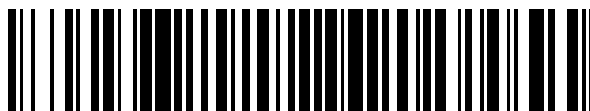


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 232**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/20** (2006.01)

**A61K 47/10** (2006.01)

**A61K 31/60** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2009 E 09764826 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2013 EP 2367539**

54 Título: **Nueva composición para el tratamiento de trombocitemia esencial**

30 Prioridad:

**05.12.2008 AT 70708 U**

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

**22.10.2013**

73 Titular/es:

**AOP ORPHAN PHARMACEUTICALS AG (100.0%)  
Wilhelminenstrasse 91/II f  
1160 Vienna, AT**

72 Inventor/es:

**WIDMANN, RUDOLF**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 426 232 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

Nueva composición para el tratamiento de trombocitemia esencial

La presente invención se refiere a una nueva composición farmacéutica que comprende hidrocloreto de anagrelida en combinación con monohidrato de lactosa y su uso para el tratamiento de trombocitemia esencial.

- 5 La trombocitemia primaria es una enfermedad mieloproliferativa clonal o policlonal hematopoyética y está diagnosticada en el 12% de los pacientes con trombocitosis.

10 La trombocitemia esencial (TE) es el diagnóstico en el 45% de los pacientes con trombocitosis primaria (1). A fin de diferenciar claramente la TE de la policitemia vera (PV) y la mielofibrosis (MF), se definieron criterios de diagnóstico por el Polycythaemia vera study group, (2) y fueron refinados más tarde por las directrices de diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (3, 4).

Las directrices de diagnóstico de la OMS refinaron los criterios de diagnóstico del PVSG para la TE mediante la inclusión de la histopatología de la médula ósea y la densidad de fibras argirofílicas (reticulina y colágeno) para diferenciar la TE de estadios prefibróticos iniciales de mielofibrosis idiopática (MFI) (5, 6, 7).

15 En pacientes con trombocitosis secundaria las cifras de plaquetas por encima de 1.500.000/μl representan un factor de riesgo independiente para episodios tromboembólicos y hemorrágicos (8). Factores de riesgo independientes adicionales son una historia de tromboembolismo o hemorragia, síntomas microvasculares y una edad por encima de 65 años (9, 10, 11, 12, 13). Las manifestaciones clínicas varían de síntomas leves, tales como cefalea, mareo y perturbaciones visuales, hasta complicaciones potencialmente mortales tales como trombosis, hemorragia y apoplejía. El riesgo estimado de episodios trombóticos es 6,6%/paciente/año, se incrementa hasta 15%/paciente/año en pacientes por encima de 60 años (14) y es el más alto en pacientes con historia previa de episodios oclusivos (10).

20 Se acepta generalmente que los pacientes de alto riesgo deben recibir tratamiento de disminución de plaquetas. Aproximadamente 50% de los pacientes muestran una historia de trombosis o hemorragia en el momento del diagnóstico y entran dentro de la categoría de alto riesgo (15). Considerando todos los factores de riesgo independientes tales como cifras de plaquetas por encima de 1.500.000/μl, edad por encima de 65 años y factores de riesgo cardiovasculares, más de 50% de los pacientes diagnosticados con TE requieren tratamiento. Además, los pacientes sintomáticos con valores de plaquetas por debajo de 900.000/μl tienen riesgo de complicaciones y requieren tratamiento (16). Puede producirse trombosis de vasos grandes en pacientes jóvenes con cifras de plaquetas de menos de 900.000/μl (17).

30 Se ha mostrado que la reducción de las cifras de plaquetas reduce el riesgo de complicaciones clínicas. Existe una evidencia creciente de que los pacientes jóvenes y los pacientes con cifras de plaquetas menores de 900.000/μl se pueden beneficiar del tratamiento al reducir el riesgo de complicaciones clínicas y enfermedad vascular progresiva.

35 En los últimos años se siguieron principalmente dos opciones de tratamiento, hidroxiurea (HU) e interferón Sin embargo, la hidroxiurea tiene desventajas: 1. la HU no es selectiva para disminuir los números de plaquetas, y afecta a otros componentes de la sangre, 2. un número creciente de informes lista efectos secundarios graves provocados por HU, incluyendo leucemia. Esto es especialmente problemático si se tratan pacientes jóvenes durante períodos de tiempo prolongados. 3. Algunos pacientes no responden al tratamiento con HU.

El interferón α requiere la administración subcutánea, tiene múltiples efectos sobre otros linajes celulares y no es bien tolerado por muchos individuos (19).

40 La anagrelida (6,7-dicloro-1,5-dihidromonohidrocloreto de imidazo(2,1-b)quinazolin-2(3H)-ona) está registrada actualmente como una opción de tratamiento de segunda línea para pacientes con trombocitemia. Su mecanismo de acción es selectivo para megacariocitos y plaquetas. Se puede administrar oralmente. No se ha presentado evidencia de mutagenicidad y leucemogenicidad a largo plazo. La anagrelida está autorizada en los EE. UU. de A. desde 1997 y en Europa desde 2001. La indicación terapéutica actualmente aprobada para la anagrelida en la UE es "para la reducción de cifras de plaquetas elevadas en pacientes con riesgo de trombocitemia esencial que son intolerantes a su terapia actual o cuyas cifras de plaquetas elevadas no se reducen hasta un nivel aceptable mediante su terapia actual" (<http://www.emea.eu.int/humandocs/Humans/EPAR/xagrid/Xagrid.htm>).

45 La anagrelida se desarrolló originalmente como un inhibidor de la agregación de plaquetas. Su modo de acción implica la inhibición de la actividad de la enzima AMP cíclico fosfodiesterasa de las plaquetas (20). Sin embargo, esta actividad no media en la reducción de las plaquetas. La actividad de reducción de plaquetas selectiva está restringida a seres humanos, se produce a una dosis muy inferior (21) y está mediada a través de la inhibición de la maduración de megacariocitos (22, 23). La anagrelida no afecta a la formación de colonias de megacariocitos ni a la supervivencia de plaquetas en concentraciones terapéuticas (22). El mecanismo de acción exacto es desconocido actualmente. Sin embargo, los metabolitos de anagrelida parecen tener una fuerte actividad de disminución de plaquetas y por lo tanto es probable que contribuyan a su acción (24, 25, 26).

La evidencia actual y el equilibrio riesgo-beneficio en la mayoría de los pacientes favorecen a la anagrelida como una elección de tratamiento apropiada en una población de pacientes más amplia. Esto también incluye pacientes de riesgo de menos de 60 años que son reacios a iniciar un tratamiento con agentes que plantean un riesgo leucemogénico potencial, tales como la hidroxiurea.

- 5 La anagrelida se metaboliza intensivamente in vivo y se pueden identificar más de cinco metabolitos en la orina mediante análisis por HPLC (27). Se identificaron dos de estos metabolitos, esto es la 3-hidroxianagrelida biológicamente activa y la 2-amino-5,6-dicloro-3,4-dihidroquinazolona inactiva (también denominada RL 603) (26).

Recientes estudios preclínicos y clínicos de aspectos farmacológicos de la anagrelida dan lugar a importantes preguntas relativas a su modo de acción y perfil de seguridad (26, 28, 29, 30, 31). Se ha sugerido que al menos un metabolito ya identificado, a saber la 3-hidroxianagrelida, contribuye a las principales acciones farmacológicas in vivo, que son la reducción de plaquetas y la actividad inhibidora de PDE 3, mientras que RL 603 carece de estas actividades (24). La anagrelida se convierte rápidamente en 3-hidroxianagrelida que alcanza niveles en plasma máximos aproximadamente 45 min. más tarde en comparación con el fármaco originario. Es muy probable que ambos compuestos contribuyan a la actividad farmacológica in vivo. Tanto la anagrelida como la 3-hidroxianagrelida se eliminan rápidamente de la sangre, y no hay evidencia de acumulación. Pasan de días a semanas hasta que se alcanza un control óptimo de las plaquetas (29,30). Por lo tanto, es improbable que la reducción de plaquetas esté mediada por una actividad farmacológica directa. La diana molecular que media en el efecto de reducción de plaquetas prolongado sobre los megacariocitos se desconoce actualmente, pero puede incluir la modulación de la función de c-MPL que da como resultado afinidad a trombopoyetina alterada (28). Esta hipótesis esta apoyada por el hallazgo de que pasen de 4 a 7 días después del abandono de la anagrelida para que las plaquetas vuelvan a valores anteriores a la terapia.

En contraste, PDE 3 dependiente de cAMP se ha identificado como la diana molecular que media en efectos agudos de la anagrelida sobre el sistema cardiovascular y sobre la agregación de plaquetas (20). La cefalea, el mareo y las palpitaciones representan efectos adversos frecuentes que se producen en aproximadamente 15 a 44% de los pacientes durante las primeras semanas de tratamiento y probablemente están mediados por efectos cardiovasculares y cerebrales leves de la anagrelida a niveles de dosis terapéuticas. La mejora de estos efectos secundarios en de 2 a 3 semanas es consecuente con el desarrollo de taquifilaxis (29), que también se ha observado con otros inhibidores de PDE 3 (32). Sin embargo, el grado y la gravedad de efectos secundarios cardiovasculares como hipotensión se incrementan con el aumento de la dosis por encima de 5 mg, sugiriendo una correlación con los niveles en plasma de anagrelida o, de forma más importante, 3-hidroxianagrelida (29). Se han presentado casos de insuficiencia cardíaca hiperdinámica en pacientes tratados con anagrelida (33, 34). También se ha observado un riesgo de insuficiencia cardíaca después de un tratamiento prolongado en pacientes tratados con milrinona, otro inhibidor de PDE 3 inotrópico positivo (35). Sin embargo, la 3-hidroxianagrelida es considerablemente más potente que la anagrelida como un inhibidor de PDE 3 (26). Se puede establecer como hipótesis que la 3-hidroxianagrelida media principalmente en los efectos secundarios cardiovasculares en pacientes tratados con anagrelida. En particular, efectos adversos cardiovasculares desagradables tales como palpitaciones, mareo y cefalea pueden estar provocados principalmente por la 3-hidroxianagrelida. Estos son incómodos para los pacientes especialmente al principio de la terapia y pueden estar relacionados con un grado de abandono de hasta 28% (29,30).

40 Cuando se usan diferentes formulaciones de anagrelida, se han presentado diferencias en los efectos adversos, y se presentaba que el grado de pacientes que abandonaban la anagrelida variaba de 8 a 28% (29, 30, 31). Diferentes propiedades farmacocinéticas se pueden correlacionar con diferencias farmacodinámicas con respecto a la tolerabilidad y la reducción de plaquetas. Un grado de absorción de anagrelida retardado se asociará con niveles en plasma máximos y totales reducidos de anagrelida así como niveles significativamente menores de 3-hidroxianagrelida. Como consecuencia, se esperará que se presente un grado notablemente inferior de efectos secundarios agudos dependientes de PDE 3.

Los documentos US 6.287.599 y US 2004/0062800 divulgan composiciones farmacéuticas con liberación sostenida y perfiles de disolución dependientes del pH reducidos. Entre otros, se describen comprimidos que contienen anagrelida en los que están contenidos 2,44 mg/comprimido de HCl de anagrelida.

- 50 El documento WO2005/112917A1 describe composiciones que contienen fármacos inhibidores de citocina selectivos para el tratamiento de enfermedades mieloproliferativas en las que la anagrelida está presente como segundo agente activo.

Los documentos US2007/104782A1 y WO2007/016350A2 describen formulaciones de comprimidos de liberación independiente del pH con propiedades mecánicas mejoradas que contienen un copolímero de ácido metacrílico.

- 55 Los documentos US2005/0249814A1 y US2005/0008704A1 divulgan formulaciones que comprenden un compuesto con al menos un resto ácido carboxílico que tienen disolución rápida al entrar en contacto con disolventes fisiológicos.

Un objetivo de la presente invención es disponer de nuevas composiciones de anagrelida con propiedades de

liberación no inmediatas y muy constantes, que se puedan usar para la prevención y el tratamiento de síntomas relacionados con trastornos mieloproliferativos crónicos, tales como trombocitemia esencial, pero que carezcan de algunos de los efectos secundarios conocidos del tratamiento con anagrelida atribuibles a su metabolito principal, la 3-hidroxianagrelida.

5 El objetivo se consigue proporcionando las realizaciones de la presente solicitud.

La invención se refiere a nuevas formulaciones de anagrelida que dan como resultado la liberación no inmediata del ingrediente activo de anagrelida en las que el HCl de anagrelida es de tamaño de partícula pequeño. Se ha observado que las composiciones farmacéuticas que comprenden anagrelida en combinación con monohidrato de lactosa proporcionan una formulación con características de liberación reducidas cuando se administran a un paciente.

Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender además celulosa microcristalina y pirrolidonas como povidona y/o crospovidona.

Figuras:

15 Figura 1: Concentraciones de anagrelida en plasma después de la ingestión de las presentes (P) o las nuevas (N) formulaciones de anagrelida (media  $\pm$  ES). Los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  en plasma eran significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ) después de la administración de la presente o la nueva formulación, respectivamente.

Figure 2: Concentraciones de 3-hidroxianagrelida (3-OH) en plasma después de la ingestión de las presentes (P) o las nuevas (N) formulaciones de anagrelida (media  $\pm$  EE). Los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  en plasma eran significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ) después de la administración de la presente o la nueva formulación, respectivamente.

## 20 Descripción detallada de la invención

La invención proporciona una composición farmacéutica que comprende partículas de hidrocloreto de anagrelida, povidona, crospovidona, celulosa microcristalina, estearato magnésico, en la que al menos 90% de dichas partículas de anagrelida son menores de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro, y al menos 60 mg de monohidrato de lactosa.

25 Específicamente, la anagrelida está contenida como hidrocloreto de anagrelida en una cantidad de menos de 1 mg, preferiblemente menos de 0,70 mg, preferiblemente menos de 0,65 mg, preferiblemente entre 0,54 y 0,60 mg, preferiblemente en una cantidad de aproximadamente 0,57 mg. El HCl de anagrelida según la presente invención está presente en la forma de anagrelida micronizada que tiene un tamaño de partícula de menos de 15  $\mu\text{m}$ , preferiblemente menos de 10  $\mu\text{m}$ . Según una realización específica de la invención, el tamaño de partícula medio de la anagrelida en la preparación es aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ .

30 El uso de partículas pequeñas de menos de 15  $\mu\text{m}$ , específicamente menos de 10  $\mu\text{m}$ , de anagrelida es específicamente ventajoso para preparaciones farmacéuticas que contienen bajas concentraciones de anagrelida, ya que de ese modo se proporciona una distribución muy homogénea y/o una liberación constante del ingrediente activo cuando se administran.

35 El término "tamaño de partícula medio de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ " se define según la invención como que al menos 50% de las partículas son menores de 5  $\mu\text{m}$  y al menos 90% son menores de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Los términos anagrelida, partículas de anagrelida y HCl de anagrelida son términos usados para el compuesto activo 6,7-dicloro-1,5-dihidromonohidrocloreto de imidazo(2,1-b)quinazolin-2(3H)-ona, según la presente invención.

40 La micronización se conoce en la técnica como el procedimiento para reducir el diámetro medio de partículas de material sólido. Según la invención, la "micronización" se realiza mediante técnicas conocidas, por ejemplo mediante el método de expansión rápida de soluciones supercríticas, el método del antisolvente supercrítico y el método de las partículas procedentes de soluciones saturadas con gas. El monohidrato de lactosa puede estar contenido en una cantidad de al menos 60 mg, preferiblemente de al menos 90 mg, preferiblemente 93,9 mg.

45 La composición contiene además povidona en una cantidad entre 4 y 13 mg, preferiblemente en una cantidad de 5,5 y 6,6 mg, preferiblemente 6 mg, y crospovidona, en una cantidad entre 3,5 y 13 mg, preferiblemente en una cantidad entre 5 y 6 mg, preferiblemente en una cantidad de 5,5 mg.

La composición también contiene celulosa microcristalina. Específicamente, la presencia de pirrolidonas, más específicamente de pirrolidonas ligadas, puede contribuir a las propiedades de liberación no inmediata ventajosas de la formulación.

50 La celulosa microcristalina puede estar contenida en una cantidad entre 13 y 39 mg, preferiblemente en una cantidad entre 20 y 25 mg, preferiblemente 22,5 mg.

Sustancias farmacéuticamente aceptables adicionales muy conocidas en la técnica también pueden estar contenidas en la composición farmacéutica según la invención. Por ejemplo, estas sustancias pueden ser estearato

magnésico y lactosa anhidra.

Según una realización específica, la composición farmacéutica comprende HCl de anagrelida, monohidrato de lactosa, povidona, crospovidona, celulosa microcristalina y estearato magnésico.

Más específicamente, la composición farmacéutica comprende

- 5 0,57 mg de HCl de anagrelida
- 93,9 mg de monohidrato de lactosa
- 6,0 mg de povidona
- 5,5 mg de crospovidona
- 22,5 mg de celulosa microcristalina

- 10 1,5 mg de estearato magnésico.

Se ha observado que esta composición muestra características ventajosas en vista de las propiedades de liberación del medicamento. Los medicamentos que contienen anagrelida que se usan actualmente son medicamentos de liberación inmediata en los que más de 90% de anagrelida se libera in vitro en los diez primeros minutos. La nueva formulación de anagrelida, en contraste, libera solo aproximadamente 50% de anagrelida durante los diez primeros minutos in vitro, y pasan hasta 30 minutos para una liberación de hasta aproximadamente 90% in vitro.

- 15 Específicamente, la composición farmacéutica según la invención tiene una liberación máxima en plasma de al menos 60 minutos al administrar oralmente in vivo.

La composición de la invención se puede administrar oralmente en la forma de comprimidos o cápsulas. Según la presente realización, cápsulas como cápsulas de gelatina son una forma farmacéutica específica para la administración oral. Se ha observado que esta composición muestra características ventajosas en vista de las propiedades de liberación del medicamento. Los medicamentos que contienen anagrelida que se usan actualmente son medicamentos de liberación inmediata en los que la anagrelida se puede medir en el plasma del paciente unos pocos minutos después de la administración oral. Específicamente, en vista de la mejor tolerabilidad y la reducción de efectos secundarios negativos así como las necesidades de tratamiento a largo plazo, se prefiere tener un medicamento que sea de liberación no inmediata que dé como resultado un aporte retardado pero más constante con anagrelida. Específicamente, cuando se usa la composición farmacéutica de la invención, la anagrelida se puede medir en el plasma como máximo en plasma aproximadamente después de 60 minutos, preferiblemente después de 90 minutos, más preferiblemente después de 120 minutos después de que la composición se administre al paciente.

- 20
- 25
- 30 Específicamente en vista de una mejor tolerabilidad y una reducción de efectos secundarios negativos atribuibles a la 3-hidroxianagrelida, se prefiere tener un medicamento que sea de liberación no inmediata que dé como resultado un aporte retardado con anagrelida y de ahí niveles en plasma máximos inferiores de 3-hidroxianagrelida.

La composición que contiene HCl de anagrelida según la invención muestra además una tolerabilidad mejorada debido al hecho de que la concentración de HCl de anagrelida es baja. El contenido de anagrelida es menor de 1 mg, preferiblemente menor de 0,70 mg, preferiblemente menor de 0,65 mg, preferiblemente entre 0,54 y 0,60 mg, preferiblemente en una cantidad de 0,57 mg.

- 35

Debido a las nuevas propiedades de liberación de las composiciones de la invención, son específicamente útiles para el tratamiento de primera línea de trombocitemia esencial pero se pueden usar también para el tratamiento de segunda línea. La composición de la invención se prefiere específicamente en el tratamiento de pacientes recientemente diagnosticados, ya que habitualmente se presentan casos adversos cardiovasculares desagradables tales como palpitaciones, mareo o cefalea durante las primeras semanas de tratamiento y pueden conducir al abandono temprano de la terapia con anagrelida o una conformidad terapéutica del paciente disminuida.

- 40

Alternativamente, la composición de la invención también se puede administrar a pacientes que son intolerantes a su terapia actual o cuyas cifras de plaquetas elevadas no se reducen hasta un nivel aceptable mediante su terapia actual.

- 45

La dosis de partida recomendada es 1 mg/d durante 1 semana, y la dosis se ajusta semanalmente hasta que se consigue el control óptimo de las plaquetas. Habitualmente, se consigue una reducción de las cifras de plaquetas con una dosis de 1 a 3 mg/d.

La composición que contiene HCl de anagrelida se puede administrar varias veces al día hasta que se alcanza la dosis para conseguir la reducción de las cifras de plaquetas, específicamente se administra por la mañana y por la noche.

- 50

Los ejemplos descritos en esta memoria son ilustrativos de la presente invención y no pretenden ser limitaciones de la misma. Diferentes realizaciones de la presente invención se han descrito según la presente invención. Se pueden realizar muchas modificaciones y variaciones de las técnicas descritas e ilustradas en esta memoria sin apartarse del espíritu y el alcance de la invención. Según esto, se debe entender que los ejemplos son solo ilustrativos y no limitan el alcance de la invención.

### Ejemplos

Estudio de disolución in vitro:

El análisis se realizó según la Farmacopea Europea (método 2.9.3, (36)) "prueba de disolución para formas de dosificación sólidas" a través del método del álabo, que requiere que la forma de dosificación sólida se introduzca en el aparato que contiene un medio apropiado (500 ml) a 37 +/- 0,5°C y una velocidad de funcionamiento definida para el álabo. Para probar los perfiles de disolución de la presente y la nueva formulación, respectivamente, para cada experimento una cápsula de 0,5 mg se introdujo en el aparato que contiene un medio (HCl 0,1 M, que contiene 0,1% de SDS para mejorar la solubilidad de la anagrelida). Se tomaron muestras a los 0, 5, 10, 15, 30 y 60 minutos a partir de 6 experimentos por formulación y se analizaron mediante HPLC. Los resultados se presentan como % +/- DE de anagrelida liberada a partir de la cantidad nominal contenida en la cápsula y los perfiles de disolución se analizaron mediante la prueba de la t de Student para comparaciones de datos emparejados.

Estudio farmacocinético:

Se realizó un estudio farmacocinético para comparar la biodisponibilidad de la presente y la nueva formulación de anagrelida en un estudio cruzado con doble enmascaramiento, de monodosis, en dos períodos (período de reposo farmacológico 7 días) a una dosis de 2 mg (4 x 0,5 mg administrados oralmente como una dosis). Los voluntarios eran 24 hombres y mujeres sanos en ayunas con criterios de inclusión y exclusión como los recomendados por las respectivas directrices (37). Se efectuó un cribado clínico y de laboratorio, se tomaron los signos vitales y se realizó un examen físico. El tamaño de muestra estimado de al menos 24 sujetos daba una potencia de > 0,8 con un CV < 0,235 para el intervalo de bioequivalencia de 80-120%. Un código de aleatorización era generado por el bioestadístico según el cual a los voluntarios se les asignaba a un tratamiento con la nueva y la presente formulación, en orden aleatorio. El cumplimiento del tratamiento se aseguraba mediante procedimientos con garantía de calidad. Los puntos temporales para la recogida de sangre eran antes de la dosificación (a la 0 h), y 20 min., 40 min., 1 h, 1 h 20, 1 h 40, 2 h, 2 h 30, 3 h, 3 h 30, 4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 12 h y 24 h después de la administración del fármaco. Las muestras de sangre se centrifugaron inmediatamente durante 10 min. a 3.000 rpm a +4°C. Los casos adversos fueron registrados por personal de investigación clínica que ignoraba el tratamiento. El plan estadístico definía que todos los parámetros principales, es decir, los parámetros farmacocinéticos, se habían de presentar con un IC de 90%, y para todos los parámetros adicionales se usó estadística descriptiva. Los parámetros farmacocinéticos (ABC<sub>0-∞</sub>, C<sub>máx</sub>, t<sub>máx</sub>, y t<sub>1/2</sub>) se calcularon con Kinética 2000® Versión 4.2 (Innaphase Clinical Information Engineering, Filadelfia, PA, EE. UU. de A.). El análisis estadístico con respecto a la bioequivalencia de las dos formulaciones se realizó mediante análisis de la varianza (ANOVA) sobre valores de parámetros buscados a fin de estimar el error residual y así construir intervalos de confianza que incluyen la evaluación de la presencia de efectos del período o la secuencia. Se usaron los siguientes programas: para el análisis estadístico SAS® Versión 8.1 (SAS® Institute, Cary, NC, EE. UU. de A.), para la prueba de la distribución de normalidades de los datos de parámetros farmacocinéticos calculados SAS® PROC INSIGHT (Prueba de Distribución), para los cálculos de ANOVA de los datos de parámetros farmacocinéticos SAS® PROC GLM (Modelos Lineales Generales) o PROC MIXED (Modelos Mixtos) y para los análisis no paramétricos de t<sub>máx</sub> el EQUIV-Test® (Statistical Solutions, Broadway, MA, EE. UU. de A.). La bioequivalencia se determinó según las directrices actuales con límites predeterminados de 80 a 125% para los IC de fármacos de Prueba/Referencia para C<sub>máx</sub> y AUC<sub>0-∞</sub> con una potencia de 80% (37). El número de casos adversos totales se analizó mediante una prueba de la T de Student para datos emparejados. (Tabla 1).

Tabla 1: Disolución in vitro de dos formulaciones de anagrelida en HCl 0,1 M/0,1% de SDS.

Tiempo (min.)	nueva formulación		presente formulación		valor P*
	%	DE	%	DE	
0	0,0	0,0	0,0	0,0	
5	23,6	8,6	89,1	2,4	<0,05
10	57,6	9,3	95,7	0,6	<0,05
15	77,4	8,1	95,9	0,5	<0,05
30	93,6	4,2	95,4	0,5	n.s
60	92,0	2,4	94,9	0,5	n.s

\*Prueba de la T de Student para comparaciones de datos emparejados

5 Cuando se comparaban los niveles en plasma de anagrelida en 24 voluntarios después de la ingestión de las nuevas o las presentes formulaciones de anagrelida, se hacían evidentes diferentes perfiles para ambas formulaciones de fármaco: la concentración máxima en plasma ( $C_{m\acute{a}x}$ ) y el área bajo la curva ( $ABC_{0-\infty}$ ) eran significativamente inferiores ( $p < 0,001$ ) para la nueva formulación cuando se comparaba con la presente formulación (estimador puntual (EP) 66%, intervalos de confianza (IC) de 90% 58-76% y EP 77%, IC 90% 69-87%, respectivamente), estando así lejos del intervalo requerido por las directrices europeas con respecto a la bioequivalencia (de 80 a 125%) (12) (Figura 1).

10 Los perfiles farmacocinéticos de la 3-hidroxianagrelida después de la ingestión de la nueva formulación también eran inferiores para la  $C_{m\acute{a}x}$  (EP 80%; IC 90% 67-84%,  $p < 0,001$ ) y valores del  $ABC_{0-\infty}$  inferiores (EP 82%; IC 90% 75-87%,  $p < 0,001$ ) en comparación con la presente formulación. Los niveles máximos de 3-hidroxianagrelida después de la presente formulación se alcanzaban en una hora (Figura 2). En contraste, después de la ingestión de la nueva formulación se observaba un retardo de 60 minutos.

15 Se presentaba un total de 75 casos adversos en todo el estudio; 46 se producían en el grupo de la presente formulación frente a 29 en el grupo de la nueva formulación ( $p=0,05$ , Prueba de la T de Student). La diferencia en la casos era la más relevante para la cefalea (19 frente a 9) y el mareo (12 frente a 7) (Tabla 2).

Tabla 2: Casos adversos en 24 voluntarios sanos después de una sola dosis de 2 mg de la nueva o la presente formulación de anagrelida.

	nueva formulación	presente formulación	Total
Número de casos adversos	29	46	75*
Voluntarios que refieren casos adversos	16	15	19
Cefalea	9	17	26
Mareo	7	12	19
Palpitaciones	7	6	13
Náuseas	3	7	10
Vómitos	2	2	4
Dolor abdominal		1	1
Dismenorrea	1		1
Síntomas gripales	1		1
Hiperbilirrubinemia		1	1
Anormalidad en el número de leucocitos	1		1

\* $p=0,05$  (prueba de la T de Student)

REFERENCIAS:

1. GRIESSHAMMER, M., BANGERTER, M., SAUER, T., WENNAUER, R., BERGMANN, L., HEIMPEL, H. (1999). Aetiology and clinical significance of thrombocytosis: analysis of 732 patients with an elevated platelet count. *Journal of Internal Medicine* 245, 295-300
2. MURPHY, S., PETERSON, P., ILAND, H., LASZLO, J. (1997). Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Semin Hematol* 34, 29-39.
3. IMBERT, M., PIERRE, R., THIELE, J., VARDIMAN, J. W., BRUNNING, R. D., FLANDRIN, G. (2001). *Essential thrombocythemia* (Lyon: IARC Press).
4. TEFFERI A, THIELE J, ORAZI A, KVASNICKA HM, BARBUI et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis. Recommendations from an ad hoc international panel. *Blood*. 2007; 110:1092-1097.
5. THIELE, J., AND KVASNICKA, H. M. (2003). Chronic myeloproliferative disorders with thrombocythemia: a comparative study of two classification systems (PVSG, WHO) on 839 patients. *Ann Hematol* 82, 148-152. Epub 2003 Feb 2022.
6. THIELE, J., KVASNICKA, H. M., FISCHER, R. (1999). Histochemistry and morphometry on bone marrow biopsies in chronic myeloproliferative disorders - aids to diagnosis and classification. *Ann Hematol* 78, 495-506.
7. THIELE, J., KVASNICKA, H. M., ZANKOVICH, R., DIEHL, V. (2000). Relevance of bone marrow features in the differential diagnosis between essential thrombocythemia and early stage idiopathic myelofibrosis. *Haematologica* 85, 1126-1134.
8. SCHAFER, A. I. (2004). Thrombocytosis. *N Engl J Med* 350, 1211-1219.
9. BARBUI, T., BAROSI, G., GROSSI, A., GUGLIOTTA, L., LIBERATO, L. N., MARCHETTI, M., MAZZUCCONI, M. G., RODEGHIERO, F., TURA, S. (2004). Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 89, 215-232.
10. BARBUI, T., FINAZZI, G., DUPUY, E., KILADJIAN, J. J., AND BRIERE, J. (1996). Treatment strategies in essential thrombocythemia. A critical appraisal of various experiences in different centers. *Leuk Lymphoma* 22 *Suppl* 1:149-60.
11. CORTELAZZO, S., FINAZZI, G., RUGGERI, M., VESTRI, O., GALLI, M., RODEGHIERO, F., BARBUI, T. (1995). Hydroxyurea for Patients with Essential Thrombocythemia and a High Risk of Thrombosis. *N Engl J Med* 332, 1132.



12. CORTELAZZO, S., VIERO, P., FINAZZI, G., D'EMILIO, A., RODEGHIERO, F., BARBUI, T. (1990). Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 8, 556.
13. HARRISON, C. N. (2002). Current trends in essential thrombocythaemia. *British Journal of Haematology* 117, 796-808.
14. LENGFELDER, E., HOCHHAUS, A., KRONAWITTER, U., HOCH, D., QUEISSER, W., JAHN-EDER, M., BURKHARDT, R., REITER, A., ANSARI, H., HEHLMANN, R. (1998). Should a platelet limit of  $600 \times 10^9/l$  be used as a diagnostic criterion in essential thrombocythaemia? An analysis of the natural course including early stages. *British Journal of Haematology* 100, 15-23.
15. HARRISON, C. N., GALE, R. E., MACHIN, S. J., LINCH, D. C. (1999). A Large Proportion of Patients With a Diagnosis of Essential Thrombocythemia Do Not Have a Clonal Disorder and May Be at Lower Risk of Thrombotic Complications. *Blood* 93, 417.
16. MILLARD, F. E., HUNTER, C. S., ANDERSON, M., EDELMAN, M. J., KOSTY, M. P., LUIKEN, G. A., MARINO, G. G. (1990). Clinical manifestations of essential thrombocythemia in young adults. *Am J Hematol* 33, 27-31.
17. JOHNSON, M., GERNESHEIMER, T., JOHANSEN, K. (1995). Essential thrombocytosis: underemphasized cause of large-vessel thrombosis. *J Vasc Surg* 22, 443-447; discussion 448-449.
18. LAHUERTA-PALACIOS, J. J., BORNSTEIN, R., FERNANDEZ-DEBORA, F. J., GUTIERREZ-RIVAS, E., ORTIZ, M. C., LARREGLA, S., CALANDRE, L., MONTERO-CASTILLO, J. (1988). Controlled and uncontrolled thrombocytosis. Its clinical role in essential thrombocythemia. *Cancer* 61, 1207-1212.
19. LENGFELDER, E., GRIESSHAMMER, M., HEHLMANN, R. (1996). Interferon-alpha in the treatment of essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 22 Suppl 1:135-42.
20. GILLESPIE, E. (1988). Anagrelide: a potent and selective inhibitor of platelet cyclic AMP phosphodiesterase enzyme activity. *Biochem Pharmacol* 37, 2866-2868.
21. SPENCER, C. M., BROGDEN, R. N. (1994). Anagrelide. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in the treatment of thrombocythaemia. *Drugs* 47, 809-822.
22. MAZUR, E., ROSMARIN, A., SOHL, P., NEWTON, J., NARENDHAN, A. (1992). Analysis of the mechanism of anagrelide-induced thrombocytopenia in humans. *Blood* 79, 1931.
23. TEFFERI, A., SILVERSTEIN, M. N., PETITT, R. M., MESA, R. A., SOLBERG, L. A. J. (1997). Anagrelide as a new platelet-lowering agent in essential thrombocythemia: mechanism of action, efficacy, toxicity, current indications. *Semin Thromb Hemost* 23, 379-383.

24. ERUSALIMSKY, J. D., HONG, Y., FRANKLIN, R. (2002). Is the platelet lowering activity of anagrelide mediated by its major metabolite 2-amino-5,6-dichloro-3,4-dihydroquinazoline (RL603)? *Exp Hematol* 30, 625-626; author reply 626-627.
25. LANE, W. J., HATTORI, K., DIAS, S., PEERSCHKE, E. I., MOORE, M. A., BLANSET, D. L., LANG, P. C., PETRONE, M., RAFII, S. (2001). Anagrelide metabolite induces thrombocytopenia in mice by inhibiting megakaryocyte maturation without inducing platelet aggregation. *Exp Hematol* 29, 1417-1424.
26. WANG, G., FRANKLIN, R., HONG, Y., ERUSALIMSKY, J. D. (2005). Comparison of the biological activities of anagrelide and its major metabolites in haematopoietic cell cultures. *Br J Pharmacol*.
27. GAVER RC, DEEB G, PITTMANi KA, SMYTH RD. Disposition of anagrelide, an inhibitor of platelet aggregation. *Clin Pharmacol Ther*. 1981; 29:381 - 6
28. McCARTY JM, MELONE PD, SIMANIS JP, KANAMORI D, DESSYPRIS EN, WARSHAMANA, GREENE GS. A preliminary investigation into the action of anagrelide: thrombopoietin-c-Mpl receptor interactions. *Exp Hematol*. 2006 34:87-96
29. STEURER M, GASTL G, JEDRZEJCZAK WW, PYTLIK R, LIN W, SCHLOGL E et al. Anagrelide for thrombocytosis in myeloproliferative disorders: a prospective study to assess efficacy and adverse event profile. *Cancer*. 2004; 101:2239 - 46
30. BIRGEGARD G, BJORKHOLM M, KUTTI J, LARFARS G, LOFVENBERG E, MARKEVAN B et al. Adverse effects and benefits of two years of anagrelide treatment for thrombocythemia in chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica*. 2004; 89:520- 7
31. HARRISON CN, CAMPBELL PJ, BUCK G, WHEATLEY K, EAST CL, BAREFORD D et al. United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005; 353:33 - 45
32. BEAVO JA. cGMP inhibition of heart phosphodiesterase: is it clinically relevant? *J Clin Invest*. 1995; 95:445
33. JAMES CW. Anagrelide-induced cardiomyopathy. *Pharmacotherapy*. 2000; 20:1224-7
34. ENGEL PJ, JOHNSON H, BAUGHAM RP, RICHARDS AI. High-output heart failure associated with anagrelide therapy for essential thrombocytosis. *Ann Intern Med*. 2005; 143:311-3
35. PACKER M, CARVER JR, RODEHEFFER RJ, IVANHOE RJ, DiBIANCO R, ZELDIS SM et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group. *N Engl J Med*. 1991; 325: 1468-75
36. European Pharmacopea, 6th edition, 2008, Chapter 2.9.3, 267, Apparatus 2

37. Note for Guidance for the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence  
(CPMP/EWP/QWP/1401/98 (July 2001),  
<http://www.emea.eu.int/pdfs/human/ewp/140198en.pdf>

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición farmacéutica que está en la forma de un comprimido o una cápsula que comprende partículas de anagrelida, povidona, crospovidona, celulosa microcristalina, estearato magnésico y al menos 60 mg de monohidrato de lactosa, en la que al menos 90% de dichas partículas de anagrelida son menores de 10 µm de diámetro.
2. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende anagrelida en una cantidad de menos de 1 mg, preferiblemente menos de 0,70 mg, preferiblemente menos de 0,65 mg, preferiblemente entre 0,54 y 0,60 mg, preferiblemente en una cantidad de 0,57 mg.
- 10 3. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, que comprende al menos 60 mg, preferiblemente al menos 90 mg, más preferiblemente al menos 93,9 mg de monohidrato de lactosa.
4. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la anagrelida tiene un tamaño de partícula medio de aproximadamente 5 µm.
- 15 5. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende povidona en una cantidad de 4 a 13 mg, preferiblemente en una cantidad de 5,5 a 6,6 mg, preferiblemente en una cantidad de 6 mg.
6. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende crospovidona en una cantidad de 3,5 a 13 mg, preferiblemente en una cantidad entre 5 y 6 mg, preferiblemente en una cantidad de 5,5 mg.
- 20 7. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende celulosa microcristalina.
8. Una composición farmacéutica según la reivindicación 7, que comprende al menos 15 mg, preferiblemente al menos 20 mg, preferiblemente al menos 22,5 mg de celulosa microcristalina.
- 25 9. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende vehículos farmacéuticamente aceptables, seleccionados preferiblemente del grupo que consiste en crospovidona, povidona y estearato magnésico.
10. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que tiene una liberación máxima en plasma de al menos 60 minutos al administrar oralmente.
- 30 11. Una composición farmacéutica que comprende 0,57 mg de HCl de anagrelida, 93,9 mg de monohidrato de lactosa, 6 mg de povidona, 5,5 mg de crospovidona, 22,5 mg de celulosa microcristalina y 1,5 mg de estearato magnésico.
12. Uso de una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la trombocitemia esencial.
- 35 13. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para el uso en el tratamiento de la trombocitemia esencial.

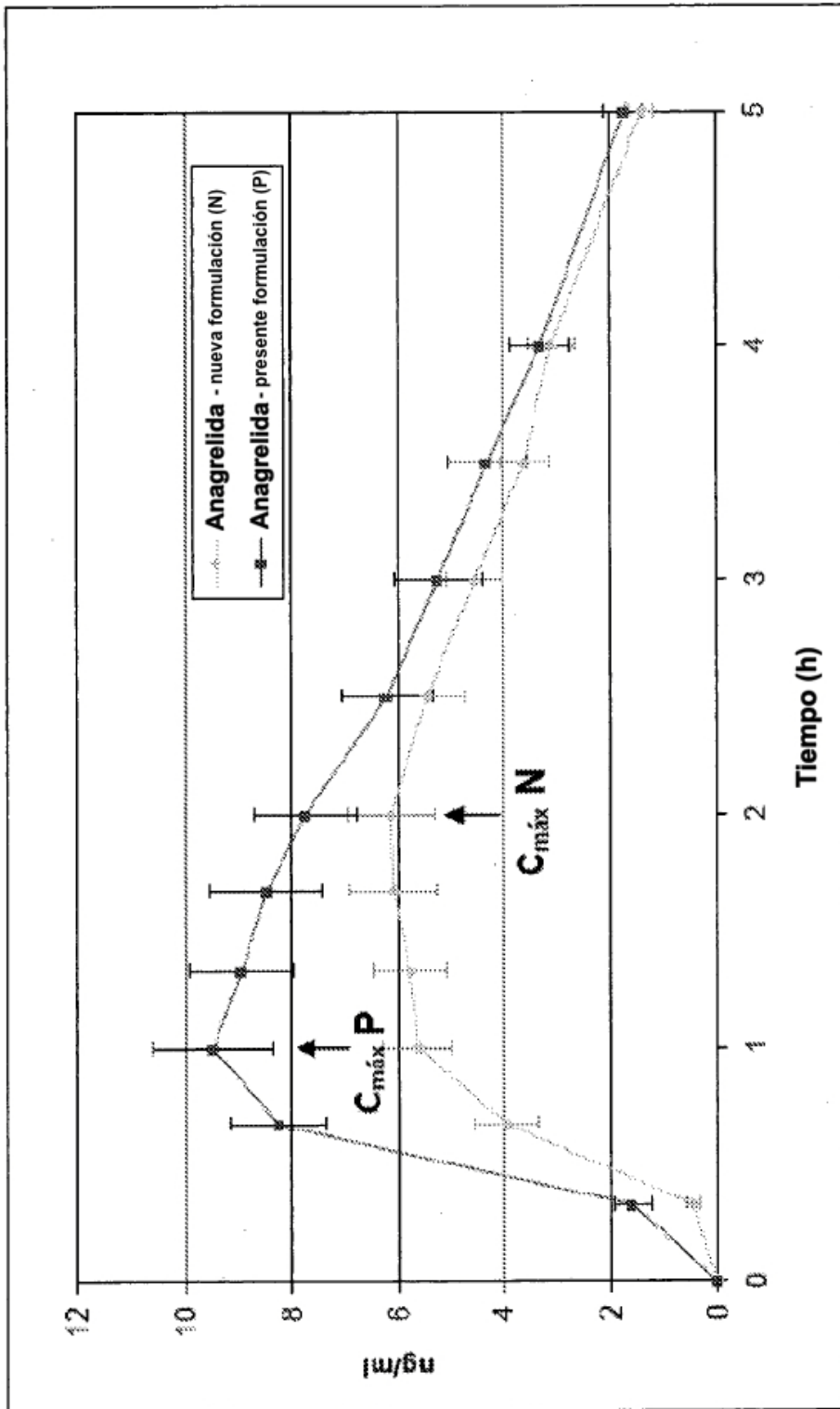


Fig. 1

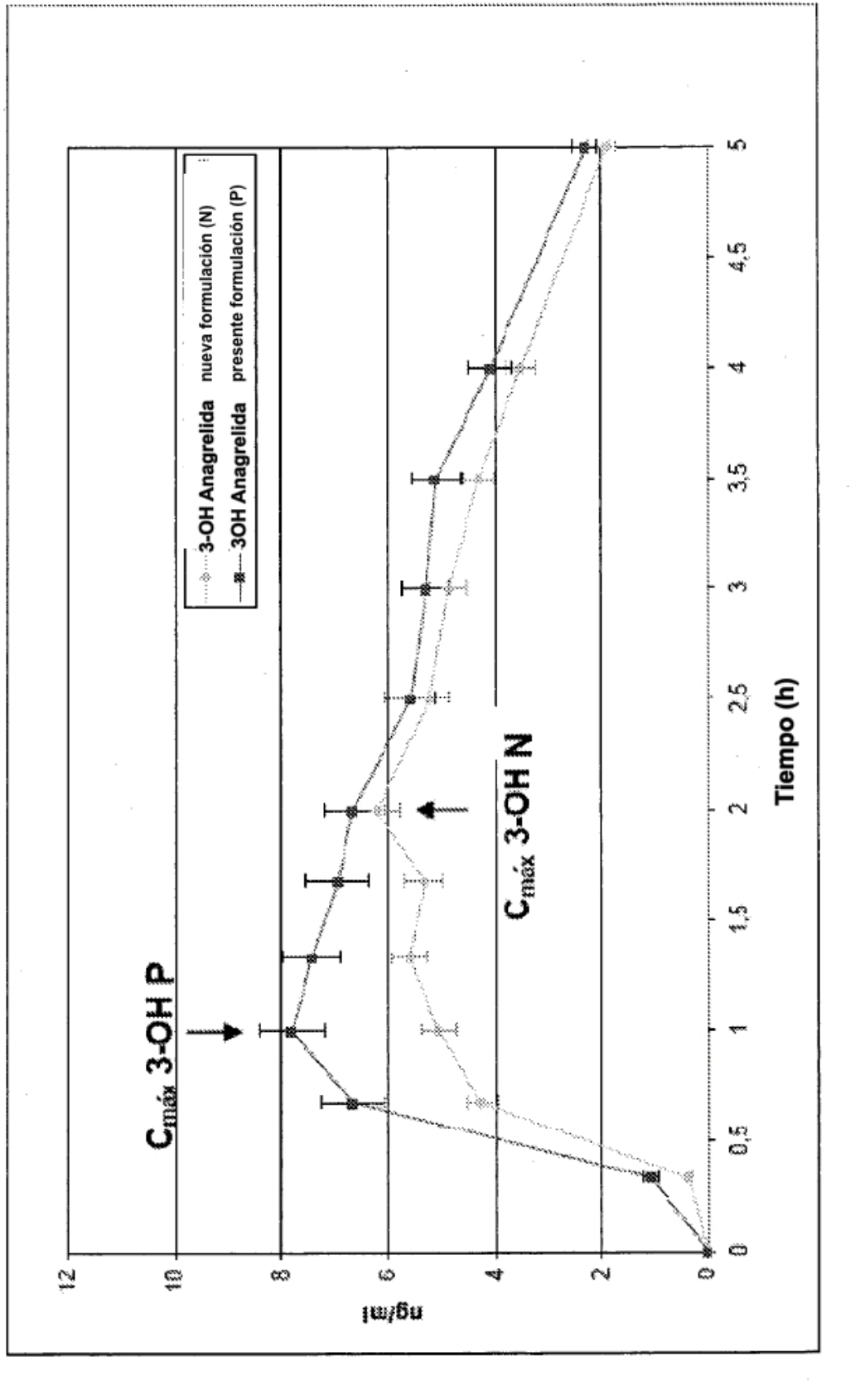


Fig. 2