

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 704**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

**A61K 9/50** (2006.01)

**A61K 38/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2011 E 11702645 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2015 EP 2533758**

54 Título: **Pellets farmacéuticos administrables por vía oral de factor de crecimiento epidérmico**

30 Prioridad:

**12.02.2010 EP 10382033**

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

**11.06.2015**

73 Titular/es:

**CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA (CIGB) (50.0%)  
Avenida 31 entre 158 y 190 Cubanacán  
Playa, Ciudad De La Habana 10 600, CU y  
BIOREC S.A. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**UBIETA GÓMEZ, RAIMUNDO;  
AGUILERA BARRETO, ANA;  
MARTÍNEZ DÍAZ, EDUARDO;  
PAEZ MEIRELES, ROLANDO y  
SERENO GUERRA, ANTONIO**

74 Agente/Representante:

**ZEA CHECA, Bernabé**

ES 2 537 704 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

Pellets farmacéuticos administrables por vía oral de factor de crecimiento epidérmico

### CAMPO DE LA INVENCIÓN

5 La presente invención se refiere a un pellet farmacéutico administrable por vía oral de factor de crecimiento epidérmico (EGF), a cápsulas que lo contienen, a sus procesos de preparación y a su uso para el tratamiento de colitis ulcerosa.

### ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

10 La colitis ulcerosa (CU) es una forma de una enfermedad inflamatoria del intestino (EII) con un supuesto componente genético. Esto produce una respuesta anormal del sistema inmune contra antígenos intraluminales cuyo síntoma principal es una inflamación crónica del tracto gastrointestinal acompañado de destrucción tisular.

15 Aunque no hay cura para la CU, la modificación de la dieta puede reducir las molestias de una persona con la enfermedad y, además, también está indicado el tratamiento con medicamentos que pueden estabilizar al paciente. Comúnmente se usan medicamentos tales como fármacos antiinflamatorios (es decir, 5-aminosalicilato y corticosteroides), antibióticos e inmunomoduladores (es decir, azatioprina, 6-mercaptopurina, ciclosporina y metotrexato) y agentes inmunosupresores. Una desventaja de estos medicamentos es que inducen una supresión inespecífica del proceso inflamatorio, lo cual provoca efectos secundarios gastrointestinales tales como náuseas, diarrea, dolor abdominal, dolor de cabeza y reducción de la respuesta inmune del paciente. Estos efectos secundarios gastrointestinales aumentan el riesgo de sufrir infecciones, leucocitopenia o alteraciones hepáticas y pancreáticas, así como osteoporosis, distrofia muscular y debilidad en el tratamiento a largo plazo con corticosteroides.

20 El tratamiento de la CU principalmente se basa en el uso de ácido 5-aminosalicílico (5-AAS) como ingrediente activo. Un problema del tratamiento con 5-AAS es la mala absorción del ingrediente activo en el tracto del colon, que provoca que sean difíciles de conseguir las concentraciones terapéuticas efectivas. Por lo tanto, se han diseñado nuevas formulaciones de 5-AAS que aumentan la absorción del ingrediente activo. Estas formulaciones incluyen microesferas, dímeros o conjugados de 5-AAS que, desafortunadamente, siguen conservando los mismos efectos secundarios gastrointestinales.

25 Un tratamiento alternativo para la restauración de la lesión tisular en la CU es la administración de péptidos, en particular factores citoprotectores que se secretan de forma natural en la mucosa intestinal para restaurar su integridad. Estos factores pueden ser el factor de crecimiento transformante (TGF) alfa y beta, el factor trefoil, el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), la interleucina 11 (IL11) y un factor de crecimiento.

30 En la técnica se conocen formulaciones de liberación controlada de algunos factores citoprotectores para su administración oral de manera que se liberen en el lumen intestinal. De esta manera, el documento US 2007/26082 describe un pellet farmacéutico oral multiparticulado que está formado por una capa de matriz interna que contiene péptidos embebidos en una matriz formada por un polímero con características mucoadhesivas.

35 El EGF es un factor de crecimiento que juega un papel importante en la regulación del crecimiento, proliferación y diferenciación de las células por su unión al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). El EGF humano es una proteína de 6045 Da con 53 restos aminoacídicos y tres enlaces disulfuro intramoleculares. La unión de alta afinidad de EGF al EGFR en la superficie celular estimula la actividad proteína-tirosina quinasa intrínseca del receptor. La actividad tirosina quinasa inicia una cascada de transducción de señales que tiene como resultado un aumento de los niveles de calcio intracelulares, aumenta la glicólisis y la síntesis de proteínas y también aumenta la expresión de ciertos genes incluyendo el gen de EGFR, lo cual da como resultado la síntesis de ADN y la proliferación celular.

40 El EGF se ha usado previamente en terapia. Por ejemplo, el EGF se ha administrado por vía oral por su efecto cicatrizante en lesiones gastroduodenales porque el EGF actúa antes de degradarse por las condiciones ácidas del estómago. Además, el EGF se ha usado para el tratamiento de la CU sólo cuando se administra por medio de un enema. Se ha demostrado que esta vía no es efectiva en el tratamiento de la CU en la parte ascendente del tracto del colon. Además, la administración subcutánea de EGF solo o en combinación con el factor trefoil ha mostrado su efectividad en la restauración de heridas y en el tratamiento de la CU.

45 El EGF, debido a su naturaleza peptídica, puede modificar espontáneamente su estructura durante un envasado prolongado o en contacto con fluidos biológicos. Esta modificación puede comprometer su semivida y su actividad biológica. Las vías más probables de degradación del EGF son la oxidación de restos de metionina, la desaminación

de restos de asparagina y la formación de la succinamida en la posición de restos de ácido aspártico. Además, la exposición de EGF a algunos excipientes durante las condiciones de fabricación o almacenamiento de una formulación farmacéutica, es decir, la temperatura, el tiempo, la intensidad de radiación o la humedad, pueden provocar la desnaturalización de la estructura terciaria y cuaternaria (estructura nativa) o la fragmentación de la cadena peptídica promoviendo la respuesta del sistema inmune contra el EGF.

Por lo que se conoce en la técnica, se deduce que aún existe la necesidad de proporcionar composiciones farmacéuticas orales estables de factor de crecimiento epidérmico donde el ingrediente activo tenga una liberación controlada en todo el tracto del colon después de un paso rápido a través del estómago.

#### RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Los inventores han descubierto que un pellet farmacéutico para administración oral que comprende el factor de crecimiento epidérmico y metionina o piro-sulfato potásico ( $K_2S_2O_7$ ) como antioxidante, tiene un perfil de disolución apropiado y muestra una buena estabilidad del ingrediente activo al estar protegido de la inactivación física o proteolítica. Además, es ventajoso debido al mayor espaciado entre tomas, la reducción del riesgo de efectos secundarios gastrointestinales, la reducción del tratamiento y la mejor aceptación por los pacientes de las posologías administradas por vía oral.

De esta manera, un aspecto de la presente invención se refiere a un pellet farmacéutico administrable por vía oral que comprende un núcleo y un recubrimiento entérico, donde el núcleo comprende el EGF y un antioxidante que contiene azufre seleccionado entre metionina y piro-sulfato potásico. Ambos antioxidantes son sólidos solubles en agua. Ambos antioxidantes tienen carácter iónico, la metionina está en forma zwitteriónica a pH neutro, lo que significa que contiene un centro aniónico y un centro catiónico en la misma molécula, y el piro-sulfato potásico es una sal iónica compuesta de cationes de potasio y aniones de piro-sulfato.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un proceso para la preparación del pellet como se ha definido anteriormente, que comprende: (a) recubrir el núcleo inerte mediante pulverización de una suspensión acuosa que comprende el factor de crecimiento epidérmico, el antioxidante y excipientes farmacéuticamente aceptables; (b) secar la capa activa formada en la etapa (a); (c) recubrir el núcleo recubierto de la etapa (b) mediante pulverización de una suspensión que comprende un polímero de recubrimiento entérico y excipientes farmacéuticamente aceptables; (d) secar el pellet recubierto formado en la etapa (c); donde la temperatura de cada etapa del proceso es de hasta 40°C.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una cápsula farmacéutica que comprende los pellets definidos anteriormente.

Finalmente, otro aspecto de la presente invención se refiere al pellet farmacéutico de la presente invención para el uso en el tratamiento de la colitis ulcerosa.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Todos los términos usados en esta solicitud, a menos que se indique otra cosa, se entenderán en su significado habitual conocido en la técnica. A continuación se exponen otras definiciones más específicas para ciertos términos como se usan en la presente solicitud y deben aplicarse uniformemente a lo largo de toda la descriptiva y las reivindicaciones a menos que una definición expuesta expresamente de otra manera proporcione una definición más amplia.

El término "relación molar" se refiere a la relación de moles de factor de crecimiento epidérmico con respecto a los moles de antioxidante necesarios para proteger el ingrediente activo de la degradación o inactivación.

El término "aglutinante" se refiere a un material que imparte cohesividad a materiales en polvo mejorando las cualidades de fluidez en la fabricación de comprimidos o pellets. Los materiales usados comúnmente como aglutinantes incluyen almidón, gelatina, azúcares, alginato sódico, carboximetilcelulosa, metilcelulosa o polivinilpirrolidina.

El término "agente alcalino" puede seleccionarse entre un compuesto con reacción alcalina tal como sales de sodio; potasio; calcio; magnesio y aluminio de ácido fosfórico, ácido carbónico, ácido cítrico; compuestos mixtos de aluminio/magnesio de  $Al_2O_3 \cdot 6MgO \cdot CO_2 \cdot 12H_2O$  o  $MgO \cdot Al_2O_3 \cdot 2SiO_2 \cdot nH_2O$  donde n es el número entero 2 o mayor, o compuestos similares y aminoácidos con reacción alcalina. Además, el material alcalino puede ser un material antiácido tal como hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio u óxido de magnesio.

El término "deslizante" se refiere a un material que mejora las características de fluidez de mezclas de polvo en estado seco. Los materiales usados comúnmente como deslizantes incluyen estearato de magnesio, dióxido de silicio coloidal o talco.

El término “tensioactivo” se refiere a un material que reduce la tensión superficial de un líquido y la tensión interfacial entre dos líquidos, facilitando su extensión. Los materiales usados comúnmente como tensioactivos incluyen lauril sulfato sódico (LSS) o monoetiléter de dietilenglicol.

5 El término “porcentaje (%) en peso” se refiere al porcentaje de cada ingrediente de la composición farmacéutica en relación con el peso total del pellet.

El término “núcleo inerte” se refiere a gránulos neutros microesféricos que pueden tener en su composición una o más de las siguientes sustancias: sorbitol, manitol, sacarosa, almidón, celulosa microcristalina, lactosa, glucosa, trehalosa, maltitol o fructosa. El tamaño inicial de este núcleo inerte puede estar comprendido entre 200 y 1800 micrómetros.

10 El término “factor de crecimiento epidérmico humano” se refiere al EGF que tiene esa secuencia polipeptídica, o cualquier parte sustancial de la misma. EGF humano también se refiere a cualquier variante de EGF humano, tal como gamma-urogastrona. El EGF puede aislarse a partir de fuentes naturales, producirse usando técnicas de ADN recombinante o prepararse por síntesis química. Se contempla que en la presente invención pueden usarse fragmentos biológicamente activos, análogos o derivados del EGF sintetizados químicamente por el hombre en lugar de la molécula natural entera, siempre que dichos fragmentos, análogos o derivados conserven la actividad biológica del EGF natural. Como se usa en el presente documento, EGF incluye el EGF producido por cualquiera de los métodos mencionados anteriormente y cualquier fragmento bioactivo, análogos o derivados y polipéptidos relacionados de los mismos.

20 El término “análogo” de EGF se refiere a cualquier polipéptido que tenga una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a EGF, en el que uno o más aminoácidos se han sustituido por aminoácidos químicamente similares. El término “análogo” también incluirá cualquier polipéptido que tenga uno o más aminoácidos eliminados o añadidos al polipéptido de EGF, pero que aún conserve una homología de secuencia de aminoácidos sustancial con EGF. Una homología de secuencia sustancial es cualquier homología mayor del 50 por ciento. El término “fragmento” de EGF se refiere a cualquier versión más corta de EGF que tiene al menos 10 restos aminoacídicos y que tiene la misma bioactividad que EGF. La frase “derivado químico” se refiere a cualquier polipéptido derivado del polipéptido de EGF natural en el que uno o más aminoácidos se han derivatizado químicamente de forma sintética por reacción de grupos laterales funcionales de los aminoácidos (es decir, deriva de la molécula de EGF parental mediante una o más etapas).

30 Una “cantidad farmacéuticamente efectiva” de EGF se refiere a la cantidad que proporciona un efecto terapéutico en diversos regímenes de administración.

El término “recubrimiento entérico” se refiere a cualquier recubrimiento farmacéuticamente aceptable que previene la liberación del ingrediente activo en el estómago.

35 El término “polímero” se refiere a una molécula que contiene una pluralidad de unidades monoméricas unidas covalentemente, e incluye polímeros ramificados, dendriméricos, en estrella y lineales. El término también incluye homopolímeros y copolímeros, así como polímeros no reticulados y polímeros reticulados de una forma ligera a moderada o reticulados sustancialmente.

40 Los términos “polímero de liberación modificada” y “polímero de suministro modificado” tienen el mismo significado y son intercambiables. Ambos términos deben entenderse como polímeros que permiten la liberación del fármaco a una velocidad y/o localización predeterminada de acuerdo con las necesidades del cuerpo y los estados de enfermedad durante un periodo de tiempo definido. Son ejemplos ilustrativos pero no limitantes de “polímero de liberación modificada” y “polímero de suministro modificado” polímeros que proporcionan una liberación controlada, una liberación sostenida, una liberación prolongada o una liberación extendida.

45 Como se ha mencionado anteriormente, un aspecto de la presente invención se refiere a un pellet farmacéutico administrable por vía oral que comprende un núcleo y un recubrimiento entérico, donde el núcleo comprende el factor de crecimiento epidérmico y un antioxidante que contiene azufre seleccionado del grupo que consiste en metionina y  $K_2S_2O_7$ .

50 La composición del núcleo del pellet permite tener concentraciones efectivas en todo el tracto intestinal. El recubrimiento externo evita la hidrólisis del EGF en el estómago y permite que el EGF alcance el sitio diana del tracto intestinal en su conformación activa y nativa. En consecuencia, el EGF es estable durante el proceso de preparación de la composición farmacéutica, durante el envasado y después de la administración. Esto es ventajoso porque, generalmente, los péptidos pueden degradarse por la oxidación de ciertos restos de la cadena peptídica en presencia de oxígeno, siendo especialmente susceptibles a condiciones de degradación cuando están en formulaciones en forma líquida debido al hecho de que normalmente se envasan en recipientes de plástico permeables al oxígeno.

El perfil de disolución diana comprende que se disuelve menos del 3% del EGF en 2 horas cuando se somete a las condiciones del estómago (es decir, HCl 0,1 N) y se disuelve al menos más del 60% del EGF después de 6 horas cuando se somete a las condiciones del colon (etapa tamponada) (véase el Ejemplo 4, Tabla 3).

5 Por lo tanto, el perfil de disolución controlada necesario de EGF que mantiene sus concentraciones terapéuticas eficaces en todo el tracto intestinal después de su administración oral, se consigue mediante un pellet que comprende un núcleo y un recubrimiento entérico externo, donde el núcleo comprende una capa activa interna que contiene el factor de crecimiento epidérmico y un antioxidante que contiene azufre seleccionado del grupo que consiste en metionina y  $K_2S_2O_7$  alrededor de un núcleo inerte.

10 En una realización preferida, la relación molar entre el EGF y el antioxidante como se ha definido anteriormente es desde 1:10 hasta 1:670. En una realización más preferida, la relación molar es desde 1:15 hasta 1:100. En otra realización preferida, la relación molar es desde 1:20 hasta 1:80. En otra realización más preferida, la relación molar es desde 1:25 hasta 1:60. Preferiblemente, la relación molar entre EGF y metionina es 1:30 y la relación molar entre EGF y  $K_2S_2O_7$  es 1:30. La relación molar mencionada entre el ingrediente activo y el antioxidante contribuye a asegurar la estabilidad del EGF en los pellets de la presente invención para mantener su conformación nativa.

15 Los pellets de la presente invención pueden contener excipientes farmacéuticos adicionales. Los excipientes deben seleccionarse entre los que no degradan el factor de crecimiento epidérmico para preparar los pellets farmacéuticos administrables por vía oral de la invención.

20 En una realización preferida, el núcleo del pellet además comprende un aglutinante, un agente alcalino, un deslizante, un tensioactivo o mezclas de los mismos. Los pellets de la presente invención podrían estar formados por excipientes que ayudan a la formación de la capa activa alrededor del núcleo inerte.

En una realización particular, el aglutinante se selecciona del grupo que consiste en metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y polivinilpirrolidona. En una realización preferida, el aglutinante es hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

25 En una realización particular, el agente alcalino se selecciona del grupo que consiste en carbonato de magnesio, N-metil glutamina, fosfato disódico y fosfato cálcico. En una realización preferida, el agente alcalino es fosfato disódico.

En una realización particular, el deslizante se selecciona del grupo que consiste en estearato de magnesio, monoestearato de glicerilo, dióxido de silicio coloidal, ácido esteárico, talco y estearil fumarato sódico. En una realización preferida, el deslizante es talco.

30 En una realización particular, el tensioactivo se selecciona del grupo que consiste en lauril sulfato sódico y monoetiléter de dietilenglicol. En una realización preferida, el tensioactivo es lauril sulfato sódico.

En una realización preferida, el núcleo del pellet de la presente invención comprende: un 60-80% en peso del núcleo inerte; un 0,05-1% en peso del factor de crecimiento epidérmico; un 0,5-3% en peso de antioxidante; un 0,02-0,07% en peso de tensioactivo; un 1,5-5% en peso de aglutinante; un 0,02-0,07% en peso de agente alcalino; y un 2-5% en peso de deslizante.

35 En una realización más preferida, el núcleo del pellet comprende: un 69% en peso del núcleo inerte; un 0,10% en peso del factor de crecimiento epidérmico; un 1,3% en peso de metionina; un 0,05% en peso de lauril sulfato sódico; un 2% en peso de hidroxipropilmetilcelulosa; un 0,05% en peso de fosfato disódico; y un 4% en peso de talco.

40 En otra realización preferida, el núcleo del pellet comprende: un 69% en peso del núcleo inerte; un 0,10% en peso del factor de crecimiento epidérmico; un 2% en peso de  $K_2S_2O_7$ ; un 0,05% en peso de lauril sulfato sódico; un 2% en peso de hidroxipropilmetilcelulosa; un 0,05% en peso de fosfato disódico; y un 4% en peso de talco.

45 Como se ilustra en los ejemplos, el contenido de EGF en soluciones del ingrediente activo con un excipiente de los mencionados anteriormente o combinaciones de los mismos se mantiene por encima del 90% en peso, incluso después de 30 días de almacenamiento a 37°C protegido de la luz (véase la Tabla 5). El EGF se oxida de una forma especialmente fácil por el aire en solución líquida. Como sólo aproximadamente el 10% del EGF en las soluciones ensayadas se degradó por los excipientes mencionados en el Ejemplo 1, se considera que los excipientes usados para la preparación de los pellets de la presente invención no son responsables de la oxidación del EGF. (Véase el Ejemplo 5).

50 Como se ha mencionado anteriormente, los pellets de la presente invención se recubren con un recubrimiento entérico. Ejemplos de polímeros gastrorresistentes apropiados para preparar el recubrimiento entérico incluyen metilcelulosa, hidroxietilcelulosa (HEC), hidroxibutilcelulosa (HBC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), etilcelulosa, hidroximetilcelulosa (HMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), polioxietilenglicol, aceite de ricino, acetato ftálico de celulosa, ftalato de HPMC, acetato succinato de HMC, carboximetilamilopectina sódica, quitosano, ácido algínico, carrageninas, galactomananos, tragacanto, goma laca, agar-agar, goma arábiga, goma guar y goma xantana, ácidos

poliacrílicos, alcohol polivinílico (PVA), óxidos de polipropileno y polietileno o mezclas de los mismos. Otros compuestos apropiados incluyen polímeros gastrorresistentes basado en metacrílicos o sus sales, tales como un copolímero aniónico basado en acrilato de metilo, metacrilato de metilo y ácido metacrílico (Eudragit FS30D), un copolímero aniónico basado en ácido metacrílico y metacrilato de metilo (Eudragit S100) o un copolímero de ésteres de ácido metacrílico y ácido acrílico y grupos amonio cuaternario (Eudragit RS o Eudragit RL). Preferiblemente, el polímero de recubrimiento entérico es Eudragit FS30D.

El polímero gastrorresistente puede ir acompañado de plastificantes tales como citrato de trietilo (TEC), polietilenglicol (PEG), alcohol estearílico y cetilo; agentes tensioactivos tales como lauril sulfato sódico, polisorbato y poloxámero; pigmentos tales como dióxido de titanio o sesquióxido de hierro; lubricantes tales como talco, estearato de magnesio o monoestearato de glicerilo, y mezclas de los mismos.

En una realización preferida, el recubrimiento entérico comprende poli (ácido metacrílico/metacrilato/metacrilato de metilo), citrato de trietilo, lauril sulfato sódico, talco o mezclas de los mismos.

En una realización preferida, la capa de recubrimiento entérico es desde 14 hasta 25% en peso del peso total del pellet de la presente invención.

En una realización particular, los pellets de la presente invención además comprenden una capa de recubrimiento intermedia entre el núcleo y el recubrimiento entérico. Esta capa de recubrimiento intermedia comprende al menos un polímero de liberación modificada. Los polímeros de liberación modificada apropiados para preparar la capa de recubrimiento intermedia incluyen, pero sin limitación, polímeros acrílicos, celulosas, goma laca, zeína, aceite vegetal hidrogenado, aceite de ricino hidrogenado y sus mezclas. Ejemplos de polímeros acrílicos adecuados incluyen, pero sin limitación, copolímeros de ácido metacrílico y ácido acrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, metacrilatos de etoxietilo, metacrilato de cianoetilo, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamida y ácido metacrílico, poli(metacrilato de metilo), poli(anhídrido de ácido metacrílico), metacrilato de metilo, polimetacrilato, copolímero de poli(metacrilato de metilo), poli(acrilamida, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, copolímeros de metacrilato de glicidilo y sus mezclas. Ejemplos de celulosas adecuadas incluyen etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y sus mezclas.

Los polímeros de liberación modificada se seleccionan entre el grupo que consiste en copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico tales como Eudragit L, Eudragit S, Eudragit FS, Eudragit RS, Eudragit RL, Eudragit RD y Eudragit NE. Preferiblemente, el polímero de liberación modificada es Eudragit NE 30D.

Los polímeros de liberación modificada pueden ir acompañados de plastificantes tales como citrato de trietilo (TEC), polietilenglicol (PEG), alcohol estearílico y cetílico; agentes tensioactivos tales como lauril sulfato sódico, polisorbato y poloxámero; pigmentos tales como dióxido de titanio, sesquióxido de hierro; lubricantes tales como talco, estearato de magnesio o monoestearato de glicerilo, y mezclas de los mismos.

En una realización particular, la capa de recubrimiento intermedia además comprende un deslizante. Preferiblemente, el deslizante es talco.

En una realización preferida, la capa de recubrimiento intermedia constituye del 5 al 20% en peso del peso total del pellet de la presente invención. Preferiblemente, el peso de la capa de recubrimiento intermedia es del 15%.

Debido a la inestabilidad del EGF en presencia de oxígeno o alta humedad, cuando se expone a una temperatura elevada, a alta presión o cuando se somete a largos tiempos de fabricación de la formulación farmacéutica, el EGF se prepara por procesos convencionales que no producen degradación, al tener un control de las condiciones de todas las etapas del proceso. El proceso para la fabricación de los pellets de la presente invención comprende, en una primera etapa, recubrir el núcleo inerte mediante pulverización de una suspensión acuosa del EGF, el antioxidante y el excipiente apropiado, evitando altas temperaturas y la exposición prolongada de la suspensión acuosa del ingrediente activo con el oxígeno, donde el EGF podría degradarse; y una segunda etapa de recubrimiento del pellet activo como se ha definido anteriormente con una suspensión de recubrimiento entérico. En ambas etapas del proceso, la temperatura no debe ser superior a 40°C. Si el EGF se somete a temperaturas por encima de 40°C, los enlaces peptídicos se rompen y, por lo tanto, el EGF pierde su estructura nativa y como consecuencia su actividad terapéutica. En una realización particular, la temperatura del proceso es desde 27 hasta 40°C. Preferiblemente, la temperatura del proceso es desde 35 hasta 40°C. Más preferiblemente, la temperatura del proceso es 40°C.

De esta manera, los pellets farmacéuticos administrables por vía oral de la invención pueden prepararse por un proceso que comprende: (a) recubrir el núcleo inerte mediante pulverización de una suspensión acuosa que comprende el factor de crecimiento epidérmico, el antioxidante y los excipientes farmacéuticamente aceptables; (b) secar la capa activa formada en la etapa (a); (c) recubrir el núcleo de la etapa (b) mediante pulverización de una suspensión que comprende el polímero de recubrimiento entérico y el excipiente

farmacéuticamente aceptable; (d) secar el pellet recubierto formado en la etapa (c); donde la temperatura de cada etapa del proceso es de hasta 40°C.

5 En una realización particular, los pellets farmacéuticos administrables por vía oral de la invención que comprenden la capa de recubrimiento intermedia pueden prepararse por el proceso mencionado anteriormente, que además comprende una etapa adicional de recubrir el núcleo obtenido en la etapa (b) mediante pulverización de una suspensión que comprende el polímero de liberación modificada y el excipiente farmacéuticamente aceptable; y secar la capa formada.

10 En una realización particular, para obtener un menor contenido de humedad en los pellets de la presente invención, la etapa de secado (d) comprende secar los pellets obtenidos en la etapa (c) en un secador de placas durante 24 horas con aire a una temperatura de 40°C.

En otra realización particular, todas las etapas del proceso definidas anteriormente se realizan en un recubridor de lecho fluido tal como un tipo "Wurster" o similar en el que se añaden sucesivamente el núcleo inerte y la suspensión acuosa activa de pulverización y la suspensión de recubrimiento entérico.

15 Como se ha mencionado anteriormente, otro aspecto de la presente invención es una cápsula farmacéutica que comprende pellets como se han definido anteriormente. La composición farmacéutica puede prepararse por cualquier método de relleno de cápsulas conocido en el estado de la técnica. De esta manera, un proceso para preparar la cápsula farmacéutica comprende: (a) preparar el pellet de recubrimiento entérico con EGF y antioxidante como se ha definido anteriormente; (b) rellenar la cápsula farmacéutica con pellets de la etapa (a); y, opcionalmente, (c) sellar la cápsula farmacéutica.

20 En una realización particular, la cantidad farmacéuticamente aceptable de EGF está comprendida entre 200 y 800 µg por cápsula. Preferiblemente, la cantidad de EGF es 500 µg por cápsula.

25 El contenido de EGF en las cápsulas de la invención es estable. Como se ilustra en los ejemplos, se mantiene por encima del 96% en peso cuando estas cápsulas se envasan en blísteres y se almacenan a temperaturas de 2 a 8°C. Además, no se modifican las propiedades organolépticas de la composición farmacéutica y la humedad de las cápsulas se mantiene por debajo del 1%. De esta manera, el EGF ni se degrada durante el proceso de preparación de los pellets ni en el almacenamiento de las cápsulas (véase el Ejemplo 2 Tabla 1).

30 Las cápsulas de la presente invención también consiguen el perfil de disolución diana. De esta manera, se disuelve menos del 3% del EGF en 2 horas cuando se somete a las condiciones del estómago (es decir, HCl 0,1 N) y se disuelve al menos más del 60% del EGF después de 6 horas cuando se somete a las condiciones del colon (etapa tamponada) (véase el Ejemplo 4 Tabla 3). El bajo porcentaje de disolución de EGF en el estómago evita la degradación del EGF por las enzimas proteolíticas. Por otra parte, la rápida disolución del EGF cuando se disuelve el recubrimiento entérico consigue una concentración eficaz en todo el tracto intestinal y se reducen los efectos secundarios gastrointestinales para la administración de fármacos antiinflamatorios inespecíficos.

35 Como se ha mencionado anteriormente, también forma parte de la invención el pellet farmacéutico definido anteriormente para el uso en el tratamiento de colitis ulcerosa, en particular para la restauración de la lesión tisular del tracto intestinal entero en la CU. Este aspecto también podría formularse como el uso del pellet farmacéutico administrable por vía oral como se ha definido anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la colitis ulcerosa, o como un método para tratar la colitis ulcerosa que comprende administrar a mamíferos que necesitan dicho tratamiento una cantidad efectiva del pellet de la presente invención. De esta manera, como se muestra en los resultados del Ejemplo 3 Tabla 2, la actividad del EGF se mantiene después de formularse en forma de cápsulas.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, la palabra "comprende" y variaciones de la palabra no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas.

45 Otros objetos, ventajas y características de la invención serán evidentes para los expertos en la materia tras el examen de la descripción o puede aprenderse por la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración y no deben considerarse limitantes de la presente invención. Además, la presente invención incluye todas las combinaciones posibles de realizaciones particulares y preferidas descritas en el presente documento.

## EJEMPLOS

50 Ejemplo 1: Proceso para fabricar cápsulas de pellets de factor de crecimiento epidérmico

1.1 Proceso para la fabricación del pellet de recubrimiento entérico con metionina

La composición del pellet es la siguiente:

## Núcleo del pellet

Ingredientes	(%)	Cantidad (g)	Cantidad de sustancia seca (g)
Núcleo inerte	69,51	700	
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	0,10	848,5	1,00
Metionina	1,26		12,65
Lauril sulfato sódico	0,05	0,5	
Hidroxipropilmetilcelulosa	1,99	20,0	
Fosfato disódico	0,05	0,5	
Talco	3,97	40,0	
<b>Peso total del núcleo</b>	<b>76,94</b>	<b>774,7</b>	

## Recubrimiento entérico

Ingredientes	(%)	Cantidad (g)	Cantidad de sustancia seca (g)
Polisorbato 80	0,06	0,6	
Citrato de trietilo	0,12	1,2	
Lauril sulfato sódico	0,12	1,2	
Talco	4,58	46,1	
Eudragit FS30D	18,20	610,9	183,3
<b>Agua purificada*</b>		c.n.	
<b>Peso de recubrimiento total</b>	<b>23,08</b>	<b>232,4</b>	
<b>Pellets funcionales totales</b>	<b>100</b>	<b>1007,1</b>	

5 "c.n." significa "cuando sea necesario"; \* Agua eliminada después del procesamiento

10 En un receptáculo de acero inoxidable se preparó una solución acuosa de hidroxipropilmetilcelulosa, y se añadió una solución de factor de crecimiento epidérmico y metionina con agitación continua. Cuando la mezcla fue homogénea, se añadieron el lauril sulfato sódico, el fosfato disódico y el talco, manteniendo la agitación a temperatura ambiente hasta conseguir la homogeneidad de la suspensión.

Se incorporaron 700 g de núcleo inerte en un lecho fluido y se cubrieron con la suspensión preparada de antemano, en las siguientes condiciones: flujo de aire: 260 m<sup>3</sup>/h, diámetro de boquillas: 1 mm, presión de pulverización: 0,7 bar, pulverización de la suspensión: 35 g/min, temperatura del aire: 50°C y temperatura del producto: 35°C.

15 En un receptáculo de acero inoxidable se preparó una dispersión acuosa homogénea de Polisorbato 80, citrato de trietilo y Eudragit FS30D, y se añadieron el lauril sulfato sódico y el talco, manteniendo la agitación a temperatura ambiente hasta que se consiguió la homogeneidad de la suspensión.

Los núcleos secos se sometieron a recubrimiento entérico por pulverización de la suspensión acuosa entérica preparada anteriormente. Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: flujo de aire: 180 m<sup>3</sup>/h, diámetro de boquillas: 1,2 mm, presión de pulverización: 0,6 bar, pulverización de la suspensión: 30 g/min, temperatura del aire: 55°C y temperatura del producto: 35°C.

5 Los pellets con recubrimiento entérico obtenidos de esta manera después se secaron en secador de placas durante 24 horas con aire a una temperatura de 40°C.

#### 1.2. Proceso para la fabricación de los pellets de recubrimiento entérico con K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

La composición del pellet es la siguiente:

##### Núcleo del pellet

Ingredientes	(%)	Cantidad (g)	Cantidad de sustancia seca (g)
Núcleo inerte	68,72	700	
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	0,10		1,00
K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	2,12	848,5	21,55
Lauril sulfato sódico	0,05	0,5	
Hidroxipropilmetilcelulosa	1,96	20,0	
Fosfato disódico	0,05	0,5	
Talco	3,93	40,0	
<b>Peso total del núcleo</b>	<b>76,93</b>	<b>783,6</b>	

10

##### Recubrimiento entérico

Ingredientes	(%)	Cantidad (g)	Cantidad de sustancia seca (g)
Polisorbato 80	0,06	0,6	
Citrato de trietilo	0,12	1,2	
Lauril sulfato sódico	0,12	1,2	
Talco	4,58	46,6	
Eudragit FS30D	18,20	617,9	181,7
<b>Agua purificada*</b>		c.n.	
<b>Peso de recubrimiento total</b>	<b>23,08</b>	<b>235,1</b>	
<b>Pellets funcionales totales</b>	<b>100</b>	<b>1018,7</b>	

"c.n." significa "cuando sea necesario"; \* Agua eliminada después del procesamiento

Estos pellets se prepararon de forma análoga a los pellets de la sección previa (1.1.) usando K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>7</sub> como antioxidante.

15

Proceso para la fabricación de cápsulas

Se rellenaron cápsulas duras hechas de gelatina de hidroxipropilmetilcelulosa con los pellets con recubrimiento entérico usando una máquina de relleno de cápsulas automática Bosch Zанassi.

Ejemplo 2. Estudios de estabilidad

5 Se ensayó la estabilidad química y física del factor de crecimiento epidérmico en cápsulas del Ejemplo 1 envasadas en blísteres a una temperatura de  $5 \pm 3^\circ\text{C}$  durante un periodo de 24 meses.

El análisis de las propiedades organolépticas de las cápsulas del Ejemplo 1 no mostró ninguna modificación de su aspecto. La humedad de las cápsulas del Ejemplo 1 ensayada por el método de Karl Fisher se mantuvo por debajo del 1%.

10 Para determinar el contenido del factor de crecimiento epidérmico en las cápsulas de la presente invención, se añadieron 100 ml de tampón fosfato salino (PBS 1X) al contenido de 10 cápsulas del Ejemplo 1, manteniendo la agitación durante 15 minutos. La suspensión resultante se centrifugó durante 5 minutos a 9.000 rpm y la solución acuosa se recogió y se cuantificó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Tabla 1. Contenido de factor de crecimiento epidérmico en cápsulas del Ejemplo 1

Tiempo de ensayo (meses)	EGF (%)		
	Lote PFCE-1	Lote PFCE-2	Lote PFCE-3
0	98,02	97,56	98,48
3	97,63	97,87	98,34
6	97,80	97,07	97,18
9	97,29	96,06	98,37
12	97,03	97,52	97,16
18	97,54	96,87	98,18
24	97,32	96,25	97,34

20 Los resultados de la Tabla 1 anterior muestran que el factor de crecimiento epidérmico es estable en los pellets de la presente invención donde estos pellets se introducen en cápsulas, se envasan en blísteres y se almacenan a temperaturas desde 2 hasta  $8^\circ\text{C}$ . La pequeña variabilidad observada en el contenido de EGF en la Tabla 1 anterior se debe al error experimental del método analítico usado.

El contenido de EGF en los pellets sin metionina o  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$  en el núcleo es menor del 85% y la degradación del EGF en 24 meses es de aproximadamente un 15%.

25 Por el contrario, como se ilustra en la Tabla 1, la degradación de EGF en 24 meses en los pellets de la presente invención es de aproximadamente un 4%, por lo tanto, como el contenido del ingrediente activo está por encima del 96%, los pellets de la presente invención se consideran estables.

Ejemplo 3. Actividad Biológica

30 Se ensayó la actividad del factor de crecimiento epidérmico en cápsulas del Ejemplo 1 envasadas en blísteres y almacenadas a temperaturas de  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ . Este ensayo biológico se basa en la capacidad del factor de crecimiento epidérmico recombinante humano (EGF Hu-r) de inducir la proliferación de líneas celulares de embriones de ratón 3T3/A3 que son extremadamente sensibles a la inhibición por contacto de la división celular.

Método de actividad biológica

Para determinar la capacidad de inducción de la proliferación celular por EGF y su duración, el método comprende la cuantificación de la absorción del colorante cristal violeta por las células vivas 3T3 A31.

## ES 2 537 704 T3

La preparación de muestras de EGF comprende la adición de 100 ml de tampón fosfato salino (PBS 1X) al contenido de 10 cápsulas del Ejemplo 1, manteniendo la agitación durante 15 minutos. La suspensión resultante se centrifugó durante 5 minutos a 9.000 rpm y se recogió la solución acuosa.

5 Se sembraron células 3T3 A31 en placas de 96 pocillos a una concentración de  $1,5 \times 10^5$  células/ml. Estas placas se incubaron a 37°C, con un 5% de CO<sub>2</sub> y un 95% de humedad durante 24 horas.

Después de completar el tiempo de incubación, las células se lavaron dos veces con 100 µl de PBS 1X y después se añadieron al medio 100 µl de DMEM 1X sin suero bovino fetal (SFB) y las placas se incubaron a 37°C, con un 5% de CO<sub>2</sub> y un 95% de humedad durante otras 24 horas.

10 Después de completar el tiempo de incubación, en las placas de 96 pocillos se añadieron muestras de disolución de 100 µl de soluciones de EGF a diferentes concentraciones y una solución blanco de 100 µl de medio DMEM 1X. Empezando con la muestra de disolución máxima de 100 µl de EGF a 10 ng/ml, se prepararon diluciones sucesivas de 2X hasta completar 8 puntos. El ensayo se realizó por duplicado. Después, las placas se incubaron a 37°C, con un 5% de CO<sub>2</sub> y un 95% de humedad durante otras 24 horas.

15 Después de completar el tiempo de incubación, se añadieron 50 µl de cristal violeta y las placas se incubaron durante 3 min. Después de esto, las placas se lavaron con agua para desechar el exceso de pigmento y se añadieron 50 ml de una solución acuosa de ácido acético al 10% a cada placa.

20 Los datos recogidos relacionados con el recuento celular se han procesado por el programa estadístico para líneas paralelas Parlin V 4.2. La comparación dentro de la curva de dosis y la respuesta de la muestra de referencia y las muestras ensayadas se transformaron en líneas paralelas; posteriormente se asignaron los valores de actividad biológica en IU/mg a la preparación de muestra, siendo IU unidades internacionales. El valor potencial asignado a cada muestra debería estar comprendido entre un 80 y un 125% del valor esperado y el coeficiente de variación geométrico (CVG) debería ser igual o menor que el 20%.

La actividad biológica de referencia del factor de crecimiento epidérmico antes de formularse en forma de cápsula fue de  $2 \times 10^6$  IU/mg.

25 Tabla 2. Actividad biológica del factor de crecimiento epidérmico

Tiempo de ensayo (meses)	Actividad biológica (IU/cápsula)		
	Lote PFCE-1	Lote PFCE-2	Lote PFCE-3
0	951786	1166618	1084094
3	1113113	1145395	1140876
6	1154034	1088190	921622
9	1004658	1137833	952869
12	964330	1106933	1009456
18	1026334	1098926	1064994
24	915347	1022467	1118469

30 Como se muestra en los resultados de la Tabla 2, la actividad biológica del EGF después de extraerse de las cápsulas con un contenido de EGF de 0,5 mg es aproximadamente  $1 \times 10^6$  IU/cápsula, que es  $2 \times 10^6$  IU/mg. Como los valores obtenidos de la Tabla 2 son iguales al valor de referencia, este hecho demuestra que el EGF conserva su actividad después de formularse en forma de cápsulas e incluso después de 24 meses de envasado.

#### Ejemplo 4: Perfil de disolución

El perfil de disolución diana requiere que el EGF no se disuelva en las condiciones del estómago y que la concentración terapéutica se consiga en todo el tracto del colon debido a su rápida disolución.

35 El ensayo de disolución se realizó con una solución de 900 ml a 37°C y a 100 rpm usando un Pharmatest (PTWS, Germany) como aparato de disolución de acuerdo con las condiciones descritas en la Farmacopea USP30.

Condiciones del baño de disolución

- Velocidad de paletas: 50 rpm
- Temperatura del medio de disolución: 37°C ± 0,5°C
- Etapa ácida gastrorresistente: 2 horas en HCl 0,1 N

5 - Etapa tamponada: pH 7,0

- Volumen del recipiente: 500 ml

- Muestreo de la solución de ensayo:

Etapa gastrorresistente: a 1 hora y 2 horas.

Etapa tamponada: a 10 minutos, 5 horas y 6 horas desde el inicio de la etapa tamponada.

10 Condiciones del análisis cromatográfico

- Flujo: 2 ml/min

- Columna: Vydac C8, 250x4,6 (Di: 10531)

- Fases: Fase A: TFA al 0,1% en agua y fase B: TFA al 0,05% en ACN

- Temperatura de la columna: 34°C

15 - Volumen de inyección: 100 µl

- Longitud de onda de excitación: 285 nm

- Longitud de onda emitida: 345 nm

- Beneficio: 16

- Gradiente:

Tiempo (min)	B (%)
0	20
18	32,5
18,5	100
22,5	100
23	20
27	20

20 Tabla 3. Perfil de disolución de pellets de factor de crecimiento epidérmico

pH	Tiempo (horas)	EGF disuelto (%)
1,20	2	2,4
7,05	4	62,3
	6	60,0
	8	60,8
	10	61,3

Los resultados del perfil de disolución de la Tabla 3 muestran que los pellets de la invención tienen el perfil de disolución requerido. De esta manera, la disolución del EGF cuando se somete a las condiciones del estómago (pH 1,20) es menor del 3% en 2 horas y se disuelve al menos el 60% del EGF después de 6 horas cuando se somete a las condiciones del colon (pH 7,05). La pequeña variabilidad observada en el porcentaje de EGF disuelto en la Tabla 3 anterior se debe al hecho de que estos porcentajes son valores medios.

Ejemplo 5. Estudios de estabilidad de EGF combinado con excipientes

El análisis del contenido de EGF en soluciones del ingrediente activo y un excipiente o combinación de excipientes de los mencionados en el Ejemplo 1 comprende el almacenamiento de estas soluciones de EGF protegido de la luz a 37°C durante 30 días para determinar si los excipientes mencionados anteriormente desestabilizan el EGF por oxidación.

Después del tiempo de almacenamiento, se calculó el contenido de EGF recuperado de la solución por HPLC y la adquisición de los datos se realizó por el programa Unicorn versión 4.12 (Amersham Biosciences AB, Upsala, Switzerland).

Condiciones del análisis de HPLC

- Flujo: 0,8 ml/min
- Columna: Vydac C18, 250x4.6
- Tamaño de poros de la columna: 5 µm
- Fases: Fase A: TFA al 0,1% en agua y fase B: TFA al 0,05% en CAN
- Longitud de onda de detección: 226 nm
- Gradiente: del 25 al 45% de solución B en 3 volúmenes de la columna

Tabla 4. Soluciones de EGF con uno o más excipientes del Ejemplo 1

Muestras	EGF (ml)	Talco (g)	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g)	HPMC (g)	LSS (g)
1	6	0,172	0,004	0,22	0,004
2	6	0,172	-	-	-
3	6	-	0,004	-	-
4	6	-	-	0,22	-
5	6	-	-	-	0,004
6	6	0,172	0,004	-	-
7	6	0,172	-	0,22	-
8	6	0,172	-	-	0,004
9	6	-	0,004	0,22	-
10	6	-	0,004	-	0,004
11	6	-	-	0,22	0,004
12	6	0,172	0,004	0,22	-
13	6	0,172	0,004	-	0,004
14	6	0,172	-	0,22	0,004
15	6	-	0,004	0,22	0,004
16	6	-	-	-	-

Tabla 5. Contenido de factor de crecimiento epidérmico en las soluciones de la Tabla 4

Muestras	EGF (%)			
	Tiempo de ensayo (Días)			
	0	7	15	30
1	98,4	98,4	98,4	95,2
2	98,7	98,0	98,5	96,7
3	98,8	98,2	98,4	95,1
4	97,9	96,1	99,5	95,3
5	98,9	96,1	96,8	96,8
6	98,4	96,2	90,1	90,3
7	96,7	96,7	96,0	90,1
8	98,7	98,7	97,7	94,1
9	97,9	98,1	98,5	97,5
10	98,7	97,7	97,0	96,9
11	98,0	96,0	96,5	97,3
12	97,9	97,7	97,5	97,5
13	98,2	95,8	97,4	94,8
14	97,3	97,3	97,3	96,0
15	98,2	97,6	98,1	95,3
16	98,4	97,3	96,5	97,6

5 Como se observa en la Tabla 5, el contenido de EGF se mantuvo por encima del 90% en peso incluso después de estar en solución durante 30 días. Como sólo se degradó aproximadamente un 10% del EGF en las soluciones ensayadas, se considera que los excipientes usados para la preparación de los pellets de la presente invención no son responsables de la oxidación del EGF.

Ejemplo 6: Proceso para fabricar cápsulas de pellets de factor de crecimiento epidérmico con una capa de recubrimiento intermedia

6.1. Proceso para la fabricación del pellet de recubrimiento entérico con metionina

10 La composición de los pellets es la siguiente:

Núcleo del Pellet

Ingredientes	(%)	Cantidad (mg/cápsula)
Núcleo inerte	63,79	346,18
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	0,09	0,50
Metionina	0,89	4,84

## ES 2 537 704 T3

Lauril sulfato sódico	0,03	0,19
Hidroxipropilmetilcelulosa	2,02	10,99
Fosfato disódico	0,03	0,19
Talco	2,70	14,65
<b>Peso total del núcleo</b>	69,55	

### Capa de recubrimiento intermedia

<b>Ingredientes</b>	<b>(%)</b>	<b>Cantidad (mg/cápsula)</b>
Eudragit NE30D	5,22	28,32
Talco	5,22	28,32
<b>Agua purificada*</b>		c.n.
<b>Peso total del recubrimiento intermedio</b>	10,44	

### Recubrimiento entérico

<b>Ingredientes</b>	<b>(%)</b>	<b>Cantidad (mg/cápsula)</b>
Polisorbato 80	0,05	0,27
Citrato de trietilo	0,11	0,60
Lauril sulfato sódico	0,11	0,60
Talco	3,94	21,38
Eudragit FS30D	15,79	85,69
<b>Agua purificada*</b>		c.n.
<b>Peso total de recubrimiento entérico</b>	20	
<b>Pellets funcionales totales</b>	100	

5 "c.n." significa "cuando sea necesario"; \* Agua eliminada después del procesamiento.

En un receptáculo de acero inoxidable se preparó una solución acuosa de factor de crecimiento epidérmico y se añadió metionina con agitación continua. Cuando la mezcla fue homogénea, se añadieron el lauril sulfato sódico, la hidroxipropilmetilcelulosa, el fosfato disódico y el talco, manteniendo la agitación hasta la disolución total.

10 Se incorporaron 1431,83 g de núcleos inertes en un lecho fluido HKC5 y se cubrieron con la solución preparada de antemano en las siguientes condiciones: flujo de aire: 200 m<sup>3</sup>/h, diámetro de boquillas: 1 mm, presión de pulverización: 0,7 bar, relación de pulverización de la solución: desde 5 hasta 30 g/min, temperatura del aire: 35°C y temperatura del producto: 25°C.

15 Los núcleos obtenidos de esta manera después se secaron en el lecho fluido durante 1 hora o hasta que el valor de Karl Fisher era igual o menor del 1,5% a una temperatura de 35°C. Los núcleos secos se tamizaron a través de tamices de 0,425 mm y 0,850 mm.

En un receptáculo de acero inoxidable se preparó una dispersión acuosa homogénea de talco y Eudragit NE 30D tamizado. Los núcleos secos se sometieron a recubrimiento mediante pulverización de la dispersión acuosa preparada anteriormente en un lecho fluido HKC-5. Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: flujo de aire:

200 m<sup>3</sup>/h, diámetro de boquillas: 1,2 mm, presión de pulverización: 0,7 bar, relación de pulverización de la dispersión: desde 5 hasta 30 g/min, temperatura del aire: 35°C y temperatura del producto: 25°C.

5 Los pellets con recubrimiento intermedio obtenidos de esta manera después se secaron en el lecho fluido durante 1 hora a una temperatura de 35°C. Los pellets con recubrimiento intermedio secos se tamizaron a través de tamices de 0,425 mm y 0,850 mm.

En un receptáculo de acero inoxidable se preparó una solución acuosa homogénea de Polisorbato 80, citrato de trietilo, lauril sulfato sódico y talco, manteniendo la agitación a temperatura ambiente hasta que se consiguió la homogeneidad de toda la disolución. Después, en la solución preparada anteriormente se añadió Eudragit FS30D tamizado.

10 Los pellets con capa de recubrimiento intermedia se sometieron a recubrimiento entérico mediante pulverización de la suspensión acuosa entérica preparada anteriormente en un lecho fluido HKC-5. Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: flujo de aire: 200 m<sup>3</sup>/h, diámetro de boquillas: 1,2 mm, presión de pulverización: 0,7 bares, relación de pulverización de la solución: desde 5 hasta 30 g/min, temperatura del aire: 35°C y temperatura del producto: 25°C.

15 Los pellets con recubrimiento entérico obtenidos de esta manera después se secaron en el lecho fluido durante 1 hora o hasta que el valor de Karl Fisher era igual o menor del 1,5% a una temperatura de 35°C. Los pellets con recubrimiento entérico secos se tamizaron a través de tamices de 0,425 mm y 0,850 mm.

#### 6.2. Proceso para la fabricación de cápsulas de pellets de factor de crecimiento epidérmico que comprenden la capa de recubrimiento intermedio y metionina

20 Se rellenaron cápsulas duras hechas de gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa con los pellets de recubrimiento entérico del Ejemplo 6 sección 6.1. usando una máquina de relleno de cápsulas automática Bosch Zanassi.

#### Ejemplo 7: Perfil de disolución de pellets de factor de crecimiento epidérmico que comprenden la capa de recubrimiento intermedia

El ensayo de disolución se realizó como se describe en el Ejemplo 4.

25 La disolución del EGF cuando se somete a las condiciones del estómago (pH 1,20) es menor del 3% en 2 horas y se disuelve al menos el 60% del EGF después de 6 horas cuando se somete a las condiciones del colon (pH 7,05). De esta manera, los pellets que comprenden la capa de recubrimiento intermedio de la invención tienen el perfil de disolución requerido.

#### REFERENCIA A LA TÉCNICA ANTERIOR MENCIONADA EN LA SOLICITUD

30 1. US 2007/26082, describe pellets donde la sustancia activa, un péptido o proteína, está embebida en una matriz polimérica mucoadhesiva.

**REIVINDICACIONES**

1. Un pellet farmacéutico administrable por vía oral que comprende un núcleo y un recubrimiento entérico, donde el núcleo comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva del factor de crecimiento epidérmico y antioxidante que contiene azufre seleccionado del grupo que consiste en metionina y  $K_2S_2O_7$ .
- 5 2. El pellet de acuerdo con la reivindicación 1, donde la relación molar entre el factor de crecimiento epidérmico y el antioxidante es desde 1:20 hasta 1:60.
3. El pellet de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el núcleo además comprende un aglutinante, un agente alcalino, un deslizante, un tensioactivo o mezclas de los mismos.
4. El pellet de acuerdo con la reivindicación 3, donde el aglutinante es hidroxipropilmetilcelulosa.
- 10 5. El pellet de acuerdo con la reivindicación 3, donde el agente alcalino es fosfato disódico.
6. El pellet de acuerdo con la reivindicación 3, donde el deslizante es talco.
7. El pellet de acuerdo con la reivindicación 3, donde el tensioactivo es lauril sulfato sódico.
8. El pellet de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el núcleo comprende:
  - un 60-80% en peso del núcleo inerte;
  - 15 un 0,05-1% en peso del factor de crecimiento epidérmico;
  - un 0,5-3% en peso de antioxidante;
  - un 0,02-0,07% en peso de tensioactivo;
  - un 1,5-5% en peso de aglutinante;
  - un 0,02-0,07% en peso de agente alcalino; y
  - 20 un 2-5% en peso de deslizante.
9. El pellet de acuerdo con la reivindicación 8, donde el núcleo comprende:
  - un 69% en peso del núcleo inerte;
  - un 0,10% en peso del factor de crecimiento epidérmico;
  - un 1,3 % en peso de metionina;
  - 25 un 0,05% en peso de lauril sulfato sódico;
  - un 2% en peso de hidroxipropilmetilcelulosa;
  - un 0,05% en peso de fosfato disódico; y
  - un 4% en peso de talco.
10. El pellet de acuerdo con la reivindicación 8, donde el núcleo comprende:
  - 30 un 69% en peso del núcleo inerte;
  - un 0,10% en peso del factor de crecimiento epidérmico;
  - un 2% en peso de  $K_2S_2O_7$ ;
  - un 0,05% en peso de lauril sulfato sódico;
  - un 2% en peso de hidroxipropilmetilcelulosa;
  - 35 un 0,05% en peso de fosfato disódico; y
  - un 4% en peso de talco.

11. El pellet de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde el recubrimiento entérico comprende un polímero de poli(ácido metacrílico/metacrilato/metacrilato de metilo), citrato de trietilo, lauril sulfato sódico, talco o mezclas de los mismos.
- 5 12. El pellet de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que además comprende una capa de recubrimiento intermedia que comprende al menos un polímero de liberación modificada.
13. El pellet de acuerdo con la reivindicación 12, donde la capa de recubrimiento intermedia además comprende un deslizante.
- 10 14. El pellet de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12-13, donde el polímero de liberación modificada se selecciona entre el grupo que consiste en poliacrilatos, polimetacrilatos, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y mezclas de los mismos.
15. El pellet de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12-14, donde el polímero de liberación modificada es un polímero de ésteres de poli(acrilato de etilo/metacrilato de metilo).
16. El pellet de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12-15, donde el deslizante es talco.
- 15 17. Un proceso para la preparación del pellet definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que comprende:
- (a) recubrir el núcleo inerte mediante pulverización de una suspensión acuosa que comprende el factor de crecimiento epidérmico, el antioxidante y los excipientes farmacéuticamente aceptables;
- (b) secar la capa activa formada en la etapa (a);
- 20 (c) recubrir el núcleo de la etapa (b) mediante pulverización de una suspensión que comprende el polímero de recubrimiento entérico y el excipiente farmacéuticamente aceptable; y
- (d) secar el pellet de recubrimiento formado en la etapa (c);
- donde la temperatura de cada etapa del proceso es de hasta 40°C.
- 25 18. El proceso de acuerdo con la reivindicación 17, para la preparación del pellet definido en cualquiera de las reivindicaciones 12-16, que además comprende una etapa adicional de recubrir el núcleo obtenido en la etapa (b) mediante pulverización de una suspensión que comprende el polímero de liberación modificada y el excipiente farmacéuticamente aceptable; y secar la capa formada.
19. Una cápsula farmacéutica que comprende los pellets definidos en cualquiera de las reivindicaciones 1-16.
- 30 20. El pellet farmacéutico definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-16, para el uso en el tratamiento de colitis ulcerosa.

**REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN**

*Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.*

5

**Documentos de patentes citados en la descripción**

- US 200726082 B