</sub> puede ser utilizado para el tratamiento de condiciones o enfermedades asociadas con el incremento de los receptores AT<sub>1</sub> en el área sub-epitelial o incremento de los receptores AT<sub>2</sub> en el epitelio, especialmente para el tratamiento de enfermedades obstructivas de las vías aéreas. Las enfermedades obstructivas de las vías aéreas una clasificación de enfermedades respiratorias que se caracterizan por la disminución del tamaño de las vías respiratorias y aumento de la secreción de las vías respiratorias, resultando en ventilación alveolar reducida. Las enfermedades obstructivas de las vías aéreas comprenden condiciones reversibles e irreversibles y se seleccionan, por ejemplo, de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, tal como bronquitis, por ejemplo bronquitis crónica y enfisema, así mismo del asma, fibrosis cística, enfermedad pulmonar intersticial, cáncer de pulmón invasivo, enfermedad vascular pulmonar, y aumenta la resistencia de la circulación del aire durante la espiración forzada. Cualquier tratamiento también, pero no necesariamente, puede ser asociado con el tratamiento de hipertensión así como ambos no-fumadores y fumadores.
- 20
- Estos sorprendentes resultados demostraron claramente que cualquier modulador del receptor AT<sub>2</sub> puede ser utilizado para el tratamiento de condiciones o enfermedades asociadas con un incremento de los receptores AT<sub>2</sub> en tejido pulmonar epitelial, especialmente para el tratamiento de formas específicas de enfermedades y afecciones pulmonares, especialmente para el tratamiento de síndrome de dificultad respiratoria en adultos (ARDS) y para reducir la capacidad proliferativa del epitelio en cáncer de pulmón invasivo, adicionalmente, para el tratamiento de síndrome de asepsia, formas de lesión pulmonar, tales como neumonía, aspiración del contenido gástrico, trauma de pecho, shock, quemaduras, embolia grasa, bypass cardiopulmonar, toxicidad del O<sub>2</sub>, pancreatitis hemorrágica,
- 25
- 30

inflamación intersticial y broncoalveolar, proliferación de células intersticiales y epiteliales, acumulación de colágeno, fibrosis.

5 Los antagonistas del receptor AT<sub>1</sub> o modulador del receptor AT<sub>2</sub> son agentes que modifican la respuesta biológica del huésped a las células tumorales con el beneficio terapéutico resultante. El aumento de la expresión del receptor AT<sub>1</sub> en mioepitelio ductal mamario y del receptor AT<sub>2</sub> en epitelio cuboidal mamario, demuestra que cualquier antagonista del receptor AT<sub>1</sub> o modulador del receptor AT<sub>2</sub> puede ser utilizado para el tratamiento de carcinoma de mama invasivo. Estos incluyen cáncer de mama escirroso, infiltrante, papilar, ductal, medular y lobular así como la metástasis en los pulmones, pleura, esqueleto e hígado. El tratamiento debería ser considerado como terapia adyuvante en combinación con cirugía, radioterapia o como terapia paliativa con terapia hormonal u otros modificadores de la respuesta biológica tales como interferones, interleuquinas, factores de necrosis tumoral, anticuerpos monoclonales etc..

15 Mientras que el examen y la mamografía clínica sugieren cáncer de pecho, es solo el examen de la biopsia del tejido lo que permite hacer el diagnóstico. El patrón de distribución de los receptores AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> puede ser utilizado como marcador de hiperplasia (localización de los receptores AT<sub>1</sub>) y para cáncer invasivo (localización de los receptores AT<sub>2</sub>) y por lo tanto para el diagnóstico de la malignidad del tumor. Los antagonistas del receptor AT<sub>1</sub> incluyen los compuestos que tienen diferentes características estructurales. Por ejemplo, se puede hacer mención de los compuestos que se enumeran en the European Patent Application con la publicación No. 443983 (EP 443983), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, el objeto de cuyas reivindicaciones por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

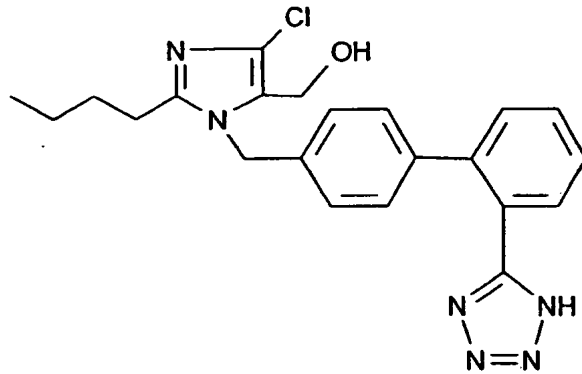
20 Se da preferencia a (S)-N-(1-carboxi-2-metilprop-1-il)-N-pentanoil-N-[2'(1 H-tetrazol-5-il)bifenil-4-ilmetil] amina [Valsartán] de la fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

25 Adicionalmente, los compuestos que se enumeran en European Patent Application con la publicación No. 253310 (EP 253310), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorporan en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

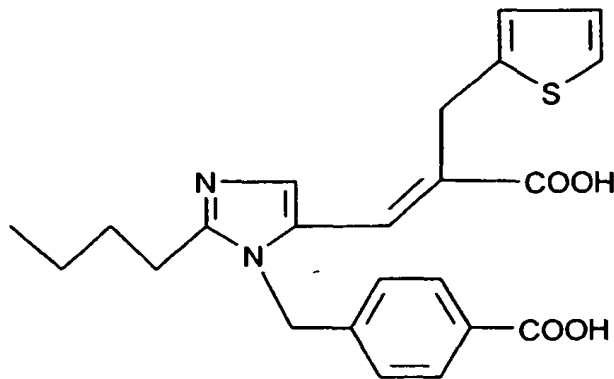
Se da preferencia al compuesto [Losartan] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en European Patent Application con la publicación No. 403159 (EP 403159), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorporan en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

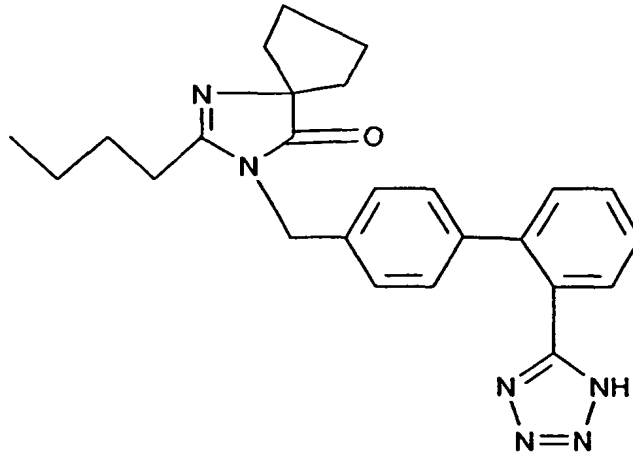
Se da preferencia al compuesto [Eprosartan] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Además, los compuestos enumerados en PCT Patent Application con la publicación No. WO 91/14679, en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

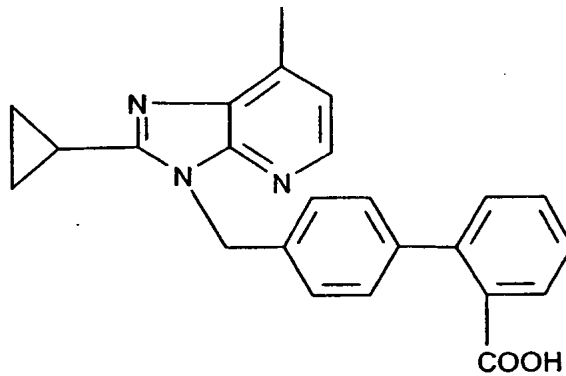
Se da preferencia al compuesto [Irbesartan] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en European Patent Application con la publicación No. EP 420237 (EP 420237), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

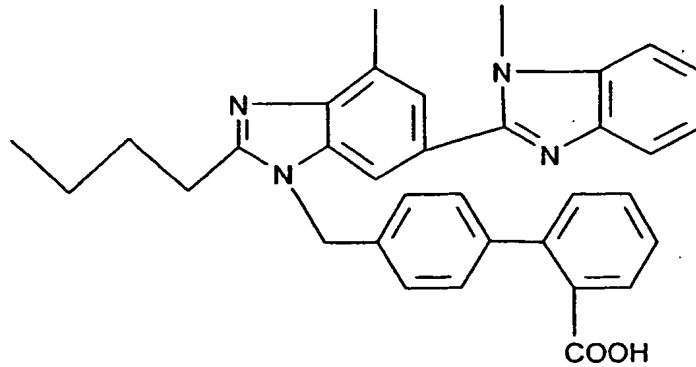
Se da preferencia al compuesto [E-1477] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en European Patent Application con la publicación No. 502314 (EP 502314), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

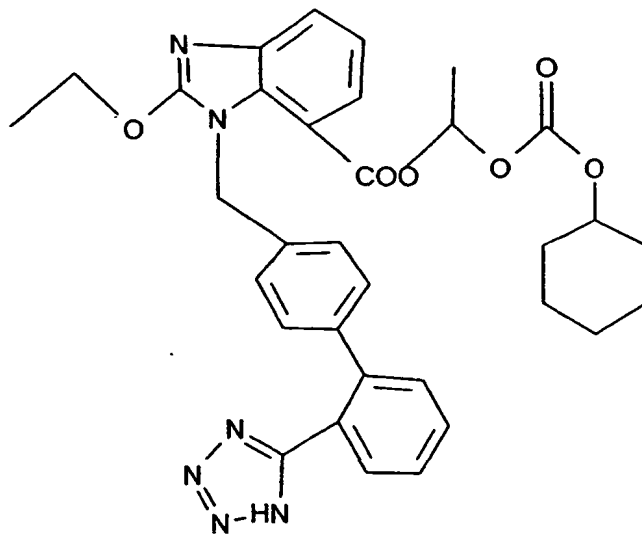
Se da preferencia al compuesto [Telmisartan] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en European Patent Application con la publicación No. 459136 (EP 459136), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

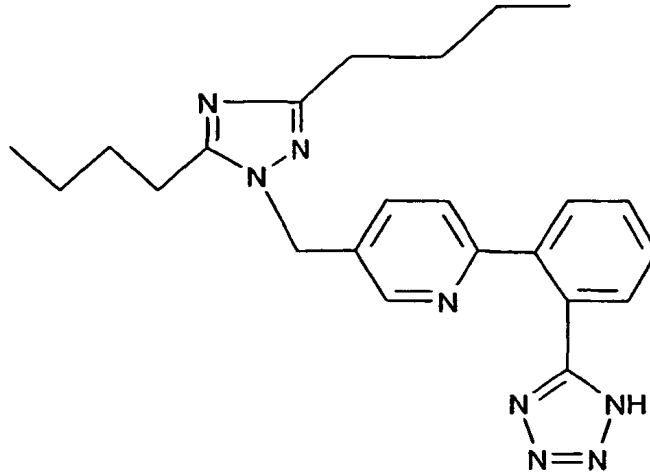
Se da preferencia al compuesto [Candesartan] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en European Patent Application con la publicación No. 504888 (EP 504888), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

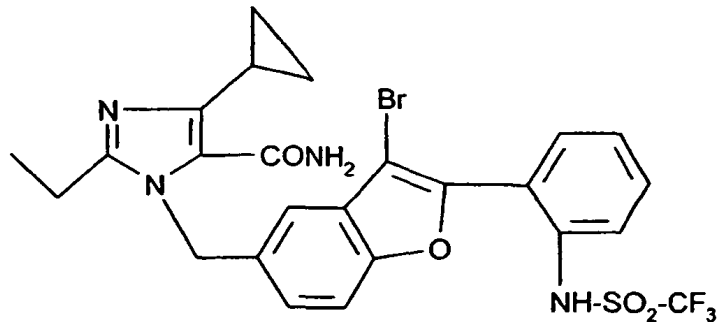
Se da preferencia al compuesto [SC-52458] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en European Patent Application con la publicación No. 514198 (EP 514198), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

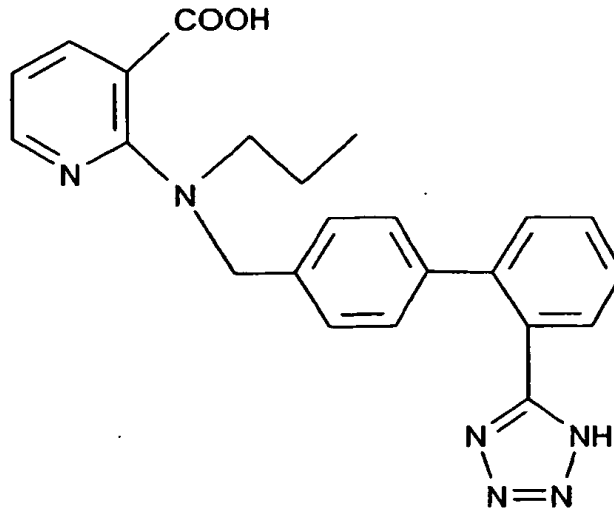
Se da preferencia al compuesto [Saprisartan] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en European Patent Application con la publicación No. 475206 (EP 475206), en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

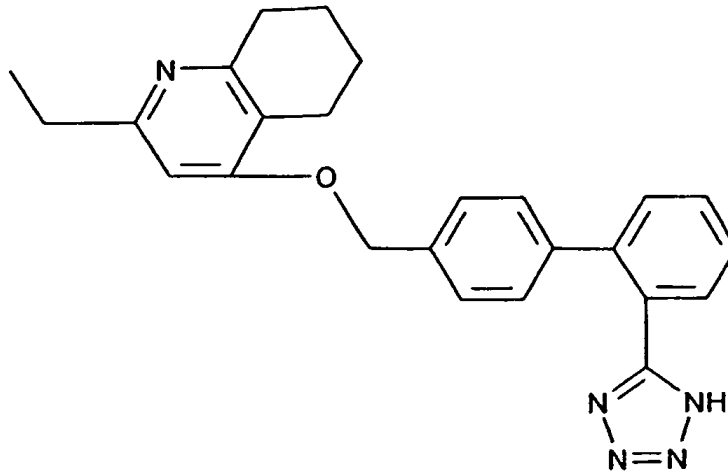
Se da preferencia al compuesto de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en PCT Patent Application con la publicación No. WO 93/20816, en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

Se da preferencia al compuesto [ZD-8731] de la siguiente fórmula



y sus sales farmacéuticamente utilizables.

Los ligandos del receptor  $AT_2$  (moduladores) incluyen compuestos que tienen diferentes características estructurales. Por ejemplo, se puede hacer mención de los compuestos que se enumeran en WO 94/13651, en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual el objeto de cuyas reivindicaciones se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

Adicionalmente, los compuestos enumerados en WO 94/13642, en particular en las reivindicaciones del compuesto y los productos finales de los ejemplos de trabajo, por lo cual se incorpora en la presente solicitud por referencia a esta publicación.

Los antagonistas del receptor  $AT_1$  o los ligandos del receptor  $AT_2$ , respectivamente, que, por ejemplo, poseen al menos un centro básico pueden formar sales de adición de ácido. Estas se forman, por ejemplo, utilizando ácidos

inorgánicos fuertes, tales como ácidos minerales, por ejemplo ácido sulfúrico, un ácido fosfórico o un ácido hidroácido, utilizando ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tales como ácidos alcanos C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> carboxílicos que son no sustituidos o sustituidos, por ejemplo, por un halógeno, por ejemplo ácido acético, tal como ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo ácido oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico o tereftálico, tal como ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico, tal como aminoácidos, por ejemplo ácido aspártico o glutámico, o tal como ácido benzoico, o utilizando ácidos sulfónicos orgánicos, tales como ácidos alcanos C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sulfónicos o ácidos arilsulfónicos los cuales son no sustituidos o sustituidos, por ejemplo, por halógeno, por ejemplo ácido metanosulfónico o ácido p-toluenosulfónico. Ejemplos de apropiadas sales con bases son las sales de metales, tales como sales de metales de metal alcalino o alcalinotérreo, por ejemplo sales de sodio, potasio o magnesio, o sales con amoníaco o una amina orgánica, tal como morfolina, tiomorfolina, piperidina, pirrolidina, una mono-, di- o tri-alkil amina inferior, por ejemplo etil-, ter-butil-, dietil-, diisopropil-, trietil-, tributil- o dimetilpropil-aminas, o una mono-, di- o tri-hidroxi alkil amina inferior, por ejemplo mono-, di- o tri-etanolamina. Adicionalmente, las correspondientes sales internas se pueden formar.

WO 00/02543 A2 describe un método de tratamiento y una composición farmacéutica para tratar varias enfermedades, en donde una combinación de valsartán o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un bloqueador del canal de calcio o una sal farmacéuticamente aceptable de este se utiliza como una combinación de agentes activos.

WO 00/44378 A1 se relaciona con el uso de un antagonista del receptor de la angiotensina II o una sal farmacéuticamente aceptable de este para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de MI agudo y para la prevención secundaria de MI agudo.

WO 97/49394 A2 se refiere a las formas de dosificación orales sólidas que comprenden de a) un agente activo seleccionado del valsartán y opcionalmente hidroclorotiazida, y b) aditivos farmacéuticamente aceptables apropiados para la preparación de las formas de dosificación orales sólidas por métodos de compresión.

US 3 146 168 se relaciona con la fabricación de preparaciones farmacéuticas que tienen agregados de celulosa cristalina o ciertos derivados de agregados de celulosa cristalina presentes en estas.

WO 01/97805 A2 se relaciona con las formas de dosificación orales sólidas que comprenden cantidades farmacológicamente efectivas del valsartán o una sal farmacéuticamente aceptable de este o hidrato de este, en donde las composiciones son al menos 1.2 veces más biodisponibles que una cápsula de valsartán convencional.

La presente invención se presenta en la reivindicación 1. Las modalidades preferidas de la invención se exponen en las subreivindicaciones y en esta descripción.

Los comprimidos de la presente invención, tales como comprimidos recubiertos, comprimidos, se preparan de una manera que se conoce per se, por ejemplo utilizando procesos convencionales de mezclado, granulación, recubrimiento, solubilización o liofilización. De esta manera, los comprimidos se pueden obtener combinando el compuesto activo con excipientes sólidos, si se desea la granulación de una mezcla que se ha obtenido, y procesamiento de la mezcla o granulado en comprimidos o núcleo de comprimido recubierto después de haber adicionado las sustancias auxiliares apropiadas.

La dosificación del compuesto activo puede depender de una variedad de factores, tales como modo de administración, especies homeotérmicas, edad y/o condición individual. Normalmente, en el caso de administración oral, una dosis diaria aproximada de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 360 mg, por ejemplo en el caso del Valsartán por ejemplo de aproximadamente 40 mg, 80 mg, 160 mg o 320 mg, se estima que es para un paciente de aproximadamente 75 kg en peso.

Los comprimidos de la presente invención pueden ser utilizados para el tratamiento de enfermedades y condiciones por ejemplo como se revela de ahora en adelante.

WO 97/49394 revela las formas de dosificación orales sólidas comprimidas, por ejemplo, por compactación, de valsartán (opcionalmente en forma de sal) opcionalmente combinadas con hidroclorotiazida (HCTZ). En WO 97/49394 el rango preferido de la celulosa se da como 10 a 30%, por ejemplo, 21%, para composiciones valsartán/HCTZ y 5% de Valsartán solo. El rango preferido de polivinilpirrolidona reticulada (Crosprovidona) se da como 10 a 20%, por ejemplo, 13%.

Después de pruebas exhaustivas, se ha encontrado sorprendentemente que es posible mejorar las características de biodisponibilidad de formulaciones sólidas conocidas del valsartán incrementando la proporción de celulosa microcristalina. También se ha encontrado sorprendentemente que es posible mejorar la calidad, por ejemplo, mejor uniformidad de peso y mejor compresión para los comprimidos, de dichas conocidas formulaciones sólidas del Valsartán al disminuir la proporción de crosprovidona PVP reticulada.



De esta manera, la presente invención se relaciona con un comprimido que comprende el valsartán como el agente activo y más del 30% de celulosa microcristalina en peso basándose en el peso total de los componentes del núcleo de dicha forma de dosificación oral sólida, por ejemplo, 31 a 65%, por ejemplo, 50%.

5 En la presente invención, la relación de peso del valsartán con la celulosa microcristalina es preferiblemente de 2.5:1 a 0.3:1, por ejemplo, 2 : 1 a 1 : 1, por ejemplo, 1.4: 1.

En otras modalidades el comprimido de la invención comprende menos del 13% de crospovidona, por ejemplo, 2 a 10%, en peso basándose en el peso total de los componentes del núcleo del comprimido.

Preferiblemente, la relación de peso del valsartán con la Crospovidona es de 7:1 a 3:1, por ejemplo, 6:1 a 4:1, por ejemplo, 5.3:1.

10 Preferiblemente, la relación de peso de la celulosa microcristalina con la crospovidona es de 7:1 a 1:1, por ejemplo, 4:1 a 2:1, por ejemplo, 3.6:1.

El comprimido de acuerdo con la invención puede comprender de 20 a 360 mg del valsartán, por ejemplo, 40, 80, 160, 320 mg. Con este rango de dosificaciones la flexibilidad y la eficacia del tratamiento, por ejemplo, en reducción de la presión sanguínea, se pueden incrementar.

15 En otro aspecto, la invención se relaciona con una forma de dosificación oral sólida que comprende de

20 a 65% de valsartán

31 a 65% de celulosa microcristalina

2 a 13% de crospovidona.

Una composición típica puede comprender:

20 20 a 65% de valsartán

31 a 50% de celulosa microcristalina

2 a 10% de crospovidona

1 a 10 % de estearato de magnesio

0.5 a 5 % de silica anhidra coloidal.

25 Si se desea 1 a 10% en peso de la composición del núcleo, por ejemplo, 5 a 10%, de Cutina, o 1 a 10% en peso de la composición del núcleo, por ejemplo, 5 a 10% de ácido esteárico se puede adicionar.

Preferiblemente los comprimidos de la invención son en la forma de una tableta comprimida.

En otra modalidad la invención se relaciona con un comprimido, por ejemplo, una tableta comprimida, que comprende de más del 250 mg y hasta 360 mg, por ejemplo, 320 mg, de Valsartán como un agente activo.

30 Otros excipientes como lubricantes y deslizantes comúnmente utilizados en formulaciones orales sólidas pueden ser utilizados y se hace referencia a la extensa literatura en sustancias apropiadas, ver en particular Fiedler's "Lexicon der Hilfstoffe", 4th Edition, ECV Aulendorf 1996 y "Handbook of Pharmaceutical Excipients" Wade and Weller Ed.(1994).

35 Los comprimidos de acuerdo con la presente invención pueden ser en la forma de grageas en cuyo caso el comprimido se proporciona con un recubrimiento por lo general un azúcar, goma laca u otro recubrimiento de película completamente convencional en el oficio. Atención se deriva a los numerosos métodos conocidos de recubrimiento empleados en el oficio, por ejemplo recubrimiento por aspersion en un lecho fluidizado, por ejemplo por los métodos conocidos utilizando equipos disponibles de Aeromatic, Glatt, Wurster o Hüttlin, en una bandeja perforada por el método de Accela Cota, o con el método de recubrimiento de espada sumergida. Los aditivos comúnmente utilizados en la manufactura se emplean en dichos métodos. Por ejemplo, recubrimientos que pueden

40 ser utilizados son aquellos revelados en WO 97/49394, Opadry y similares.

Los comprimidos de la presente invención son útiles en las indicaciones conocidas del agente activo particular incorporadas en este documento.

5 La dosis exacta del agente activo y la formulación particular que se administra depende de un número de factores, por ejemplo la condición que se trata, la duración deseada del tratamiento y la velocidad de liberación del agente activo. Por ejemplo, la cantidad del agente activo necesaria y la velocidad de liberación de este se puede determinar en base a técnicas conocidas in vitro o in vivo, determinando cuanto tiempo una concentración del agente activo particular en el plasma sanguíneo se mantiene a un nivel aceptable para un efecto terapéutico.

Por ejemplo, la composición de la invención en pruebas clínicas tiene una biodisponibilidad comparable a la forma comercial de Diovan®.

10 Preferiblemente la velocidad de disolución de la forma sólida de acuerdo con la presente invención es superior al 90% durante 30 minutos.

15 Por ejemplo las dosificaciones en el rango de 10 mg a 360 mg del valsartán por día para un mamífero de 755 kilogramos, por ejemplo, humanos, y en modelos de animales estándar, pueden ser utilizadas. Una excelente tolerabilidad del valsartán proporcionada por las composiciones se puede observar en pruebas de animales y en pruebas clínicas estándar.

Los comprimidos de la invención se pueden producir mediante el tratamiento final de los componentes como en WO 97/49394), por ejemplo como se define anteriormente, en cantidades apropiadas, para formar las formas de dosificación por unidad.

20 Por ejemplo existe un proceso para fabricar los comprimidos como se describen anteriormente que comprende de las etapas de

i) molienda del agente activo y los aditivos farmacéuticamente aceptables,

ii) someter una mezcla del agente activo molido y los aditivos para la compresión para formar un comprimido (la masa compacta)

iii) convertir el coprimato para formar un granulado y

25 iv) compresión del granulado para formar la forma de dosificación oral sólida.

El proceso se lleva a cabo en la ausencia de agua, i.e. es un método de compresión seco. El proceso se puede llevar a cabo bajo condiciones ambientales de temperatura y humedad; no es necesario asegurar que el proceso se lleva a cabo en una atmósfera seca.

30 La etapa de molienda inicial i) se puede llevar a cabo de acuerdo con métodos de molienda convencionales o métodos de micronización.

35 El agente activo y los aditivos se pueden moler ya sea individualmente o junto con tamaños de partícula de aproximadamente 0.1 micrómetros ( $\mu$ ) a aproximadamente 1500  $\mu$ , por ejemplo, 1.0  $\mu$  a 900  $\mu$ , por ejemplo, 60  $\mu$  a 600  $\mu$ . Al menos 90 % de los cristales de ambos el agente activo y los aditivos están presentes en estos rangos. Las partículas de este tamaño se obtienen por métodos de pulverización convencionales, por ejemplo molienda en un molino de chorro de aire, molino de rejilla y martillo, molino de impacto fino, molino de bolas o molino de vibrador.

La micronización preferiblemente se realiza por métodos conocidos utilizando un desintegrador ultrasónico, por ejemplo del tipo BRANSON Sonifier, o por agitación de una suspensión con un agitador de alta velocidad, por ejemplo con un agitador del tipo HOMOREX.

40 Las partículas molidas opcionalmente en esta etapa pueden ser tamizadas y mezcladas de acuerdo con métodos conocidos.

45 La compresión para formar un coprimato necesita la compactación de los componentes molidos secos. La compactación se puede llevar a cabo utilizando una técnica de pre-compresión o preferiblemente, la compactación con rodillo. El equipo de compactación con rodillo es convencional y esencialmente utiliza dos rodillos que ruedan hacia cada otro. Las fuerzas del eje hidráulico de uno de los rodillos contra el otro para aplicar una fuerza de compactación contra las partículas molidas alimentadas en el compactador de rodillo vía un sistema transportador helicoidal.

- Una fuerza de compactación de entre 25 y 65 kN, por ejemplo, 25 y 45 kN puede ser utilizada. Dentro de este rango de fuerzas de compactación sorprendentemente se ha encontrado que para cada formulación particular una fuerza de compactación mínima debería ser utilizada con el fin de obtener una forma de dosificación oral sólida en donde el granulado se desintegra en partículas primarias discretas a una velocidad deseable, por ejemplo la desintegración ocurre aproximadamente seis veces más rápido para una forma de dosificación oral sólida comprimida anteriormente con una fuerza de compactación mínima. Tal velocidad de desintegración rápida es inusual para los comprimidos y es similar a la velocidad de desintegración de una formulación de cápsula. La particular fuerza de compactación mínima depende del contenido de agente activo en cualquier formulación dada y por lo tanto también depende de la cantidad y naturaleza de los aditivos presentes.
- Dada esta información, el destinatario experto claramente debería ser capaz de determinar la fuerza de compactación mínima para otras formulaciones utilizando experimentación rutinaria y sin carga indebida.
- La velocidad del rodillo se puede ajustar entre 1 y 20 rpm y preferiblemente 9 a 15 rpm. Después de pasar a través de los rodillos la masa compacta (el coprimate) se asemeja a una cinta delgada en segmentos.
- El coprimate se puede tamizar y/o moler para producir el granulado. El tamizado en su forma más simple involucra el paso del coprimate que emerge a partir de los rodillos a través de un tamiz bajo presión mecánica. Más preferiblemente, el coprimate se tamiza utilizando un molino oscilante, por ejemplo un MGI 624 Frewitt (Key International Inc.).
- La compresión de los granulados a núcleos de comprimidos se puede llevar a cabo en una máquina de compresión convencional, por ejemplo en una máquina de compresión excéntrica EK-0 Korsch o una máquina de compresión rotatoria, por ejemplo, a una compresión mayor de 2 kN. Los núcleos de comprimidos puede variar en forma y ser, por ejemplo, redondos, ovalados, oblongos, cilíndricos o cualquier otra forma apropiada, y también puede variar en tamaño dependiendo de la concentración de los agentes terapéuticos. Una característica de los comprimidos de acuerdo con la invención es su pequeño tamaño teniendo en cuenta la cantidad de agente activo obtenido en este.
- En una modalidad preferida de la invención los comprimidos obtenidos por el método de compresión descrito anteriormente son ligeramente ovalados. Los bordes de los comprimidos se pueden biselar o redondear.
- En una modalidad particularmente preferida de la invención una forma de dosificación oral sólida se comprime en la forma de un comprimido que tiene una forma oblonga en la que la relación de las dimensiones longitud:ancho:altura es, por ejemplo, 2.5 - 5.0: 0.9 - 2.0: 1.0, y preferiblemente en la cual la cara base y superior del comprimido independientemente una de la otra son planas o convexamente curvas cerca del eje longitudinal; las caras laterales son planas, las caras finales pueden ser de cualquier forma y los bordes opcionalmente se biselan o redondean.
- En una modalidad particularmente preferida de la invención una forma de dosificación oral sólida se comprime, a partir del granulado, en la forma de un comprimido de forma oblonga en la cual la longitud es aproximadamente 10.0 a 15.0 mm, el ancho es aproximadamente 5.0 a 6.0 mm y la altura es aproximadamente 3.0 a 4.0 mm.
- En otra modalidad particularmente preferida de la invención una forma de dosificación oral sólida se comprime de los granulados en la forma de un comprimido de forma oblonga en la cual la longitud es aproximadamente 15.0 a 18.0 mm, el ancho aproximadamente es 6.0 a 9.0 mm y la altura aproximadamente es 3.5 a 5.0 mm.
- En incluso otra modalidad preferida de la invención, se proporciona un comprimido que es esencialmente de forma redonda con las caras superior e inferior teniendo una superficie ligeramente convexa. Preferiblemente el comprimido tiene un diámetro de aproximadamente 8 a 8.5 mm y una profundidad de aproximadamente 3 a 3.5 mm, o un diámetro de aproximadamente 16 mm y una profundidad de aproximadamente 6 mm. Los comprimidos pueden ocupar un volumen de aproximadamente 0.1 cm<sup>3</sup> a aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>, por ejemplo, 0.1 cm<sup>3</sup> a aproximadamente 0.45cm<sup>3</sup>, por ejemplo, 0.2 a 0.3 cm<sup>3</sup>, por ejemplo aproximadamente 0.125 cm<sup>3</sup> o 0.25 cm<sup>3</sup>.
- Adicionalmente pueden ser transparentes, incoloros o coloreados y también marcadas, así como para dar a este producto una apariencia individual y hacerlos reconocibles instantáneamente. El uso de los colorantes puede servir para mejorar la apariencia así como para identificar las composiciones. Los colorantes apropiados para utilizar en farmacia por lo general incluyen carotenos, óxidos de hierro o clorofila.
- Los siguientes ejemplos ilustran la invención descrita anteriormente; sin embargo, no tienen intención de restringir el alcance de esta invención de ninguna manera.

#### **Ejemplo de Formulación 1:**

- Comprimidos Recubiertos con Película:

ES 2 373 556 T3

Componentes	Composición Por Unidad (mg)	Estándares
Granulación		
Valsartán [=ingrediente activo]	80.00	
Celulosa microcristalina/Avicel PH 102	54.00	NF, Ph. Eur
Crospovidona	20.00	NF, Ph. Eur
Silica anhidra coloidal /dióxido de silicio coloidal/ Aerosil 200	0.75	Ph. Eur / NF
Estearato de magnesio	2.5	NF, Ph. Eur
Mezcla		
Silica anhidra coloidal /dióxido de silicio coloidal/ Aerosil 200	0.75	Ph. Eur. NF
Estearato de magnesio	2.0	NF, Ph. Eur
Recubrimiento		
Agua purificada *)	-	
Rojo pálido DIOLACK 00F34899	7.00	

Masa del comprimido total	167.00	
---------------------------	--------	--

\*) Eliminada durante el proceso

El comprimido recubierto con película se fabrica por ejemplo de la siguiente manera:

5 Una mezcla de valsartán, celulosa microcristalina, crospovidona, parte de la silica anhidra coloidal/dióxido de silicio coloidal/Aerosile 200, dióxido de silicio y estearato de magnesio se pre-mezcla en un mezclador de difusión y luego se tamiza a través de un molino de tamizado. La mezcla resultante nuevamente se pre-mezcla en un mezclador de difusión, se compacta en un compactador de rodillo y luego se tamiza a través de un molino de tamizado. A la mezcla resultante, se le adiciona el resto de la silica anhidra coloidal/dióxido de silicio coloidal/Aerosile 200 y la mezcla final se hace en un mezclador de difusión. La mezcla total se comprime en una máquina de compresión rotatoria y los comprimidos se cubren con una película utilizando rojo pálido Diolack en una bandeja perforada.

10 **Ejemplo de Formulación 2:**

Comprimidos recubiertos de película:

Componentes	Composición Por Unidad (mg)	Estándares
Granulación		
Valsartán [=ingrediente activo]	160.00	
Celulosa microcristalina/Avicel PH 102	108.00	NF, Ph. Eur
Crospovidona	40.00	NF, Ph. Eur

## ES 2 373 556 T3

(continuación)

Componentes	Composición Por Unidad (mg)	Estándares
Granulación		
Silica anhidra coloidal /dióxido de silicio coloidal/ Aerosil 200	1.50	Ph. Eur / NF
Estearato de magnesio	5.00	NF, Ph. Eur
Mezcla		
Silica anhidra coloidal /dióxido de silicio coloidal/ Aerosil 200	1.50	Ph. Eur / NF
Estearato de magnesio	4.00	NF, Ph. Eur
Recubrimiento		
Marrón claro Opadry 00F33172	10.00	
Masa del comprimido total	330.00	

El comprimido recubierto con película se fabrica por ejemplo, según lo descrito en el Ejemplo de Formulación 1.

### 5 Ejemplo de Formulación 3:

Comprimidos Recubiertos con Película:

Componentes	Composición Por Unidad (mg)	Estándares
Núcleo: Fase interna		
Valsartán [=ingrediente activo]	40.00	
Silica, anhidra coloidal (dióxido de silicio coloidal) [=Deslizante]	1.00	Ph. Eur, USP/NF
Estearato de magnesio [=Lubricante]	2.00	USP/NF
Crospovidona [Desintegrante]	20.00	Ph. Eur
Celulosa microcristalina [Agente de enlace]	124.00	USP/NF
Fase Externa		
Silica, anhidra coloidal (dióxido de silicio coloidal) [=Deslizante]	1.00	Ph. Eur, USP/NF
Estearato de magnesio [Lubricante]	2.00	USP/NF
Recubrimiento de Película		
Marrón Opadry® 00F16711*)	9.40	
Agua purificada **)	-	
Masa del comprimido total	199.44	

\*) La composición del agente colorante Marrón Opadry® 00F16711 se tabula a continuación.

## ES 2 373 556 T3

\*\*) Eliminada durante el proceso

Composición Opadry®:

Ingrediente	Composición % Aproximado
Óxido de hierro, negro (C.I. No. 77499, E 172)	0.50
Óxido de hierro, marrón (C.I. No. 77499, E 172)	0.50
Óxido de hierro, rojo (C.I. No. 77491, E 172)	0.50
Óxido de hierro, amarillo (C.I. No. 77492, E 172)	0.50
Macrogolum (Ph. Eur)	4.00
Dióxido de titanio (C.I. No. 77891, E 171)	14.00
Hipromelosa (Ph. Eur)	80.00

El comprimido recubierto con película, se fabrica por ejemplo según lo descrito en el Ejemplo de Formulación 1.

### 5 Ejemplo Referencia 1:

Cápsulas:

Componentes	Composición Por Unidad (mg)
Valsartán [=ingrediente activo]	80.00
Celulosa microcristalina	25.10
Crospovidona	13.00
Povidona	12.50
Estearato de magnesio	1.30
Sodio lauril sulfato	0.60
Cubierta	
Óxido de hierro, rojo (C.I. No. 77491, EC No. E 172)	0.123
Óxido de hierro, amarillo (C.I. No. 77492, EC No. E 172)	0.123
Óxido de hierro, negro (C.I. No. 77499, EC No. E 172)	0.245
Dióxido de titanio	1.540
Gelatina	74.969
Masa del comprimido total	209.50

El comprimido se fabrica por ejemplo de la siguiente manera:

Granulación/Secado

El Valsartán y la celulosa microcristalina se granularon en aerosol en un granulador de lecho fluidizado con una solución de granulación que consiste de povidona y sodio lauril sulfato disuelta en agua purificada. El granulado obtenido se seca en un secador de lecho fluidizado.

5 Molienda/Mezcla

El granulado seco se muele junto con crospovidona y estearato de magnesio. La masa luego se mezcla en un mezclador del tipo de tornillo cónico por aproximadamente 10 minutos.

Encapsulación

10 Las cápsulas de gelatina dura vacías se llenan con los gránulos a granel mezclados bajo condiciones de humedad y temperatura controladas. Las cápsulas llenas se desempolvan, se examinan visualmente, controlan el peso y se garantizan por el departamento de garantía de Calidad.

**Ejemplo Referencia 2:**

Cápsulas:

Componentes	Composición Por Unidad (mg)
Valsartán [=ingrediente activo]	160.00
Celulosa microcristalina	50.20
Crospovidona	26.00
Povidona	25.00
Estearato de magnesio	2.60
Sodio lauril sulfato	1.20
<b>Cubierta</b>	
Óxido de hierro, rojo (C.I. No. 77491, EC No. E 172)	0.123
Óxido de hierro, amarillo (C.I. No. 77492, EC No. E 172)	0.123
Óxido de hierro, negro (C.I. No. 77499, EC No. E 172)	0.245
Dióxido de titanio	1.540
Gelatina	74.969
Masa del comprimido total	342.00

15 La formulación se fabrica por ejemplo según lo descrito en el Ejemplo de Formulación 4.

## ES 2 373 556 T3

### Ejemplo Referencia 3:

Cápsula de Gelatina Dura:

Componentes	Composición Por Unidad (mg)
Valsartán [=ingrediente activo]	80.00
Sodio lauril sulfato	0.60
Estearato de magnesio	1.30
Povidona	12.50
Crospovidona	13.00
Celulosa microcristalina	21.10
Masa del comprimido total	130.00

### Ejemplos 4 a 8:

Ejemplo	4	5	6	7	8
Componentes	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)
Granulación					
Valsartán Sustancia Farmacéutica	80.000	160.000	40.000	320.000	320.000
Celulosa Microcristalina (NF, Ph.Eur.)/ Avicel PH 102	54.000	108.000	27.000	216.000	216.000
Crospovidona (NF, Ph.Eur.)	15.000	30.000	7.500	80.000	60.000
Silica Coloidal Anhidra (Ph. Eur.)/Dióxido de Silicio Coloidal (NF)/Aerosil 200	1.500	3.000	0.750	3.000	6.000
Estearato de Magnesio (NF, Ph.Eur.)	3.000	6.000	1.500	10.000	12.000
Mezcla					



ES 2 373 556 T3

(continuación)

Ejemplo	4	5	6	7	8
Componentes	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)	COMPOSICIÓN POR UNIDAD (mg)
Silica Coloidal Anhidra (Ph. Eur.)/Dióxido de Silicio Coloidal (NF)/Aerosil 200	---	---	---	3.000	-
Estearato de Magnesio. NF. Ph.Eur,	1.500	3.000	0.750	8.000	6.000
Peso del Núcleo /mg	155.000	310.000	77.500	640.000	620.000
Granulación					
Recubrimiento	-	-	3.800	15.000	16.000

**Ejemplo 9: Disolución del comprimido recubierto con película (FCT)**

- 5 Los criterios de aceptación de disolución son Q= 75% en 30 min (Paleta 50 rpm, solución reguladora de fosfato pH 6.8)

	40mg	Fuerza	320mg	Fuerza
<b>Disolución FCT</b>				
	- nivel	+ nivel	- nivel	+ nivel
[%] Promedio	98	97	93	89
[%] rel. std.	1.06	2.48	2.12	2.34
[%] min.	96	94	90	86
[%] Max.	99	99	95	92

**REIVINDICACIONES**

1. Un comprimido que comprende de 20 a 65% del valsartán en forma libre y más del 30% de celulosa microcristalina en peso basándose en el peso total de los componentes del núcleo de dicho comprimido, en donde los siguientes comprimidos se excluyen:

5 Formulación del Comprimido de Valsartán 80 mg + Amlodipino 5 mg (Compactación de rodillo)

Dosificación (mg)	80 mg de Valsartán + 5 mg de Amlodipino
Diámetro (mm)	9
Forma	redonda
Línea de ruptura	sin
Peso del comprimido (mg)	215

	Fuerza de Dosificación	Función del Excipiente en la Formulación	80 mg de Valsartán + 5 mg de Amlodipino
I.	Compactado		mg:
1.	Valsartán	sustancia farmacéutica DS	80.0
2.	Amlodipino	sustancia farmacéutica DS	5.0
3.	Avicel PH 102	relleno	104.0
4.	PVPP-XL	desintegrante	20.0
5.	Aerosil 200	deslizante	0.75
6.	Estearato de magnesio	lubricante	2.5
II.	Fase Exterior		
7.	Aerosil 200	deslizante	0.75
8.	Estearato de magnesio	lubricante	2.0
	total		215.0

Comprimidos Recubiertos con Película:

Componentes	Composición Por Unidad (mg)	Estándares
Granulación		
Valsartán [=ingrediente activo]	80.00	
Celulosa microcristalina/ Avicel PH 102	54.00	NF, Ph. Eur
Crospovidona	20.00	NF, Ph. Eur

ES 2 373 556 T3

(continuación)

Componentes	Composición Por Unidad (mg)	Estándares
Granulación		
Silica coloidal anhidra / dióxido de silicio coloidal / Aerosil 200	0.75	Ph.Eur/NF
Estearato de magnesio	2.5	NF, Ph. Eur
Mezcla		
Silica coloidal anhidra / dióxido de silicio coloidal / Aerosil 200	0.75	Ph. Eur/NF
Estearato de magnesio	2.00	NF, Ph. Eur
Recubrimiento		
Rojo pálido DIOLACK 00F34899	7.00	
Masa del comprimido total	167.00	;

Comprimidos Recubiertos con Película:

Componentes	Composición Por Unidad (mg)	Estándares
Granulación		
Valsartán [=ingrediente activo]	160.00	
Celulosa microcristalina/ Avicel PH 102	108.00	NF, Ph. Eur
Crospovidona	40.00	NF, Ph. Eur
Silica coloidal anhidra / dióxido de silicio coloidal / Aerosil 200	1.50	Ph. Eur/NF
Estearato de magnesio	5.00	NF, Ph. Eur
Mezcla		
Silica coloidal anhidra / dióxido de silicio coloidal / Aerosil 200	1.50	Ph. Eur/NF
Estearato de magnesio	4.00	NF, Ph. Eur
Recubrimiento		
Marrón claro Opadry 00F33172	10.00	
Masa del comprimido total	330.00	

5

y

Comprimidos Recubiertos con Película:

ES 2 373 556 T3

Componentes	Composición Por Unidad (mg)	Estándares
Núcleo: Fase interna		
Valsartán [=ingrediente activo]	40.00	
Silica, anhídrica coloidal (dióxido de silicio coloidal) [=Deslizante]	1.00	Ph. Eur, USP/NF
Estearato de magnesio [=Lubricante]	2.00	USP/NF
Crospovidona [Desintegrante]	20.00	Ph. Eur
Celulosa microcristalina [Agente de enlace]	124.00	USP/NF
Fase Externa		
Silica, anhídrica coloidal (dióxido de silicio coloidal) [=Deslizante]	1.00	Ph. Eur, USP/NF
Estearato de magnesio [Lubricante]	2.00	USP/NF
Recubrimiento de Película		
Marrón Opadry® 00F33172	9.40	
Masa del comprimido total	199.44	

2. Un comprimido de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende hasta 65% de celulosa microcristalina.
3. Un comprimido de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende de 50 a 65 % de celulosa microcristalina.
- 5 4. Un comprimido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende menos del 13% de crospovidona.
5. Un comprimido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el ingrediente activo consiste de valsartán.
- 10 6. Un comprimido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende de 20 a 360 mg del valsartán.
7. Un comprimido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 5 y 6 que comprende de  
20 a 65% de valsartán  
31 a 65% de celulosa microcristalina y  
2 a 13% de crospovidona.
- 15 8. Un comprimido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende más del 250 mg y hasta 360 mg del valsartán.
9. Un comprimido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el comprimido es un comprimido recubierto.