

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 407 304**

51 Int. Cl.:

A61K 33/44 (2006.01)

B01J 20/20 (2006.01)

B01J 20/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.05.2010 E 10726331 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2013 EP 2435054**

54 Título: **Método de ensayo de adsorción para evaluar un adsorbente de carbón esférico**

30 Prioridad:

29.05.2009 US 182231 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.06.2013

73 Titular/es:

**MITSUBISHI TANABE PHARMA CORPORATION
(100.0%)
2-6-18, Kitahama Chuo-ku Osaka-shi
Osaka 541-8505, JP**

72 Inventor/es:

**YOSHINARI, TETSURO y
YAMADA, HIROYUKI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 407 304 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

Método de ensayo de adsorción para evaluar un adsorbente de carbón esférico.

Campo técnico.

La presente invención se refiere a un nuevo método para ensayar la adsorción de un adsorbente esférico de carbón.

5 Técnica anterior

La Kremezina (marca comercial registrada) es un adsorbente oral microgranular esférico constituido por carbón poroso de alta pureza desarrollado por Kureha Chemical Industry Co., Ltd. con el propósito de mejorar la uremia en la insuficiencia renal crónica y retrasar la instauración de la diálisis, a saber, es un adsorbente de carbón esférico para administración oral.

10 Convencionalmente, el carbón medicinal se ha empleado, utilizando su adsorbilidad o capacidad de adsorción, para adsorber el gas producido por la hiperacidez (hiperquilia y similares) o la fermentación en el tubo digestivo, y la adsorción de agentes tóxicos. Además, se ha intentado eliminar toxinas urémicas en la insuficiencia renal crónica mediante la adsorción de estas sustancias tóxicas en el tubo gastrointestinal por el carbón medicinal. Sin embargo, no se ha obtenido un efecto claro, y se ha presentado un problema, ya que también adsorbe enzimas, vitaminas, sustancias minerales y similares.

15 Por lo tanto, Kureha Chemical Industry Co., Ltd. comenzó a desarrollar un adsorbente oral a partir de 1975, que es adecuado para uso farmacéutico, en particular para la eliminación de toxinas urémicas en la insuficiencia renal crónica. Han llevado a cabo estudios de materiales de partida y métodos de producción intentando 1) reducir los problemas convencionales de dificultad en la toma y la acción de estreñimiento del polvo de carbón vegetal, 2) potenciar la adsorción de compuestos orgánicos iónicos que se considera que son sustancias tóxicas biológicas, que resisten la adsorción por el polvo de carbón vegetal, y 3) reducir la adsorción de enzima digestiva y similares adsorbida fácilmente por el polvo de carbón vegetal, y obtuvieron la Kremezina.

20 Por consiguiente, la Kremezina se produce bajo un estricto control de los materiales de partida y de los métodos de producción, y es un producto farmacéutico físico que tiene una estructura física que se considera que influye significativamente sobre la adsorción de una sustancia tóxica, y la eficacia de los mismos. En el momento presente, sin embargo, las pruebas de adsorción admitidas para una sustancia que se considera que influye directamente en la eficacia de un estándar farmacéutico a granel de Kremezina son solamente la prueba de adsorción de ácido DL- β -aminoisobutírico y la prueba de adsorción de α -amilasa. Así pues, es difícil decir que hay un método de análisis capaz de controlar suficientemente la propiedad del producto, en particular la capacidad de adsorción, de la propia Kremezina.

25 En febrero de 2004, el Kyucal (marca comercial registrada) y la Merckmezina (marca comercial registrada) fueron aprobados como fármacos genéricos de la Kremezina. Se considera que ambos fármacos genéricos muestran propiedades de comportamiento de adsorción equivalentes en los ensayos de adsorción (compuesto orgánico iónico (ácido DL- β -aminoisobutírico) y enzima digestiva (α -amilasa) *in vitro*) que se define que son el producto farmacéutico en granel y/o preparado estándar de la Kremezina antes mencionada. Sin embargo, una publicación reciente ha documentado que las propiedades físicas de la Kremezina y los medicamentos genéricos pueden no ser necesariamente equivalentes (documento distinto de patente 1), y también se ha informado de que los dos pueden no ser equivalentes en eficacia (documento distinto de patente 2, documento distinto de patente 3) y similares. Por consiguiente, no existe necesariamente un método de análisis que se refiera a la capacidad de adsorción de un adsorbente de carbón esférico, que evalúe con precisión los fármacos genéricos de Kremezina como equivalentes.

Referencias de la técnica anterior

Documentos distintos de patentes

documento distinto de patente 1: Pharmaceutical Regulatory Science, vol. 36, N° 11, p. 497 - 504 (2005).

documento distinto de patente 2: Pharmaceutical Regulatory Science, vol. 37, N° 6, p. 373 - 380 (2006).

45 documento distinto de patente 3: Japanese Journal of Nephrology, vol. 51, N° 1, p. 51 - 55 (2009).

El documento JP 2006 131461 A describe la preparación de partículas de carbón administrables oralmente para la adsorción de toxinas urémicas; el comportamiento de adsorción se ensaya con líquidos de ensayo que contienen indol.

El documento GB 2 025 385 A describe la preparación de partículas de carbón activado como adsorbente en hemoperfusión; el comportamiento de adsorción se ensaya con líquidos de ensayo que contienen creatinina como toxina urémica pequeña y vitamina B12 como representante de una toxina urémica de "molécula media".

5 El documento EP 1 140 692 A1 describe la preparación de partículas de carbón activado como adsorbente en hemoperfusión; el comportamiento de adsorción se ensaya con líquidos de ensayo que contienen putresceína.

MALIK et al., *CARBON*, vol. 43, nº 11, 1 de septiembre de 2005, p. 2317 – 2329 describe la preparación de partículas de carbón activado poroso para su uso como hemoadsorbente; el comportamiento de adsorción se ensaya con líquidos de ensayo que contienen Interleucina-1 β como toxina urémica.

Descripción de la invención

10 Problemas que ha de resolver la invención

A la luz de la situación anterior, los problemas a resolver por la presente invención son proporcionar un método de análisis que pueda controlar suficientemente la capacidad de adsorción que se considera que deriva de la estructura física del adsorbente de carbón esférico y similares, y evaluar con precisión un adsorbente de carbón esférico, en particular Kremezina (marca comercial registrada).

15 Medios para resolver los problemas

20 Los autores de la presente invención han llevado a cabo estudios profundos en un intento de resolver los problemas mencionados anteriormente y han encontrado un método de ensayo de adsorción capaz de realizar una evaluación precisa de un adsorbente de carbón esférico, en particular de Kremezina (marca comercial registrada), basado en la capacidad de adsorción del adsorbente de carbón esférico, es decir, título de adsorción, velocidad de adsorción y/o selectividad de adsorción, usando como sustancia a adsorber un compuesto que satisface ciertas condiciones relacionadas con la capacidad de adsorción del adsorbente de carbón esférico para varias sustancias, lo que tuvo por resultado la realización de la presente invención.

En consecuencia, la presente invención proporciona lo siguiente.

25 [1] Un método para ensayar la selectividad de adsorción de un adsorbente de carbón esférico, que comprende usar una solución de ensayo simultáneamente, que comprende, como sustancia a adsorber, cuatro tipos de compuestos que tienen la estructura química común a la de la sustancia tóxica urémica particular, y los cuatro tipos de compuestos son

(1) un compuesto que tiene un grupo hidrófobo,

(2) un compuesto que tiene un grupo hidrófilo,

30 (3) un compuesto que tiene un grupo ácido y

(4) un compuesto que tiene un grupo básico.

[2] El método de ensayo del apartado [1] mencionado anteriormente, en el que la sustancia tóxica urémica en particular es indol, y los cuatro tipos de compuestos que tienen la estructura química común son

(1) indol como compuesto que tiene un grupo hidrófobo,

35 (2) triptófano como compuesto que tiene un grupo hidrófilo,

(3) ácido indolacético como compuesto que tiene un grupo ácido, y

(4) triptamina como compuesto que tiene un grupo básico.

40 [3] El método de ensayo de los apartados [1] o [2] mencionados anteriormente, en donde la solución de ensayo comprende además, como sustancia a adsorber, un compuesto macromolecular que tiene un peso molecular de 1000 a 1500.

[4] El método de ensayo del apartado [3] mencionado anteriormente, en el que el compuesto macromolecular es cianocobalamina.

- 5 [5] El método de ensayo de cualquiera de los apartados [1] a [4] mencionados anteriormente, que comprende una etapa de adición de un adsorbente esférico de carbón que va a ser la sustancia de ensayo, a una solución de ensayo que comprende la sustancia que se ha de adsorber, y permitir la adsorción a una temperatura predeterminada durante un tiempo predeterminado, con agitación, y una etapa de medida de la concentración o cantidad de cada sustancia que se ha de adsorber que queda en la solución de ensayo sin el adsorbente de carbón esférico.
- [6] El método de ensayo del apartado [5] mencionado anteriormente, en el que la concentración de cada sustancia que se ha de adsorber en la solución de ensayo antes de la adición del adsorbente de carbón esférico es 0,05 a 0,5 mg / ml.
- 10 [7] El método de ensayo del apartado [6] mencionado anteriormente, en el que la concentración de cada sustancia que se ha de adsorber en la solución de ensayo antes de la adición del adsorbente de carbón esférico es 0,05 a 0,2 mg/ml.
- [8] El método de ensayo del apartado [7] mencionado anteriormente, en el que la concentración de cada sustancia que se ha de adsorber en la solución de ensayo antes de la adición del adsorbente de carbón esférico es 0,1 mg/ml.
- 15 [9] El método de ensayo de cualquiera de los apartados [5] a [8] mencionados anteriormente, en el que la solución de ensayo se obtiene disolviendo cada sustancia que se ha de adsorber en tampón de fosfato a pH 6 - 8.
- [10] El método de ensayo del apartado [9] mencionado anteriormente, en el que el adsorbente de carbón esférico se añade en una cantidad de 10 a 300 mg por 50 ml de la solución de ensayo.
- 20 [11] El método de ensayo del apartado [10] mencionado anteriormente, en el que el adsorbente de carbón esférico se añade en una cantidad de 40 a 120 mg por 50 ml de la solución de ensayo.
- [12] El método de ensayo del apartado [11] mencionado anteriormente, en el que el adsorbente de carbón esférico se añade en una cantidad de 50 mg o 100 mg por 50 ml de la solución de ensayo.
- [13] El método de ensayo de cualquiera de los apartados [10] a [12] mencionados anteriormente, en el que el volumen de la solución de ensayo es de 10 a 300 ml.
- 25 [14] El método de ensayo del apartado [13] mencionado anteriormente, en el que el volumen de la solución de ensayo es de 30 a 100 ml.
- [15] El método de ensayo del apartado [14] mencionado anteriormente, en el que el volumen de la solución de ensayo es 50 ml.
- 30 [16] El método de ensayo de cualquiera de los apartados [5] a [15], en el que el tiempo de adsorción es 1 a 6 h, y la temperatura es de 10 a 50°C.

Efecto de la invención

- 35 Usando el método de análisis de la presente invención, puede ser evaluada con precisión la capacidad de adsorción o adsorbibilidad de un adsorbente de carbón esférico que se considera que deriva de la estructura física y similares del adsorbente de carbón esférico. Usando el método de análisis de la presente invención, puede evaluarse con precisión un producto farmacéutico que comprende un adsorbente de carbón esférico como ingrediente activo, y un adsorbente de carbón esférico, que es terapéutica y/o biológicamente equivalente al mismo. Usando el método de análisis de la presente invención, puede evaluarse con precisión la Kremezina (marca comercial registrada), que comprende un adsorbente de carbón esférico como ingrediente activo.

Breve descripción de los dibujos

- 40 La Fig. 1 muestra la selectividad de adsorción de un adsorbente de carbón esférico antes de un tratamiento de oxidación reducción (F-AST), un adsorbente de carbón esférico después de un tratamiento de oxidación (O-AST), un adsorbente de carbón esférico después de un lavado con agua (W-AST), un adsorbente de carbón esférico después de un tratamiento de reducción (R-AST), un adsorbente de carbón esférico que va a ser un producto farmacéutico a granel (KDS) y un adsorbente de carbón esférico que va a ser un producto farmacéutico a granel (KDS) después de la trituración (KDS triturado). Como sustancias a adsorber, se utilizan seis tipos de compuestos (indol, triptófano, ácido indolacético, triptamina, cianocobalamina y α -amilasa). Las columnas respectivas muestran las tasas de adsorción de los 6 compuestos anteriormente mencionados en cada adsorbente de carbón esférico, en donde las
- 45

tasas de adsorción de los compuestos se disponen desde la izquierda en el orden de a: F-AST, b: O-AST, c: W-AST, d: R-AST, e: KDS y f: KDS triturado.

La Fig. 2 muestra la selectividad de adsorción de la Kremezina (marca comercial registrada), la Merckmezina (marca comercial registrada), el Kyucal (marca comercial registrada) y carbón medicinal. Como sustancias que han de ser adsorbidas se utilizaron 5 compuestos de indol, triptófano, ácido indolacético, triptamina y cianocobalamina. Las columnas respectivas muestran las tasas de adsorción de los 5 compuestos anteriormente mencionados a cada adsorbente de carbón esférico, en donde las tasas de adsorción de los compuestos se disponen desde la izquierda, en el orden de a: Kremezina, b: Merckmezina, c: Kyucal y d: carbón medicinal.

La Fig. 3 muestra los resultados del ensayo de la velocidad de adsorción de indol en Kremezina (marca comercial registrada), Kremezina (marca comercial registrada) en cápsula, Merckmezina (marca comercial registrada) y Kyucal (marca comercial registrada). El eje de ordenadas de la gráfica muestra la cantidad de adsorción de indol por 1 g de cada adsorbente de carbón esférico, y el eje de abscisas muestra el tiempo de adsorción.

Realización de la invención

La presente invención se explica a continuación de forma detallada. Para la evaluación de la capacidad de adsorción de un adsorbente de carbón esférico, es importante la evaluación de la capacidad de adsorción del adsorbente esférico de carbón, o sea el título de adsorción, la tasa de adsorción y/o la selectividad de adsorción. Por consiguiente, la presente invención proporciona un método de ensayo de adsorción caracterizado por el uso de una solución de ensayo que contiene uno o más tipos de sustancias tóxicas urémicas particulares o compuestos relacionados de los mismos. Específicamente comprende una etapa de añadir un adsorbente de carbón esférico que va a ser una sustancia de ensayo, a la solución de ensayo, y permitir la adsorción a una temperatura predeterminada durante un tiempo predeterminado, con agitación, una etapa de eliminar el adsorbente de carbón esférico, y una etapa de medir la concentración o la cantidad de la sustancia que se ha de adsorber que queda en la solución de ensayo. Mediante el método de ensayo de adsorción, puede ser evaluada la capacidad de adsorción de un adsorbente de carbón esférico. El método de ensayo de adsorción de la presente invención comprende al menos un método de ensayo elegido entre el grupo que consiste en un método de ensayo del título de adsorción, un método de ensayo de la velocidad de adsorción y un método de ensayo de la selectividad de adsorción.

El "adsorbente de carbón esférico" a usar en la presente memoria es un carbón poroso en partículas esféricas finas. Por ejemplo, el carbón poroso en partículas esféricas finas incluye adsorbentes de carbón esféricos para administración oral, tales como "Kremezina (marca comercial registrada)", "Merckmezina (marca comercial registrada)", "Kyucal (marca comercial registrada)" y similares. Se prefiere la "Kremezina (marca comercial registrada)". Además, el "adsorbente de carbón esférico" para su uso en la presente memoria también incluye la "sustancia carbonosa esférica porosa" descrita en el documento JP-B-3522708, "carbón activado esférico" y "carbón esférico activado de superficie modificada" que se describe en cada uno de los documentos JP-B-3672200, EP-A-1547605, JP-B-3865400, EP-A-1745793, el documento JP-B-3835698, EP-A-1500397, JP-B-3865399, EP-A-1500397 y JP-A-2000-233916, y "adsorbente para agente farmacéutico" que se describe en el documento JP-A-2004-244414. Estos adsorbentes de carbón esféricos también pueden ser evaluados por el método de la presente invención. Sin embargo, el adsorbente de carbón esférico no se limita a éstos. La "Kremezina (marca comercial registrada)" es un adsorbente de carbón esférico que tiene un diámetro de 0,01 a 1 mm, una superficie específica calculada por la teoría de BET no inferior a 700 m²/g, el volumen de poros que tienen un diámetro de poro de 20 a 15000 nm se encuentra en el intervalo de no menos de 0,04 ml/g a menos de 0,10 ml/g, una cantidad total de grupos ácidos de 0,3 a 1,20 meq/g, y una cantidad total de grupos básicos de 0,20 a 0,70 meq/g.

Compuestos a usar para la evaluación en la presente invención

(1) Para evaluar el título de adsorción, es importante el uso de un compuesto diana en relación con la eficacia en la insuficiencia renal crónica, y permitir la medida de la cantidad de adsorción en un adsorbente de carbón esférico que va a ser evaluado mediante la presente invención al tener lugar el equilibrio de adsorción (o saturación de adsorción) del mismo para asegurar fuertes condiciones de ensayo y de precisión de la cuantificación.

Así pues, los ejemplos de compuesto a usar para la evaluación del título de adsorción mencionado incluyen la toxina urémica y compuestos relacionados con la misma. Los ejemplos específicos incluyen toxina urémica y compuestos relacionados con ella. Los ejemplos específicos incluyen los compuestos tóxicos urémicos descritos en Vanholder et al., Pediatric Nephrology, 2008, vol. 23, p. 1211-1221, y EUToX Uremic Toxin Database (<http://www.nephroleipzig.de/eutoxdb/index.php>), precursores de los mismos, metabolitos de los mismos y similares. Además, también están incluidos el ácido DL-β-aminoisobutírico, el indol, el p-cresol, productos finales de la glicación avanzada (AGE) y similares, que han sido evaluados como compuestos a adsorber por la Kremezina. Entre estos compuestos, se prefiere un compuesto que muestra una cantidad de adsorción en un adsorbente de carbón esférico de 20 a 80%, y que requiere no más de 24 horas para llegar al equilibrio de adsorción (o saturación de adsorción), y es más preferido un compuesto que muestra la cantidad de adsorción en Kremezina (marca comercial

registrada) de 20 - 80%, y que requiere no más de 24 horas para alcanzar el equilibrio de adsorción (o saturación de adsorción).

5 Aquí, la "cantidad de adsorción en un adsorbente de carbón esférico de 20 a 80%, y que requiere no más de 24 horas para alcanzar el equilibrio de adsorción (o saturación de adsorción)" puede ser evaluada de acuerdo con el método que sigue. Los valores del tiempo de medida se ajustan en no menos de 3 puntos que incluyen 3 hr y 24 hr (por ejemplo, 3, 6, 24 y 48 horas y similares), y el ensayo se finaliza en el momento en el que se confirma el equilibrio de adsorción (o saturación de adsorción) en cualquier sistema de ensayo de adsorbente de carbón esférico.

10 El equilibrio de adsorción (o saturación de adsorción) puede conocerse cuando la relación residual de la sustancia que ha de ser adsorbida es de 20 a 80% y es un valor predeterminado (dentro de un error del $\pm 3\%$ relativo a la relación residual a las 24 h).

15 En este método de ensayo, por ejemplo, es deseable preparar una solución de ensayo que contenga aproximadamente 0,1 mg /mL de la sustancia que se ha de adsorber en tampón fosfato a pH 7,4, añadir 10 mg, 125 mg o 500 mg de un adsorbente de carbón esférico a 50 mL de la solución de ensayo, y evaluar la cantidad de adsorción en cada valor del tiempo en cada sistema de ensayo.

Además, es necesario que el compuesto tenga estabilidad suficiente en las condiciones de medida anteriormente mencionadas. En concreto, el compuesto no está particularmente limitado siempre y cuando satisfaga las condiciones anteriormente mencionadas, y los ejemplos preferibles de los mismos incluyen indol, p-cresol, ácido hipúrico, ácido guanidinosuccínico, fenol y similares, dándose más preferencia al indol.

20 La cantidad de adsorción de ácido DL- β -aminoisobutírico a la Kremezina (marca comercial registrada) es extraordinariamente baja en comparación con los compuestos preferibles anteriormente mencionados. En un sistema de ensayo que usa 500 mg de Kremezina, la cantidad de adsorción llegó al 20 - 80%, aunque por debajo del equilibrio de adsorción.

25 (2) Para la evaluación de la velocidad de adsorción, se pueden utilizar preferentemente los compuestos utilizables para la evaluación del título de adsorción antes mencionado.

30 (3) En la evaluación de la selectividad de adsorción, la capacidad de adsorción varía dependiendo del diámetro de poro y del volumen del mismo, y la condición de la superficie modificada del carbón por el tratamiento de oxidación reducción y similares, ya que el adsorbente de carbón es esférico, en partículas finas y poroso. Por consiguiente, la capacidad de adsorción de un adsorbente de carbón esférico puede ser evaluada con precisión evaluando la selectividad de un compuesto a usar para este ensayo como sustancia a adsorber, basándose en el "tamaño molecular", y factores tales como "hidrofilicidad, hidrofobicidad, acidez y basicidad", y similares.

35 En la presente invención, es preferible usar una combinación de un compuesto a usar para la evaluación del título de adsorción mencionado como compuesto de núcleo y, como sustancias a adsorber, el compuesto de núcleo o sustancia o sustancias que tienen la misma estructura química que la del compuesto de núcleo, en el que ha sido introducido uno cualquiera de los sustituyentes "hidrófilos, hidrófobos, ácidos y básicos", a saber, un compuesto que tiene un grupo ácido introducido en dicha misma estructura química (en adelante, se denomina a veces "compuesto que tiene un grupo ácido"), un compuesto que tiene un grupo básico introducido en dicha misma estructura química (en adelante, denominado a veces "compuesto que tiene un grupo básico"), un compuesto que tiene un grupo hidrófobo introducido en dicha misma estructura química (que incluye un compuesto de núcleo que muestra hidrofobicidad, en adelante, denominado a veces "compuesto que tiene un grupo hidrófobo"), o un compuesto que tiene un grupo hidrófilo introducido en dicha misma estructura química (en adelante, denominado a veces "compuesto que tiene un grupo hidrófilo").

45 Los ejemplos de grupo hidrófilo incluyen un grupo aminoácido, un grupo hidroxilo y similares, y los ejemplos de grupo hidrófobo incluyen un grupo alquilo, un grupo fenilo y similares. Los ejemplos de grupo ácido incluyen un grupo carboxilo, un grupo ácido fosfórico, un grupo ácido sulfúrico y similares, y los ejemplos de grupo básico incluyen un grupo amino, un grupo guanidilo y similares. El compuesto de núcleo o sustancia que tiene la misma estructura química que la del compuesto de núcleo, en el cual se ha introducido uno cualquiera de los sustituyentes mencionados anteriormente, es suficiente siempre y cuando se mejore en la propiedad correspondiente al sustituyente introducido (p. ej. acidez, basicidad, hidrofilicidad, hidrofobicidad y similares), en comparación con el compuesto de núcleo o la sustancia que tiene la misma estructura química que la del compuesto de núcleo.

50 Aquí, el compuesto de núcleo seleccionado se puede utilizar directamente como sustancia a ser adsorbida en el ensayo, sin la introducción de un sustituyente en consideración de la propiedad del mismo (por ejemplo, acidez, basicidad, hidrofilicidad, hidrofobicidad). Por ejemplo, cuando se elige indol que muestra hidrofobicidad como compuesto de núcleo en la evaluación de la selectividad de adsorción en la presente invención, se puede usar en

5 combinación indol como compuesto que tiene un grupo hidrófobo, triptófano que tiene un grupo aminoácido introducido en indol como compuesto que tiene un grupo hidrófilo, ácido indolacético que tiene un grupo carboxilo introducido en indol y/o ácido indoxilsulfúrico que tiene un grupo ácido sulfúrico introducido en indol como compuesto que tiene un grupo ácido, y triptamina que tiene un grupo amino introducido en indol como compuesto que tiene un grupo básico como sustancias a adsorber en un ensayo de selectividad de adsorción.

Se prefiere una combinación de cuatro tipos de compuestos de indol, triptófano, ácido indolacético y triptamina, y pueden ser utilizados para el ensayo de selectividad de adsorción.

10 Cuando se utiliza para el ensayo una combinación de sustancias a ser adsorbidas seleccionadas, tales sustancias a ser adsorbidas se disuelven en la misma solución, y la solución se pone en contacto con un adsorbente de carbón esférico, basándose en lo cual se puede evaluar la selectividad de adsorción del adsorbente de carbón esférico.

15 Además, el ensayo se puede realizar en la presencia conjunta de una sustancia no de adsorción, además de la sustancia a adsorber antes mencionada. Por ejemplo, cuando se emplea Kremezina (marca comercial registrada) como adsorbente de carbón esférico para el ensayo, dado que se supone que la región de exclusión por tamaño de la molécula de Kremezina es de un peso molecular de aproximadamente 1000 a 1500, se utiliza ventajosamente un compuesto que tiene un peso molecular de 1000 a 1500, que no se adsorbe en Kremezina.

Aun cuando la presente sustancia no de adsorción no está particularmente limitada, es preferible un compuesto presente en el cuerpo, y la cianocobalamina (peso molecular 1355, en adelante denominada a veces vitamina B₁₂) es particularmente preferiblemente.

20 La α -amilasa es una proteína que tiene un peso molecular de 50000, y se ha utilizado convencionalmente como sustancia no de adsorción en ensayos de adsorción de Kremezina. Sin embargo, se ha explicado que la α -amilasa no puede ser utilizada como sustancia no de adsorción en el presente método de evaluación en el que varias sustancias que han de ser adsorbidas están contenidas simultáneamente, ya que la adición de α -amilasa tiene por resultado precipitación y turbidez.

Métodos de medida para la evaluación en la presente invención

25 (1) Evaluación del título de adsorción.

30 El título de adsorción puede ser evaluado de acuerdo con un método convencional. Por ejemplo, comprende añadir un adsorbente de carbón esférico que va a ser la sustancia de ensayo a una solución de ensayo que comprende una sustancia a adsorber, y permitir la adsorción a una temperatura predeterminada durante un tiempo predeterminado con agitación, y medir la concentración o cantidad de sustancia que se ha de adsorber que queda en la solución de ensayo sin el adsorbente de carbón esférico.

Las condiciones de concentración de la sustancia a adsorber, cantidad de adsorbente de carbón esférico a evaluar, tiempo de adsorción, pH de la solución, temperatura y similares se pueden elegir apropiadamente de acuerdo con el tipo de sustancia que ha de adsorberse.

Para concretar, por ejemplo, se pueden mencionar de forma no limitante las siguientes condiciones.

35 La concentración de la sustancia a adsorber es de 0,1 a 10 mg/mL, preferiblemente de 0,5 a 1,5 mg/mL, más preferiblemente 1,0 mg/ml.

Aunque la cantidad de solución de ensayo puede ser cualquiera siempre y cuando permita la medida, es de 10 a 300 mL, preferiblemente de 30 a 100 mL, más preferiblemente 50 mL.

El pH de la solución de ensayo es de 6 a 8, preferiblemente pH 6,8 o pH 7,4.

40 La solución de ensayo puede ser cualquiera siempre y cuando se utilice generalmente, y normalmente se utiliza un tampón. Se prefieren tampón de acetato, tampón de fosfato, tampón de citrato, tampón de borato, tampón de tartrato y similares, y es más preferido el tampón de fosfato.

45 La cantidad del adsorbente de carbón esférico que ha de ser evaluada se puede determinar apropiadamente de acuerdo con la concentración de la sustancia a adsorber, el volumen de la solución de ensayo, el pH y/o el tipo de tampón. Por ejemplo, cuando la concentración de la sustancia que se ha de adsorber es de 0,5 a 1,5 mg/mL y el volumen de la solución de ensayo es 50 mL, la cantidad del adsorbente de carbón esférico que se añade es de 10 a 50 mg, preferiblemente de 10 a 30 mg, más preferiblemente 25 mg.

ES 2 407 304 T3

El tiempo de adsorción se puede determinar apropiadamente de acuerdo con la concentración de la sustancia a adsorber, el volumen de la solución de ensayo, el pH, el tipo de tampón y/o la cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de evaluar. Por ejemplo, es de 1 a 6 horas, preferiblemente 3 horas.

La temperatura de adsorción es de 10 a 50 °C, preferiblemente de 30 a 40 °C, más preferiblemente 37 °C.

- 5 Cuando se utiliza indol como sustancia a adsorber, la cantidad de adsorción no cambia dentro del intervalo de pH de 2 a 12. Sin embargo, a medida que aumenta la temperatura de adsorción de 10 a 50 °C, la cantidad de adsorción tiende a disminuir. Por consiguiente, el ensayo del título de adsorción puede llevarse a cabo bajo las condiciones de la concentración de indol en la solución de ensayo de 0,5 a 1,5 mg/mL, preferiblemente de 1 mg/mL, agua o un tampón a pH de 6 a 8, preferiblemente tampón de fosfato a pH 7,4, como solución de disolución para una solución de ensayo, la cantidad de adsorbente de carbón esférico a añadir de 10 a 30 mg, preferiblemente 25 mg, relativa a 50 mL de solución de ensayo, la temperatura de adsorción de 30 a 40 °C, preferiblemente 37 °C, el volumen de la solución de ensayo de 50 mL, y el tiempo de adsorción de 1 a 6 h, preferiblemente 3 horas después de la agitación en agitador de tambor rotatorio ROTAR MIX a 60 rpm.

Además, la cantidad de adsorción se puede medir por un método convencional, por ejemplo, HPLC y similares.

- 15 Por ejemplo, cuando la sustancia que se ha de adsorber es indol, la cantidad de adsorción del mismo puede ser medida mediante HPLC en las condiciones siguientes.

Condiciones de HPLC

Detector: espectrofotómetro de absorción de ultravioleta (longitud de onda de medida: 240 nm)

- 20 Columna: GL-Science Inertsil ODS-3V (4,6 mm ID (diámetro interior), 150 mm, 5 µm) o SUPELCO Discovery HS C18 (4,6 mm ID, 150 mm, 5 µm)

Temperatura de la columna: 40 °C

Fase móvil: mezcla de agua/acetronitrilo/TFA (1000:1000:1)

Flujo: 1 mL/min

Volumen de inyección: 10 µL

- 25 (2) Evaluación de la velocidad de adsorción.

- 30 El método de evaluación de la velocidad de adsorción comprende, por ejemplo, añadir un adsorbente de carbón esférico que ha de ser la sustancia de ensayo a una solución de ensayo que comprende una sustancia que se ha de adsorber, y permitir la adsorción a una temperatura predeterminada durante un tiempo predeterminado, con agitación, y medir la concentración o cantidad de sustancia que se ha de adsorber que queda en la solución de ensayo sin el adsorbente de carbón esférico.

- 35 Además, la velocidad de adsorción puede ser evaluada, por ejemplo, por un método de acuerdo con el ensayo de disolución, 50 rpm o 100 rpm, del Japanese Pharmacopoeia Paddle Method (método de paletas de la Farmacopea Japonesa) y/o Japanese Pharmacopoeia Basket Method (método de la cesta de la Farmacopea Japonesa), 100 rpm, y se puede utilizar una solución de ensayo que contiene una concentración dada de una sustancia que se ha de adsorber.

Las condiciones tales como la concentración de la sustancia a adsorber, la cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de evaluar, el pH de la solución y similares pueden ser determinadas apropiadamente de acuerdo con el tipo, y similares, de sustancia a adsorber.

Para ser concretos, por ejemplo, pueden mencionarse las siguientes condiciones no limitantes.

- 40 La concentración de sustancia que se ha de adsorber es de 0,1 a 10 mg/mL, preferiblemente de 0,5 a 1,5 mg/mL, más preferiblemente 1,0 mg/mL.

Aunque la cantidad de solución de ensayo que contiene la sustancia que se ha de adsorber puede ser cualquiera siempre y cuando permita la medida, es de 10 mL a 3 L, preferiblemente de 100 mL a 2 L, más preferiblemente 900 mL.

El pH de la solución de ensayo es de 6 a 8, preferiblemente pH 6,8 o pH 7,4.

La solución de ensayo puede ser cualquiera, siempre y cuando sea un tampón usado generalmente. Se prefieren tampón de acetato, tampón de fosfato, tampón de citrato, tampón de borato, tampón de tartrato y similares, y más preferido es tampón de fosfato.

5 La cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de evaluar se puede determinar apropiadamente de acuerdo con la concentración de la sustancia a adsorber, el volumen de la solución de ensayo, el pH y/o el tipo de tampón. Por ejemplo, cuando la concentración de la sustancia que se ha de adsorber es de 0,5 a 1,5 mg/mL y el volumen de la solución de ensayo es 900 mL, la cantidad de adsorbente de carbón esférico para ser añadido es de 100 a 600 mg, preferiblemente 180 a 540 mg, más preferiblemente 300 mg.

10 En el método de evaluación de la velocidad de adsorción de la presente invención, se puede determinar apropiadamente el tiempo de adsorción de acuerdo con la concentración de la sustancia que se ha de adsorber, el volumen de la solución de ensayo, el pH, el tipo de tampón y/o la cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de evaluar. Por ejemplo, es de 15 min a 6 h.

15 En el método de evaluación de la velocidad de adsorción en la presente invención, la temperatura de adsorción es de 10 a 50 °C, preferiblemente de 30 a 40 °C, más preferiblemente 37 °C.

(3) Evaluación de la selectividad de adsorción.

La selectividad de adsorción puede ser evaluada por un método convencional. El método comprende, por ejemplo, la adición de un adsorbente de carbón esférico que ha de ser la sustancia de ensayo a una solución de ensayo que comprende las sustancias que se han de adsorber, y permitir la adsorción a una temperatura predeterminada durante un tiempo predeterminado con agitación, y medir la concentración o la cantidad de cada sustancia que se ha de adsorber que queda en la solución de ensayo sin el adsorbente de carbón esférico.

20 Cuando una sustancia de toxina urémica en particular es un compuesto de núcleo (o compuesto de base), la sustancia que se ha de adsorber aquí comprende un grupo de cuatro tipos de sustancias a ser adsorbidas, que consiste en un compuesto que tiene un grupo ácido introducido en la misma estructura química que la del compuesto de núcleo (en adelante, se denomina a veces como un "compuesto que tiene un grupo ácido"), un compuesto que tiene un grupo básico introducido en dicha misma estructura química (en adelante, se denomina a veces como un "compuesto que tiene un grupo básico"), un compuesto que tiene un grupo hidrófobo introducido en dicho misma estructura química (en adelante, se denomina a veces como un "compuesto que tiene un grupo hidrófobo"), o un compuesto que tiene un grupo hidrófilo introducido en dicha misma estructura química (en adelante, se denomina a veces como un "compuesto que tiene un grupo hidrófilo"). En algunos casos, también se puede utilizar un compuesto macromolecular que tiene un peso molecular de 1000 a 1500 como sustancia no de adsorción además del grupo de sustancias que han de ser adsorbidas anteriormente mencionado.

25 Las condiciones de la concentración de cada sustancia que se ha de adsorber, la cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de evaluar, el tiempo de adsorción, el pH de la solución de ensayo, la temperatura y similares, necesitan ser elegidas apropiadamente de acuerdo con el tipo de las sustancias que se han de adsorber.

30 En particular, en este método de evaluación, el tipo de sustancias que han de ser adsorbidas influye sobre la cantidad de adsorción de las sustancias que han de ser adsorbidas. Sin embargo, la selectividad de adsorción se puede evaluar manteniendo constantes las condiciones de concentración de las sustancias que han de ser adsorbidas, la cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de evaluar, el tiempo de adsorción, el pH de la solución de ensayo, la temperatura y similares.

35 Para concretar, por ejemplo, se pueden mencionar las siguientes condiciones no limitantes.

La concentración de cada uno de los cuatro tipos de sustancias que han de ser adsorbidas que consisten en un compuesto que tiene un grupo ácido, un compuesto que tiene un grupo básico, un compuesto que tiene un grupo hidrófobo, y un compuesto que tiene un grupo hidrófilo, cada uno de los cuales está basado en una sustancia tóxica urémica en particular, como compuesto básico, o cinco tipos que consisten en los cuatro compuestos anteriores y un compuesto macromolecular que tiene un peso molecular de 1000 a 1500 es de 0,05 a 0,5 mg/mL, preferiblemente de 0,05 a 0,2 mg/mL, más preferiblemente 0,1 mg/mL.

40 Aunque la cantidad de solución de ensayo que contiene los cuatro tipos de compuestos anteriormente mencionados, o cinco tipos incluyendo el compuesto macromolecular, puede ser cualquiera siempre y cuando permita la medida, esta cantidad es de 10 a 300 mL, preferiblemente de 30 a 100 mL, más preferiblemente 50 mL. El pH de la solución de ensayo es de 6 a pH 8, preferiblemente pH 6,8 o pH 7,4.

La solución de ensayo puede ser cualquiera, siempre y cuando sea un tampón usado generalmente. Se prefieren tampón de acetato, tampón de fosfato, tampón de citrato, tampón de borato, tampón de tartrato y similares, y es más preferido el tampón de fosfato.

5 La cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de evaluar se puede determinar apropiadamente de acuerdo con la concentración de la sustancia a adsorber, el volumen de la solución de ensayo, el pH y/o el tipo de tampón. Por ejemplo, cuando la concentración de la sustancia que se ha de adsorber es de 0,05 a 0,5 mg/mL y el volumen de la solución de ensayo es 50 mL, la cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de añadir es de 10 a 300 mg, preferiblemente de 40 a 120 mg, más preferiblemente de 50 a 100 mg, aún más preferiblemente 50 mg o 100 mg.

10 El tiempo de adsorción se puede determinar apropiadamente de acuerdo con la concentración de la sustancia a adsorber, el volumen de la solución de ensayo, el pH, el tipo de tampón y/o la cantidad de adsorbente de carbón esférico que se ha de evaluar. Por ejemplo, es de 1 a 6 horas, preferiblemente 3 horas.

La temperatura de adsorción es de 10 a 50 °C, preferiblemente de 30 a 40 °C, más preferiblemente 37 °C.

15 Es preferible llevar a cabo la evaluación bajo unas condiciones de pH de adsorción y de temperatura de adsorción en las que el adsorbente de carbón esférico manifiesta generalmente sus efectos en el cuerpo.

20 Cuando las sustancias que han de ser adsorbidas son 4 tipos de indol (compuesto que tiene un grupo hidrófobo), triptófano (compuesto que tiene un grupo hidrófilo), ácido indolacético (compuesto que tiene un grupo ácido) y triptamina (compuesto que tiene un grupo básico), y la sustancia de no adsorción es cianocobalamina, la selectividad de adsorción de cada sustancia a adsorber puede ser evaluada bajo las condiciones de la concentración de cada sustancia en una solución de ensayo: 0,05 a 0,5 mg/mL, preferiblemente de 0,05 a 0,2 mg/mL, más preferiblemente 0,1 mg/mL o 0,2 mg/mL, solución de disolución para una solución de ensayo: agua o un tampón a pH de 6 a 8, preferiblemente tampón de fosfato a pH 7,4, la cantidad de adsorbente de carbón esférico a añadir: 10 a 300 mg, preferiblemente 40 a 120 mg, más preferiblemente 50 - 100 mg, aún más preferiblemente 50 mg o 100 mg, relativa a 50 mL de una solución de ensayo, temperatura de adsorción: de 10 a 50 °C, preferiblemente de 30 a 40 °C, más preferiblemente 37 °C, volumen de una solución de ensayo: 50 mL, y el tiempo de adsorción: de 1 a 6 horas, preferiblemente 3 h después de la agitación en agitador de tambor rotatorio ROTAR MIX a 60 rpm.

25 Además, la cantidad de adsorción se puede medir por un método convencional, por ejemplo, HPLC y similares.

La cantidad de adsorción de cada sustancia a adsorber puede medirse mediante HPLC en las siguientes condiciones.

30 Detector: espectrofotómetro de absorción en el ultravioleta (longitud de onda de medición: 240 nm)

Columna: GL-Science Inertsil ODS-3V (4,6 mm ID, 150 mm, 5 µm) o SUPELCO Discovery HS C18 (4,6 mm ID, 150 mm, 5 µm)

Temperatura de la columna: 40 °C

Fase móvil A: mezcla agua/TFA (2000:1)

35 Fase móvil B: mezcla acetonitrilo/TFA (2000:1)

Condiciones envío de la solución: Condiciones de análisis de gradiente

Concentración de la fase móvil B 5% → 80% (30 min)

Flujo: 1 mL/min

Volumen de inyección: 10 µL

40 Ejemplos

La presente invención se explica con más detalle en lo que sigue mediante referencia a los Ejemplos, que no deben considerarse limitantes.

[Ejemplo 1: Ensayo de evaluación del título de adsorción]

[Método de ensayo]

Muestra: Se utilizó una sustancia carbonosa esférica porosa preparada de acuerdo con el método de producción descrito en el Ejemplo 1 del documento JP-B-3522708, como adsorbente de carbón esférico que va a ser la sustancia de ensayo (Muestra 1) para esta prueba.

- 5 Ensayo de evaluación del título de adsorción: El adsorbente de carbón esférico (25 mg) fue añadido a un tampón de fosfato que contiene indol (pH 7,4, concentración 1,0 mg/mL, 50 mL), se agitó la mezcla a 37 °C durante 3 horas, y se midió mediante HPLC la concentración residual de indol.

Como agitador se utilizó un agitador rotatorio de tambor (ROTAR MIX) a una velocidad de agitación de 60 rpm.

Las condiciones de HPLC fueron las siguientes.

- 10 Detector: espectrofotómetro de absorción de ultravioleta (longitud de onda de medida: 240 nm)

Columna: GL-Science Inertsil ODS-3V (4,6 mm ID, 150 mm, 5 µm)

Temperatura de la columna: 40 °C

Fase móvil: mezcla de agua/acetonitrilo/TFA (1000:1000:1)

Flujo: 1 mL/min

- 15 Volumen de inyección: 10 µL

La cantidad de indol adsorbida por 1 g de adsorbente de carbón esférico en cada tanda se calculó a partir de la diferencia de concentración antes y después de la adsorción, y se comparó como título de adsorción para la evaluación. Los resultados del ensayo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: título de adsorción

Número de tanda	Cantidad de adsorción de indol (mg/g) ^{*1}
1	696
2	711
3	690
4	686
5	705
6	699
7	695

20

^{*1} media de 3 repeticiones

(Resultados del ensayo)

Evaluación del título de adsorción: La cantidad de adsorción de indol por 1 g de adsorbente de carbón esférico (Muestra 1) de 7 lotes utilizados en este ensayo fue una cantidad constante de 700 mg/g ± 10%.

- 25 [Ejemplo 2: Ensayo de evaluación del título de adsorción]

(Método de ensayo)

5 Muestra: De entre las sustancias carbonosas esféricas porosas preparadas de acuerdo con el método de producción descrito en el Ejemplo 1 del documento JP-B-3522708, se utilizaron adsorbente de carbón esférico antes del tratamiento de oxidación y reducción (F-AST), adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de oxidación (O-AST), adsorbente de carbón esférico después del lavado con agua (W-AST), adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de reducción (R-AST), adsorbente de carbón esférico que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS), y adsorbente de carbón esférico triturado que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS) (KDS triturado), como adsorbentes de carbón esféricos.

El ensayo de evaluación del título de adsorción se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 1. La temperatura de adsorción era la temperatura ambiente. Los resultados del ensayo se muestran en la Tabla 2.

10 Tabla 2: resultados del ensayo de varios adsorbentes de carbón esféricos y de producto triturado de los mismos.

Sustancia de ensayo	Cantidad de adsorción de indol (mg/g)
F-AST	704,9
O-AST	696,9
W-AST	659,9
R-AST	679,9
KDS	679,1
KDS triturado	675,5

(Resultados del ensayo)

15 Evaluación del título de adsorción: El adsorbente de carbón esférico antes del tratamiento de oxidación y reducción (F-AST), adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de oxidación (O-AST), adsorbente de carbón esférico después del lavado con agua (W-AST), adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de reducción (R-AST), adsorbente de carbón esférico que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS) y adsorbente de carbón esférico triturado que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS) (KDS triturado) adsorbieron bien el indol, y la cantidad de adsorción de los adsorbentes de carbón esféricos en cada etapa de tratamiento fue una cantidad constante de 700 mg/g \pm 10%. De aquí se sugiere que la propiedad del título de adsorción del adsorbente de carbón esférico relativa al indol no está influenciada por una etapa de tratamiento de oxidación/reducción y similares. Por lo tanto, se considera que la propiedad del título de adsorción del adsorbente de carbón esférico está determinada por la etapa de producción antes de la etapa de tratamiento de oxidación/reducción y la calidad del adsorbente de carbón esférico.

[Ejemplo 3: Ensayo de evaluación del título de adsorción]

25 (Método de ensayo)

Muestra: Kremezina (marca comercial registrada) gránulos finos (fabricada por Kureha Chemical Industry Co., Ltd., número de producción 74K2) (Kre) producida de acuerdo con el método de producción descrito en el Ejemplo 1 del documento JP-B-3522708, Merckmezina (marca comercial registrada) gránulos finos (fabricada por MERCK & CO., INC., número de producción 0380MK) (Mer) y Kyucal (marca comercial registrada) gránulos finos (fabricado por Teikoku Medix, número de producción 6EB) (Kyu) fueron utilizados como adsorbentes de carbón esféricos. Además, se utilizó un carbón medicinal (fabricado por ORIENTAL PHARMACEUTICAL Co., Ltd., número de producción 70525) (Yak), que es un adsorbente para administración oral. La Merckmezina en gránulos finos (Mer), Kyucal en gránulos finos (Kyu) y carbón medicinal (Yak) usados para este ensayo fueron adquiridos del comercio. El ensayo de evaluación del título de adsorción se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 1. Los resultados del ensayo se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Comparación de las cantidades de adsorción de indol de la Kremezina y de fármacos de la competencia.

Nombre de la muestra	Cantidad de adsorción de indol (mg/g)
Kre	662
Mer	319
Kyu	523
Yak	387

(Resultados del ensayo)

- 5 Evaluación del título de adsorción: La cantidad de indol adsorbida por 1 g de adsorbente de carbón esférico disminuyó por el orden de Kre (662 mg/g), Kyu (523 mg/g) y Mer (319 mg/g). El Yak adsorbó 387 mg/g de indol.

[Ejemplo 4: Ensayo de evaluación de la selectividad de adsorción]

(Método de ensayo)

Muestra: Un adsorbente de carbón esférico (Muestra 2) producido de acuerdo con el método de producción descrito en el Ejemplo 1 del documento JP-B-3522708 fue usado como adsorbente de carbón esférico.

- 10 Método de evaluación de la selectividad de adsorción:

- 1.5 Se añadió un adsorbente de carbón esférico (100 mg) a un tampón de fosfato que contiene cinco compuestos de indol, triptófano, ácido indolacético, triptamina y cianocobalamina (pH 7,4, concentración de cada compuesto; 0,1 mg/mL, 50 mL), la mezcla se agitó a 37 °C durante 3 horas, y se midió la concentración residual de cada compuesto en la solución de ensayo mediante HPLC. Como agitador se utilizó un agitador rotatorio de tambor (ROTAR MIX) a una velocidad de agitación de 60 rpm.

Las condiciones de HPLC son las siguientes.

Detector: espectrofotómetro de absorción de ultravioleta (longitud de onda de medida: 240 nm)

Columna: GL-Science Inertsil ODS-3V (4,6 mm ID, 150 mm, 5 µm)

Temperatura de la columna: 40 °C

- 20 Fase móvil A: mezcla de agua/TFA (2000:1)

Fase móvil B: mezcla de acetonitrilo/TFA (2000:1)

Condiciones de envío de la solución: Condiciones de análisis de gradiente

Concentración de la fase móvil B: 5 a → 80% (30 min)

Flujo: 1 mL/min

- 25 Volumen de inyección: 10 µL

La tasa de adsorción de cada compuesto en el adsorbente de carbón esférico se calculó a partir de la diferencia en la concentración antes y después de la adsorción, y el perfil de selectividad de adsorción fue comparado para la evaluación. Los resultados de la prueba se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: resultados del ensayo: concentración de cada solución de ensayo 0,1 mg/mL, cantidad de adición de muestra 100 mg

Nº de lote	Tasa de adsorción de indol (%)	Tasa de adsorción de triptófano (%)	Tasa de adsorción de ácido indolacético (%)	Tasa de adsorción de triptamina (%)	Tasa de adsorción de cianocobalamina (%)
1	99	97	98	99	11
2	99	98	98	99	7
3	99	96	97	99	10
4	99	92	93	99	6
5	99	98	98	99	6
6	99	97	98	99	8
7	99	97	97	99	6

(Resultados del ensayo)

- 5 Evaluación del título de adsorción: Los 7 lotes de adsorbentes de carbón esféricos (Muestra 2) usados en este tiempo adsorbieron bien el indol, el triptófano, el ácido indolacético y la triptamina, pero no adsorbieron la cianocobalamina. La tasa de adsorción (%) de la misma fue no menos del 95% para el indol, no menos del 85% para el triptófano, no menos del 85% para el ácido indolacético, y no menos del 95% para la triptamina. Sin embargo, fue adsorbida tan sólo no menos del 20% de cianocobalamina. La cantidad de adsorción de cada lote en el adsorbente de carbón esférico fue casi la misma.

[Ejemplo 5: Ensayo de evaluación de la selectividad de adsorción]

(Método de ensayo)

- 15 Muestra: De entre las sustancias carbonosas esféricas porosas producidas de acuerdo con el método de producción descrito en el Ejemplo 1 del documento JP-B-3522708, se usaron adsorbente de carbón esférico antes del tratamiento de oxidación y reducción (F-AST), adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de oxidación (O-AST), adsorbente de carbón esférico después del lavado con agua (W-AST), adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de reducción (R-AST), adsorbente de carbón esférico que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS), y adsorbente de carbón esférico triturado que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS) (KDS triturado), como adsorbentes de carbón esféricos.

- 20 Método de evaluación de la selectividad de adsorción:

- 25 Cada adsorbente de carbón esférico (50 mg) fue añadido a un tampón de fosfato que contiene seis compuestos de indol, triptófano, ácido indolacético, triptamina, α -amilasa y cianocobalamina (pH 7,4, concentración de cada compuesto; 0,1 mg/mL, 50 mL), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, y se midió la concentración residual de cada compuesto en la solución mediante HPLC. Como agitador se utilizó un agitador rotatorio de tambor (ROTAR MIX) a una velocidad de agitación de 60 rpm. Otras condiciones fueron las mismas que en el Ejemplo 4. Los resultados del ensayo se muestran en la Tabla 5 y en la Fig. 1.

Tabla 5: resultados del ensayo: concentración de cada solución de ensayo 0,1 mg/mL, cantidad de adición de muestra 50 mg

Nombre de la muestra	Tasa de adsorción de indol (%)	Tasa de adsorción de triptófano (%)	Tasa de adsorción de ácido indolacético (%)	Tasa de adsorción de triptamina (%)	Tasa de adsorción de cianocobalamina (%)	Tasa de adsorción de α-amilasa (%)
F-AST	95	51	59	76	6	0
O-AST	88	55	41	93	7	-3
W-AST	88	54	39	92	7	-5
R-AST	95	48	52	75	6	-3
KDS	95	48	50	76	6	-5
KDS triturado	92	77	81	87	8	-3

(Resultados del ensayo)

- 5 Evaluación de la selectividad de adsorción: El adsorbente de carbón esférico antes del tratamiento de oxidación y reducción (F-AST), el adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de oxidación (O-AST), el adsorbente de carbón esférico después del lavado con agua (W-AST), el adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de reducción (R-AST), el adsorbente de carbón esférico que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS) y el adsorbente de carbón esférico triturado que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS) (KDS triturado) tendieron a adsorber bien el indol, el triptófano, el ácido indolacético y la triptamina, y tendieron a no adsorber la cianocobalamina y la α-amilasa.

10 Por otra parte, en cuanto a la cantidad de adsorción de la sustancia que se ha de adsorber en el adsorbente de carbón esférico antes del tratamiento de oxidación y reducción (F-AST), el adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de oxidación (O-AST), el adsorbente de carbón esférico después del lavado con agua (W-AST), el adsorbente de carbón esférico después del tratamiento de reducción (R-AST), el adsorbente de carbón esférico que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS) y el adsorbente de carbón esférico triturado que ha de ser un producto farmacéutico a granel (KDS) (KDS triturado), la cantidad de adsorción de indol y ácido indolacético en O-AST y W-AST disminuyó, mientras que la cantidad de adsorción de los mismos en R-AST después de un tratamiento de reducción, y KDS tendió a aumentar.

15 Por otro lado, la cantidad de adsorción de triptófano y triptamina en O-AST y W-AST aumentó, y la cantidad de adsorción de los mismos en R-AST después de un tratamiento de reducción, y KDS tendió a aumentar.

20 Como se mencionó anteriormente, el método permite la evaluación de la capacidad de adsorción basándose en la diferencia en la calidad de los adsorbentes de carbón esféricos debido al nivel de tratamiento de oxidación o reducción en el proceso de producción.

25 [Ejemplo 6: Ensayo de evaluación de la selectividad de adsorción]

(Método de ensayo)

Muestra: Como en el Ejemplo 3, se utilizaron 4 tipos de adsorbentes de carbón esféricos (Kre, Kyu, Mer y Yak) como adsorbentes de carbón esféricos.

Método de evaluación de la selectividad de adsorción:

- 30 Se añadió adsorbente de carbón esférico (100 mg) a un tampón de fosfato que contiene cinco compuestos de indol, triptófano, ácido indolacético, triptamina y cianocobalamina (pH 7,4, concentración de cada compuesto; 0,1 mg/mL, 50 mL), la mezcla se agitó a 37 °C durante 3 horas, y se midió la concentración residual de cada compuesto en la solución de ensayo mediante HPLC. Como agitador se utilizó un agitador rotatorio de tambor (ROTAR MIX) a una

velocidad de agitación de 60 rpm. Otras condiciones fueron las mismas que las del Ejemplo 4. Los resultados del ensayo se muestran en la Tabla 6 y la Figura. 2.

Tabla 6: resultados del ensayo de selectividad de adsorción: cada concentración de solución de ensayo 0,1 mg/mL, cantidad de adición de muestra 100 mg

Nombre de la muestra	Tasa de adsorción de indol (%)	Tasa de adsorción de triptófano (%)	Tasa de adsorción de ácido indolacético (%)	Tasa de adsorción de triptamina (%)	Tasa de adsorción de cianocobalamina (%)
Kre	99,0	97,4	97,1	99,1	11,9
Mer	63,0	12,3	12,2	54,0	0,8
Kyu	98,0	35,4	35,0	90,1	0,7
Yak	99,2	91,6	94,6	97,5	100,0

5

(Resultados del ensayo)

10 Evaluación de la selectividad de adsorción: Kre adsorbió bien el indol, el triptófano, el ácido indolacético y la triptamina, y apenas adsorbió la cianocobalamina. En cambio, Mer adsorbió el indol y la triptamina hasta un cierto nivel, pero apenas adsorbió el triptófano, el ácido indolacético y la cianocobalamina. Kyu adsorbió bien el indol y la triptamina, adsorbió algo el triptófano y el ácido indolacético, y apenas adsorbió la cianocobalamina. Además, el carbón medicinal no mostró selectividad de adsorción, y adsorbió todos los compuestos utilizados para la prueba.

15 De los resultados anteriores, se considera que el método de ensayo de la presente invención es capaz de mostrar con claridad la diferencia en la capacidad de adsorción de cada adsorbente de carbón esférico. Además, se considera que el método de ensayo de la presente invención permite el suministro estable de productos farmacéuticos de alta calidad.

[Ejemplo 7: Ensayo de evaluación de la velocidad de adsorción]

(Método de ensayo)

20 Ejemplo: Como adsorbentes de carbón esféricos se utilizaron Kremezina (marca comercial registrada) gránulos finos (fabricada por Kureha Chemical Industry Co., Ltd., número de producción 74K2) (Kre), Kremezina (marca comercial registrada) cápsulas (fabricado por Kureha, número de producción 74K2) (Kre (cápsulas), Merckmezina (marca comercial registrada) gránulos finos (fabricada por MERCK & CO., INC., número de producción 0380MK) (Mer) y Kyucal (marca comercial registrada) gránulos finos (fabricada por Teikoku Medix, número de producción 6EB) (Kyu). Los adsorbentes de carbón esféricos utilizados en el ensayo fueron adquiridos en el comercio.

Método de evaluación de la velocidad de adsorción:

25 La velocidad de adsorción (ensayo de equivalencia biológica *in vitro*) se evaluó por el mismo método que en el ensayo de disolución de la Japanese Pharmacopoeia Paddle Method, 100 rpm, usado para el ensayo de disolución de la preparación y similares. La velocidad de adsorción se calculó disolviendo indol (1,0 mg/mL) como compuesto que se ha de adsorber en tampón fosfato a pH 7,4 para dar una solución de ensayo (900 mL), añadiendo un adsorbente de carbón esférico (300 mg), y midiendo la cantidad de adsorción durante un tiempo dado (15 min, 30 min, 60 min, 120 min, 180 min), es decir, capacidad de adsorción de indol (IAC: Indol Adsorption Capacity). Los resultados de la prueba se muestran en la Tabla 7 y en la Fig. 3.

30

Tabla 7: velocidad de adsorción del Método de las Paletas 100 rpm

Tiempo de adsorción (min)	Método de las paletas 100 rpm			
	Kremezina (Kre)	Kremezina cápsulas (Kre (cápsulas))	Merckmezina (Mer)	Kyucal (Kyu)
	IAC (mg/g)	IAC (mg/g)	IAC (mg/g)	IAC (mg/g)
0	0	0	0	0
15	406	245	183	388
30	548	438	223	458
60	716	675	278	491
120	751	754	330	516
180	757	763	348	526

(Resultados de la prueba)

5 Evaluación de la velocidad de adsorción: Kre (gránulos finos y cápsulas) adsorbió indol [406 mg/g y 245 mg/g durante 15 min, 548 mg/g y 438 mg/g durante 30 min, 716 mg/g y 675 mg/g durante 60 min], y la cantidad de adsorción de indol llegó a 700 mg/g \pm 10% en no menos de 60 min. Por otra parte, Mer (gránulos finos) y Kyu (gránulos finos) adsorbieron indol [183 mg/g y 385 mg/g durante 15 minutos, 223 mg/g y 455 mg/g durante 30 min, y 278 mg/g y 488 mg/g durante 60 min], y a continuación la cantidad de adsorción llegó al equilibrio a aproximadamente 300 mg/g y aproximadamente 500 mg/g. De esto queda claro que Kre muestra una tasa de adsorción similar, al margen de la forma de dosificación. Por otra parte, los medicamentos genéricos, Mer (gránulos finos) y Kyu (gránulos finos), mostraron valores diferentes de Kre (gránulos finos y cápsulas) en la evaluación de la velocidad de adsorción.

Aplicabilidad industrial

15 Los adsorbentes de carbón esféricos representados por la Kremezina (marca comercial registrada) se preparan bajo un control estricto de los materiales de partida y de los métodos de producción, y son productos farmacéuticos físicos que tienen una estructura física que se considera que influye significativamente en la adsorción de una sustancia tóxica, y en la eficacia de los mismos.

20 El método de ensayo de la presente invención puede evaluar con precisión la capacidad de adsorción que se considera que se deriva de la estructura física de un adsorbente de carbón esférico, en particular, Kremezina (marca comercial registrada), y puede suministrar establemente productos farmacéuticos de alta calidad. Además, la equivalencia relacionada con la capacidad de adsorción de los fármacos genéricos de la Kremezina (marca comercial registrada) puede ser evaluada simultáneamente con precisión.

REIVINDICACIONES

- 5 1ª. Un método para ensayar la selectividad de adsorción de un adsorbente de carbón esférico, que comprende usar una solución de ensayo simultáneamente, que comprende, como sustancias a adsorber, cuatro tipos de compuestos que tienen la estructura química común a la de la sustancia tóxica urémica particular, y los cuatro tipos de compuestos son
- (1) un compuesto que tiene un grupo hidrófobo,
 - (2) un compuesto que tiene un grupo hidrófilo,
 - (3) un compuesto que tiene un grupo ácido y
 - (4) un compuesto que tiene un grupo básico.
- 10 2ª. El método de ensayo según la reivindicación 1ª, en el que la sustancia tóxica urémica en particular es indol, y los cuatro tipos de compuestos que tienen la estructura química común son
- (1) indol como compuesto que tiene un grupo hidrófobo,
 - (2) triptófano como compuesto que tiene un grupo hidrófilo,
 - (3) ácido indolacético como compuesto que tiene un grupo ácido, y
 - 15 (4) triptamina como compuesto que tiene un grupo básico.
- 3ª. El método de ensayo según las reivindicaciones 1ª o 2ª, en el que la solución de ensayo comprende además, como sustancia a adsorber, un compuesto macromolecular que tiene un peso molecular de 1000 a 1500.
- 4ª. El método de ensayo según la reivindicación 3ª, en el que el compuesto macromolecular es cianocobalamina.
- 20 5ª. El método de ensayo según una cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 4ª, que comprende una etapa de adición de un adsorbente de carbón esférico que ha de ser la sustancia de ensayo, a una solución de ensayo que comprende la sustancia que se ha adsorber, y permitir la adsorción a una temperatura predeterminada durante un tiempo predeterminado, con agitación, y una etapa de medida de la concentración o cantidad de cada sustancia que se ha de adsorber que queda en la solución de ensayo sin el adsorbente de carbón esférico.
- 25 6ª. El método de ensayo según la reivindicación 5ª, en el que la concentración de cada sustancia que se ha de adsorber en la solución de ensayo antes de la adición del adsorbente de carbón esférico es de 0,05 a 0,5 mg / ml.
- 7ª. El método de ensayo según la reivindicación 6ª, en el que la concentración de cada sustancia que se ha de adsorber en la solución de ensayo antes de la adición del adsorbente de carbón esférico es 0,05 a 0,2 mg/ml.
- 30 8ª. El método de ensayo según la reivindicación 7ª, en el que la concentración de cada sustancia que se ha de adsorber en la solución de ensayo antes de la adición del adsorbente de carbón esférico es 0,1 mg/ml.
- 9ª. El método de ensayo de cualquiera según las reivindicaciones 5ª a 8ª, en el que la solución de ensayo se obtiene disolviendo cada sustancia que se ha de adsorber en tampón de fosfato a un de pH 6 a 8.
- 10ª. El método de ensayo según la reivindicación 5ª, en el que el adsorbente de carbón esférico se añade en una cantidad de 10 a 300 mg por 50 ml de la solución de ensayo.
- 35 11ª. El método de ensayo según la reivindicación 10ª, en el que el adsorbente de carbón esférico se añade en una cantidad de 40 a 120 mg por 50 ml de la solución de ensayo.
- 12ª. El método de ensayo según la reivindicación 11ª, en el que el adsorbente de carbón esférico se añade en una cantidad de 50 mg o 100 mg por 50 ml de la solución de ensayo.
- 40 13ª. El método de ensayo según una cualquiera de las reivindicaciones 10ª a 12ª, en el que el volumen de la solución de ensayo es de 10 a 300 mL.

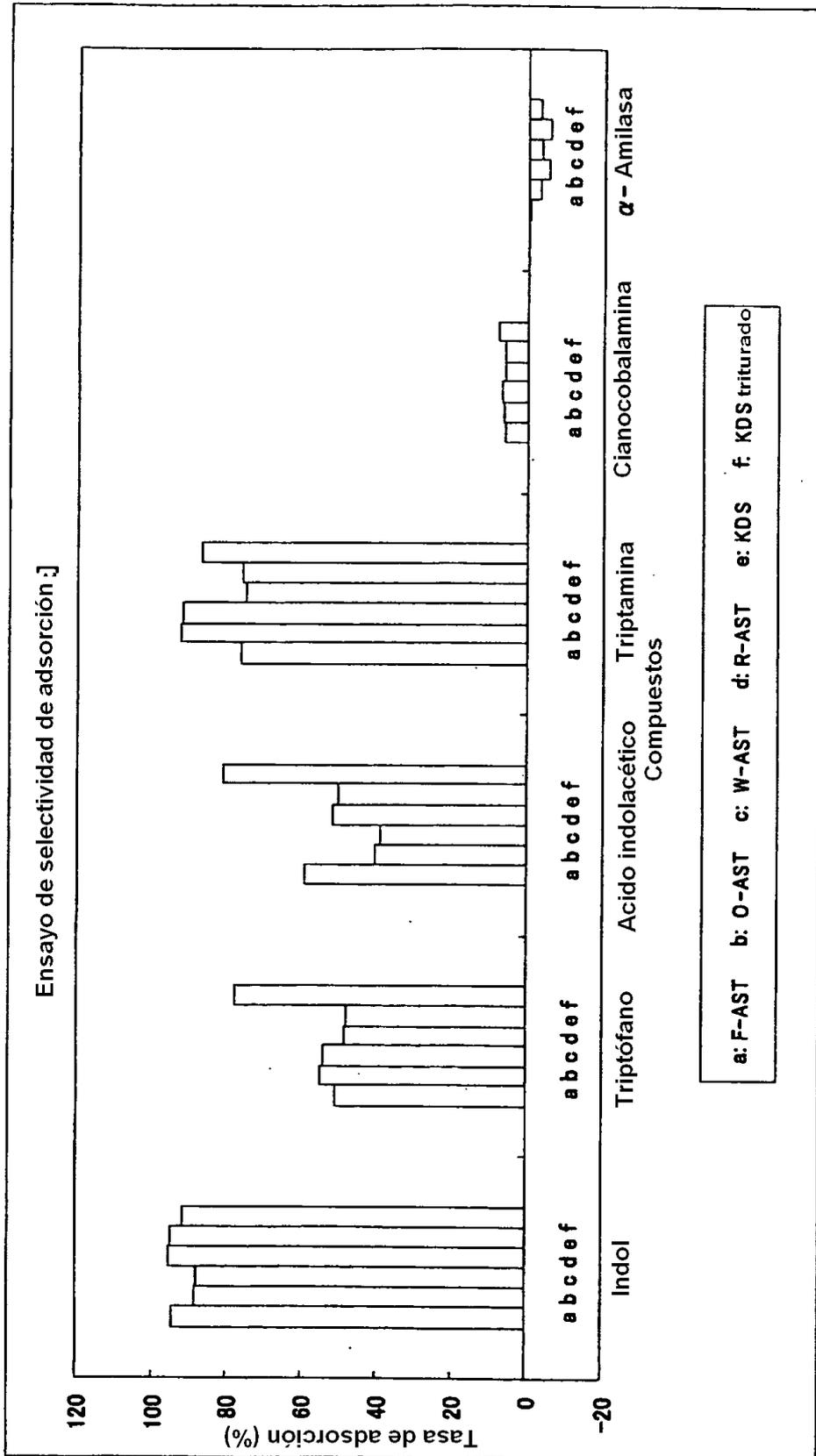
ES 2 407 304 T3

14^a. El método de ensayo según la reivindicación 13^a, en el que el volumen de la solución de ensayo es de 30 a 100 mL.

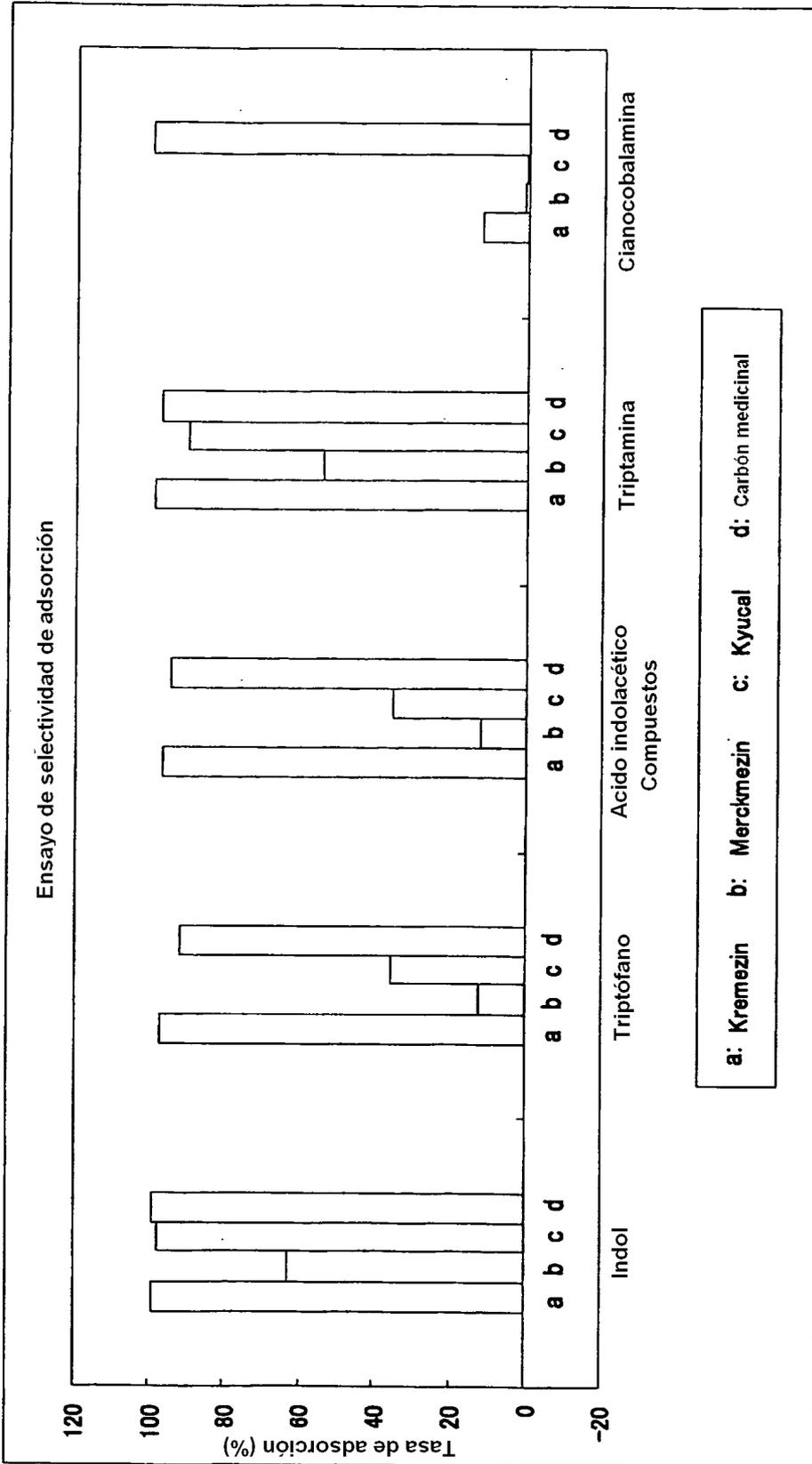
15^a. El método de ensayo según la reivindicación 14^a, en el que el volumen de la solución de ensayo es 50 mL.

5 16^a. El método de ensayo según cualquiera de las reivindicaciones 5^a a 15^a, en el que el tiempo de adsorción es 1 a 6 h, y la temperatura es de 10 a 50°C.

[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]

