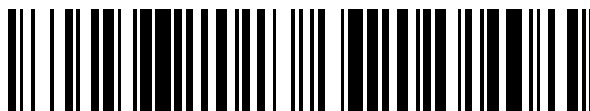


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 652**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)
A61K 31/727 (2006.01)
A61K 38/11 (2006.01)
A61K 38/55 (2006.01)
A61K 38/56 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2010 E 10705872 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.12.2015 EP 2538955**

54 Título: **Formulación farmacéutica o nutracéutica**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.02.2016

73 Titular/es:

EVONIK RÖHM GMBH (100.0%)
Kirschenallee 45
64293 Darmstadt, DE

72 Inventor/es:

LIZIO, ROSARIO;
GOTTSCHALK, MICHAEL;
DAMM, MICHAEL;
WINDHAB, NORBERT;
LIEFKE, MELANIE;
SCHMITT, GÜNTER;
ROTH, ERNA y
ALEXOWSKY, RÜDIGER

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 561 652 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

Formulación farmacéutica o nutracéutica

Campo de la invención

5 La invención se refiere a una formulación farmacéutica o nutracéutica que comprende un núcleo que comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la penetración, un agente que promueve la biodisponibilidad, e incrementa la biodisponibilidad del ingrediente activo, y un revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo.

Antecedentes técnicos

10 El documento DE 19724458 A1 describe el uso de enzimas proteolíticas para la mejora de la absorción de ingredientes activos farmacéuticos.

El documento EP 1302201 A1 describe composiciones farmacéuticas mejoradas en la capacidad de absorción peroral. La composición comprende un fármaco, un copolímero E de metacrilato de aminoalquilo, y una sustancia ácida.

15 El documento EP 1466626 A1 describe composiciones médicas para mejorar la absorción oral. El copolímero E de metacrilato de aminoalquilo se describe allí como un agente para inhibir la descomposición del péptido activo biológico.

El documento WO 2005007139 A2 describe una forma farmacéutica de múltiples partículas oral que comprende peletes que tienen un tamaño en el intervalo de 50 a 2500 μm , que está compuesta sustancialmente de

20 a) una capa matriz interna que comprende una sustancia activa que es un péptido o una proteína, incluyendo sus derivados o conjugados, y está embebida en una matriz de un polímero que tiene un efecto mucoadhesivo, en la que la matriz puede comprender opcionalmente excipientes farmacéuticamente habituales adicionales,

25 b) un revestimiento de película exterior que consiste esencialmente en un polímero o copolímero aniónico que se puede formular opcionalmente con excipientes farmacéuticamente habituales, especialmente plastificantes, caracterizada por que

30 la forma farmacéutica de múltiples partículas se formula de manera que los peletes contenidos se liberan en el intervalo de pH del estómago, el revestimiento exterior se ajusta a través de la elección del polímero o copolímero aniónico o su formulación con excipientes y su grosor de capa, de manera que el revestimiento se disuelve en los intervalos de pH de 4,0 a 8,0 en el intestino en 15 a 60 min., de manera que se exponga la capa matriz mucoadhesiva, que contiene la sustancia activa, y se pueda unir a la mucosa intestinal y libere allí la sustancia activa, en el que el polímero que tiene un efecto mucoadhesivo se escoge de manera que muestre un efecto mucoadhesivo de $\eta_b = 150$ a 1000 mPa·s y una captación de agua de 10 a 750% en 15 min. en un intervalo de unidades de pH de +/- 0,5 con respecto al pH al que el revestimiento exterior comienza a disolverse, y el contenido de sustancia activa de la capa matriz es un máximo de 40% en peso del contenido del polímero que tiene un efecto mucoadhesivo.

40 Se menciona que la capa matriz mucoadhesiva puede contener otros excipientes tales como inhibidores de proteasas, por ejemplo un inhibidor de tripsina de haba de soja, o promotores de la penetración. Sin embargo, se sugiere usar promotores de la penetración solamente en combinación con ingredientes activos de peso molecular (M_w) elevado, tales como proteínas con un M_w de 10.000 o más. Los inhibidores de proteasas se pueden usar en combinación con proteínas o péptidos con un M_w de 3.000 a 10.000 y estabilizantes tales como ácidos grasos o alcoholes grasos que forman una matriz lipófila. No hay ejemplos concretos en los que se combinan inhibidores de proteasas y promotores de la penetración.

El documento EP 1771157 B1 describe una forma de dosificación farmacéutica de múltiples partículas, para sustancias activas poco solubles, y un método para producir dicha forma de dosificación farmacéutica.

45 El documento WO 2006/061069 A1 describe una forma de de administración múltiples partículas que comprende ingredientes activos mucoadhesivos que contienen ácido nucleico, y métodos para producir dichas formas de administración.

50 El inhibidor de Bowman-Birk (BBI) es una denominación bien conocida de una familia de inhibidores de tripsina y quimiotripsina estables de peso molecular bajo encontrados en habas de soja y diversas semillas diferentes, principalmente en semillas de leguminosas y materiales vegetales. Véanse, por ejemplo, los documentos US 5.962.414 o US 6.767.564

El documento US 6.767.564 B2 describe el uso del inhibidor de Bowman-Birk (BBI) para el tratamiento de esclerosis múltiple y otras enfermedades autoinmunitarias tales como el síndrome de Guillian Barre y artritis reumatoide. Se

menciona que el inhibidor de Bowman-Birk ingerido oralmente se absorbe y tiene efectos sistémicos. Aproximadamente 50% del inhibidor de Bowman-Birk ingerido se absorbe en el torrente sanguíneo. Se menciona además que un concentrado de inhibidor de Bowman-Birk (BBIC), un extracto derivado de haba de soja enriquecido en el inhibidor de proteasas, es supuestamente un inhibidor de chimasas humanas mejor que cualquier otro inhibidor de proteasas fisiológico descrito hasta la fecha.

Problema y solución

Durante sus estudios, los inventores han encontrado que las formulaciones farmacéuticas o nutracéuticas que comprenden un núcleo, que comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la penetración y un revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo, tienen buenos efectos de penetración celular en ensayos celulares in vitro.

Sin embargo, los resultados prometedores obtenidos con el ingrediente activo desmopresina in vitro conducen solamente a resultados decepcionantes in vivo. Cuando las formulaciones correspondientes se ensayaron in vivo en cerdos enanos, solo se pudo detectar una mala biodisponibilidad, medida in vivo como los niveles de concentración plasmáticos.

Puesto que la desmopresina es un péptido, se ensayó primeramente in vitro y después in vivo la adición de un inhibidor de enzimas proteolíticas que podría prevenir la degradación enzimática del péptido por enzimas pancreáticas in vivo. En el ensayo in vitro, en presencia de un cóctel de enzimas pancreáticas que contiene diferentes peptidasas y proteinasas, se observó cierto efecto protector de la adición del inhibidor de Bowman-Birk (BBI) como inhibidor de enzimas proteolíticas. Se esperó encontrar este efecto al mismo nivel o en cierto modo menor en el sistema in vivo.

Sin embargo, para gran sorpresa de los inventores, el efecto in vivo de la adición del inhibidor de Bowman-Birk fue más de cinco veces respectivamente, casi diez veces, mayor que el esperado. Debido al hecho de que el efecto in vivo fue mucho mayor en comparación con los resultados in vitro, los inventores muestran que este efecto no se pudo explicar simplemente por el efecto protector del inhibidor de enzimas proteolíticas frente a las enzimas pancreáticas. Además, parece existir un nuevo efecto desconocido que incrementa la biodisponibilidad de los ingredientes activos causado por la adición de un inhibidor de enzimas proteolíticas en general, o al menos por alguno de tales de origen vegetal o al menos por el inhibidor de Bowman-Birk, en combinación con los otros elementos del sistema según se reivindica. De este modo, los inventores creen que la formulación farmacéutica o nutracéutica como se reivindica será aplicable a otros ingredientes activos que no son asimismo péptidos o proteínas.

Fue un objeto de la presente invención proporcionar una formulación farmacéutica o nutracéutica que comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico para aplicaciones orales con biodisponibilidad incrementada.

El problema se resolvió mediante

una formulación farmacéutica o nutracéutica que comprende un núcleo, que comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la penetración y un agente que promueve la biodisponibilidad, y un revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo,

caracterizada por que

el agente que promueve la biodisponibilidad es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas, que incrementa la biodisponibilidad oral del ingrediente activo en un factor de al menos cinco, en comparación con una formulación correspondiente sin el agente que promueve la biodisponibilidad.

Descripción detallada

Formulación farmacéutica o nutracéutica

La invención se refiere a una formulación farmacéutica o nutracéutica que comprende un núcleo que comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la penetración, un agente que promueve la biodisponibilidad, que incrementa la biodisponibilidad oral del ingrediente activo, y un revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo.

En una realización simple, la formulación farmacéutica o nutracéutica es un comprimido de matriz revestida. Sin embargo, se prefiere que la formulación farmacéutica o nutracéutica sea una formulación de múltiples partículas.

Formulación farmacéutica o nutracéutica de múltiples partículas

La invención se refiere preferiblemente a una formulación farmacéutica o nutracéutica de múltiples partículas que comprende una multitud de partículas en una unidad de dosificación. Las partículas son preferiblemente peletes revestidos o no revestidos.

Los tamaños de partículas preferidos pueden ser 0,2 a 2, preferiblemente 0,3 a 1 mm. El tamaño de partículas comparativamente pequeño tiene la ventaja de que hay, al menos en el caso de peletes revestidos, una transferencia rápida y segura desde el estómago al duodeno. En todos los casos, existe la ventaja de una elevada estandarización de la dosis del ingrediente activo y una buena distribución en el intestino.

- 5 Una formulación farmacéutica o nutracéutica de múltiples partículas puede contener 10 a 1000, preferiblemente 50 a 500 partículas, que son preferiblemente peletes revestidos o no revestidos.

El medicamento en forma de múltiples capas de la presente invención tiene sentido principalmente como forma farmacéutica o nutracéutica de múltiples partículas.

- 10 La forma de múltiples partículas puede ser, por ejemplo, un comprimido que contiene peletes o un comprimido prensado, un minicomprimido, un saquito o una cápsula llena de una pluralidad de partículas o peletes que contienen ingrediente activo.

Todos estos términos son bien conocidos para una persona experta en el campo de la farmacia y galénica.

- 15 La expresión comprimido o comprimido prensado que contiene peletes es bien conocida para una persona experta. Tal comprimido puede tener un tamaño de, por ejemplo, alrededor de 5 a 25 mm. Habitualmente, las pluralidades definidas de pequeños peletes que contienen el ingrediente activo se comprimen allí junto con excipientes aglutinantes para dar la forma de comprimido bien conocida. Tras la ingestión oral y el contacto con el fluido corporal, la forma de comprimido se destruye y se liberan los peletes. El comprimido prensado combina la ventaja de la forma de dosificación individual para ingestión con las ventajas de múltiples formas, por ejemplo la exactitud de la dosis.

- 20 El término minicomprimido es bien conocido por la persona experta. Un minicomprimido es más pequeño que el comprimido tradicional y puede tener un tamaño de alrededor de 1 a 4, o menos de 5 mm. El minicomprimido es, al igual que un pelete, una forma de dosificación individual a usar en múltiples dosificaciones. En comparación con los peletes, que pueden ser del mismo tamaño, los minicomprimidos tienen habitualmente la ventaja de tener superficies más regulares que se pueden revestir de forma más exacta y más uniforme. Los minicomprimidos se pueden proporcionar encerrados en cápsulas, tales como cápsulas de gelatina. Tales cápsulas se destruyen tras la ingestión oral y entran en contacto con los fluidos gástricos o intestinales y se liberan los minicomprimidos. Otra aplicación de los minicomprimidos es el ajuste fino individual de la dosis del ingrediente activo. En este caso, el paciente puede ingerir directamente un número definido de minicomprimidos que coincide con la gravedad de la enfermedad a curar, pero también con su peso corporal individual. Un minicomprimido es diferente de un comprimido prensado que contiene peletes como se explica anteriormente.

- 35 El término saquito es bien conocido por la persona experta. Se refiere a un envase pequeño cerrado herméticamente que contiene el ingrediente activo a menudo en forma de pelete que contiene líquido o también en forma de pelete seco o de polvo. El propio saquito es solamente la forma del envase, y no se pretende que sea ingerido. El contenido del saquito se puede disolver en agua o, como una característica ventajosa, se puede emparar o ingerir directamente con otro líquido. Esto último es una característica ventajosa para el paciente cuando la forma de dosificación se debe de ingerir en una situación en la que no hay agua disponible. El saquito es una forma de dosificación alternativa a comprimidos, minicomprimidos o cápsulas.

- 40 El término cápsula es bien conocido por la persona experta en la técnica. Una cápsula es, al igual que el saquito, un recipiente para peletes que contienen líquidos o también peletes secos o polvos. Sin embargo, contrariamente al saquito, la cápsula consiste en excipientes farmacéuticamente aceptables tales como gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa, y está destinada a ser ingerida como un comprimido. Las cápsulas se destruyen tras la ingestión oral y entran en contacto con los fluidos gástricos o intestinales, y se liberan las múltiples unidades contenidas. Las cápsulas para fines farmacéuticos están comercialmente disponibles en diferentes tamaños estandarizados.

- 45 Peletes

- Los peletes comprenden un núcleo, que comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la potenciación y un agente que promueve la biodisponibilidad, que incrementa la biodisponibilidad del ingrediente activo. El núcleo puede tener preferiblemente un revestimiento para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo (revestimiento entérico). Por ejemplo, una cápsula de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) o de gelatina se puede rellenar con una multitud de peletes revestidos entéricamente.

- 50 Si los peletes no tienen un revestimiento para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo, entonces la unidad de dosificación debe de comprender tal revestimiento polimérico. Por ejemplo, una cápsula de HPMC o de gelatina puede contener peletes sin un revestimiento entérico, pero la propia cápsula se reviste entonces con un polímero entérico. El revestimiento entérico de cápsulas, especialmente de cápsulas de HPMC, se conoce por ejemplo desde el documento EP 1117386 A1.

El diámetro medio de partículas de tamaños de peletes revestidos o no revestidos puede oscilar de 100-1500 μm , preferiblemente de 200 a 800 μm .

5 Se prefieren los peletes que consisten en un núcleo, que comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la penetración, un agente que promueve la biodisponibilidad, y opcionalmente un revestimiento entérico.

10 Los peletes más preferidos consisten en un núcleo que consiste esencialmente en un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la penetración, un agente que promueve la biodisponibilidad, que incrementa la biodisponibilidad oral del ingrediente activo, una capa separadora o de sincronización y un revestimiento entérico. Esta forma preferida se reduce a sus elementos esenciales con la ventaja de reducir el número de excipientes, que siempre es ventajoso puesto que se reducen los riesgos de interacciones con el ingrediente activo o de posibles intolerancias para el paciente.

15 Preferiblemente, los peletes, partículas o núcleos no contienen ninguna cantidad o ninguna cantidad esencial de polímeros que tienen un efecto mucoadhesivo. Una cantidad esencial de un polímero que tiene un efecto mucoadhesivo es aproximadamente más del 10% en peso en la formulación final. Preferiblemente las partículas no contienen ninguna cantidad o ninguna cantidad esencial de polímeros mucoadhesivos que presentan un efecto mucoadhesivo de $\eta_b = 150$ a 1000, preferiblemente 150 a 600 $\text{mPa}\cdot\text{s}$, y una captación de agua de 10 a 750, preferiblemente 10 a 250, particularmente de forma preferible 10 a 160% en 15 min. en un intervalo de $\pm 0,5$, preferiblemente $\pm 0,3$ unidades de pH con respecto al pH al que comienza a disolverse el revestimiento exterior. Preferiblemente, las partículas no contienen ninguna cantidad o ninguna cantidad esencial de un quitosano o un copolímero de (met)acrilato que consiste en 20-40% en peso de metacrilato de metilo y 60 a 80% en peso de ácido metacrílico o carboximetilcelulosa sódica o un poliácido acrílico reticulado y/o no reticulado o una lectina o un alginato de sodio o una pectina.

20

Medida de las propiedades mucoadhesivas

25 En Hassan y Gallo (1990) (véase Hassan E.E. y Gallo J.M. "A Simple Rheological Method for the in Vitro Assessment of Mucin-Polymer Bioadhesive Bond Strength" *Pharma Res.* 7(5), 491 (1990)) está contenido un método de medida adecuado para caracterizar las propiedades mucoadhesivas. El método se basa en la suposición de que la viscosidad (η , viscosidad dinámica o coeficiente de viscosidad) de una mezcla de polímeros con mucina es diferente del total de las viscosidades de los componentes individuales. La relación que se aplica es $\eta_{\text{mezcla de polímero con mucina}} = \eta_{\text{mucina}} + \eta_{\text{polímero}} + \eta_b$, en la que η_b representa la diferencia. Una mayor η_b significa mayores propiedades mucoadhesivas. Los componentes individuales se miden inicialmente para buscar su viscosidad usando un viscosímetro rotacional. Se emplea una disolución acuosa de concentración 0,5% (p/p) del polímero mucoadhesivo y una disolución de concentración 15% de mucina gástrica porcina. Para determinar las propiedades mucoadhesivas η_b , la mucina y el polímero se miden solos y se mezclan en las concentraciones señaladas.

30

Hidratación y captación de agua

35 La hidratación de los polímeros se basa en la afinidad del polímero para recoger agua. Los polímeros se hinchan debido a su captación de agua. Esto está relacionado con un desequilibrio entre el potencial químico del agua en el polímero y el agua en el medio circundante. El agua es recogida, debido a la presión osmótica del polímero, hasta que se establece un equilibrio entre la fase interna y externa. El polímero está 100% hidratado. Los polímeros que tienen un peso molecular medio bajo están entonces en forma de una disolución. Un gel se produce con polímeros que tienen un peso molecular mayor o con polímeros reticulados. La captación de agua hasta que se establece el equilibrio puede ascender, por ejemplo, hasta 10 veces el peso inherente, que corresponde a 1000% del peso del polímero.

40

Medida del porcentaje de captación de agua

45 La medida del porcentaje de captación de agua es familiar para el técnico experto. En el *Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie/Rudolf Voigt*, Basel: Verlag Chemie, 5ª edición completamente revisada, 1984, página 151, 7.7.6 bajo "Aufsugvermögen", por ejemplo, se describe un método adecuado. El método hace uso del denominado aparato de Enslin, en el que un embudo de filtro de succión de vidrio se conecta mediante una tubería a una pipeta graduada. La pipeta se monta exactamente de forma horizontal de tal modo que está al mismo nivel que la frita de vidrio. Una captación de agua de 100% se define en el presente caso como una captación de agua de 1 ml de agua por 1 g de polímero que tiene un efecto mucoadhesivo en 15 min.

50

Núcleo

55 El núcleo comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la penetración y un agente que promueve la biodisponibilidad, que incrementa la biodisponibilidad del ingrediente activo. El núcleo puede comprender otros excipientes farmacéuticos o nutracéuticos que son diferentes del ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, del promotor de la penetración y del agente que promueve de la biodisponibilidad. El núcleo puede comprender además opcionalmente una capa de sincronización.

- 5 El núcleo puede comprender una partícula nuclear neutra (esfera de azúcar o almidón) sobre la que se aplican, por ejemplo mediante técnicas de pulverización, preferiblemente unidos en un aglutinante como por ejemplo lactosa o polivinilpirrolidona, el ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, el promotor de la penetración y el agente que promueve la biodisponibilidad. Sin embargo, preferiblemente el núcleo no comprende una partícula nuclear neutra (esfera de azúcar o almidón).
- 10 Preferiblemente, el núcleo comprende, comprende esencialmente, o contiene el ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, el promotor de la penetración y el agente que promueve la biodisponibilidad. Preferiblemente, el núcleo está en forma de un pelete esférico que se puede producir mediante métodos conocidos como extrusión en húmedo, extrusión en fundido, rotaglomeración o esferonización. El núcleo puede contener el ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, el promotor de la penetración y el agente que promueve la biodisponibilidad en forma de una estructura de matriz o en forma de una estructura de capas. Una estructura de capas se puede generar o aplicar mediante técnicas de revestimiento por pulverización conocidas.
- 15 El ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, el promotor de la penetración y el agente que promueve la biodisponibilidad se pueden mezclar juntos para formar una estructura de matriz única.
- El núcleo en total puede contener hasta 90, hasta 50, hasta 30, hasta 20, hasta 10% en peso de otros excipientes. Preferiblemente, el núcleo no contiene cantidades esenciales de o ningún excipiente adicional.
- El núcleo puede comprender además una capa de sincronización.
- El núcleo puede revestirse además mediante un revestimiento entérico polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo.
- 20 El núcleo puede revestirse además mediante una capa de sincronización y mediante un revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo.
- El núcleo, tanto si está revestido o no, se puede revestir adicionalmente con un revestimiento exterior que se disuelve rápidamente que comprende un aglutinante como azúcar y por ejemplo un pigmento.
- Enfoque galénico específico para ingredientes activos aniónicos
- 25 En el caso en el que el ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico sea aniónico y el promotor de la penetración sea catiónico, se pueden producir interacciones indeseadas, tal como precipitación o inactivación de las propiedades de penetración del promotor de la penetración, cuando las sustancias se mezclan juntas en cantidades que sean aproximadamente equimolares con respecto a sus cargas, o cuando el ingrediente activo está presente en exceso con respecto al promotor de la penetración.
- 30 A fin de evitar tales interacciones indeseadas, el ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico y el promotor de la penetración se pueden separar en capas distintas (estructura nuclear en capas). Las capas individuales pueden contener otros excipientes, que son diferentes del ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, del promotor de la penetración y del agente que promueve la biodisponibilidad, tales como aglutinantes, por ejemplo polivinilpirrolidona o lactosa, o polímeros tales como celulosas o copolímeros (met)acrílicos.
- 35 Un enfoque adicional para evitar la precipitación o inactivación de las propiedades de penetración del promotor de la penetración puede ser el uso de la estructura de matriz pero con la adición de excipientes que debiliten las interacciones iónicas indeseadas, tales como sales, tales como cloruro de sodio, cloruro de potasio, estearato de magnesio o similares, polímeros anfífilos o polímeros no iónicos que se enlazan mediante hidrógeno.
- 40 De este modo, la formulación de la invención se puede caracterizar además por que el ingrediente activo es aniónico y el promotor de la penetración es catiónico, y por que se evitan las interacciones iónicas entre ambos componentes
- mediante una cantidad excesiva del promotor de la penetración en una mezcla de ambos componentes en el mismo compartimiento de la formulación, o
 - mediante la separación local de ambos componentes en diferentes compartimientos de la formulación, o
 - mediante la adición de sales, polímeros anfífilos o polímeros no iónicos que se enlazan mediante hidrógeno a una mezcla de ambos componentes en el mismo compartimiento de la formulación.
- 45 La expresión compartimientos de la formulación se quiere decir en el sentido del núcleo con una estructura de matriz homogénea que comprende el ingrediente activo y el promotor de la penetración (mezcla de ambos componentes en el mismo compartimiento), o el núcleo con el ingrediente activo y una capa distinta que puede contener el promotor de la penetración, o viceversa (separación local en diferentes compartimientos).
- 50 Cantidades de los componentes principales en la formulación final

La cantidad del promotor de la penetración en la formulación final, que significa la dosis individual total a ingerir, puede estar en el intervalo de 1 a 60% en peso, preferiblemente 10 a 40% en peso.

5 Si el promotor de la penetración es también un polímero con un efecto mucoadhesivo, como quitosano, la cantidad en la formulación final no debería de exceder 10% en peso, para evitar que la formulación se haga mucoadhesiva. De este modo, los polímeros con un efecto mucoadhesivo, como quitosano, se deberían de combinar preferiblemente con promotores de la penetración sin tal efecto mucoadhesivo, como por ejemplo EUDRAGIT® E, si se requieren cantidades de más de 10% en peso de promotores de la penetración para asegurar un efecto suficiente del promotor de la penetración.

10 La cierta cantidad se debería de escoger a fin de obtener preferiblemente una concentración final en los líquidos fisiológicos relevantes, por ejemplo 100 ml de fluido intestinal, entre 0,1 y 2,5 mg/ml, preferiblemente 0,5 a 1 mg/ml. Esto debería de corresponder a una resistencia eléctrica transepitelial (valor de TEER) de células Caco II en un sistema de ensayo in vitro de 50% o menos, preferiblemente de 40% o menos, preferiblemente de 30% o menos, preferiblemente de 20% o menos, en presencia del promotor de la penetración a una concentración de 1 mg/ml tras 30 min. medida en un experimento de transporte usando como agente activo desmopresina y como barrera transportadora un cultivo de monocapa de células Caco 2.

15 La cantidad del agente que promueve la biodisponibilidad en la formulación final, que significa la dosis individual total a ingerir, puede estar en el intervalo de 0,1 a 10% en peso, preferiblemente 0,5 a 5% en peso, lo más preferible 1 a 2,5% en peso. La determinada cantidad debería de escogerse a fin de obtener preferiblemente una concentración final en los líquidos fisiológicos relevantes, por ejemplo 100 ml de fluido intestinal, entre 0,004 y 0,1 mg/ml, preferiblemente 0,02 a 0,04 mg/ml. Esto debería de corresponder a un incremento de la biodisponibilidad oral del ingrediente activo en un factor de al menos cinco, en comparación con una formulación correspondiente sin el agente que promueve la biodisponibilidad.

20 La cantidad del ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico en la formulación es muy variable, dependiendo de la cantidad terapéuticamente requerida. Como ejemplo, la cantidad terapéuticamente requerida total de desmopresina es alrededor de 200 µg por forma de dosificación, mientras que la cantidad terapéuticamente requerida total de heparina puede ser alrededor de 200 mg por forma de dosificación.

Ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico

30 El ingrediente activo puede ser cualquier ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico en el que es deseable el suministro peroral. Preferiblemente, el ingrediente activo pertenece al grupo de las subclases III y IV del BCS, en el que es deseable una mejora de la absorción oral. Preferiblemente, el ingrediente activo es una molécula de origen biológico, por ejemplo una proteína o un péptido, un ácido nucleico, un lípido o un hidrato de carbono, o un derivado natural o sintético de estas sustancias.

35 El ingrediente activo puede ser una proteína o un péptido que tiene un peso molecular medio M_w menor que 3000 Da. Los ejemplos de tales péptidos son en particular abarelix, angiotensina II, anidulafungina, antida, argipresina, azalina y azalina B, antagonista de bombesina, bradiquinina, busarelina, cetorelix, ciclosporina A, desmopresina, detirelix, encefalinas (Leu-, Met-) ganirelix, gonadorelina, goserelina, secretagogo de hormona del crecimiento, micafungina, nafarelina, leuprolida, leuprorelina, octreotida, orntida, oxitocina, ramorelix, secretina, somatotropina, terlipresina, tetracosactida, teverelix, triptorelina, tiroliberina, tirotropina, vasopresina.

40 El ingrediente activo puede ser una proteína o un péptido que tiene un peso molecular medio M_w de 3000 a 10000 Da. Los ejemplos de tales proteínas o péptidos son en particular calcitonina, corticotrofina, endorfinas, factor de crecimiento epitelial, glucagón, insulina, novolina, hormona paratiroidea, relaxina, pro-somatostatina, secretina de salmón.

45 El ingrediente activo puede ser una proteína o un péptido que tiene un peso molecular medio M_w de más de 10000. Los ejemplos de tales proteínas o péptidos son en particular interferones (alfa, beta, gamma), interleucinas (IL1, IL2), somatotropina, eritropoyetina, factor de necrosis tumoral (TNF alfa, beta), relaxina, endorfina, domasa alfa, hormona estimulante de folículos (FSH), gonadotropina coriónica humana (HCG), factor de liberación de hormona del crecimiento humana (hGRF), hormona luteinizante (LH) o factor de crecimiento epidérmico.

El ingrediente activo puede ser desmopresina o un derivado de la misma, como diferentes sales o acetato de desmopresina o lactato de desmopresina.

50 El ingrediente activo puede ser un polisacárido. El ingrediente activo puede ser una heparina o un derivado de la misma, como heparinas no fraccionadas o heparinas de peso molecular medio o heparinas de peso molecular bajo o heparinas de peso molecular muy bajo.

El ingrediente activo puede ser un ácido nucleico o un derivado del mismo, como por ejemplo 5-fluorouracilo.

55 Los ejemplos de ingredientes activos nutracéuticos son vitaminas, ácidos grasos esenciales, resveratrol procedente de productos de la uva como antioxidante, productos de fibra dietética solubles, tal como cáscara de semilla de psilio

para reducir la hipercolesterolemia, brócoli (sulfato) como conservante contra el cáncer, y soja o trébol (isoflavonoides) para mejorar la salud arterial. Otros ejemplos de nutracéuticos son flavonoides, antioxidantes, ácido alfa-linoleico de semilla de lino, beta-caroteno de pétalos de caléndula, o antocianinas de bayas.

- 5 Otros ejemplos para nutracéuticos son vitaminas y minerales, taurina, Omega-3, catequinas de té verde, coenzima Q10, aloe vera, glucosamina, condroitina, proteína de suero lácteo, guaraná, ginkgo, ácido gamma-aminobutírico. Otros nutracéuticos se pueden escoger de las clases de sustancias botánicas, probióticas, prebióticas, esteroides vegetales y enzimas.

Clases III y IV del BCS

- 10 El ingrediente o ingredientes activos pueden pertenecer, por ejemplo, al grupo de las clases III y IV del BCS (sistema de clasificación biofarmacéutico según Prof. Amidon; Amidon et al., Pharm. Res. 12, 413 - 420 (1995)) y/o al grupo de los antiandrogénicos, antidepresivos, antidiabéticos, antirreumáticos, glucocorticoides, citostáticos, fármacos contra la migraña, neurolépticos, antibióticos, estrógenos, vitaminas, fármacos psicotrópicos, inhibidores de ACE, β -bloqueadores, bloqueadores de los canales de calcio, diuréticos, glicósidos cardíacos, antiepilépticos, diuréticos/antiglaucoma, uricostáticos, bloqueadores del receptor de H_2 , y viroestáticos.

- 15 La formulación farmacéutica o nutracéutica comprende al menos un, generalmente solo un, ingrediente activo, pero si es apropiado también combinaciones de dos o más ingredientes. El ingrediente activo presente puede consistir por lo tanto en un único ingrediente activo o, si es apropiado, también en una pluralidad de ingredientes activos individuales.

Clase III del BCS – Baja permeabilidad, alta solubilidad

- 20 La absorción está limitada por la velocidad de permeación, pero el fármaco se solvata muy rápidamente.

Clase IV del BCS – Baja permeabilidad, baja solubilidad

Esos compuestos tienen una mala biodisponibilidad. Habitualmente, no son bien absorbidos sobre la mucosa intestinal, y se espera una variabilidad elevada.

- 25 El ingrediente o ingredientes activos de las clases III y IV del BCS tienen preferiblemente una permeabilidad que es menor que 90% de la dosis administrada basado en la determinación del balance de masas, o en comparación con una dosis intravenosa. La permeabilidad se basa indirectamente en el grado de absorción de la sustancia farmacéutica en seres humanos, y directamente en la medida de las velocidades de transferencia de masa a través de la membrana intestinal humana. Como alternativa, se pueden usar sistemas no humanos capaces de predecir los sistemas de absorción de fármacos capaces de predecir la absorción de fármacos en seres humanos (tales como métodos de cultivo in vitro). Una sustancia farmacéutica se considera muy permeable cuando el grado de absorción en seres humanos se determina que es 90% o más de la dosis administrada basado en la determinación del balance de masas o en comparación con una dosis intravenosa.

- 35 Los ingredientes activos de la clase IV del BCS pueden tener una solubilidad en agua desmineralizada de 3,3 g/l o menos. Los ingredientes activos de la clase III del BCS tienen buena solubilidad en agua. Los ingredientes activos de la clase IV del BCS tienen una baja permeabilidad. Las ventajas de la invención son presentadas por lo tanto en particular para los ingredientes activos de la clase III del BCS, puesto que la permeabilidad del ingrediente activo constituye aquí la única limitación de su biodisponibilidad. Sin embargo, una mayor permeabilidad del ingrediente activo también puede ser de ayuda en el caso de ingredientes activos de la clase IV del BCS, a fin de lograr una cierta mejora en la biodisponibilidad al menos gradualmente a pesar de la limitación de la mala solubilidad en agua de estos ingredientes activos.

- 45 El ingrediente o ingredientes activos pueden ser bicalutamida, anastrozol, albendazol, amitriptilina, artemeter, clorpromazina, ciprofloxacina, clofazimina, dapsona, diloxanida, efavirenz, ácido fólico, furosemida, glibenclamida, griseofulvina, haloperidol, ivermectina, ibuprofeno, idinavir, lopinavir, lumefantrina, mebendazol, mefloquina, niclosamida, nelfinavir, nifedipina, nitrofurantoína, fenitoína, pirantel, piremetamina, retinol, ritonavir, espironolactona, sulfadiazina, sulfasalazina, sulfametoxazol, triclabendazol, trimetoprima, ácido valproico, verapamil, warfarina, ácido nalidixico, nevirapina, praziquantel, rifampicina, glimipirida, nilutamida, bromocriptina, ketotifeno, letrozol, naratriptano, ganciclovir, orlistat, misoprostol, granistrón, pioglitazona, lamivudina, rosiglitazona, zidovudina, enalapril, atenolol, nadolol, felodipina, bepridil, digoxina, digitoxina, carbamazepina, acetazolamida, alopurinol, cimetidina, ranitidina u oxcabazepina.

- 50 Solubilidad en agua

Los ingredientes activos pueden tener una solubilidad en agua desmineralizada de 3,3 g/l o menos, preferiblemente 3,3 g/l o menos, en particular 1,1 g/l o menos.

La solubilidad en agua para el ingrediente activo se puede definir según DAB 10 (Deutsches Arzneibuch [Farmacopea Alemana], 10ª edición con 3ª revisión 1994, Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart and Govi Verlag,

Frankfurt am Main, 2ª revisión (1993), IV Allgemeine Vorschriften [IV Métodos generales], p. 5 - 6, "Löslichkeit und Lösungsmittel" ["Solubilidad y disolventes"]; véase también Ph. Eur. 4.07, 2004).

Inhibidor de la degradación enzimática del ingrediente activo

5 Cuando el ingrediente activo es una molécula de origen biológico, por ejemplo una proteína o un péptido, un ácido nucleico, un lípido o un hidrato de carbono, o un derivado natural o sintético de estas sustancias, se puede añadir un inhibidor que evita o reduce la degradación enzimática del ingrediente activo, que se puede producir en las condiciones medioambientales del tubo digestivo. El inhibidor es diferente del agente que promueve la biodisponibilidad, y de este modo se puede añadir además. Preferiblemente, tal inhibidor que evita o reduce la degradación enzimática del ingrediente activo debería de ser más o menos específico para el ingrediente activo de origen biológico. Preferiblemente, el inhibidor que evita o reduce la degradación enzimática del ingrediente activo debería de ser farmacéuticamente aceptable en relación con la determinada aplicación en animales o en seres humanos. Farmacéuticamente aceptable se podría definir en el sentido de que existe un estado generalmente reconocido como seguro (GRAS) o algo comparable al estado de GRAS.

15 En el caso de que el ingrediente activo sea una proteína o un péptido que es principalmente un sustrato de tripsina o quimiotripsina, normalmente no hace falta añadir un inhibidor de enzimas proteolíticas puesto que el promotor de la biodisponibilidad ya es tal inhibidor. Sin embargo, no se excluye de que se pueda añadir una enzima proteolítica adicional en el caso de que otras enzimas proteolíticas sean responsables de la degradación, aunque se prefiere que, aparte del promotor de la biodisponibilidad, no haya ningún otro inhibidor de enzimas proteolíticas presente en la formulación.

20 En el caso de que el ingrediente activo sea un ácido nucleico, preferiblemente un ADN o un ARN, el inhibidor de la degradación enzimática es un inhibidor de ADNasa o ARNasa, preferiblemente inhibidores de ADNasa o ARNasa procedentes de fuentes de animales mamíferos o de seres humanos.

25 En el caso de que el ingrediente activo sea una sustancia glicosídica, preferiblemente un glucosaminoglicano sulfonado o no sulfonado, como por ejemplo un proteoglicano, una heparina o un sulfato de heparano, el inhibidor de la degradación enzimática puede ser un inhibidor de heparanasa (EC. 3.2.1.B2) o una heparina liasa (EC. 4.2.2.7) o heparinsulfato liasa (EC. 4.2.2.8). Otros inhibidores pueden ser el inhibidor de L-iduronidasa (EC 3.2.1.76), N-sulfoglucosamina-3-sulfatasa (EC 3.1.6.15), iduronato-2-sulfatasa (EC 3.1.6.13), heparan-alfa-glucosaminida N-acetiltransferasa (EC 2.3.1.78), alfa y beta amilasa (EC 3.2.1.1, EC 3.2.1.2), glucan 1,4-alfa-glucosidasa (EC 3.2.1.3), alfa,alfa-trehalasa (EC 3.2.1.28) o sacarosa alfa-glucosidasa (EC 3.2.1.48).

30 Las heparanasas (EC. 3.2.1.B2) son enzimas endógenas que pueden cortar específicamente cadenas de sulfato de heparano de las superficies celulares y proteoglicanos de heparanosulfatos de la membrana basal.

35 Los ejemplos del inhibidor de la degradación enzimática de heparanasa son polifenoles, preferiblemente de los grupos de estilbenos, flavonoides o antocianos. Se prefiere resveratrol (*trans*-3,4,5-trihidroxiestilbeno), que se puede aislar, por ejemplo, de *Polygonum cuspidatum* o de la vid. El efecto inhibidor de resveratrol sobre la heparanasa se ha demostrado, por ejemplo, mediante Ahn et. al. (2006) Life Sciences 79, 1661 - 1665.

Promotor de la penetración

Un promotor de la penetración, en el sentido de la presente invención, disminuye la resistencia eléctrica transepitelial (valores de TEER) de células Caco-II en un sistema de ensayo in vitro.

40 Preferiblemente, el promotor de la penetración, en el sentido de la presente invención, se puede definir reduciendo el valor inicial de TEER de la disolución tampón sin promotor de la penetración (100%) hasta 50% o menos, preferiblemente 40% o menos, preferiblemente 30% o menos, preferiblemente 20% o menos en presencia del promotor de la penetración a una concentración de 1 mg/ml tras 60 min. medido en un cultivo de monocapa de células Caco 2 como barrera de transporte. El método para evaluar los valores de TEER en un experimento de transporte usando un cultivo de monocapa de células Caco 2 respectivamente a través de una barrera de cultivo de monocapa de células Caco 2 está bien probado y es conocido por una persona experta en la técnica.

45 Para evitar dudas, las condiciones esquemáticas como también se usan en el ejemplo 12 se pueden resumir aquí: número de pasadas de Caco 2, menos de 50; edad del cultivo, 14 a 30 días en filtros Transwell™; valores de TEER antes y después del transporte, por encima de 200 $\Omega \text{ cm}^2$ (que indican integridad y firmeza de la monocapa de células); coeficiente de permeabilidad aparente (apical/basolateral y basolateral/apical (ab y ba)) del marcador poco permeable (fluoresceína), menor que $1 \cdot 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ (que indica idoneidad del modelo para identificar un transporte poco permeable, asegurando la firmeza de la monocapa de células); coeficiente de permeabilidad aparente (ba) de rodamina 123, mayor que $4 \cdot 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ (que indica expresión evidente de P-glicoproteína); coeficiente de permeabilidad aparente (ab) de propranolol, mayor que $5 \cdot 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ (que indica idoneidad del modelo para identificar transporte muy permeable); los tampones que se pueden usar en los experimentos de transporte para el lado apical o para el lado basolateral son tampón de HBSS pH 6,5 a 7,4 para el lado apical y tampón de HBSS pH 7,4 para el lado basolateral (pH ajustado individualmente); medio de cultivo celular: medio de Eagle modificado de

Dulbecco (DMEM) suplementado preferiblemente con aminoácidos no esenciales y sulfato de gentamicina como se conoce en la técnica.

El promotor de penetración preferido es una sustancia polimérica, o más preferiblemente una sustancia polimérica catiónica.

- 5 Preferiblemente, el promotor de la penetración puede ser un copolímero de (met)acrilato catiónico que comprende grupos amino terciarios.

Más preferiblemente, el promotor de la penetración puede ser un copolímero compuesto de 30 a 80% en peso de ésteres alquílicos de C₁ a C₄ de ácido acrílico o metacrílico, y 70 a 20% en peso de monómeros de (met)acrilato de alquilo que tienen un grupo amino terciario en el radical alquilo.

- 10 Los promotores de la penetración que se pueden excluir son en particular plastificantes tales como, por ejemplo, citrato de trietilo, citrato de acetilo y trietilo, sebacato de dietilo, sebacato de dibutilo, polímeros tales como carbomer, carboximetilcelulosa sódica, policarbofil-cisteínas, ácidos grasos de cadena larga, sus ésteres (por ejemplo, mono- y diglicéridos) y sus sales tales como ácido láurico, ácido laurinsulfónico, ácido palmítico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido oleico, acilcarnitinas, agentes quelantes tales como EDTA, salicilatos, ciclodextrinas, poliácidos acrílicos, ácidos biliares tales como ácido cólico, colilaurina, colilsarcosina, ácido quenodesoxicólico y sus sales tales como colato de Na, glicolato de Na, taurocolato de Na, taurodihidrofusidato de Na, glicodihidrofusidato de Na, tensoactivos y emulsionantes tales como, en particular, dodecilsulfato de sodio (SDS), polisorbato 80 (Tween 80), aceite de ricino polietoxilado (Cremophor EL), la toxina de zonula occludens (ZOT), y vitaminas tales como vitamina E (tocoferol) o vitamina B12.

- 20 Tipo EUDRAGIT® E

El copolímero de (met)acrilato catiónico que comprende grupos amino terciarios puede estar compuesto parcial o totalmente de acrilatos de alquilo y/o metacrilatos de alquilo que tienen un grupo amino terciario en el radical alquílico. Los copolímeros de (met)acrilato adecuados son conocidos, por ejemplo, desde el documento EP 0058765 B1.

- 25 El copolímero de (met)acrilato catiónico que comprende grupos amino terciarios puede estar compuesto, por ejemplo, de 30 a 80% en peso de ésteres alquílicos de C₁ a C₄ de ácido acrílico o de ácido metacrílico polimerizados mediante radicales libres, y 70 a 20% en peso de monómeros de (met)acrilato que tienen un grupo amino terciario en el radical alquílico.

- 30 Los monómeros adecuados con grupos amino terciarios funcionales se detallan en el documento US 4.705.695, columna 3, línea 64, a columna 4, línea 13. Se debería de hacer mención en particular de acrilato de dimetilaminoetilo, acrilato de 2-dimetilaminopropilo, metacrilato de dimetilaminopropilo, acrilato de dimetilaminobencilo, metacrilato de dimetilaminobencilo, acrilato de (3-dimetilamino-2,2-dimetil)propilo, metacrilato de dimetilamino-2,2-dimetil)propilo, acrilato de (3-dietilamino-2,2-dimetil)propilo y metacrilato de dietilamino-2,2-dimetil)propilo. Se da preferencia particular a metacrilato de dimetilaminoetilo.

- 35 El contenido de los monómeros con grupos amino terciarios en el copolímero puede estar ventajosamente entre 20 y 70% en peso, preferiblemente entre 40 y 60% en peso. La proporción de los ésteres alquílicos de C₁ a C₄ de ácido acrílico o ácido metacrílico es 70-30% en peso. Se debería de hacer mención de metacrilato de metilo, metacrilato de etilo, metacrilato de butilo, acrilato de metilo, acrilato de etilo y acrilato de butilo.

- 40 Un copolímero de (met)acrilato adecuado con grupos amino terciarios se puede formar, por ejemplo, a partir de 20-30% en peso de metacrilato de metilo, 20-30% en peso de metacrilato de butilo y 60-40% en peso de metacrilato de dimetilaminoetilo.

- 45 Un copolímero de (met)acrilato comercial específicamente adecuado con grupos amino terciarios está formado, por ejemplo, de 25% en peso de metacrilato de metilo, 25% en peso de metacrilato de butilo y 50% en peso de metacrilato de dimetilaminoetilo (EUDRAGIT® E100 o EUDRAGIT® E PO (forma de polvo)). EUDRAGIT® E100 y EUDRAGIT® E PO son solubles en agua por debajo de aprox. pH 5,0, y de este modo son también solubles en jugos gástricos.

El promotor de la penetración puede ser un denominado "copolímero de aminometacrilato (USP/NF)", "copolímero de metacrilato butilado básico (Ph. Eur.)" o "copolímero de metacrilato de aminoalquilo E (JPE)", que son del tipo EUDRAGIT® E.

- 50 Uso de copolímero de amino(met)acrilato carbonatado

El promotor de la penetración, que es un copolímero de amino(met)acrilato, un copolímero de (met)acrilato catiónico que comprende grupos amino terciario, se puede aplicar ventajosamente al núcleo en forma de un medio acuoso carbonatado con dióxido de carbono, por ejemplo mediante revestimiento por pulverización. De este modo, es posible añadir el promotor de la penetración a la formulación de los núcleos, que pueden tener una estructura de

matriz o una estructura en capas, con lo que el promotor de la penetración en la matriz o en una capa alrededor del núcleo no contiene trazas de ácidos.

5 Se encontró que se puede usar un medio acuoso carbonatado con dióxido de carbono para obtener una disolución o una dispersión de un copolímero de amino(met)acrilato. Se ha demostrado que los grupos amino están neutralizados al menos parcialmente por el ácido carbónico/hidrogenocarbonato disuelto en la fase acuosa, y de este modo el copolímero de amino(met)acrilato se dispersa al menos , se disuelve parcialmente o incluso se disuelve completamente, o algo parecido entre estas condiciones.

10 El copolímero de amino(met)acrilato que contiene medio acuoso carbonatado se puede manipular fácilmente de manera similar como disoluciones de disolventes orgánicos. Sin embargo, en este caso no se elimina el disolvente orgánico sino el agua carbonatada. Esto significa que un revestimiento seco hecho de la dispersión o disolución de la invención consistirá más o menos en el polímero o copolímero de amino(met)acrilato puro, ya que el dióxido de carbono se elimina con el vapor. Esto es una ventaja sorprendente con respecto a las dispersiones acuosas que están parcialmente neutralizadas por ácidos sólidos o líquidos, en las que los ácidos u otros excipientes siempre permanecen con la formulación del copolímero de amino(met)acrilato seca.

15 De este modo, es ventajoso usar un medio acuoso que contiene un copolímero de amino(met)acrilato que no es soluble en agua desmineralizada, en el que el medio puede tener un contenido de la fase acuosa de al menos 60% en peso y un contenido de sólidos de hasta 40% en peso que comprende el copolímero de amino(met)acrilato, con lo que la fase acuosa está cargada de una cantidad suficiente de dióxido de carbono que afecta al copolímero de amino(met)acrilato para que esté presente en forma de soluto en el medio.

20 Agente que promueve la biodisponibilidad

El agente que promueve la biodisponibilidad es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas, que incrementa la biodisponibilidad oral del ingrediente activo en un factor de al menos cinco, en comparación con una formulación correspondiente sin el agente que promueve la biodisponibilidad.

25 El agente que promueve la biodisponibilidad es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas, preferiblemente un inhibidor de tripsina y quimiotripsina.

30 Un inhibidor de enzimas proteolíticas se puede definir dentro de los límites de los experimentos de inhibición de enzimas del ejemplo 14. De este modo, un inhibidor de enzimas proteolíticas, en el sentido de la invención, se puede definir como un inhibidor que, a una concentración que no supera 1 mg/ml, evita que una cantidad inicial de una disolución de 20 µg de acetato de desmopresina/ml en tampón de HBSS pH 6,5 a 37°C y un tiempo de incubación de 180 minutos se reduzca a menos de 80% en presencia de una disolución de pancreatina con una concentración de 10 mg/ml.

35 El agente que promueve la biodisponibilidad es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas, preferiblemente un inhibidor de enzimas proteolíticas de origen mamífero, preferiblemente un inhibidor de enzimas proteolíticas del tubo digestivo de mamíferos, que incrementa la biodisponibilidad del ingrediente activo en un factor de 5, preferiblemente en un factor de al menos 6, preferiblemente en un factor de al menos 7, preferiblemente en un factor de al menos 8, preferiblemente en un factor de al menos 9, preferiblemente en un factor de al menos 10, con lo que se incrementa la biodisponibilidad del ingrediente activo medida in vivo como biodisponibilidad relativa en comparación con la formulación correspondiente o la misma formulación pero sin el inhibidor de enzimas proteolíticas. Los inhibidores de enzimas proteolíticas incluyen inhibidores de peptidasas o de proteinasas.

40 El agente que promueve la biodisponibilidad es diferente del promotor de la penetración. El agente que promueve la biodisponibilidad es diferente del copolímero de (met)acrilato catiónico que comprende grupos amino terciarios.

Los ejemplos de inhibidores de proteasas farmacéuticamente adecuados son antipaína, protinina, bacitracina, benzamidina, bestatina, quimiostatina, ovoinhibidor de pollo, conjugados de quitosano-EDTA, leupeptina, pepstatina, inhibidores de tripsina de haba de soja, tiorfano, tos-lys clorometil cetona, inhibidor de carboxipeptidasa de patata.

45 Preferiblemente, el inhibidor de enzimas proteolíticas es un péptido o una proteína. Preferiblemente, el inhibidor de peptidasa o de proteinasa es un péptido o una proteína con un peso molecular (M_w medio ponderal) de 3.000 a 100.000, preferiblemente 3.000 a 10.000 (g/mol).

50 Un inhibidor de enzimas proteolíticas, en el sentido de la invención, inhibe la actividad proteolítica de peptidasa o proteinasas de origen mamífero, tales como tripsina o quimiotripsina humana. El inhibidor de enzimas proteolíticas puede ser una enzima de origen natural o un derivado de la misma. Derivado de una enzima de origen natural significa fragmentos o variantes de la misma. Fragmentos o variantes de la misma están disponibles mediante procesamiento sintético o modificación mediante métodos tecnológicos de genes.

55 Preferiblemente, el inhibidor de enzimas proteolíticas proviene de una fuente vegetal tal como, por ejemplo, habas de soja, garbanzos o judía de lima. Las materias primas o fuentes típicas a partir de las cuales se puede aislar el inhibidor de enzimas proteolíticas pueden ser harinas o copos de soja, harina de garbanzo, harina de judía de lima o

suero de soja obtenido a partir de concentrado de proteína de soja industrial o procesos de proteína de soja tradicionales.

5 El inhibidor de Bowman-Birk (BBI) es una designación de inhibidores de enzimas proteolíticas bien conocida de una familia de inhibidores de tripsinas y quimiotripsinas de bajo peso molecular encontrados en habas de soja y otras diversas semillas, principalmente en semillas leguminosas y materiales vegetales. El inhibidor de Bowman-Birk (BBI), en el sentido de la presente invención, significará al menos uno o más de los miembros de la familia de enzimas de inhibidores de Bowman-Birk.

10 El inhibidor de enzimas proteolíticas puede ser un inhibidor de Bowman-Birk o un derivado del mismo. El inhibidor de Bowman-Birk puede ser preferiblemente un polipéptido de 71 aminoácidos derivado de haba de soja con lados inhibidores distintos para tripsina y para quimiotripsina. El inhibidor de Bowman-Birk se puede aislar de manera conocida a partir de las fuentes vegetales mencionadas anteriormente mediante extracción acuosa, cromatografía de afinidad y elución subsiguiente. Como alternativa, el inhibidor de Bowman-Birk está comercialmente disponible de diferentes fuentes.

15 Un derivado del inhibidor de Bowman-Birk puede ser un fragmento o variante del mismo. Los fragmentos o variantes del mismo están disponibles mediante procesamiento sintético o mediante modificación por métodos de tecnología génica. El término derivado, en este sentido, es bien conocido por una persona experta.

La concentración en peso del inhibidor de enzimas proteolíticas puede ser preferiblemente 0,1 a 100 veces, preferiblemente 0,5 a 50 veces, preferiblemente 5 a 25 veces, en comparación con el peso del ingrediente activo.

20 De este modo, la invención se refiere al uso de un agente promotor de la biodisponibilidad que es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas como excipiente, que incrementa la biodisponibilidad oral de un ingrediente activo en una formulación de la invención.

Biodisponibilidad oral incrementada

25 El agente que promueve la biodisponibilidad es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas, que incrementa la biodisponibilidad oral del ingrediente activo en un factor de al menos cinco, preferiblemente en un factor de al menos 6, preferiblemente en un factor de al menos 7, preferiblemente en un factor de al menos 8, preferiblemente en un factor de al menos 9, preferiblemente en un factor de al menos 10.

Cálculo si se incrementa la biodisponibilidad oral

Las expresiones biodisponibilidad oral y el cálculo de la biodisponibilidad oral relativa son bien conocidas por la persona experta.

30 El factor de incremento de la biodisponibilidad oral del ingrediente activo se puede calcular dividiendo la concentración de nivel de sangre de un grupo de animales de ensayo, expresada como área bajo la curva de concentración-tiempo ($AUC_{0-\infty}$ [pg/ml*min.]) tras el suministro oral de la formulación, entre una concentración de nivel de sangre correspondiente de un grupo de animales de ensayo correspondiente tras el suministro oral de una formulación correspondiente sin el inhibidor de enzimas proteolíticas.

35 Por supuesto, el grupo de animales de ensayo debería de ser un grupo representativo o respectivamente un grupo estadísticamente relevante. Una persona experta está familiarizada con la estadística implicada. De este modo, la persona experta puede determinar fácilmente un número representativo o un número estadísticamente relevante de animales de ensayo. El animal experimental preferido es el minicerdo (Göttingen). Un grupo representativo o un grupo estadísticamente relevante de animales de ensayo de minicerdos puede consistir, por ejemplo, en 8 animales (n = 8).

40 El área bajo la curva de concentración-tiempo ($AUC_{0-\infty}$ [pg/ml*min.]) de la sangre de minicerdos tras el suministro oral de desmopresina con la formulación según el ejemplo 11 con el inhibidor de enzimas proteolíticas es en el presente ejemplo inventivo 16 53823 pg/ml*min. Esta se compara con la $AUC_{0-\infty}$ de la formulación correspondiente sin el inhibidor de enzimas proteolíticas (ejemplo 10), cuya $AUC_{0-\infty}$ es 5155 pg/ml*min. De este modo, el factor de incremento de biodisponibilidad oral calculado es $53823/5155 = 10,44$.

Revestimiento entérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo

Al menos los núcleos de las partículas o la unidad de dosificación comprenden un revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo. El revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo es un revestimiento entérico, respectivamente una capa de revestimiento entérico.

50 La capa de revestimiento entérico puede contener hasta 50, hasta 40, hasta 30, hasta 20, hasta 10% en peso de otros excipientes como plastificantes o agentes de deslizamiento. Preferiblemente, la capa de revestimiento entérico no contiene cantidades esenciales o ningún excipiente adicional.

- 5 Los revestimientos entéricos son bien conocidos por la persona experta. Los revestimientos entéricos no son solubles en fluidos gástricos, pero son solubles en fluidos entéricos. Resistencia entérica significa que no más del 10% del ingrediente activo es liberado en un tampón de pH 1,2 en 120 min. Soluble en fluidos entéricos significa que se disuelven a ciertos valores de pH entre 5,0 y 7,5, dependiendo de su naturaleza química en el duodeno, yeyuno, íleon o colon.
- El revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo puede comprender copolímeros funcionalizados con carboxilo, polisacáridos aniónicos, polímeros celulósicos o copolímeros de (met)acrilato aniónicos.
- 10 Los polisacáridos carboxi funcionalizados o polímeros celulósicos adecuados se pueden seleccionar de alginato de sodio, carboximetilcelulosa y sus sales (CMC, Na-CMC, Blanose, Tylopur), carboximetiletilcelulosa y sus sales, acetato-ftalato de celulosa (CAP), acetato-succinato de celulosa (CAS), acetato-trimelitato de celulosa (CAT), ftalato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCP, HP50, HP55), acetato-succinato de hidroxipropilmetil celulosa (HPMCAS-LF, -MF, -HF).
- 15 Los copolímeros carboxi funcionalizados adecuados son copolímeros vinílicos que comprenden unidades estructurales que derivan de ácidos carboxílicos insaturados distintos de ácido acrílico o ácido metacrílico, como se ejemplifican mediante poli(acetato-ftalato de vinilo), o un copolímero de acetato de vinilo y ácido crotónico 9:1.
- Copolímero de (met)acrilato aniónico
- 20 El revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo es preferiblemente un copolímero de (met)acrilato aniónico. Los copolímeros de (met)acrilato aniónicos también se pueden denominar polímeros entéricos. El copolímero de (met)acrilato aniónico comprende 25 a 95, preferiblemente 40 a 95, en particular 60 a 40% en peso de ésteres alquílicos de C₁ a C₄ de ácido acrílico o metacrílico polimerizados mediante radicales libres y 75 a 5, preferiblemente 60 a 5, en particular 40 a 60, % en peso de monómeros de (met)acrilato que tienen un grupo aniónico.
- 25 Las proporciones mencionadas pueden sumar hasta 100% en peso. Sin embargo, también puede ser posible además, sin que esto conduzca a una deficiencia o alteración de las propiedades esenciales, que puedan estar presentes pequeñas cantidades en la región de 0 a 10, por ejemplo 1 a 5, % en peso de monómeros adicionales capaces de una copolimerización vinílica, tales como, por ejemplo, metacrilato de hidroxietilo o acrilato de hidroxietilo. Sin embargo, se prefiere que tales monómeros adicionales capaces de una copolimerización vinílica no estén presentes.
- 30 Los ésteres alquílicos de C₁ a C₄ de ácido acrílico o metacrílico son en particular metacrilato de metilo, metacrilato de etilo, metacrilato de butilo, acrilato de metilo, acrilato de etilo y acrilato de butilo.
- Un monómero de (met)acrilato que tiene un grupo aniónico es, por ejemplo, ácido acrílico, con preferencia por ácido metacrílico.
- 35 Los copolímeros de (met)acrilato aniónicos adecuados son aquellos compuestos de 40 a 60% en peso de ácido metacrílico y 60 a 40% en peso de metacrilato de metilo o 60 a 40% en peso de acrilato de etilo (tipos EUDRAGIT® L o EUDRAGIT® L 100-55).
- EUDRAGIT® L es un copolímero de 50% en peso de metacrilato de metilo y 50% en peso de ácido metacrílico. El pH del comienzo de la liberación específica del ingrediente activo en el jugo intestinal o fluido intestinal simulado se puede afirmar que es pH 6,0.
- 40 EUDRAGIT® L 100-55 es un copolímero de 50% en peso de acrilato de etilo y 50% en peso de ácido metacrílico. EUDRAGIT® L 30 D-55 es una dispersión que comprende 30% en peso de EUDRAGIT® L 100-55. El pH del comienzo de la liberación específica del ingrediente activo en el jugo intestinal o en el fluido intestinal simulado se puede afirmar que es pH 5,5.
- 45 Igualmente adecuados son copolímeros de (met)acrilato aniónicos compuestos de 20 a 40% en peso de ácido metacrílico y 80 a 60% en peso de metacrilato de metilo (tipo EUDRAGIT® S). El pH del comienzo de la liberación específica del ingrediente activo en el jugo intestinal o en el fluido intestinal simulado se puede afirmar que es pH 7,0.
- 50 Los copolímeros de (met)acrilato adecuados son aquellos que consisten en 10 a 30% en peso de metacrilato de metilo, 50 a 70% en peso de acrilato de metilo y 5 a 15% en peso de ácido metacrílico (tipo EUDRAGIT® FS). El pH en el comienzo de la liberación específica del ingrediente activo en el jugo intestinal o en el fluido intestinal simulado se puede afirmar que es pH 7,0.
- EUDRAGIT® FS es un copolímero de 25% en peso de metacrilato de metilo, 65% en peso de acrilato de metilo y 10% en peso de ácido metacrílico. EUDRAGIT® FS 30 D es una dispersión que comprende 30% en peso de EUDRAGIT® FS.

Es adicionalmente adecuado un copolímero compuesto de

20 a 34% en peso de ácido metacrílico y/o ácido acrílico,

20 a 69% en peso de acrilato de metilo, y

0 a 40% en peso de acrilato de etilo, y/o cuando sea apropiado,

5 0 a 10% en peso de otros monómeros capaces de una copolimerización vinílica,

con la condición de que la temperatura de transición vítrea del copolímero según ISO 11357-2, subsección 3.3.3, no sea mayor que 60°C. Este copolímero de (met)acrilato es particularmente adecuado, debido a sus buenas propiedades de alargamiento en la ruptura, para comprimir peletes en comprimidos.

Es adicionalmente adecuado un copolímero compuesto de

10 20 a 33% en peso de ácido metacrílico y/o ácido acrílico,

5 a 30% en peso de acrilato de metilo, y

20 a 40% en peso de acrilato de etilo, y

más de 10 a 30% en peso de metacrilato de butilo y, cuando sea apropiado, 0 a 10% en peso de otros monómeros capaces de una copolimerización vinílica,

15 en el que las proporciones de los monómeros suman 100% en peso,

con la condición de que la temperatura de transición vítrea del copolímero según ISO 11357-2, subsección 3.3.3 (temperatura de punto medio T_{mg}), sea 55 a 70°C. Los copolímeros de este tipo son particularmente adecuados, debido a sus buenas propiedades mecánicas, para comprimir peletes en comprimidos.

20 El copolímero mencionado anteriormente está compuesto en particular de unidades polimerizadas mediante radicales libres de

20 a 33, preferiblemente 25 a 32, particularmente de forma preferible 28 a 31% en peso de ácido metacrílico o ácido acrílico, con preferencia por ácido metacrílico,

5 a 30, preferiblemente 10 a 28, particularmente de forma preferible 15 a 25% en peso de acrilato de metilo,

25 20 a 40, preferiblemente 25 a 35, particularmente de forma preferible 18 a 22% en peso de acrilato de etilo, y más de 10 a 30, preferiblemente 15 a 25, particularmente de forma preferible 18 a 22% en peso de metacrilato de butilo, en el que la composición monomérica se escoge de manera que la temperatura de transición vítrea del copolímero sea de 55 a 70°C, preferiblemente 59 a 66, particularmente de forma preferible 60 a 65°C.

30 La temperatura de transición vítrea significa a este respecto, en particular, la temperatura de punto medio T_{mg} según ISO 11357-2, subsección 3.3.3. La medida tiene lugar sin plastificante añadido, con contenidos de monómeros residuales (REMO) de menos de 100 ppm, con una velocidad de calentamiento de 10°C/min. y en una atmósfera de nitrógeno.

35 El copolímero consiste preferiblemente de forma esencial o exclusiva en 90, 95 o 99 a 100% en peso de los monómeros ácido metacrílico, acrilato de metilo, acrilato de etilo y metacrilato de butilo, en los intervalos de cantidades indicadas anteriormente.

40 Sin embargo, es posible, sin que esto conduzca necesariamente a una deficiencia de las propiedades esenciales, que estén adicionalmente presentes pequeñas cantidades en el intervalo de 0 a 10, por ejemplo 1 a 5% en peso, de otros monómeros capaces de una copolimerización vinílica, tales como, por ejemplo, metacrilato de metilo, acrilato de butilo, metacrilato de hidroxietilo, vinilpirrolidona, ácido vinilmalónico, estireno, alcohol vinílico, acetato de vinilo y/o derivados de los mismos.

Preparación de copolímeros de (met)acrilato aniónicos

45 Los copolímeros de (met)acrilato aniónicos se pueden preparar de manera conocida per se mediante polimerización de los monómeros por radicales libres (véanse, por ejemplo, los documentos EP 0.704.207 A2 y EP 0.704.208 A2). El copolímero según la invención se puede preparar de manera conocida per se mediante polimerización en emulsión mediante radicales libres en fase acuosa en presencia de, preferiblemente, emulsionantes aniónicos, por ejemplo mediante el procedimiento descrito en el documento DE-C 2 135 073.

El copolímero se puede preparar mediante procedimientos convencionales de polimerización mediante radicales libres continua o discontinuamente (procedimientos por lotes) en presencia de iniciadores formadores de radicales

libres y, cuando sea apropiado, reguladores para ajustar el peso molecular sin diluir, en disolución, mediante polimerización en perlas o en emulsión. El peso molecular medio M_w (medio ponderal, determinado por ejemplo midiendo la viscosidad de la disolución) puede estar, por ejemplo, en el intervalo de 80000 a 1000000 (g/mol). Se prefiere la polimerización en emulsión en fase acuosa en presencia de iniciadores solubles en agua y emulsionantes (preferiblemente aniónicos).

En el caso de la polimerización en masa, el copolímero se puede obtener en forma sólida mediante trituración, extrusión, granulación o corte en caliente.

Los copolímeros de (met)acrilato se obtienen de manera conocida por se mediante polimerización en masa, en disolución, en perlas o en emulsión mediante radicales libres.

Antes del procesamiento, se deben de llevar al intervalo de tamaños de partículas de la invención mediante procedimientos de molienda, secado o pulverización adecuados. Esto puede tener lugar mediante trituración simple de los peletes extruidos y enfriados, o mediante corte en caliente.

El uso de polvos puede ser ventajoso especialmente en mezcla con otros polvos o líquidos. Los aparatos adecuados para producir polvos son familiares para la persona experta, por ejemplo molinos de chorro de aire, molinos de disco con patillas, molinos de compartimento. Es posible, cuando sea apropiado, incluir etapas de tamizado apropiadas. Un molino adecuado para grandes cantidades industriales es, por ejemplo, un molino de chorro opuesto (Multi No. 4200) que funciona a una presión manométrica de alrededor de 6 bares.

Neutralización parcial

Las bases adecuadas para los fines de la invención son las mencionadas en los documentos EP 0.088.951 A2 o WO 2004/096185, o derivables de ellos. Otras bases adecuadas para la neutralización son disolución de hidróxido sódico, disolución de hidróxido potásico (KOH), hidróxido de amonio, o bases orgánicas tales como, por ejemplo, trietanolamina, carbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de sodio, fosfato trisódico, citrato trisódico, o amoniaco, o aminas fisiológicamente toleradas tales como trietanolamina o tris(hidroximetil)aminometano.

Otras bases orgánicas catiónicas adecuadas son aminoácidos básicos como histidina, arginina y/o lisina.

Ajuste del grado de neutralización parcial mediante mezclas

Las mezclas también pueden dar como resultado ventajas técnicas en el ajuste del grado de neutralización parcial. En una realización preferida de la invención para el revestimiento interno, se hace uso de mezclas de copolímeros de (met)acrilato aniónicos que difieren en el grado de neutralización parcial, que consisten en unidades polimerizadas mediante radicales libres de 25 a 95% en peso de ésteres alquílicos de C_1 a C_4 de ácido acrílico o metacrílico y 5 a 75% en peso de monómeros de (met)acrilato que tienen un grupo aniónico, en los que 1 a 80% de los grupos aniónicos contenidos, calculado como media para la mezcla, están neutralizados por una base. Por ejemplo, es posible mezclar un copolímero de (met)acrilato aniónico que no está parcialmente neutralizado y consiste en unidades polimerizadas mediante radicales libres de 25 a 95% en peso de ésteres alquílicos de C_1 a C_4 de ácido acrílico o metacrílico y 5 a 75% en peso de monómeros de (met)acrilato que tienen un grupo aniónico con un copolímero de (met)acrilato parcialmente neutralizado de la misma composición monomérica dentro de los intervalos cuantitativos señalados de manera que 1 a 80% de los grupos aniónicos contenidos, calculado como media para la mezcla, estén neutralizados. La mezcla se puede preparar, por ejemplo, agitando un polvo que se ha obtenido a partir de una dispersión de un copolímero de (met)acrilato aniónico parcialmente neutralizado, por ejemplo mediante secado por pulverización o liofilización, en una dispersión de un copolímero de (met)acrilato aniónico que no se ha neutralizado parcialmente.

Capa de sincronización como parte del núcleo

Se puede añadir una capa de sincronización opcional (capa de subrevestimiento) al núcleo. La capa tiene la función de sincronizar la disolución del ingrediente activo y del agente que promueve la biodisponibilidad. La capa de sincronización se puede denominar asimismo como una capa de subrevestimiento o una capa separadora.

Una capa de subrevestimiento puede tener la función de separar sustancias del núcleo de sustancias de la capa de revestimiento entérico, que pueden ser incompatibles entre sí. Especialmente cuando el promotor de la penetración en el núcleo es un copolímero de (met)acrilato catiónico que comprende grupos amino terciarios y el revestimiento entérico exterior es un polímero celulósico aniónico o un copolímero de (met)acrilato aniónico, puede haber reacciones indeseadas que se pueden evitar añadiendo un subrevestimiento. El subrevestimiento no tiene esencialmente influencia sobre las características de la liberación. Un subrevestimiento es de forma preferible esencialmente soluble en agua, por ejemplo puede consistir en sustancias como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) como formador de película. El grosor medio de la capa de subrevestimiento es muy delgado, por ejemplo no mayor que 50 μm , preferiblemente no mayor que 30 μm .

La capa de subrevestimiento puede comprender al menos 50% en peso de hidroxipropilmetilcelulosa.

La capa de subvestimiento puede comprender hasta 90% en peso, preferiblemente hasta 50% en peso de la cantidad total de agente que promueve la biodisponibilidad en la formulación. Si el peso molecular del ingrediente activo es menor o mucho menor que el peso molecular del agente que promueve la biodisponibilidad, el ingrediente activo puede difundirse más rápidamente fuera de la sustancia nuclear que el agente que promueve la biodisponibilidad. En este caso, el ingrediente activo puede alcanzar a las células diana sin que vaya acompañado del agente que promueve la biodisponibilidad. De este modo, el efecto deseado puede no alcanzarse como se alcanzaría si ambas sustancias alcanzasen juntas las células. De este modo, la capa de subvestimiento puede comprender preferiblemente hasta 90% en peso, preferiblemente hasta 50% en peso del agente que promueve la biodisponibilidad, respectivamente el inhibidor de enzimas proteolíticas. Esto tiene la ventaja de que, antes de la liberación del ingrediente activo fuera del núcleo, al menos una pequeña cantidad del agente que promueve la biodisponibilidad fuera del subvestimiento que se disuelve rápidamente puede ya estar en camino hacia las células diana. Esto ayuda a sincronizar la liberación del ingrediente activo y del agente que promueve la biodisponibilidad (capa de sincronización).

Viceversa, la capa de subvestimiento puede comprender hasta 20% del ingrediente activo. Si el peso molecular del ingrediente activo es mayor o mucho mayor que el peso molecular del inhibidor de peptidasas o de proteinasas, el ingrediente activo puede difundirse más lentamente fuera de la sustancia nuclear que el inhibidor de peptidasas o de proteinasas. En este caso, el inhibidor de peptidasas o de proteinasas puede alcanzar las células diana sin ir acompañado del ingrediente activo. De este modo, el efecto deseado puede no alcanzarse como se alcanzaría si ambas sustancias alcanzasen juntas las células. De este modo, la capa de subvestimiento puede comprender preferiblemente hasta 20% del ingrediente activo. Esto tiene la ventaja de que antes de la liberación del inhibidor de peptidasas o de proteinasas fuera del núcleo, al menos cierta cantidad del ingrediente activo fuera del subvestimiento que se disuelve rápidamente puede ya estar en camino hacia las células diana. Esto ayuda a sincronizar el ingrediente activo y el inhibidor de peptidasas o de proteinasas (capa de sincronización).

La capa de sincronización, si está presente, puede contener hasta 50, hasta 40, hasta 30, hasta 20, hasta 10% en peso de otros excipientes. Preferiblemente, la capa de sincronización no contiene cantidades esenciales o ningún excipiente adicional.

Producción de formas farmacéuticas de múltiples partículas

Los núcleos de peletes que contienen la sustancia activa se pueden procesar por medio de excipientes farmacéuticamente habituales y de una manera conocida per se a formas farmacéuticas de múltiples partículas, en particular comprimidos que contienen peletes, minicomprimidos, cápsulas, saquitos o polvos para reconstitución, que se formulan de manera que los peletes contenidos se liberan en el intervalo de pH del estómago. La preparación como forma farmacéutica de múltiples partículas proporciona una elevada fiabilidad de la dosis, y ofrece la ventaja de una distribución uniforme de los peletes en la luz intestinal. La forma farmacéutica de múltiples partículas de la invención puede también comprender adicionalmente diferentes tipos de peletes con diferentes sustancias activas y/o diferente estructura de peletes.

Comprimidos prensados

La producción de formas farmacéuticas de múltiples partículas mediante compresión de un aglutinante farmacéuticamente habitual o en partículas que contienen ingrediente activo se describe, por ejemplo, en Beckert et al. (1996), "Compression of enteric-coated pellets to disintegrating tablets", International Journal of Pharmaceutics 143, p. 13-23, y en el documento WO 96/01624.

Los revestimientos de película sobre peletes que contienen sustancia activa se aplican normalmente en aparatos de lecho fluidizado. En esta solicitud se mencionan ejemplos de formulación. Los formadores de película se mezclan normalmente con plastificantes y agentes de liberación mediante un procedimiento adecuado. En este caso, es posible que los formadores de película estén en forma de una disolución o suspensión. Los excipientes para la formación de película pueden igualmente estar disueltos o suspendidos. Se pueden usar disolventes orgánicos o acuosos o agentes de dispersión. Adicionalmente, se pueden usar estabilizantes para estabilizar la dispersión (por ejemplo: Tween 80 u otros emulsionantes o estabilizantes adecuados).

Los ejemplos de agentes de liberación son monoestearato de glicerol u otros derivados de ácidos grasos adecuados, derivados de sílice, o talco. Los ejemplos de plastificantes son propilenglicol, ftalatos, polietilenglicoles, sebacatos o citratos, y otras sustancias mencionadas en la bibliografía.

Las mezclas para producir comprimidos compuestos de partículas revestidas se preparan mezclando los peletes con aglutinantes adecuados para la formación de comprimidos, añadiendo si es necesario sustancias que promueven la disgregación y, si es necesario, añadiendo lubricantes. El mezclado puede tener lugar en máquinas adecuadas. Las mezcladoras inadecuadas son aquellas que conducen a daño a las partículas revestidas, por ejemplo mezcladoras de reja de arado. Para lograr tiempos de disgregación cortos adecuados, puede ser necesario añadir los excipientes a las partículas revestidas en una secuencia específica. Es posible premezclar la partícula revestida con el lubricante o con el agente de liberación del molde estearato de magnesio para hacer a su superficie hidrófoba, y de este modo para evitar la adhesión.

Las mezclas adecuadas para formación de comprimidos comprenden normalmente 3 a 15% en peso de un auxiliar de la disgregación, por ejemplo Kollidon CL, y, por ejemplo, 0,1 a 1% en peso de un lubricante y agente de liberación del molde, tal como estearato de magnesio. La proporción de aglutinante se determina mediante la proporción requerida de partículas revestidas.

- 5 Los ejemplos de aglutinantes típicos son Cellactose®, celulosa microcristalina, fosfatos de calcio, Ludipress®, lactosa u otros azúcares adecuados, sulfatos de calcio o derivados de almidón. Se prefieren sustancias de baja densidad aparente.

- 10 Los auxiliares de la disgregación (disgregantes) típicos son derivados de almidón reticulados o derivados de celulosa, y polivinilpirrolidona reticulada. Igualmente son adecuados los derivados de celulosa. Es posible la dispensación con el uso de auxiliares de la disgregación mediante la selección de un aglutinante adecuado.

- 15 Los lubricantes y agentes de liberación del molde típicos son estearatos de magnesio u otras sales adecuadas de ácidos grasos y sustancias detalladas en la bibliografía para este fin (por ejemplo, ácido láurico, estearato de calcio, talco, etc.). Es posible la dispensación con el uso de un lubricante y agente de liberación del molde en la mezcla usando máquinas adecuadas (por ejemplo, prensa de comprimidos con lubricación externa) o formulaciones adecuadas.

Cuando sea apropiado, es posible añadir un auxiliar a la mezcla para mejorar la fluidez (por ejemplo, derivados de sílice coloidal, talco, etc.).

- 20 La formación de comprimidos puede tener lugar en prensas para comprimidos habituales, prensas para comprimidos excéntricas o giratorias, con fuerzas compresivas en el intervalo de 5 a 40 kN, preferiblemente 10-20 kN. Las prensas para comprimidos pueden estar equipadas con sistemas para la lubricación externa. Cuando sea apropiado, se emplean sistemas especiales para el llenado de la matriz, lo que evita el llenado de la matriz por medio de paletas impulsoras.

Otras formas farmacéuticas de múltiples partículas

- 25 Como alternativa a comprimidos prensados o minicomprimidos, también es posible que los peletes revestidos que contienen la sustancia activa se procesen en cualquier otra forma farmacéutica de múltiples partículas administrada oralmente. Los peletes revestidos se pueden envasar, por ejemplo, en cápsulas, por ejemplo cápsulas de gelatina, o se pueden formular en saquitos o polvos reconstituibles.

Uso

- 30 La invención se refiere además al uso como excipiente de un agente que promueve la biodisponibilidad que es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas, que incrementa la biodisponibilidad oral de un ingrediente activo en una formulación de la invención. La formulación farmacéutica o nutracéutica de la invención se puede aplicar para aplicaciones humanas o veterinarias.

Nutraceuticos

- 35 Los nutraceuticos se pueden definir como extractos de alimentos que se reivindica que tienen efectos médicos sobre la salud humana. El nutraceutico está contenido habitualmente en un formato médico tal como cápsula, comprimido o polvo, en una dosis prescrita. Los ejemplos para nutraceuticos son resveratrol de productos de la uva como antioxidante, productos de fibra dietética solubles, tales como cáscara de semilla de psilio para reducir la hipercolesterolemia, brócoli (sulfano) como conservante contra el cáncer, y soja o trébol (isoflavonoides) para mejorar la salud arterial. Otros ejemplos de nutraceuticos son flavonoides, antioxidantes, ácido alfa-linoleico de semilla de lino, beta-caroteno de pétalos de caléndula, o antocianinas de bayas. Algunas veces la expresión nutraceuticos se usa como sinónimo de nutraceuticos.

Excipientes

- 45 El núcleo, opcionalmente la capa de sincronización y el revestimiento entérico, puede incluir, además de sus ingredientes esenciales, otros excipientes, que son diferentes de los ingredientes esenciales. Los ingredientes esenciales son el ingrediente activo farmacéutico o nutraceutico, el promotor de la penetración, el agente que promueve la biodisponibilidad y el revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo. En el caso de una capa de sincronización, por supuesto es esencial que la capa esté formada por un polímero formador de película preferiblemente soluble en agua con una porción del ingrediente activo farmacéutico o nutraceutico o el agente que promueve la biodisponibilidad.

- 50 El núcleo sin la capa de sincronización opcional puede contener hasta 50, hasta 40, hasta 30, hasta 20, hasta 10% en peso de otros excipientes. Preferiblemente, el núcleo no contiene cantidades esenciales o ningún excipiente adicional.

La capa de sincronización, si está presente, puede contener hasta 50, hasta 40, hasta 30, hasta 20, hasta 10% en peso de otros excipientes. Preferiblemente, la capa de sincronización no contiene cantidades esenciales o ningún excipiente adicional.

5 La capa de revestimiento entérico puede contener hasta 50, hasta 40, hasta 30, hasta 20, hasta 10% en peso de otros excipientes. Preferiblemente, la capa de revestimiento entérico no contiene cantidades esenciales o ningún excipiente adicional.

10 Los excipientes farmacéuticos o nutracéuticos son bien conocidos por la persona experta. Los excipientes farmacéuticos o nutracéuticos pueden estar contenidos por razones prácticas, por ejemplo para evitar la pegajosidad o para añadir un color. Sin embargo, estos excipientes no contribuyen o no muestran habitualmente ningún o casi ningún efecto sobre la propia invención como se reivindica aquí. Se pueden usar como adyuvantes del procesamiento, y están destinados para asegurar un procedimiento de preparación fiable y reproducible así como una buena estabilidad durante el almacenamiento a largo plazo, o logran propiedades ventajosas adicionales en la forma farmacéutica.

15 Los excipientes adecuados pueden ser antioxidantes, abrillantadores, agentes de unión, agentes saborizantes, auxiliares de la fluidez, fragancias, agentes deslizantes, agentes que promueven la penetración, pigmentos, plastificantes, polímeros, agentes formadores de poros, o estabilizantes. Por supuesto, todas las sustancias usadas deben de ser toxicológicamente seguras y se deben de usar en fármacos o nutracéuticos sin riesgo para los pacientes.

Plastificantes

20 Los plastificantes logran, a través de una interacción física con un polímero, una reducción de la temperatura de transición vítrea y promueven la formación de película, dependiendo de la cantidad añadida. Las sustancias adecuadas tienen habitualmente un peso molecular de entre 100 y 20000, y comprenden uno o más grupos hidrófilos en la molécula, por ejemplo grupos hidroxilo, éster o amino.

25 Los ejemplos de plastificantes adecuados son citratos de alquilo, ésteres de glicerol, ftalatos de alquilo, sebacatos de alquilo, ésteres de sacarosa, ésteres de sorbitán, sebacato de dietilo, sebacato de dibutilo, propilenglicol y polietilenglicoles 200 a 12000. Los plastificantes preferidos son citrato de trietilo (TEC), citrato de acetilo y trietilo (ATEC), sebacato de dietilo y sebacato de dibutilo (DBS). Se debería de hacer mención adicionalmente de ésteres que son habitualmente líquidos a temperatura ambiente, tales como citratos, ftalatos, sebacatos o aceite de ricino. Preferiblemente se usan ésteres de ácido cítrico y ácido sebáico.

30 La adición de los plastificantes a la formulación se puede llevar a cabo de manera conocida, directamente, en una disolución acuosa o tras el pretratamiento térmico de la mezcla. También es posible emplear mezclas de plastificantes.

Agentes de deslizamiento/agentes de liberación/agentes para eliminar la pegajosidad:

35 Los agentes de deslizamiento, los agentes de liberación o los agentes para eliminar la pegajosidad tienen habitualmente propiedades lipófilas y se añaden habitualmente a suspensiones de pulverización. Se pueden añadir a la formulación nuclear o al revestimiento entérico. Evitan la aglomeración de los núcleos durante la formación de la película, o la aglomeración de los peletes revestidos. Los ejemplos son talco, estearato de magnesio o de calcio, sílice molida, caolín, o emulsionantes no iónicos con un valor de HLB de entre 2 y 8. Las proporciones estándar para uso de agentes de deslizamiento en el revestimiento de la invención y agentes de unión oscilan entre 0,5 y 70% en peso con respecto al peso de los núcleos o con respecto al peso del revestimiento entérico.

Cálculo de los datos

Los cálculos se llevaron a cabo usando el paquete de hoja de cálculo de MS Excel.

Coefficiente de permeabilidad aparente (P_{app})

El P_{app} se calculó según la Eq.1.

45
$$P_{app} = \frac{\Delta Q}{\Delta t} \cdot \frac{1}{m_0} \cdot \frac{1}{A} \cdot V_D \text{ [cm}\cdot\text{s}^{-1}] \quad \text{Eq. 1}$$

$\Delta Q/\Delta t$ velocidad de permeabilidad (velocidad de transporte en estado estacionario) obtenida a partir del perfil de la cantidad transportada de sustrato frente al tiempo [μg o $\text{dpm}\cdot\text{s}^{-1}$]. Calculada mediante la regresión lineal de tiempo y concentración

A área de la monocapa celular expuesta [cm^2]

50 m_0 masa inicial de compuesto de ensayo en el compartimiento donante [μg o dpm]

V_D volumen de tampón del compartimiento donante [cm^3]

Resistencia eléctrica transepitelial (TEER)

La TEER se calculó según Eq. 2.

$$TEER = R_{c(A)} = (R_{c+f} - R_f) \cdot A \quad [\Omega \cdot \text{cm}^2] \quad \text{Eq. 2}$$

5 $R_{C(A)}$ resistencia eléctrica de la monocapa con el área A [$\Omega \cdot \text{cm}^2$]

R_{C+f} resistencia eléctrica de la monocapa incluyendo el filtro [Ω]

R_f resistencia eléctrica del filtro sin células [Ω]

A área de la monocapa [cm^2]

La resistencia eléctrica de un filtro libre de células con un área de $1,13 \text{ cm}^2$ es 100Ω .

10 Flujo

El flujo se calculó según Eq. 3.

$$\text{Flujo} = \frac{C_{AK120}}{C_{C0}} \cdot 100 [\% \text{ de donante}] \quad \text{Eq. 3}$$

C_{AK120} Concentración de API [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$] en el aceptor tras 120 min.

C_{D0} Concentración de API [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$] en el donante al comienzo del experimento (0 min.)

15 Ejemplos

Materiales

EUDRAGIT® E es un copolímero compuesto de 25% en peso de metacrilato de metilo, 25% en peso de metacrilato de butilo y 50% en peso de metacrilato de dimetilaminoetilo. EUDRAGIT® E PO es la forma de polvo de EUDRAGIT® E con un tamaño medio de partículas de alrededor de $15 \mu\text{m}$.

20 EUDRAGIT® L 30 D-55 es una dispersión que comprende 30% en peso de EUDRAGIT® L 100-55. EUDRAGIT® L 100-55 es un copolímero de 50% en peso de acrilato de etilo y 50% en peso de ácido metacrílico.

Minirin® es un medicamento que contiene acetato de desmopresina comercialmente disponible en forma de comprimidos. Un comprimido de Minirin® pesa 200 mg y contiene un contenido nominal de $200 \mu\text{g}$ de desmopresina.

Se usó inhibidor de Bowman-Birk (BBI) a partir de una fuente de haba de soja (Sigma Aldrich, Alemania).

25 Heparina: heparina de bajo peso molecular (heparina LMW); Fraxiparin(TM) (nadroparina cálcica); Glaxo Smith Kline.

Ejemplos de preparación 1 a 11

Ejemplo 1

30 Como preparación de desmopresina para el ejemplo 1, se usaron comprimidos comercialmente disponibles que contienen desmopresina (Minirin®).

La formulación de control de Minirin se obtuvo mezclando un comprimido de Minirin® junto con celetes (peletes de celulosa microcristalina) a fin de obtener un peso igual a las otras formulaciones de desmopresina.

35 Un comprimido de Minirin® (200 mg que contienen un contenido nominal de $200 \mu\text{g}$ de desmopresina) se cortó en mitades. Estos trozos se mezclaron con Cellets® 500 (peletes de celulosa microcristalina) a fin de lograr un peso total de 350 mg .

Ejemplo 2

Preparación de peletes de desmopresina y EUDRAGIT® E PO como promotor de la penetración

40 La formulación del ejemplo 2 se fabricó en dos etapas. La primera etapa es la preparación de la disolución de revestimiento por pulverización. La segunda etapa es la aplicación de la disolución de revestimiento por pulverización en un procedimiento de revestimiento por pulverización. De esta manera, se obtuvieron peletes de

EUDRAGIT® E/desmopresina con una fracción de tamaño de partículas de 400-710 µm.

Preparación de una disolución de pulverización

Se colocaron 83 g de EUDRAGIT® E PO en un vaso de precipitados de 1000 ml. Durante la agitación mecánica a 700 rpm, toda la cantidad de HCl 1N y el 90% de toda la cantidad de agua se añadieron a la dispersión de polímero.
 5 Tras agitar constantemente 10 min., se añadieron 8,3 g de Tween® 80 a la dispersión. Tras agitar adicionalmente 1 h a 850 rpm se obtuvo una disolución transparente con viscosidad media y una ligera formación de espuma. Tras filtrar la disolución de EUDRAGIT® E PO neutralizada con HCl a través de una malla de alambre de 0,315 mm, se añadió la disolución de desmopresina. Toda la disolución se agitó adicionalmente 10 min. para obtener una mezcla uniforme.

10 Fabricación de peletes de desmopresina/EUDRAGIT® E PO mediante procedimiento de revestimiento por pulverización

El material de partida para la preparación de los núcleos de desmopresina/EUDRAGIT® E PO fue 50 g de una fracción de peletes de azúcar de tipo esfera de 250-355 µm. Sobre ésta, se aplicaron mediante revestimiento por pulverización 591,3 ml de disolución de EUDRAGIT® E PO neutralizada con HCl que contiene desmopresina.

15 De forma breve, el procedimiento se ha llevado a cabo según lo siguiente:

El aire de entrada se ajustó a 35-51°C, y la temperatura del producto se ajustó a 29-35°C. La velocidad de pulverización se comenzó con 0,3 a 2,5 g de disolución/min., y el caudal de aire se mantuvo de 16 a 20 m³/h. El procedimiento de pulverización se terminó tras 327 min. Al final, los peletes se secaron en la máquina durante 10 min. y se tamizaron a través de un tamiz de 710 µm. El rendimiento final obtenido fue 139,77 g,
 20 que corresponde a 95% del peso teórico.

Ejemplo 3

Preparación de peletes de desmopresina, EUDRAGIT® E PO como promotor de la penetración, e inhibidor de Bowman-Birk (BBI)

La formulación del ejemplo 3 se fabricó en dos etapas. La primera etapa es la preparación de la disolución de revestimiento por pulverización. La segunda etapa es la aplicación de la disolución de revestimiento por pulverización en un procedimiento de revestimiento por pulverización. De este modo se obtuvieron peletes de EUDRAGIT® E/desmopresina/BBI con una fracción de tamaño de partículas de 400-710 µm.
 25

Preparación de una disolución de pulverización

Se colocaron 189,9 g de EUDRAGIT® E PO en un vaso de precipitados de vidrio de 1000 ml. Con agitación mecánica a 600 rpm, se añadieron al polímero 16,31 g de dodecilsulfato de sodio disuelto en 60% de la cantidad total de agua. Tras agitar constantemente durante 10 min., se añadieron lentamente al vaso de precipitados, para evitar la coagulación del polímero, 182,7 g de disolución de ácido acético al 10%. 30 min. más tarde, se añadió a la mezcla la cantidad total de ácido cáprico fundido. Tras agitar adicionalmente 2 h a 850 rpm, se obtuvo una disolución transparente con viscosidad media y una ligera formación de espuma. Se disolvieron 25,31 g de inhibidor de
 35 Bowman-Birk (BBI) y la cantidad restante de dodecilsulfato de sodio en 190,4 g de agua usando una botella de vidrio de 250 ml, y se añadieron a la disolución de polímero durante la agitación. La desmopresina se disolvió en 10% del agua restante usando un vaso de precipitados de vidrio de 50 ml. Tras filtrar la disolución de EUDRAGIT® E PO neutralizada a través de una malla de alambre de 0,315 mm, se añadió la disolución de desmopresina. Toda la disolución se agitó adicionalmente 10 min. para obtener homogeneidad en la mezcla.

40 Fabricación de peletes de desmopresina/EUDRAGIT® E PO/BBI mediante procedimiento de revestimiento por pulverización

El material de partida para la preparación de los núcleos de desmopresina/EUDRAGIT® E PO/BBI fue 50 g de una fracción de peletes de azúcar de tipo esfera de 250-355 µm.

El procedimiento se ha llevado a cabo según lo siguiente:

El aire de entrada se ajustó a 40-48°C, y la temperatura del producto se ajustó a 29-33°C. La velocidad de pulverización se comenzó con 0,8 a 4,0 g de disolución/min., y el caudal de aire se mantuvo de 16 a 27 m³/h. El procedimiento de pulverización se terminó tras 314 min. Al final, los peletes se secaron en la máquina durante 10 min. y se tamizaron a través de un tamiz de 710 µm. El rendimiento final obtenido fue 146,15 g,
 50 que corresponde a 77% de peletes de desmopresina/EUDRAGIT® E PO/BBI de 400-710 µm de peso total de peletes de desmopresina/EUDRAGIT® E PO/BBI.

Ejemplo 4

Preparación de peletes a partir del ejemplo 2 con una capa de revestimiento de HPMC adicional

Se tomaron los peletes del ejemplo 2 y se revistieron adicionalmente con HPMC. En la primera etapa, se prepara la disolución de revestimiento por pulverización de HPMC. En la segunda etapa, la disolución de revestimiento por pulverización de HPMC se aplicó a los peletes en un procedimiento de revestimiento por pulverización. De esta manera se obtuvieron peletes de EUDRAGIT® E/desmopresina con un revestimiento de HPMC con una fracción de tamaño de partículas de 400-710 μm .

Preparación de disolución de pulverización de HPMC

Se colocaron 252,8 g de agua en una botella de vidrio de 250 ml y se calentaron hasta alrededor de 70°C con agitación usando un agitador magnético. Se añadió gradualmente la cantidad total de 25 g de hidroxipropilmetilcelulosa al agua caliente. Tras agitar constantemente durante 15 min., la disolución se retiró del calefactor y se enfrió hasta la temperatura ambiente. Se reposó el agua perdida por evaporación. La disolución de HPMC se filtró a través de una malla de alambre de 0,315 mm.

Fabricación de peletes de desmopresina/EUDRAGIT® E PO con revestimiento de HPMC

El material de partida para la preparación de los peletes revestidos fue 100 g de peletes tamizados del ejemplo 2, fracción < 600 μm . Sobre éste, se aplicaron mediante revestimiento por pulverización 277,8 g de la disolución de revestimiento por pulverización de HPMC.

El procedimiento se llevó a cabo según lo siguiente. La temperatura del producto se ajustó a 29-35°C ajustando una temperatura de aire de entrada de 30°C al comienzo, incrementando hasta 55°C al final del procedimiento, dependiendo de la humedad del aire del procedimiento. La pulverización se inició con 0,7 a 1,4 g de disolución/min., y el caudal de aire se ajustó de 12 a 16 m^3/h . El procedimiento de pulverización se terminó después de 215 min. Los peletes se secaron 10 min. a 10 m^3/h y una temperatura de producto de 34 a 35°C usando el aparato de revestimiento por pulverización, y después se tamizaron a través de un tamiz de 600 μm . El peso final obtenido fue 122,99 g, que corresponde a 98% de peletes revestidos de < 600 μm de peso esperado teórico total.

Ejemplo 5

Preparación de peletes del ejemplo 3 con una capa de sincronización de HPMC adicional que contiene BBI

Se tomaron los peletes del ejemplo 3 y se revistieron adicionalmente con HPMC que contiene BBI. En una primera etapa, se prepara la disolución de revestimiento por pulverización de HPMC/BBI. En una segunda etapa, la disolución de revestimiento por pulverización de HPMC/BBI se aplicó a los peletes en un procedimiento de revestimiento por pulverización. De esta manera se obtuvieron peletes de EUDRAGIT® E/desmopresina/BBI con un revestimiento de HPMC/BBI con una fracción de tamaño de partículas de 400-710 μm .

Preparación de disolución de pulverización de HPMC que contiene BBI

Se colocaron 178 g de agua en una botella de vidrio de 250 ml y se calentaron hasta alrededor de 70°C durante la agitación usando un agitador magnético. La cantidad total de 19,5 g de HPMC se añadió gradualmente al agua caliente. Tras agitar constantemente durante 15 min., la disolución se retiró del calefactor y se enfrió hasta la temperatura ambiente. Se reposó el agua perdida por evaporación. Se disolvieron 2,6 g de inhibidor de Bowman-Birk (BBI) en 45,5 g de agua usando un vaso de precipitados de vidrio de 50 ml. Tras filtrar la disolución transparente de HPMC a través de una malla de alambre de 0,315 mm, se añadió la disolución de BBI. Toda la disolución se agitó durante 15 min. para obtener homogeneidad en la mezcla.

Fabricación de peletes de desmopresina/EUDRAGIT® E PO/BBI con revestimiento de HPMC/BBI

Como material de partida, se usaron 130 g de peletes tamizados del ejemplo 3, fracción de 500-710 μm . Sobre esto, se aplicaron mediante revestimiento por pulverización 245,6 ml de la disolución de revestimiento de HPMC/BBI.

El procedimiento se llevó a cabo según lo siguiente: el aire de entrada se ajustó a 30-45°C, y la temperatura del producto se ajustó a 29-33°C. La velocidad de pulverización se inició con 0,6 y se elevó hasta 2,2 g de disolución/min., y el caudal de aire se mantuvo de 18 a 24 m^3/h . El procedimiento de pulverización se terminó después de 134 min. Al final, los peletes se secaron en la máquina durante 10 min., se tamizaron a través de un tamiz de 710 μm , y el rendimiento se comprobó mediante pesada. El peso final obtenido fue 149,23 g, que corresponde a 98% de peletes revestidos de <710 μm del peso esperado teórico total.

Ejemplo 6

Preparación de peletes del ejemplo 4 con una capa de revestimiento entérico de EUDRAGIT® L 30 D-55 adicional

Se tomaron los peletes del ejemplo 4 y se revistieron adicionalmente con EUDRAGIT® L30D-55. En una primera etapa, se prepara la disolución de revestimiento por pulverización de EUDRAGIT® L30D-55. En una segunda etapa, la disolución de revestimiento por pulverización de EUDRAGIT® L30D-55 se aplicó a los peletes en un procedimiento de revestimiento por pulverización. De esta manera se obtuvieron peletes de EUDRAGIT®

E/desmopresina con un revestimiento de HPMC y un revestimiento entérico de EUDRAGIT® L30D-55 con una fracción de tamaño de partícula de 400-710 μm .

Preparación de dispersión de pulverización de EUDRAGIT® L30D-55

5 En una botella de vidrio de 100 ml se introdujeron 105 g de agua y se calentaron hasta alrededor de 80°C con agitación con un agitador magnético. Tras incrementar la velocidad del agitador magnético, se añadieron 3,6 g de disolución de Tween 80 (33,33%) al agua caliente antes de añadir 3,0 g de monoestearato de glicerol. Tras agitar vigorosamente durante 15 min., la dispersión se separó del calefactor y se enfrió durante la agitación vigorosa hasta la temperatura ambiente. Se repuso el agua perdida por evaporación.

10 Se mezclaron 133,3 g de dispersión de EUDRAGIT® L 30 D-55 tamizada y 72,4 g de agua en una botella de vidrio de 250 ml. Bajo agitación, se añadieron 4 g de citrato de trietilo a la dispersión. Tras agitar adicionalmente 10 min., se añadió la dispersión de monoestearato de glicerol preparada mencionada anteriormente. Toda la dispersión se ha estado agitando otros 40 min. para obtener homogeneidad en la disolución de pulverización.

Fabricación de peletes revestidos entéricos del ejemplo 4

15 El material de partida para la preparación de los peletes revestidos fue 100 g de peletes tamizados del ejemplo 4, fracción < 600 μm . A esto, se aplicaron mediante revestimiento por pulverización 321,3 g de la dispersión de pulverización de EUDRAGIT® L30D-55.

20 El procedimiento se llevó a cabo según lo siguiente: la temperatura del producto se ajustó a 30-36°C ajustando una temperatura de aire de entrada de 37°C al comienzo, incrementando hasta 52°C al final del procedimiento, dependiendo de la humedad del aire del procedimiento. El procedimiento de pulverización se inició con 0,6, incrementando a 2,6 g de disolución/min., y el caudal de aire se ajustó de 16 m³/h al comienzo hasta 18 m³/h. El procedimiento de pulverización se terminó después de 213 min. Los peletes se secaron 10 min. a 10 m³/h y una temperatura de producto de 35 a 36°C usando el aparato de revestimiento por pulverización, y entonces se tamizaron a través de un tamiz de 710 μm . Los peletes se secaron además adicionalmente 2 h a 40°C en un horno de secado. El peso final obtenido fue 145,03 g, que corresponde a 98% de peletes revestidos de < 710 μm del peso esperado teórico total.

Ejemplo 7

Preparación de peletes del ejemplo 5 con capa de revestimiento entérico de EUDRAGIT® L 30 D-55 adicional

30 Se tomaron los peletes del ejemplo 5 y se revistieron adicionalmente con EUDRAGIT® L30D-55. En una primera etapa, se prepara la disolución de revestimiento por pulverización de EUDRAGIT® L30D-55. En una segunda etapa, la disolución de revestimiento por pulverización de EUDRAGIT® L30D-55 se aplicó a los peletes en un procedimiento de revestimiento por pulverización. De esta manera, se obtuvieron peletes de EUDRAGIT® E/desmopresina/BBi con un revestimiento de HPMC/BBi y un revestimiento entérico de EUDRAGIT® L30D-55 con una fracción de tamaño de partículas de 400-710 μm .

Preparación de dispersión de pulverización de EUDRAGIT® L30D-55

35 Se colocaron 52,5 g de agua en una botella de vidrio de 100 ml y se calentaron hasta 80°C con agitación con un agitador magnético. Se añadieron 1,8 g de disolución de Tween 80 (33,33%) al agua caliente, agitando la dispersión vigorosamente antes de añadir 1,5 g de monoestearato de glicerol. Tras agitar vigorosamente 15 min., la dispersión se apartó del calefactor y se enfrió con agitación vigorosa hasta la temperatura ambiente. Se repuso el agua perdida por evaporación. Se mezclaron 66,7 g de dispersión tamizada de EUDRAGIT® L 30 D-55 y 36,2 g de agua en una botella de vidrio de 250 ml. Con agitación, se añadieron 2 g de citrato de trietilo a la dispersión. Tras agitar adicionalmente 10 min., se añadió la dispersión de monoestearato de glicerol preparada mencionada anteriormente. Toda la suspensión se agitó otros 40 min. para obtener homogeneidad en la disolución de pulverización.

Fabricación de peletes revestidos entéricos del ejemplo 5

45 El material de partida para la preparación de los peletes revestidos fue 100 g de peletes tamizados del ejemplo 4, fracción < 710 μm . A esto, se aplicaron mediante revestimiento por pulverización 160,7 ml de la dispersión de pulverización de EUDRAGIT® L30D-55 descrita anteriormente.

50 El aire de entrada se ajustó a 35-46°C, y la temperatura del producto se ajustó a 30-33°C. La velocidad de pulverización se inició con 0,3 y se elevó hasta 1,6 g de disolución/min., y el caudal de aire se mantuvo de 16 a 18 m³/h. El procedimiento de pulverización terminó después de 146 min. Los peletes se secaron entonces en la máquina durante 10 min., se tamizaron a través de un tamiz de 710 μm , y el rendimiento se comprobó mediante pesada. El peso final obtenido fue 123,98 g, que corresponde a 100% de peletes revestidos de < 710 μm del peso esperado teórico total.

Ejemplo 8 (control de fármaco (cápsula))

Los peletes del ejemplo 1 se introdujeron en un tamaño 1 de cápsula de HPMC.

Las mezclas del ejemplo 1 se introdujeron en un tamaño 1 de cápsula de HPMC usando un embudo de llenado a fin de lograr un peso total de 350 mg. La uniformidad del peso de la cápsula fue 350,2 mg +/- 0,9 (desviación estándar, n = 10). La uniformidad del contenido de desmopresina en las cápsulas fue 215,62 +/- 5,55 µg (desviación estándar, n = 10).

5

Ejemplo 9 (formulación no de la invención (cápsula))

Los peletes del ejemplo 2 se introdujeron en un tamaño 1 de cápsula de HPMC.

Para una cápsula, se mezclaron 107 mg de peletes del ejemplo 2, con un contenido de alrededor de 205 µg de desmopresina, con Cellets® 500 como material de llenado, para llenar cápsulas de tamaño 1 de HPMC con un peso total de 350 mg. La uniformidad del peso de la cápsula fue 350,5 mg +/- 0,3 (desviación estándar, n = 10). La uniformidad del contenido de desmopresina en las cápsulas fue 204,57 +/- 2,42 µg (desviación estándar, n = 10).

10

Ejemplo 10 (formulación no de la invención (cápsula))

Los peletes del ejemplo 6 se introdujeron en un tamaño 1 de cápsula de HPMC.

Para una cápsula, se mezclaron 195,6 mg de peletes del ejemplo 6, con un contenido de alrededor de 225 µg de desmopresina, con Cellets® 500 como material de llenado, para llenar cápsulas de tamaño 1 de HPMC con un peso total de 350 mg. La uniformidad del peso de la cápsula fue 350,1 mg +/- 0,2 (desviación estándar, n = 10). La uniformidad del contenido de desmopresina en las cápsulas fue 225,4 +/- 0,51 µg (desviación estándar, n = 10).

15

Ejemplo 11 (formulación de la invención (cápsula))

Los peletes del ejemplo 7 se introdujeron en un tamaño 1 de cápsula de HPMC.

Para una cápsula, se mezclaron 145,5 mg de peletes del ejemplo 7, con un contenido de alrededor de 211 µg de desmopresina, con Cellets® 500 como material de llenado, para llenar cápsulas de tamaño 1 de HPMC con un peso total de 350 mg. La uniformidad del peso de la cápsula fue 350,0 mg +/- 0,2 (desviación estándar, n = 10). La uniformidad del contenido de desmopresina en las cápsulas fue 211,31 +/- 1,19 µg (desviación estándar, n = 10).

20

Ejemplos de ensayo 12 a 16

25 Ejemplo 12 (TEER)

Ensayo in vitro de las preparaciones de los ejemplos 1, 4 y 5 en células Cacoll (valores de TEER)

Preparación de monocapas de células Cacoll para las medidas de resistencia eléctrica transepitelial (TEER)

Para los experimentos de transporte, se sembraron células Caco 2 con una densidad de 60.000 células por centímetro cuadrado sobre insertos de filtro Transwell™, que se colocaron en placas de racimo de fondo plano de 12 pocillos. A los insertos (compartimientos apicales) se les suministraron 0,5 ml y a los pocillos exteriores (compartimientos basales) 1,5 ml de medio de cultivo DMEM. Las células se cultivaron a 37°C, 10% de CO₂ y 90% de humedad relativa en medio de cultivo DMEM durante 14 a 30 días hasta que formaron monocapas confluentes. El medio de cultivo se sustituyó cada 2-3 días. La confluencia y la firmeza de la monocapa de células se comprobó normalmente midiendo la resistencia eléctrica transepitelial usando un voltímetro EVOM™.

30

35 Un lote de monocapa de Caco 2 se define como células Caco 2 sembradas y cultivadas en paralelo en las mismas condiciones en filtros Transwell™. La cuantificación de los lotes de la monocapa de Caco 2 por medio de marcadores de transporte seleccionados se realiza por triplicado para cada condición de transporte. Se han de cumplir los siguientes criterios de calidad antes de que un lote de monocapa sea liberado para estudios de permeabilidad:

- 40
- Número de pasadas de Caco 2, menos que 50
 - Edad del cultivo, 14 a 30 días en filtros Transwell™
 - Valores de TEER, antes y después del transporte, por encima de 200 Ω·cm² (que indica integridad y firmeza de la monocapa de células)
- 45
- Coeficiente de permeabilidad aparente (ab y ba) de un marcador poco permeable (fluoresceína), menor que 1·10⁻⁶ cm·s⁻¹ (que indica idoneidad del modelo para identificar transporte poco permeable, asegurando la firmeza de la monocapa de células)
 - Coeficiente de permeabilidad aparente (ba) de rodamina 123 mayor que 4·10⁻⁶ cm·s⁻¹ (que indica expresión evidente de P-glicoproteína)

ES 2 561 652 T3

- Coeficiente de permeabilidad aparente (ab) de propranolol mayor que $5 \cdot 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ (que indica idoneidad del modelo para identificar transporte permeable elevado).

Se han de cumplir los siguientes criterios de calidad para cada monocapa individual usada para los estudios de permeabilidad con los compuestos de ensayo:

- 5
- Las monocapas son parte de un lote cualificado
 - La TEER debe de ser mayor que $200 \Omega \cdot \text{cm}^2$ tras la preincubación (30-45 min.), de otro modo la monocapa se rechaza
 - La TEER debe de ser mayor que $200 \Omega \cdot \text{cm}^2$ tras el estudio de transporte; menores valores de TEER indican una falta de integridad de la monocapa a lo largo del estudio.
- 10 Tampones usados en los experimentos para el lado apical o para el lado basolateral

Tabla 1

Tampón de HBSS pH 6,5 (lado apical)		Tampón de HBSS pH 7,4 (lado basolateral)	
Compuesto	Conc. [mM]	Compuesto	Conc. [mM]
MgSO ₄	0,812	MgSO ₄	0,812
CaCl ₂	0,952	CaCl ₂	0,952
NaCl	136,7	NaCl	136,7
KCl	5,36	KCl	5,36
Na ₂ HPO ₄ 2 H ₂ O	0,385	Na ₂ HPO ₄ ·2 H ₂ O	0,385
K ₂ HPO ₄ 3 H ₂ O	0,441	K ₂ HPO ₄ 3 H ₂ O	0,441
Glucosa	25	Glucosa	25
MES	10	HEPES	10

El pH se ajustó mediante NaOH/HCl

Preparación y medida de las muestras

- 15 Para los experimentos, se aplicaron al compartimiento donante 1 mg de comprimidos en polvo Minirin® del ejemplo 1 o peletes intactos de los ejemplos 4 y 5. Como control adicional, se aplicó una mezcla de acetato de desmopresina y Cellets® 700.

- 20 El efecto de la formulación de los peletes sobre la TEER se evaluó monitorizando la TEER durante el experimento de transporte. La TEER se midió a 0, 15, 30, 60, 120 y 240 min. Después de la última medida de la TEER, se retiró el contenido del compartimiento apical y basolateral, y las células se lavaron y se volvieron a cultivar en medio de cultivo celular durante 20 h adicionales. La TEER se midió nuevamente para evaluar la reversibilidad de la potenciación de la permeación.

Resultados

Tabla 2

Ejemplo	1		4		5		Cellets® de control con desmopresina	
	TEER media [%]	SD	TEER media [%]	SD	TEER media [%]	SD	TEER media [%]	SD
Medio	79	9	84	2	82	1	79	9
HBSS	100	0	100	0	100	0	100	0
0 min	103	6	27	1	92	3	103	6
15 min	81	3	15	1	25	3	81	3

30 min	82	2	14	1	17	1	82	2
60 min	85	4	15	1	14	1	85	4
120 min	82	2	15	1	12	2	82	2
240 min	70	1	11	1	10	1	64	3

Los valores de TEER de los peletes de los ejemplos 4 y 5 se redujeron a menos de 15% en comparación con el control de tampón. En contraste con esto, la formulación del ejemplo 1 mostró solamente una reducción hasta 70%.

Ejemplo 13 (Flujo)

5 Ensayo in vitro de las preparaciones de los ejemplos 1, 4 y 5 en células Cacoll (medidas de flujo)

Preparación de monocapas de células Cacoll para medidas de flujo

Las monocapas de células Cacoll se prepararon de la misma manera como en el ejemplo 12.

Preparación y medida de las muestras

10 Una disolución de acetato de desmopresina que contiene $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ se preparó en tampón de HBSS, pH 6,5, disolviendo 10 mg de sustancia en 10 ml de tampón.

La disolución se aplicó al compartimiento donante junto con 1 mg de la formulación de pelete, o el comprimido en polvo Minirin.

15 Para los experimentos, se aplicaron al compartimiento donante 1 mg del comprimido en polvo Minirin® del ejemplo 1 o peletes intactos de los ejemplos 4 y 5. Como control adicional, se aplicó una mezcla de acetato de desmopresina y Cellets® 700.

20 Puesto que no se llevó a cabo ninguna preincubación, la concentración de compuesto de ensayo encontrada en la disolución de transporte se tomó como la concentración donante inicial (c_{D0}). Después de 120 minutos, se tomaron muestras de $100 \mu\text{l}$ de los compartimientos aceptores y de los compartimientos donantes. Entre los puntos de muestreo, las monocapas se incubaron a 37°C en una incubadora de CO_2 . Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

Como control, se usaron peletes inertes (celetes).

25 La disolución se analizó mediante HPLC usando una columna RP-18 como fase estacionaria y una mezcla de agua/acetoneitrilo (80:20) como fase eluyente, a una longitud de onda de 220 nm. El flujo se calculó como porcentaje de $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de desmopresina que representa el 100% de la cantidad aplicada al lado donante. El contenido de desmopresina en los peletes aplicados (aprox. $2 \mu\text{g}$) se despreció para el cálculo.

Resultados

Los resultados de los experimentos de "Flujo" se resumen en la tabla 3.

Tabla 3

Transporte	Flujo [en % de D_0]	SD (desviación estándar, $n=3$)
Control: acetato de desmopresina + Cellets 700 700-1000 μm	0,18	0,82
acetato de desmopresina + formulación del ejemplo 4	24,24	5,89
acetato de desmopresina + formulación del ejemplo 5	20,36	6,76
acetato de desmopresina + formulación del ejemplo 1 (comprimidos de Minirin® en polvo)	0,22	0,02

30 Como resultado, es evidente que las formulaciones de los ejemplos 4 y 5 incrementan el flujo de desmopresina en células Cacoll hasta un valor de más de 20%.

Ejemplo 14 (Inhibición de enzimas proteolíticas)

Ensayo de inhibición de enzimas pancreáticas in vitro de las preparaciones de los ejemplos 1, 4 y 5

Diseño experimental

5 Los experimentos de inhibición se llevaron a cabo usando un nuevo diseño del estudio que considera la disolución de los peletes. Se agitaron 80 mg de cada formulación en 10 ml de HBSS, pH 5,8 a la velocidad de agitación más baja disponible. La agitación se detuvo tras 30 min., y se dejó que las suspensiones sedimentaran antes de que se extrajese una alícuota (2 ml) y se mezclase con 2 ml de una disolución que contiene $80 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de acetato de desmopresina en tampón de HBSS, pH 6,5. El pH de las disoluciones se midió, pero no se ajustó.

Como control negativo, se mezclaron 2 ml de tampón de HBSS con 2 ml de una disolución que contiene $80 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de acetato de desmopresina en tampón de HBSS, pH 6,5. El pH de las disoluciones se midió, pero no se ajustó.

10 Como control positivo, se usó una disolución que contiene 4 mg de BBI por ml en HBSS. Se mezclaron 2 ml de la disolución con 2 ml de una disolución que contiene $80 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de acetato de desmopresina en tampón de HBSS, pH 6,5. El pH de las disoluciones se midió, pero no se ajustó.

15 Se mezclaron 200 μl de las disoluciones preparadas con 200 μl de una disolución de pancreatina ($20 \text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), y se incubó durante 1, 2 y 3 h a 37°C . Cada experimento se llevó a cabo por triplicado (tres disoluciones preparadas individualmente).

(Concentraciones finales en el control positivo: 1 mg/ml de BBI, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de acetato de desmopresina, y 10 mg/ml de pancreatina)

Para el valor de 100%, se agitaron 80 mg de peletes en 10 ml de HBSS, pH 5,8, durante 30 min., y se homogeneizó usando un ultraturrax. La suspensión se agitó durante otros 15 minutos y se dejó sedimentar.

20 El sobrenadante se recogió y se diluyó posteriormente con acetato de desmopresina en tampón de HBSS, pH 6,5, como se describe anteriormente. El pH de las disoluciones se midió, pero no se ajustó.

Para los valores de partida (t_0), la mezcla se añadió directamente a 400 μl de acetonitrilo y se diluyó con 1200 μl de tampón de HBSS, pH 6,5. La disolución se analizó mediante HPLC usando como fase estacionaria una columna RP-18 y, como fase eluyente, una mezcla de agua/acetonitrilo (80:20), a una longitud de onda de 220 nm.

25 Resultados

Los resultados de los experimentos de inhibición enzimática se resumen en la tabla 4.

Tabla 4

Tiempo (min)	0	60	120	180
Control negativo (desmopresina en tampón de HBSS)	100,00	61,79	50,51	33,54
RSD %	-	18,34	6,05	10,63
Peletes homogeneizados del ejemplo 4	100,00	65,51	46,56	38,54
RSD %	-	4,57	7,29	14,94
Sobrenadante de los peletes del ejemplo 4 liberados tras 30 min	100,00	68,74	45,12	33,06
RSD %	-	7,56	20,37	27,59
Peletes homogeneizados del ejemplo 5	100,00	90,87	79,54	64,62
RSD %	-	8,23	3,29	6,63
Sobrenadante de los peletes del ejemplo 5 liberados tras 30 min	100,00	85,98	76,16	61,56
RSD %	-	5,05	2,80	5,47
Comprimidos de Minirin® homogeneizados (ejemplo 1)	100,00	65,48	50,07	33,40
RSD %	-	8,84	10,70	1,24
Sobrenadante de comprimidos de Minirin® del ejemplo 1 liberados tras 30 min	100,00	69,08	51,44	39,63
RSD %	-	9,41	5,71	15,33

BBI de control positivo (concentrado aprox. 4 veces más que en el ejemplo 5)	100,00	98,82	94,48	85,25
RSD %	-	3,09	5,06	1,84

RSD= desviación estándar relativa, n=3

- 5 Resultados obtenidos para formulaciones y controles (n = 3). La formulación de comprimido (Minirin®) y el pelete del ejemplo 4 mostraron casi ninguna propiedad inhibitoria; la cinética de degradación es similar al control negativo (tampón). No se observó casi ninguna diferencia entre muestras disueltas (30 minutos) y homogeneizadas. Solamente el control positivo y los peletes del ejemplo 5 pudieron reducir notablemente la degradación de acetato de desmopresina por pancreatina. Sin embargo, incluso en ausencia del BBI, se observa una recuperación de más de 60% de desmopresina. Esto indica que el efecto del BBI es detectable pero marginal.

Ejemplo 15 (Sincronización)

Ensayo in vitro de las preparaciones de los ejemplos 5, 7 y 11 para la sincronización de desmopresina e inhibidor de Bowman-Birk

- 10 Se han llevado a cabo ensayos de disolución de peletes según un aparato 2 de la USP a 37°C, velocidad de las paletas 100 rpm, tampón de fosfato pH 6,0, n = 6, 1 g por vasija según alrededor de 1400-2100 µg de acetato de desmopresina. Adicionalmente, los peletes entéricos se trataron 2 h en ácido clorhídrico, 0,1 N, antes de cambiar a pH 6,0.

- 15 Se han llevado a cabo ensayos de disolución de cápsulas de la misma manera, n = 6, 5 cápsulas por vasija que corresponden a un total de 1080 µg de acetato de desmopresina.

Las muestras recogidas se analizaron usando un HPLC en la que la desmopresina y el BBI se midieron por separado con una detección de UV a 210 nm.

Resultados

El efecto de la sincronización se muestra en las tablas 5, 6 y 7, en porcentaje de la cantidad total de cada sustancia.

- 20 Perfil de disolución de peletes del ejemplo 5 en tampón de fosfato, pH 6,0, mostrado individualmente para desmopresina y para BBI

Tabla 5

Tiempo [min]	Ejemplo 5 desmopresina	Ejemplo 5 BBI
0	0,74	1,8
10	77,3	73,2
20	94,8	90,5
30	97,3	97,7
40	98,8	98,8
43	100	100

- 25 Perfil de disolución de peletes del ejemplo 7 tras 2 h, HCl 0,1 N, y cambiando a pH 6,0, mostrado individualmente para desmopresina y para BBI

Tabla 6

Tiempo [min]	Ejemplo 7 desmopresina	Ejemplo 7 BBI
0	0,7	2,7
60	0,7	2,7
120	0,7	2,7
130	96,2	95,8

140	97,7	97,2
150	98,2	98,3
160	98,7	98,6
210	99,1	98,8
213	100	100

Perfil de disolución de cápsulas del ejemplo 11 tras 2 h, HCl 0,1 N, y cambiando a pH 6,0, mostrado individualmente para desmopresina y para BBI

Tabla 7

Tiempo [min]	Ejemplo 11 desmopresina	Ejemplo 11 BBI
0	1,1	4,5
60	1,1	4,5
120	1,1	4,5
130	93,3	95,8
140	93,41	98,2
150	95,21	99,1
160	96,4	99,1
210	98,5	98,3
213	100	100

5

El perfil de disolución de los peletes de los ejemplos 5 y 7 y de cápsulas del ejemplo 11 muestran una liberación rápida (> 90% tras 20 min.) y total (casi 100% tras 30 min.) a pH 6,0 de desmopresina y BBI en una materia sincronizada. La desviación en estos puntos de tiempo (20/30 min. en el ejemplo 5 o 140/150 min. en los ejemplos 7 y 11) es menor que 5%.

10 **Ejemplo 16 (estudio in vivo)**

Ensayo in vivo de las preparaciones de los ejemplos 8, 9, 10 y 11 en minicerdos (biodisponibilidad relativa)

Descripción del método

Se seleccionaron minicerdos ya que son un buen modelo para estudiar la biodisponibilidad oral en el hombre. Los minicerdos son más pequeños que los cerdos domésticos, y por lo tanto son más fáciles de manipular.

15 Especie: Minicerdo (Göttingen)

Fuente: Ellegaard Göttingen Minipigs A/S (Dalmose, DK)

Número, sexo: 8 machos; no se incluyeron animales extra. No surgió ninguna complicación imprevista con ninguno de los animales.

20 Edad, peso corporal: Los animales tuvieron 7-8 meses en el momento de la dosificación, con un peso corporal medio de 12 kg. Al llegar a TNO, los animales se pesaron y se repartieron en dos grupos. Un día antes de cada sesión de dosificación, se registraron los pesos de los animales.

Aclimatación: Los animales se aclimataron a las condiciones de laboratorio, al personal biotécnico y al procedimiento de dosificación y muestreo mediante entrenamiento diario en días de la semana durante 3 semanas antes del comienzo del estudio.

25 Estado de salud: A la llegada, los animales se llevaron a una habitación de cuarentena y se comprobaron para determinar signos claros de salud enferma y anomalías. La habitación de cuarentena se limpió subsiguientemente

para uso como habitación experimental.

5 Entorno: Los animales se alojaron en condiciones convencionales en una habitación. No se alojó en la misma habitación durante el estudio ningún otro sistema de ensayo. La habitación se ventiló con alrededor de 10 cambios de aire por hora, y se mantuvo a una temperatura de 22°C +/- 2°C y una humedad relativa de al menos 40% y que no supera 70% aparte de durante la limpieza de la habitación. La iluminación fue artificial, con una secuencia de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

10 Alojamiento: Durante la aclimatación y durante el estudio, los animales se alojaron en jaulas con paja como cama y juguetes, 4 minicerdos por jaula. En los días de la recogida de sangre, los animales se alojaron individualmente. Durante la segunda semana de dosificación, los animales comenzaron a pelearse entre sí y por lo tanto se alojaron individualmente a partir de entonces, a fin de evitar heridas por mordedura.

Identificación: Los animales se etiquetaron en la oreja con un único número por el proveedor. Mantuvieron esta etiqueta a lo largo del estudio. Los animales también se numeraron de 1 a 8 mediante un número escrito en la frente.

15 Dieta: Los minicerdos se alimentaron dos veces al día, alrededor de 350 g de una dieta para minicerdos comercial (Mpig-H). Cada uno de los lotes de esta dieta se analiza por el proveedor (Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Alemania) para determinar los nutrientes y contaminantes. Los certificados de análisis que pertenecen al lote usado en este estudio se incluyen en los archivos del estudio.

Agua potable: El agua potable se ofreció a voluntad. El agua potable fue adecuada para el consumo humano.

Formulaciones de ensayo

Para los estudios, se usaron cápsulas de los ejemplos 8, 9, 10 y 11.

20 Contenido: aprox. 215 µg de desmopresina por cápsula

Condiciones del almacenamiento: + 2 a + 8°C

Estabilidad: estables en las condiciones de almacenamiento

Procedimientos experimentales

25 Los animales recibieron una única dosis de cada formulación (1 cápsula), y se tomaron muestras de sangre tras cada dosificación.

Los animales 1-4 recibieron las cuatro formulaciones en el siguiente orden: Cápsulas de los ejemplos 9, 10, 11 y 8.

Los animales 5-8 recibieron las mismas formulaciones en orden inverso.

30 Este procedimiento (estudio cruzado) permite dar cuenta de los posibles efectos indeseables de la dosificación repetida de desmopresina (por ejemplo, producción de anticuerpos) sobre parámetros que gobiernan su propia farmacocinética, o efectos inexplicables de las formulaciones (por ejemplo, efecto sobre las funciones intestinales).

Nivel de dosis, administración, tamaño del grupo e identificación

35 El nivel de dosis se ha seleccionado mediante aprox. 215 µg de acetato de desmopresina absoluto basado en un peso corporal de 70 kg en el hombre. Cada grupo comprendió 4 minicerdos macho. Los números de los animales asignados a los grupos de tratamiento se han registrado durante el estudio para permitir una clara identificación del grupo.

40 El artículo de ensayo se administró oralmente a cada animal en base a 1 cápsula que contiene la cantidad correspondiente de sustancia de ensayo. La administración oral se llevó a cabo colocando un palito de morder (perforado en su centro) entre los dientes de los animales. Se insertó una pistola de píldoras equipada con un tubo (de aproximadamente 0,5 cm de diámetro) a través del orificio en la boca del minicerdo, y la cápsula se disparó directamente en la garganta. El palito de morder se retiró después de que el animal hubo tragado. A los animales se les dio acceso a agua potable recién salida del grifo inmediatamente tras la dosificación.

Cada formulación se administró una vez solamente, y a cada dosificación le siguió un período de reposo farmacológico de una semana.

Recogida de sangre

45 Se recogieron muestras de sangre de aproximadamente 0,5 ml cada una de la vena yugular de cada animal a 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480 minutos tras la dosificación, mediante lados alternos por sesión a fin de permitir que el sitio de toma de muestras se recupere entre dos sesiones de toma de muestras.

Las muestras se recogieron en Vacutainers que contienen K2EDTA. Los tubos se centrifugaron a +4°C (3000 rpm durante 10 minutos) en 30 minutos tras la recogida, y el plasma se recogió en dos alícuotas (A y B) en tubos de polietileno. Las muestras de plasma se almacenaron congeladas a < -70°C hasta el envío en hielo seco al sitio de análisis.

- 5 Cada muestra se identificó mediante el número del estudio, código del animal, tipo de muestra, fecha de la toma de muestras, tiempo de la toma de muestras.

Bioanálisis: Las muestras de plasma se analizaron para determinar la concentración de desmopresina mediante un método de RIA.

Análisis farmacocinético y estadística

- 10 Los resultados del bioanálisis se analizaron usando KineticaR v4.2. Se construyeron curvas de concentración plasmática frente al tiempo a partir de los resultados definitivos y se analizaron mediante análisis no compartimental.

Se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos cuando lo permitieron los datos: Cmax, Tmax, la semivida terminal (T1/2), el volumen de distribución (Vz), el aclaramiento total (CIT), el área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC_{0-∞}).

- 15 La biodisponibilidad relativa se calculó como la relación entre la AUC_{0-∞} media de cápsulas del ejemplo 8 (Minirin®) y la AUC_{0-∞} de las formulaciones de los ejemplos 9, 10 y 11, respectivamente.

Los resultados se han expresado como área total bajo la curva y como porcentaje, y se dan en la tabla 8.

Tabla 8

	Ejemplo 9	Ejemplo 10 (formulación de control, que corresponde al ejemplo 11 de la invención)	Ejemplo 11 formulación de la invención	Ejemplo 8 control de fármaco
Área bajo la curva de concentración-tiempo AUC _{0-∞} [pg/ml*min]	4467	5155	53823	7573
Biodisponibilidad relativa AUC _{0-∞} [%] frente a control de fármaco	59	68	711	100
Biodisponibilidad relativa AUC _{0-∞} [%] frente a control de formulación	87	100	1044	147
Incremento en el factor de biodisponibilidad	-	-	10,44	-

- 20 Los ejemplos 9 y 10 no fueron mejores que el ejemplo de referencia 8 (Minirin®, control de fármaco), presentando una biodisponibilidad relativa de alrededor de 59 y 68% en comparación con el control de fármaco. Sin embargo, los ejemplos 9 y 10 se pueden considerar en un intervalo comparable como el ejemplo 8 de control de fármaco, que se basa en un producto comercialmente disponible.

- 25 Por el contrario, la formulación del ejemplo 11 presentó una biodisponibilidad relativa siete veces mayor AUC_{0-∞} (711%) que el ejemplo 8 del control de fármaco (100%).

- 30 El incremento en la biodisponibilidad oral como se reivindica se calcula comparando el ejemplo 11 con el ejemplo 10. El área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC_{0-∞} [pg/ml*min.]) de la sangre de minicerdos tras el suministro oral de desmopresina con la formulación según el ejemplo 11 con el inhibidor de enzimas proteolíticas es 53823 pg/ml*min. Esto se compara con la AUC_{0-∞} de la formulación correspondiente sin el inhibidor de enzimas proteolíticas (ejemplo 10), cuya AUC_{0-∞} es 5155 pg/ml*min. (= 100%). De este modo, el factor de incremento de biodisponibilidad oral calculado es 53823/5155 = 10,44 (= 1044%).

Los peletes contenidos en las cápsulas de los ejemplos 8, 9, 10 y 11 corresponden a los peletes de los ejemplos 1, 4, 6 y 7, respectivamente. Las formulaciones 6 y 7 representan los peletes revestidos entéricamente de los ejemplos 4 y 5, respectivamente.

- 35 Los peletes de los ejemplos 4 y 5 tienen buenos efectos de penetración celular en ensayos celulares in vitro mostrados en los ejemplos 12 y 13 (valores de TEER y de flujo). Las formulaciones de los ejemplos 4 y 5

incrementaron el flujo de desmopresina en células Cacoll hasta un valor de más de 20%. Los valores de TEER de los peletes de los ejemplos 4 y 5 se redujeron a menos de 15% en comparación con el control de tampón. En contraste con esto, la formulación del ejemplo 1 (Minirin®) mostró solamente una reducción hasta 70%.

5 Sin embargo, los resultados prometedores de los peletes del ejemplo 4 que se colocan en las cápsulas de los ejemplos 9 y 10, sin o con revestimiento entérico respectivamente, obtenidos in vitro, conducen solamente a resultados decepcionantes in vivo. Cuando las formulaciones correspondientes se ensayaron in vivo en minicerdos, solamente se pudo detectar una biodisponibilidad pobre. Esta fue menor que el valor obtenido para la cápsula del ejemplo 8 que contiene la preparación de referencia del ejemplo 1 (control de fármaco).

10 Solamente la formulación de cápsula del ejemplo 11 (que contiene los peletes del ejemplo 7, que es la versión revestida entéricamente de los peletes del ejemplo 5), que es la única que contenía el agente que promueve la biodisponibilidad BBI, mostró un claro incremento de la biodisponibilidad en un factor de 10,44, cuando se compara con la formulación del control del ejemplo 10, que es la formulación correspondiente a la formulación de la invención del ejemplo 11.

15 Este fuerte incremento de la biodisponibilidad relativa no se puede explicar simplemente por el único efecto débil de la actividad de inhibición de enzimas de BBI mostrada en el ejemplo 14.

20 Debido al hecho de que el efecto in vivo fue mucho mayor en comparación con los resultados in vitro, creemos que este efecto no se puede explicar simplemente por el efecto protector del inhibidor de enzimas proteolíticas frente a enzimas pancreáticas. Además, parece haber un nuevo efecto desconocido que incrementa la biodisponibilidad de los ingredientes activos provocado por la adición de un inhibidor de enzimas proteolíticas en general, o al menos por alguno de origen vegetal o al menos por el inhibidor de Bowman-Birk (BBI) en combinación con los otros elementos del sistema según se reivindica.

Ejemplo 17 (TEER, promotor de la penetración puro)

25 El promotor de la penetración, en el sentido de la presente invención, se puede definir reduciendo el valor de TEER inicial de la disolución tampón sin promotor de la penetración (100%) hasta 50% o menos, preferiblemente 40% o menos, preferiblemente 30% o menos, preferiblemente 20% o menos, en presencia del promotor de la penetración a una concentración de 1 mg/ml después de 60 min. medido en un cultivo de monocapa de células Caco 2 como barrera de transporte.

30 El ensayo de TEER se llevó a cabo de forma análoga al ejemplo 12. EUDRAGIT® E acetato = EUDRAGIT® E disuelto en agua mediante adición de ácido acético hasta que se obtuvo una disolución transparente; EUDRAGIT® E PO base = dispersión de EUDRAGIT® E PO (forma de polvo de EUDRAGIT® E) en agua (no disuelto); acetato de quitosano = quitosano disuelto en agua mediante adición de ácido acético hasta que se obtuvo una disolución transparente.

Tabla 9

Sustancia	Control negativo (tampón de HBSS pH 7,4)		EUDRAGIT® E acetato 0,005%		EUDRAGIT® E PO base 0,005%		Acetato de quitosano 0,005%		Control positivo (dodecilsulfato de sodio 0,1 %)	
	TEER media [%]	SD*	TEER media [%]	SD	TEER media [%]	SD	TEER media [%]	SD	TEER media [%]	SD
HBSS (0 min)	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
5 min	75	4	35	2	40	0	63	10	12	2
60 min	71	4	23	3	27	7	42	5	4	0
120 min	80	2	23	3	22	6	30	9	10	2
180 min	84	5	22	1	24	6	23	5	12	3
240 min	90	6	22	4	23	6	20	3	15	2

*) SD = desviación estándar; n=3

35 EUDRAGIT® E acetato, EUDRAGIT® E base y acetato de quitosano satisfacen el requisito de TEER para el promotor de la penetración, puesto que reducen TEER a menos de 50% tras 60 min. incluso a una concentración de 0,005% = 0,05 mg/ml (por debajo de 1 mg/ml).

Ejemplo 18 (TEER, promotor de la penetración catiónico/ingrediente activo aniónico)

El ensayo de TEER se llevó a cabo de forma análoga al ejemplo 12.

Tabla 10: TEER en % de TEER en medio durante el ensayo (media de n = 3)

Ejemplo nº	18a	18b	18c	18d	18e	18f	18g	18h	18i
Formulación/ Tiempo [min]	Desmo E/BBI	Desmo BBI	Desmo	Heparina	Heparina /E/BBI (4:1)	Heparina /E/BBI (1:1)	Heparina /E/BBI (0,25:1)	0,1% SDS	HBSS
tampón	120	117	123	118	139	126	121	123	124
0	27	111	119	110	139	123	119	22	132
15	18	101	111	102	130	118	109	16	129
30	20	105	115	106	132	119	108	16	130
60	15	104	111	105	126	123	117	12	135
90	15	111	118	112	109	130	120	16	138
120	11	109	119	111	46	133	120	12	139
240	11	98	109	104	26	118	121	13	139

5 Descripción de las formulaciones: Se ensayaron las siguientes mezclas en tampones de HBSS

Abreviaturas:

Acetato de desmopresina = Desmo,

EUDRAGIT® E carbonato = E (s. descripción: copolímero de amino(met)acrilato carbonatado) inhibidor de Bowman Birk = BBI

10 Heparina: Heparina de bajo peso molecular (heparina LMW); Fraxiparin(TM) (nadroparina cálcica); jeringuilla lista para uso de 0,6 ml para inyección subcutánea (5700 IU anti-Xa/mg); Ch.B.: 3394-1; Glaxo Smith Kline

Ejemplo 18a: Desmo 0,01%/E 0,1%/BBI 0,01%

Ejemplo 18b: Desmo 0,01%/BBI 0,01%

Ejemplo 18c: Desmo 0,01% (control de ingrediente activo)

15 Ejemplo 18d: Heparina 0,1% (control de ingrediente activo)

Ejemplo 18e: Heparina 0,1%/E 0,4%/BBI 0,01 %

Ejemplo 18f: Heparina 0,1%/E 0,1%/BBI 0,01 %

Ejemplo 18g: Heparina 0,1%/E 0,25%/BBI 0,01 %

Ejemplo 18h: Dodecilsulfato de sodio (SDS) 0,1% (control positivo)

20 Ejemplo 18i: Tampón de HBSS (control negativo)

Discusión de los resultados:

25 Los ejemplos 18a, 18e, 18f y 18g representan la composición cualitativa del núcleo de las formulaciones de la invención (sin revestimiento gastrointestinal). Los ejemplos 18a y 18e son eficaces reduciendo los valores de TEER, mientras que los ejemplos 18f y 18g no lo son. El ejemplo 18a muestra una fuerte reducción del valor de TEER, que es debida a la presencia de EUDRAGIT® E, lo que se manifiesta a partir de los ejemplos comparativos 18b y 18c sin EUDRAGIT® E o sin EUDRAGIT® E y BBI respectivamente.

En los ejemplos 18e, 18f y 18g, la heparina se usa como un ejemplo para un ingrediente activo aniónico potente. En estos ejemplos, la heparina se mezcla con el EUDRAGIT® catiónico como promotor de la penetración y BBI. En los ejemplos 18 f y 18g no hay reducción de TEER. Esto se supone que es debido a un exceso de heparina aniónica

5 que interfiere con la actividad del promotor de la penetración catiónico e inhibe su funcionalidad. En el ejemplo 18e se observa una reducción retrasada de TEER. Esto se supone que es debido a un exceso de la actividad del promotor de la penetración catiónico con respecto a la heparina aniónica, de manera que la actividad del promotor de la penetración no es completamente inhibida como en el ejemplo 18f y 18g. Los ejemplos 18e, 18f y 18g muestran que se puede producir una pérdida de actividad del promotor de la penetración cuando las sustancias aniónicas y catiónicas se mezclan juntas en cantidades que son aproximadamente equimolares con respecto a sus cargas, o cuando el ingrediente activo está presente en exceso con respecto al promotor de la penetración. Esto se puede resolver, por ejemplo, incrementando la cantidad total de promotor de la penetración con respecto al ingrediente activo, como se muestra en el ejemplo 18e.

10

REIVINDICACIONES

1. Formulación farmacéutica o nutracéutica que comprende un núcleo, que comprende un ingrediente activo farmacéutico o nutracéutico, un promotor de la penetración y un agente que promueve la biodisponibilidad, y un revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo,
- 5 caracterizado por que
- el agente que promueve la biodisponibilidad es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas, que incrementa la biodisponibilidad oral del ingrediente activo en un factor de al menos cinco, en comparación con una formulación correspondiente sin el agente que promueve la biodisponibilidad,
- por que el inhibidor de enzimas proteolíticas es un inhibidor de Bowman-Birk o un derivado del mismo, y
- 10 por que el ingrediente activo es una proteína o un péptido, un polisacárido o un derivado natural o sintético de estas sustancias, y
- por que el promotor de la penetración es un copolímero compuesto de 30 a 80% en peso de ésteres alquílicos de C₁ a C₄ de ácido acrílico o metacrílico, y 70 a 20% en peso de monómeros de (met)acrilato de alquilo que tienen un grupo amino terciario en el radical alquílico, y por que el núcleo comprende una capa de sincronización.
- 15 2. Formulación según la reivindicación 1, caracterizada por que el ingrediente activo es de origen biológico, y se añade un inhibidor que previene o reduce la degradación enzimática del ingrediente activo.
3. Formulación según la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que el ingrediente activo es desmopresina o un derivado de la misma, o una heparina o un derivado de la misma.
4. Formulación según una o más de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que es una formulación farmacéutica o nutracéutica de múltiples partículas que comprende una multitud de partículas en una unidad de dosificación.
- 20 5. Formulación según una o más de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que la cantidad del agente que promueve la biodisponibilidad en la formulación final está en el intervalo de 0,1 a 10% en peso.
6. Formulación según la reivindicación 1, caracterizada por que la capa de sincronización comprende hasta 90% en peso de la cantidad total de agente que promueve la biodisponibilidad.
- 25 7. Formulación según una o más de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que el revestimiento polimérico para la liberación gastrointestinal dirigida del ingrediente activo comprende un polímero celulósico aniónico o un copolímero de (met)acrilato aniónico.
8. Formulación según una o más de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que el ingrediente activo es aniónico, y por que las interacciones iónicas entre el ingrediente activo y el promotor de la penetración se evitan
- 30 • mediante una cantidad excesiva del promotor de la penetración en una mezcla de ambos componentes en el mismo compartimiento de la formulación, o
- mediante la separación local de ambos componentes en diferentes compartimientos de la formulación, o
- mediante la adición de sales, polímeros anfífilicos o polímeros no iónicos que se enlazan mediante hidrógeno, a una mezcla de ambos componentes en el mismo compartimiento de la formulación.
- 35 9. Uso como excipientes de un agente que promueve la biodisponibilidad, que es un inhibidor farmacéuticamente aceptable de enzimas proteolíticas, que incrementa la biodisponibilidad oral de un ingrediente activo en una formulación según una o más de las reivindicaciones 1 a 8.