

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 517**

51 Int. Cl.:
G01N 33/15 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06818475 .3**
96 Fecha de presentación: **10.11.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1952142**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.08.2008**

54 Título: **Composicion en disolución para examinar la solubilidad de fármacos**

30 Prioridad:
10.11.2005 GB 0522942

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.07.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.07.2012

73 Titular/es:
**PHARES PHARMACEUTICAL RESEARCH N.V.
P.O. BOX 6052, EMANCIPATIE BOULEVARD 31
CURACAO, NETHERLANDS ANTILLES, AN**

72 Inventor/es:
**LEIGH, Steve;
LEIGH, Mathew Louis Steven;
VAN HOOGEVEST, Peter;
STREICH, Daniel y
QUINTON, Jacques**

74 Agente/Representante:
Urizar Anasagasti, Jesús María

ES 2 385 517 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

Composición en disolución para examinar la solubilidad de fármacos

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones sólidas y a procedimiento para preparar medios biorrelevantes de las mismas. Más específicamente, describe composiciones en disolución sólida que comprenden complejos de sal biliar y de fosfolípidos que se añaden a agua o medios acuosos para preparar fluidos intestinales simulados que imitan los estados de ayuno y alimentados. Los medios pueden usarse para examinar las características de solubilidad y disolución de compuestos activos y formulaciones poco solubles en agua.

Antecedentes a la invención

Las pruebas de disolución *in vitro* usando medios acuosos, ácidos o alcalinos se llevan a cabo en el desarrollo de formulaciones y para controlar la variación rutinaria entre y dentro de lotes de formas de dosificación orales tales como comprimidos y cápsulas. Los medios de disolución que simulan el fluido gastrointestinal pueden incluir tensioactivos y solubilizantes tales como dodecilsulfato de sodio (SDS) y tensioactivos no iónicos. Imitan condiciones de sedimentación para determinar perfiles de disolución de formulaciones de compuestos y fármacos poco solubles. Pueden emplearse pruebas de disolución usando diferentes concentraciones de dodecilsulfato de sodio para evaluar características de disolución como se sugiere, por ejemplo, en una monografía sobre cápsulas de griseofulvina en "USP 24, página 789". Sin embargo, se reconoce que los medios de SDS no son fisiológicamente relevantes y pueden no predecir de forma fidedigna perfiles farmacocinéticos *in vivo*. Por tanto, se han propuesto medios gastrointestinales modificados o biorrelevantes que comprenden solubilizantes fisiológicamente más relevantes tales como lecitina, lisolecitina, sales biliares, monoglicéridos, ácidos grasos y micelas mixtas de los mismos para simular mejor los estados de ayuno y alimentados.

Técnica anterior

Los medios de disolución pueden tener un gran impacto sobre los estudios farmacocinéticos realizados para optimizar condiciones de dosificación y formulación de productos. En "Dissolution Media Simulating Fasted and Fed States" por M. Marques, "Dissolution Technologies", mayo (2004), página 16, se describen medios biorrelevantes para examinar las características de solubilidad y disolución de compuestos lipófilos y para estudiar el efecto de la ingesta de alimentos sobre la tasa de disolución de fármacos lipófilos. Los medios intestinales biorrelevantes propuestos conocidos como FaSSIF (fluido intestinal simulado en estado de ayuno) y FeSSIF (fluido intestinal simulado en estado alimentado) contienen micelas mixtas de taurocolato de sodio y lecitina que tienen valores de osmolalidad y de pH que simulan fluido intestinal tanto en los estados de ayuno como alimentado. Se preparan recientemente, esencialmente a partir de una emulsión (tipo o/w) de un disolvente inmiscible en agua eliminando disolvente clorado. El principal inconveniente es que el procedimiento no es conveniente, versátil o rentable para el uso rutinario en laboratorio. La coalescencia de los glóbulos dispersados en un sistema de emulsión binario cuando se elimina el disolvente puede producir una población heterogénea de micelas y micelas mixtas. El disolvente repartido entre las micelas lipídicas resultantes y las micelas mixtas y la fase acuosa externa no es fácil de eliminar completamente. El disolvente residual puede afectar el perfilado de la solubilidad y disolución de compuestos lipófilos que son poco solubles en agua. Para datos reproducibles, los medios FaSSIF y FeSSIF y disoluciones similares que contienen sales biliares y fosfolípidos, como se sugiere en "In vitro assessment of oral lipid based formulations" por C.J.H. Porter y W.N. Charman, *Advanced Drug Delivery Reviews* 50 (2001), páginas S127-S147, pueden no tener suficiente estabilidad en almacén para el almacenamiento y uso fuera del almacén debido a la agregación de micelas, oxidación de lípidos, hidrólisis y contaminación microbiana. Por tanto, tienen que prepararse recientemente.

Resumen

La invención se refiere a una composición en disolución sólida según la reivindicación 1 y a un procedimiento de su preparación según la reivindicación 11. Realizaciones preferidas se desvelan en las reivindicaciones dependientes. Un ejemplo describe novedosas composiciones en disolución sólida (CDS) que comprenden esencialmente combinaciones de al menos una sal biliar y al menos un fosfolípido y un procedimiento para preparar cantidades comerciales a gran escala de composiciones particuladas eliminando el disolvente de disoluciones o dispersiones homogéneas que comprenden dicha sal biliar y fosfolípido. Describe adicionalmente un procedimiento robusto y reproducible para preparar medios modificados o medios de disolución biorrelevantes durante amplios intervalos de pH (1 a 10) y osmolalidad (0 a 800 mOsmol/kg). Además, las CDS también pueden usarse para preparar fluidos intestinales simulados (FIS) dentro de los valores de pH (aproximadamente 5 a aproximadamente 7,5) y de osmolalidad del fluido intestinal natural en los estados en ayuno (aproximadamente 270 mOsmol/kg) o alimentados (aproximadamente 670 mOs-mol/kg). El fluido intestinal simulado puede usarse para evaluar las características de disolución *in vitro* de compuestos activos poco solubles en agua y formulaciones lipófilas y para la correlación de los datos con perfiles farmacocinéticos *in vivo* bajo condiciones alimentadas o en ayuno. La información obtenida puede ser útil para fines de aprobación del QC en lotes en desarrollo y comerciales y para evaluar la bioequivalencia de

cambios de formulaciones después de la autorización en ciertos tipos de fármacos.

Un aspecto de la invención se refiere a composiciones en disolución sólida (CDS) que son tanto compactos como polvos que comprenden esencialmente al menos una sal biliar, preferentemente taurocolato de sodio, y al menos un fosfolípido, preferentemente monoacilfosfolípidos, preferentemente mezclas de diacil y monoacilfosfolípidos que comprenden 10% al 90% en peso/peso de monoacilfosfolípidos. La relación molar de sal biliar con respecto a fosfolípido en su interior puede ser ampliamente entre 1:1 a 20:1. Preferentemente, generalmente está entre 1:1 y 10:1 para medios biorrelevantes. Más específicamente, para preparar fluidos intestinales que simulan los estados de ayuno y alimentados en los intestinos delgados superiores, la relación molar de sal biliar con respecto a fosfolípido en la CDS es preferentemente aproximadamente 2:1 a 6:1. Preferentemente, la relación molar es 4:1. Sin embargo, pueden usarse relaciones fuera de este intervalo.

Las CDS son preferentemente polvos muy sueltos o cerosos que son complejos, co-precipitados, gránulos y composiciones liofilizadas que comprenden al menos una sal biliar y al menos un fosfolípido. Las composiciones sólidas se preparan a partir de disolventes orgánicos hidrófilos o lipófilos, disoluciones agua-disolvente monofásicas, agua sola y dispersiones acuosas homogéneas después de la eliminación del disolvente y adicionalmente secado. Opcionalmente pueden incluirse tampones y agentes osmóticos después de la eliminación de disolventes o el secado. Preferentemente, la CDS se tamiza para obtener diámetros de partícula medios dentro del intervalo 0,5 mm a 5 mm.

En otro aspecto, las composiciones sólidas de lotes a gran escala con relaciones de sal biliar : fosfolípido definidas entre preferentemente 1:1 y 10:1 se añaden a tanto agua como medios tampón acuosos para preparar medios biorrelevantes y fluidos intestinales simulados (FIS). Los medios pueden contener 0,1% en peso/volumen al 5% en peso/volumen de combinaciones de sal biliar y fosfolípido que abarcan pH 1 a pH 10 y osmolalidad 0 mOsmol/kg a 800 mOsmol/kg. Dado que los valores engloban intervalos mucho más anchos que los encontrados en condiciones naturales en el hombre y especies no humanas, las CDS pueden usarse para preparar todos los tipos de medios de disolución distintos de medios del intestino delgado superior biorrelevantes o simulados.

En otro aspecto, las alícuotas de CDS con relaciones de sal biliar: fosfolípido similares pueden envasarse en recipientes a granel herméticos al aire adecuados o envases unitarios que pueden ser frascos o recipientes de vidrio o plástico que pueden volver a cerrarse herméticamente de boca ancha con tapas para la distribución y el almacenamiento a largo plazo y uso en laboratorio.

Descripción detallada

En esta memoria descriptiva se aplican las siguientes definiciones:

“Baja solubilidad en agua” y “poco soluble en agua” significan cualquier compuesto que requiera más de 10 partes de agua para disolver 1 parte del compuesto. Abarca las definiciones entre moderadamente soluble (de 10 a 30) a muy ligeramente soluble (de 1000 a 10.000) y prácticamente insoluble o insoluble (10.000 y más) como se define en USP 24. El término incluye compuestos hidrófobos o lipófilos o anfipáticos.

“Fosfolípidos” incluyen diacil y monoacilfosfolípidos y glicolípidos. Otros lípidos que puede usarse en combinación con los fosfolípidos son ácidos grasos, mono, di y triglicéridos y colesterol.

“Compuestos activos” incluyen compuestos que son farmacológicamente o fisiológicamente activos. El término incluye, pero no se limita a, sustancias farmacológicamente activas poco solubles en agua que son principios activos de, por ejemplo, la clase de compuestos para el SNC (sistema nervioso central), para el SCV (sistema cardiovascular), anticancerígenos, etc. Sustancias fisiológicamente activas poco solubles en agua son componentes nutritivos como, por ejemplo, vitaminas liposolubles, carotenoides, ácidos grasos altamente insaturados, CoQ-10, flavonoides, etc.

Composición en disolución sólida

Un objeto de la invención es utilizar CDS que consiste en un complejo de al menos una sal biliar combinada con al menos un fosfolípido para preparar generalmente medios biorrelevantes. El fosfolípido puede ser lecitina, lecitina hidrolizada con enzima, diacilfosfolípidos, preferentemente monoacilfosfolípidos, más preferentemente mezclas de diacilfosfolípidos y monoacilfosfolípidos que comprenden 10% al 90% en peso de monoacilfosfolípidos. Las sales biliares son sorprendentemente eficaces para modificar la naturaleza cerosa blanda de la lecitina y los fosfolípidos a un estado sólido sin excipientes adicionales. Los monoacilfosfolípidos están presentes en fluidos duodenales naturales secretados en la bilis como diacilfosfolípidos. Los diacilfosfolípidos son sometidos a hidrólisis enzimática por fosfolipasas para liberar monoacilfosfolípidos y ácidos grasos libres. Por tanto, pueden preferirse los monoacilfosfolípidos a los diacilfosfolípidos solos para imitar más estrechamente los fluidos intestinales. Las CDS pueden comprender adicionalmente ácidos grasos y opcionalmente colesterol, mono, di y triglicéridos, además de sales biliares y mezclas de diacilfosfolípidos y monoacilfosfolípidos. La relación molar de ácidos grasos con respecto a monoacilfosfolípidos es entre 1:10 y 10:1. Preferentemente, entre 1:2 y 2:1, más preferentemente 1:1. Pueden añadirse tampones y agentes osmóticos después de preparar las composiciones sólidas.

Generalmente, la CDS puede contener menos de aproximadamente el 20% en peso de agua o disolvente residual, preferentemente menos del 5%.

- 5 Debe entenderse que el fin principal de la invención es proporcionar composiciones sólidas estables que puedan prepararse rentablemente en cantidades a granel y almacenarse, ofreciendo así máxima flexibilidad y conveniencia para preparar medios reproducibles como y cuando se requiera. Los medios biorrelevantes pueden prepararse añadiendo CDS a agua o medios acuosos haciendo que sea innecesario preparar medios frescos usando cada vez eliminación de disolvente.
- 10 La CDS puede usarse para preparar medios en los que la relación molar de sal biliar con respecto a fosfolípido está ampliamente entre 1:1 a 20:1, preferentemente 1:1 a 10:1, durante el intervalo de valores de pH entre 1,0 y 10 y valores de osmolalidad entre 0 mOsmol/kg y 800 mOsmol/kg. Preferentemente, las CDS que consisten en sal biliar y lípido con relaciones molares entre 2:1 y 6:1 (relación en peso aproximada 2:1 a 4:1, basada en el PM de taurocolato de sodio), más preferentemente en la región de 4:1 (relación en peso aproximada 2,8:1 basada en el PM de taurocolato de sodio), se usan para preparar medios de fluido intestinal biorrelevantes y simulados que contienen
- 15 0,1% al 5% en peso/volumen de sal biliar y fosfolípidos.

Procedimiento para preparar CDS

- 20 Preferentemente, la CDS se prepara disolviendo o dispersando la sal biliar y fosfolípido en disolvente orgánico, disolución de agua-disolvente, o agua. El disolvente orgánico es preferentemente un disolvente volátil hidrófilo adecuado, preferentemente un alcohol, alcohol-agua, más preferentemente puede usarse una mezcla de etanol y agua. Alternativamente, las mezclas en polvo pueden dispersarse homogéneamente en agua, o disolución de agua-alcohol, seguido de eliminación del disolvente y/o agua para dar una composición sólida. Pueden usarse disolventes
- 25 orgánicos tales como cloruro de metileno, tetrahidrofurano, con pequeñas cantidades de agua para disolver la sal biliar y el lípido con la condición de que la mezcla de agua-disolvente sea monofásica (disolución) y no se forme una emulsión de o/w durante la eliminación del disolvente.

- 30 La CDS se prepara eliminando el líquido usando un procedimiento seleccionado de procedimientos de eliminación de disolventes que consisten en evaporación a temperaturas ambiente o elevadas, opcionalmente a vacío; granulación y secado con o sin vacío; precipitación de disolvente usando un disolvente inmiscible, recogida del precipitado y liberación de los disolventes del precipitado; liofilización; secado por pulverización; granulación por pulverización.

- 35 Preferentemente, las composiciones sólidas se tamizan o criban adicionalmente para preparar composiciones en polvo muy sueltas o cerosas y pueden envasarse en recipientes a granel o envasarse en frascos que pueden volver a cerrarse herméticamente y recipientes más pequeños, sobres, o pueden compactarse. El tamaño de partícula medio de los polvos está entre 0,5 mm y 5 mm, preferentemente entre 1 mm y 2 mm. Los polvos ofrecen una gran
- 40 área superficial para la rápida disolución.

Medios de disolución biorrelevantes

- 45 Las CDS forman espontáneamente dispersiones de micelas de composición homogénea cuando se disuelven o dispersan en agua o disoluciones acuosas de tampón-sal a temperatura ambiente de hasta 40°C. No se requiere entrada de alta energía para preparar las dispersiones de micelas. Opcionalmente puede emplearse Utra Turrax o una mezcladora de tipo agitador de hélices a velocidades de moderadas a altas para facilitar la dispersión de grandes cantidades de CDS para normalizar el procedimiento a temperaturas ambiente de hasta 40°C.

- 50 Los medios de disolución pueden prepararse disolviendo o dispersando la cantidad deseada de CDS en agua o medios acuosos. La concentración resultante de sal biliar y lípidos en medios biorrelevantes puede estar entre el 0,1% en peso/volumen y el 10% en peso/volumen. Preferentemente, la cantidad es 0,1% en peso/volumen al 5% en peso/volumen a pH entre 1 y 10 y la osmolalidad entre 0 mOs-mol/kg y 800 mOsmol/kg.

- 55 Los medios de fluido intestinal simulado (FIS) pueden prepararse disolviendo o dispersando la cantidad deseada de CDS que esencialmente contiene combinaciones de sales biliares y lípidos con relaciones molares entre 1:1 y 10:1, preferentemente entre relaciones molares de 2:1 y 6:1, más preferentemente 4:1, en agua o medios acuosos.

- 60 La concentración resultante de sal biliar y fosfolípido en FIS en estado en ayuno puede estar entre el 0,1% y el 1% en peso/volumen a pH $6,5 \pm 0,5$ y la osmolalidad de aproximadamente 270 ± 20 mOsmol/kg para simular condiciones en ayunas naturales en intestinos delgados superiores.

- La concentración resultante de sal biliar y fosfolípido en FIS en estado alimentado puede estar entre el 0,2% y el 2,5% en peso/volumen a pH $5 \pm 0,5$ y la osmolalidad de aproximadamente 670 ± 20 mOsmol/kg para simular condiciones alimentadas naturales en intestinos delgados superiores.
- 65

Normalmente, el FIS comprende $0,22\% \pm 20\%$ en peso/volumen de combinaciones de sal biliar y fosfolípido en las

que la relación molar es 4:1 para simular condiciones en estado de ayuno a pH $6,5 \pm 0,5$ y osmolalidad 270 ± 20 mOsmol/kg.

5 Normalmente, el FIS en estado alimentado comprende $1,12\% \pm 20\%$ en peso/volumen de sal biliar y fosfolípido combinados a pH $5,0 \pm 0,5$ y osmolalidad 670 ± 20 mOsmol/kg.

10 La cantidad de sales biliares y fosfolípido combinados, valores de pH y osmolalidad descritos son valores típicos generalmente empleados en medios biorrelevantes que simulan fluidos intestinales. Pueden usarse valores diferentes fuera de estos intervalos para reflejar las amplias variaciones en medios gastrointestinales naturales entre individuos humanos y animales y en los estados de ayuno y alimentados.

15 Preferentemente, para permitir la máxima flexibilidad, tampones, sales y agentes osmorregulantes se añaden por separado a agua o medios acuosos para preparar los medios biorrelevantes. Alternativamente, la CDS puede añadirse a disoluciones patrón de tampón en el intervalo de pH 1,2 a 6,8 con, por ejemplo, la misma fuerza iónica que en USP.

20 Opcionalmente, para simular el estado alimentado, en los medios pueden incluirse alimentos y componentes digestivos tales como grasas (por ejemplo, monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos), hidratos de carbono (poli y oligosacáridos), proteínas (por ejemplo, de la leche), enzimas (tales como lipasas, proteasas) para imitar incluso más estrechamente el fluido intestinal natural.

25 La única combinación de sal biliar y lípido en la CDS que es un complejo homogéneo o composición de pro-micela puede permitir que se preparen micelas de composición homogénea y dispersiones de micelas mixtas con una única población y una estrecha distribución de tamaño de partícula. El diámetro medio de partícula de las micelas en los medios biorrelevantes es inferior a 250 nm, preferentemente inferior a 100 nm, preferentemente inferior a 50 nm, preferentemente entre 0,5 nm y 50 nm, más preferentemente entre 0,1 nm y 25 nm. Preferentemente, las dispersiones de micelas son de claras a turbias dependiendo de la cantidad de CDS usada y la relación de sal biliar con respecto a fosfolípido en su interior. El volumen de disolución medio recomendado para los estudios de disolución es 500 ml; 900 ml o 1000 ml (USP). La CDS puede usarse para preparar medios biorrelevantes en lugar de tensioactivos tales como SDS para estudios de disolución *in vitro*. Los medios biorrelevantes pueden proporcionar una simulación más precisa de perfiles farmacocinéticos que el fluido gástrico simulado o fluido intestinal simulado. Pueden emplearse volúmenes más pequeños de medios biorrelevantes de hasta por debajo de 10 ml para estudios de disolución a través del intervalo de pH pH 1-10 y osmolalidad 0 mOsmol/kg a 800 mOsmol/kg.

35 Los medios biorrelevantes en la presente invención son adecuados para caracterizar los perfiles de disolución de compuestos y formulaciones poco solubles en agua en términos de correlación *in vitro* - *in vivo* y efectos de la alimentación, es decir, estados en ayuno y alimentados. Un ejemplo describe adicionalmente un procedimiento *in situ* conveniente para preparar medios reproduciblemente biorrelevantes que comprende suspensiones de micelas de sal biliar/fosfolípido y micelas mixtas normalizadas y homogéneas para pruebas de disolución *in vitro* biorrelevantes adecuadas para el control de calidad del nivel de cGMP.

45 La CDS y medios biorrelevantes de la misma son particularmente adecuados para evaluar la solubilidad *in vitro* y las tasas de disolución de compuestos poco solubles en agua y farmacológicamente o fisiológicamente. Son particularmente adecuados para el perfilado farmacocinético *in vitro* y la correlación *in vivo* de compuestos de la clase 2 y la clase 4 según la presente clasificación de la BCS (Amidon GL y col., Pharm. Res. (2004) vol 12, nº 3, pág. 413-420). Además, pueden usarse medios biorrelevantes preparados con CDS para evaluar la disolución cinética de compuestos solubles en agua formulados como composiciones sostenidas o de larga acción que comprenden excipientes lipófilos tales como polímeros y grasas y ceras de alto punto de fusión. Las tasas de disolución de los compuestos y formulaciones puros, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, polvos, comprimidos recubiertos de azúcar, pueden evaluarse usando procedimientos de la farmacopea.

50 Debe entenderse que el FIS preparado a partir de CDS también puede usarse como medio de dilución y vehículo para compuestos activos poco solubles y formulaciones de los mismos para uso oral. Compuestos poco solubles farmacológicamente activos incluyen, pero no se limitan a, compuestos para el SNC, SCV, anticancerígenos. Otros fisiológicamente que se recuerdan son compuestos activos poco solubles que incluyen componentes nutritivos como vitaminas liposolubles, carotenoides, ácidos grasos altamente insaturados, CoQ-10, flavonoides.

55 A continuación se explica una lista de componentes preferidos para preparar composiciones en disolución sólida.

60 Sal biliar

65 Colato de sodio, taurocolato de sodio, glicocolato de sodio, desoxicolato de sodio, taurodesoxicolato de sodio, glicodesoxicolato de sodio, ursodesoxicolato de sodio, quenodesoxicolato de sodio, tauroquenodesoxicolato de sodio, glicokenodesoxicolato de sodio, colilsarcosinato de sodio, N-metiltaurocolato de sodio. Los colatos pueden ser de fuentes naturales, sintéticas o semi-sintéticas. Si el colato es natural, debe ser preferentemente de fuentes

porcinas o bovinas libres de TSE/BSE.

Fosfolípidos

- 5 Los fosfolípidos incluyen lecitinas naturales de huevo, leche, soja, girasol, avena, etc. Las lecitinas contienen mezclas de fosfolípidos. Los fosfolípidos incluyen fosfatidilcolina (FC), fosfatidiletanolamina (FE), fosfatidilserina (FS), fosfatidilinositol (FI), fosfatidilglicerol (FG) y sus derivados de monoácido. La cardiolipina, esfingomielina y sus derivados de monoácido son fosfolípidos, mientras que los glicolípidos pueden considerarse como un 'fosfolípido'.
 10 Los fosfolípidos pueden ser lecitinas purificadas o fraccionadas que contienen del 10% en peso al 100% en peso de FC, bien definidas en términos de pureza. Se prefiere que las lecitinas de soja hidrolizadas con enzima, monoacilfosfolípidos por sí mismos, o preferentemente mezclas de monoacilfosfolípidos y diacilfosfolípidos, contengan cantidades definidas de diacilfosfolípidos y sus derivados de monoácido en los que la cantidad de lípidos de monoacilfosfolípidos, principalmente monoacilfosfatidilcolina, está entre el 10% en peso y el 90% en peso. La hidrólisis enzimática se lleva a cabo en diacilfosfolípidos con fosfolipasa A2 y las composiciones se purifican o se
 15 fraccionan para obtener la cantidad deseada de monoacilfosfolípidos en la mezcla.

Ejemplos de otros lípidos que pueden usarse preferentemente en combinación con la mezcla de la sal biliar con diacil y/o monoacilfosfolípidos son ácidos grasos y lípidos no polares tales como colesterol.

- 20 **Tampón y osmorreguladores**

Los tampones incluyen, pero no se limitan a, sales de fosfato, sales TRIS, sales de ácido cítrico o citrato, bicarbonatos, HEPES, histidina, pueden usarse disoluciones de HCl 1 N o NaOH 1 N para ajustar los valores de pH final entre pH 1 y pH 10. Además, la CDS y alícuotas de la misma pueden añadirse a medios de disolución
 25 preparados a medida o normalizados preferentemente dentro del intervalo de pH 1,2 a 6,8 y la misma fuerza iónica que, por ejemplo, la USP. Los medios acuosos comprenden disoluciones previamente mezcladas o previamente envasadas que incluyen, pero no se limitan a, fosfato de potasio 0,05 M a pH 6,8; fosfato de potasio 0,05 N a pH 7,2; fosfato de potasio 0,05 N a pH 7,4; tampón acetato 0,05 M a pH 5. También puede usarse bicarbonato sódico como componente de tampón. Los osmorreguladores incluyen KCl y azúcares.

30 Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitar el alcance de la misma.

Ejemplo 1

35 Una composición en disolución sólida (CDS) se prepara disolviendo 2,95 g de taurocolato de sodio y 1,056 g de FC de huevo (Lipoid) en 30 ml de etanol a 50°C. El disolvente se elimina usando un rotavapor a 50°C y 150 mbar (15 kPa) y secando a alto vacío durante la noche para preparar una composición en disolución sólida.

40 Un medio de FIS en estado en ayuno que comprende 1,12 g de la composición en polvo de sal biliar/lecitina muy suelta resultante se disuelven inmediatamente en un medio que contiene 3,093 g de NaCl (Fluka), 0,174 g de NaOH (RdH) y 1,977 g de Na₂PO₄·H₂O (RdH) por 0,5 litros de agua y el pH se ajusta a pH 6,5 con NaOH o HCl (1 N). La medición del tamaño de partícula usando un Malvern Particle Sizer (Mastersizer) muestra la presencia de una población homogénea de micelas de aproximadamente 2 nm de diámetro medio de partícula.

Ejemplo 2

45 Una composición en disolución sólida (CDS) se prepara disolviendo 16,5 g de taurocolato de sodio y 5,9 g de FC de huevo (Lipoid) en 150 ml de etanol a 50°C. El disolvente se elimina usando un rotavapor a 50°C y 150 mbar (15 kPa) y secando a alto vacío durante la noche. Para la preparación del medio de FIS en estado alimentado, 11,2 g de la
 50 composición en polvo de sal biliar/lecitina muy suelta resultante se disuelven inmediatamente en 1 l de medio que contiene 11,874 g de NaCl (Fluka), 4,04 g de NaOH (RdH) por litro de agua. Se añaden 8,65, g de acético glacial y el pH se ajusta con NaOH o HCl (1 N) para lograr un valor de pH de 5,00.

55 La medición del tamaño de partícula usando un Malvern Particle Sizer (Mastersizer) muestra la presencia de una población homogénea de micelas de aproximadamente 2 nm de diámetro medio de partícula.

Ejemplo 3

60 Como en el Ejemplo 2, la composición sólida se prepara disolviendo taurocolato de sodio y FC de huevo en 10% de etanol o agua y el disolvente se elimina por liofilización o secado por pulverización.

Ejemplo 4

65 Como en el Ejemplo 2, la composición sólida se prepara disolviendo taurocolato de sodio y FC de soja que comprende 95% de fosfatidilcolina en 10% de etanol o agua y el disolvente se elimina por liofilización o secado por pulverización.

Ejemplo 5

5 Como en el Ejemplo 2, la composición sólida se prepara disolviendo taurocolato de sodio y una mezcla de diacil y monoacilfosfolípidos que contienen 80% de monoacilfosfolípidos y 20% de diacilfosfolípidos en 10% de etanol en agua o agua y el disolvente se elimina por liofilización o secado por pulverización.

Ejemplo 6

10 Para comparación con el Ejemplo 1, un medio de FaSSIF se prepara disolviendo 3,3 g de taurocolato de sodio en 500 ml de FaSSIF de blanco (preparado disolviendo 1,74 g de NaOH, 19,77 g de NaH₂PO₄·H₂O y 30,93 g de NaCl en 5 l de agua purificada; el pH se ajusta a pH 6,5 usando NaOH o HCl 1 N) y 11,8 ml de una disolución que contiene 100 mg/ml de lecitina de huevo (Lipoid) en cloruro de metileno (RdH), formando una emulsión. El cloruro de metileno se elimina de la emulsión a vacío a aproximadamente 40°C a 250 mbar (25 kPa) durante 15 minutos. El volumen se ajustó a 2 l con FaSSIF de blanco.

15 La medición del tamaño de partícula usando un Malvern Particle Sizer (Mastersizer) muestra la presencia de población heterogénea de micelas que comprende tres poblaciones con 0,5 nm, 7,5 nm, y 250 nm de diámetro medio de partícula.

20 La invención describe composición sólida sustancialmente homogénea según la reivindicación 1 adecuada para la preparación de medios gastrointestinales biorrelevantes que simulan la composición de los fluidos intestinales en estados en ayuno y alimentados.

REIVINDICACIONES

1. Una composición en disolución sólida en forma de polvo, en particular para preparar medios biorrelevantes para evaluar la característica de solubilidad y disolución de compuestos y formulaciones poco solubles en agua, que consiste en un complejo de
- 5
- (a) al menos una sal biliar, y
 (b) al menos un fosfolípido seleccionado del grupo que consiste en lecitinas naturales, lecitinas hidrolizadas con enzima, monoacilfosfolípidos y mezclas de al menos un diacilfosfolípido y al menos un monoacilfosfolípido, con
- 10
- (c) una relación molar de la sal biliar con respecto al fosfolípido entre 20:1 y 1:1.
2. La composición de la reivindicación 1, en la que la sal biliar se selecciona del grupo que consiste en colato de sodio, taurocolato de sodio, glicocolato de sodio, desoxicolato de sodio, taurodesoxicolato de sodio, glicodesoxicolato de sodio, ursodesoxicolato de sodio, quenodesoxicolato de sodio, tauroquenodesoxicolato de sodio, glicoquenodesoxicolato de sodio, colilsarcosinato de sodio, N-metiltaurocolato de sodio.
- 15
3. La composición de la reivindicación 1, en la que el fosfolípido se selecciona del grupo que consiste en lecitinas naturales de huevo, leche, soja, girasol, avena; fosfatidilcolina (FC), fosfatidiletanolamina (FE), fosfatidilserina (FS), fosfatidilinositol (FI), fosfatidilglicerol (FG) y sus derivados de monoacilo; lecitinas purificadas o fraccionadas que contienen 10% al 100% en peso de FC; lecitinas de soja hidrolizadas con enzima; mezclas de monoacilfosfolípidos y diacilfosfolípidos, conteniendo dichas mezclas preferentemente 10% al 90% en peso de monoacilfosfolípidos.
- 20
4. La composición de la reivindicación 1, en la que los fosfolípidos contienen mezclas de monoacilfosfolípidos y diacilfosfolípidos que contienen 10% al 90% en peso de monoacilfosfolípidos.
- 25
5. Un sistema sólido para preparar medios biorrelevantes que comprende la composición en disolución sólida de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y que comprende además ácidos grasos, o colesterol, o mono-, di- o triglicéridos.
- 30
6. El sistema de la reivindicación 5, en el que la relación molar de ácido graso con respecto a monoacilfosfolípido está entre 1:10 y 10:1.
7. El sistema de la reivindicación 5, en el que la relación molar de monoacilfosfolípido con respecto a ácido graso es 1:1 y la relación molar de dicha sal biliar y monoacilfosfolípido es 4:1.
- 35
8. El sistema de cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que el ácido graso se selecciona del grupo que consiste en ácido láurico, mirístico, palmítico, oleico y araquidónico.
- 40
9. La composición o sistema según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 envasada en recipientes a granel herméticos al aire o envases unitarios que pueden ser frascos o recipientes de vidrio o plástico que pueden volver a cerrarse herméticamente de boca ancha con tapas para la distribución y el almacenamiento a largo plazo y uso en laboratorio, o envasada en frascos que pueden volver a cerrarse herméticamente y recipientes más pequeños, sobres, o compactada.
- 45
10. La composición o sistema según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 que contiene menos del 5% en peso de agua o disolvente residual.
- 50
11. Un procedimiento de preparación de una composición en disolución sólida en forma de un polvo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende las etapas de
- (i) disolver homogéneamente sólo al menos una sal biliar y al menos un fosfolípido en un componente líquido seleccionado del grupo que consiste en disolvente orgánico, mezcla de agua-disolvente y agua sola, con la condición de que la mezcla de agua-disolvente sea una disolución monofásica y no se forme una emulsión de o/w durante la eliminación del disolvente, en el que la relación molar de dicha sal biliar con respecto a dicho fosfolípido está entre 20:1 y 1:1 y en el que dicho fosfolípido se selecciona del grupo que consiste en lecitinas naturales, lecitina hidrolizada con enzima, monoacilfosfolípidos y mezclas de al menos un diacilfosfolípido y al menos un monoacilfosfolípido, y
- 55
- (ii) eliminar dicho disolvente y/o agua para dar una composición sólida después de la eliminación del disolvente y secar adicionalmente.
- 60
12. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que el componente líquido se elimina usando un procedimiento seleccionado de procedimientos de eliminación de disolventes que consisten en evaporación a temperaturas ambiente o elevadas, opcionalmente a vacío; granulación y secado con o sin vacío; precipitación de disolvente usando un disolvente inmiscible, recogida del precipitado y liberación de los disolventes del precipitado; liofilización; secado por pulverización; granulación por pulverización.
- 65

13. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12 para proporcionar composiciones sólidas en cantidades a granel y opcionalmente almacenarlas.

5 14. Uso de una composición en disolución sólida en forma de un polvo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, 9, 10 o de un sistema sólido según cualquiera de las reivindicaciones 5-10 para preparar medios gastrointestinales líquidos biorrelevantes.

10 15. Uso según la reivindicación 14 que comprende una etapa de disolver o dispersar la composición en disolución sólida en agua o medios acuosos, y opcionalmente una etapa de añadir tampones, sales y/o agentes osmóticos a dicha agua o medios acuosos.