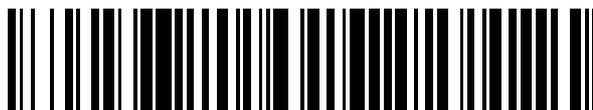


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 155**

51 Int. Cl.:

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 47/14 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.11.2010 PCT/EP2010/007140**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.06.2011 WO11063952**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.11.2010 E 10794865 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 2503992**

54 Título: **Formulaciones de bisfosfonatos y vitamina D adecuadas para administración intramuscular y subcutánea intermitente**

30 Prioridad:

26.11.2009 IT MI20092083

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

28.11.2016

73 Titular/es:

ROMANO, PAOLO (50.0%)

Via S. Anguissola, 12

20146 Milano, IT y

BRUZZESE, TIBERIO (50.0%)

72 Inventor/es:

BRUZZESE, TIBERIO

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 592 155 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

Formulaciones de bisfosfonatos y vitamina D adecuadas para administración intramuscular y subcutánea intermitente

La presente invención se refiere a composiciones para uso farmacéutico que comprenden una sustancia que pertenece a la clase de los bisfosfonatos (BF) y vitamina D en altas concentraciones, disueltas en un pequeño volumen de una emulsión de lípidos y fosfolípidos en una fase acuosa concentrada, por lo tanto apropiadas para uso intramuscular (i.m.) y subcutáneo (s.c.), así como uso intermitente, y útiles en el tratamiento de enfermedades del sistema óseo, evitando así los efectos perjudiciales conocidos contra el tubo gastrointestinal después de la administración oral de BF.

Debido al uso de un vehículo particular que consiste en una emulsión de lípidos en alta concentración en agua, la composición de la invención puede disolver grandes cantidades de los dos ingredientes activos, con precisión como se requiere para la dosificación intermitente. En particular, la principal ventaja de esta composición es la de dar lugar a altas concentraciones de bisfosfonato en el tejido óseo, como consecuencia de una disminución en la tasa de absorción y por lo tanto de una excreción renal inferior de BF, y, sobre todo, para dar concentraciones sanguíneas altas y rápidas de vitamina D, lo que resulta ser de gran valor terapéutico. Al mismo tiempo, la composición es bien tolerada en el sitio de inyección y está libre de efectos adversos locales y sistémicos, en particular los relativos al sistema renal, y se demostró que era farmacéuticamente bastante estable en el tiempo.

Los bisfosfonatos son fármacos bien conocidos, que tienen una estructura (I) similar a la del pirofosfato natural, un regulador endógeno del metabolismo del calcio (Fleish H *et al*, Am J Physiol 1962, 203:671; Fleish H *et al* Science 1969,165:1262) y se usan ampliamente en la práctica clínica en todas las enfermedades del sistema óseo que dan lugar a una disminución de la masa ósea excesiva. Al tener la propiedad de unirse a los cristales de hidroxapatita e inhibir la función de los osteoclastos, los BF se usan en efecto como fármacos para el tratamiento y prevención de la disminución de la masa ósea asociada con la reabsorción ósea mediada por osteoclastos, tal como la enfermedad ósea de Paget, hipercalcemia maligna, metástasis ósea y osteoporosis (Rosen JD *et al*, Drugs 1996, 51:537).



Como se verá, el tratamiento con bisfosfonatos se ha asociado con efectos secundarios significativos, tales como la aparición de hipocalcemia, que puede ser especialmente intensa después de la administración parenteral y en sujetos con carencia de vitamina D; la hipocalcemia puede ser tan grave como para volverse sintomática, lo que requiere tratamientos rápidos, lo que da lugar también a acontecimientos potencialmente mortales, en particular en pacientes con hipoparatiroidismo o cáncer. (Maalouf NM *et al*, Endocrine Pract 2006, 12:48; Altundag O *et al*, J Clin Oncol 2004, 22:2035; Peter R *et al*, BMJ 2004, 328:335; Drogue T *et al*, Indian J Med Sci 2005, 59:542). El uso de BF, en particular por la vía parenteral, está asociado también (como se verá) a efectos tóxicos renales graves, pudiendo determinar, por ejemplo, insuficiencia renal aguda, síndrome nefrotóxico o glomeruloesclerosis segmentaria focal (Perazzella MA *et al*, Kidney International 2008, 74:1385; Diel U *et al*, J Support Oncol, 2007,5:475).

Además de lo anterior, los BF, en particular los que contienen un grupo nitrógeno, son irritantes para tejidos biológicos, tales como mucosa gástrica, después de la administración oral (Wallace JL *et al*, Aliment Pharmacol Ther 1999 13:1675; Kanatsu K *et al*, J. Gastroent. and Hepatol. 2004,19:512).

Entre los muchos BF introducidos en tratamiento en seres humanos, los más conocidos y usados pertenecen a la estructura anterior (I) en la que R1 y R2 (que puede ser iguales o diferentes entre sí) pueden ser hidrógeno, halógeno (en especial cloro), hidroxilo, grupo amino o tio, diversamente sustituido o no sustituido, alquilo C1-C3, opcionalmente sustituido con un grupo heterocíclico u homocíclico, simple o condensado, que contiene hasta dos heteroátomos (en particular N), aminoalquilo C1-C6 en el que el grupo amino puede estar sustituido con un alquilo C1-C6 o está incluido en un heterociclo.

Los BF más conocidos de la fórmula (I) están representados en particular por clodronato, alendronato, etidronato, neridronato, pamidronato, risedronato, zoledronato, ibandronato, incadronato, olpadronato, tiludronato y otros (Ezra A *et al*, Advan Drug Deliv Reviews 2000, 42:175).

A continuación, el término genérico de BF indicará todos los compuestos mencionados anteriormente, tanto en la forma de ácido como sales con bases farmacéutica y clínicamente aceptables como es conocido por el experto en el campo, más en particular sales de sodio con diversos grados de salificación, así como las posibles formas hidratadas y anhidras, cualquier racemato, enantiómeros o diastereoisómeros y las diversas formas cristalinas amorfas y polimorfas. Todos los BF, en las diversas formas, aparecen como sólidos extremadamente solubles en agua.

La absorción de BF en la circulación general después de la administración oral es extremadamente baja y con una gran variabilidad entre sujetos y dentro del mismo sujeto (Hylstrup L *et al*, *Calcification Tissue Int* 1993, 53:297; Mitchell DY *et al*, *Pharmaceutical Research* 2001, 18:166).

5 Como se ha mencionado, los BF son altamente solubles en agua, tienen una estructura fuertemente polar y una fuerte carga negativa en el pH del intestino delgado, pudiendo formar también complejos insolubles con iones de calcio y otros cationes bivalentes en la luz intestinal: todas estas características son responsables de su mala biodisponibilidad oral como se demuestra en varias especies animales y en seres humanos (Fogelman I *et al*, *Clin Endocrinol* 1986, 24:57).

10 Basándose en la proporción entre las concentraciones urinarias o plasmáticas (ABC) después de la administración intravenosa y oral en seres humanos, se descubrió que la biodisponibilidad oral era de aproximadamente un 0,7 % para alendronato (Gertz B *et al*, *Osteoporosis Int* 1993, 53:513), 0,3 % para pamidronato (Daley-Yates PT *et al*, *Calcif Tissue Int* 1991,49:433), 3-7 % para etidronato (Recker RR, *Toxicol Appl Pharmacol* 1973, 24:580) y 1-2 % para clodronato (Plasker GL *et al*, *Drugs* 1994, 47:945). La ingestión simultánea de alimentos reduce la absorción oral hasta alrededor de cero (Laitinen K *et al*, *Bone* 2000, 27:293).

15 Debido a la mala absorción, el tratamiento con BF oral requiere la administración de dosis mucho mayores que la potencialmente necesaria, de los que la mayoría, es decir, un 98-99 %, se pierde siendo el efecto terapéutico, sin embargo, responsable de la alta incidencia de trastornos gastrointestinales graves (síntomas epigástricos, flatulencia excesiva, diarrea), así como inflamación esofágica y ulceraciones.

20 Se deduce que el tratamiento oral diario con BF no está recomendado en absoluto debido a que requiere precauciones forzosas adicionales tales como evitar el decúbito supino después de la ingesta, reducir los problemas esofágicos (reflujo gastrointestinal) y gastrointestinales, así como tomar la medicación en ayunas, mejorar la absorción, y con la ingesta de grandes cantidades de agua (Dodwell DJ *et al*, *Br. J. Cancer* 1990, 61:123; Harinek HI *et al*, *Brit J. Res. Ed* 1987, 295:1301; Fitton A *et al*, *Drugs* 1991, 41:289); a pesar de todas las medidas, la mala tolerabilidad gástrica es responsable de un cumplimiento del tratamiento moderado de los pacientes (deGroen PC *et al*, *New Engl. J. Med* 1996, 335:1016; Rossini *et al*, *Osteoporosis Int.* 2006,17:914).

30 Como resultado de la mala absorción intestinal y tolerabilidad GI de BF, se ha realizado un amplio uso del tratamiento intravenoso, en particular en casos en los que fueros necesarias dosis terapéuticas muy altas, como en el tratamiento de tumores óseos y enfermedad de Paget. Se adoptó la vía de administración intravenosa, que se hizo particularmente popular en la práctica clínica, por (debido al hallazgo de un tropismo óseo alto y un tiempo de permanencia prolongado en el tejido diana de BF) los regímenes intermitentes de administración, con intervalos semanales, mensuales, trimestrales o incluso más largos, es decir, anuales, obviamente usando en estos casos una dosis que es acumulativamente equivalente a la suma de las dosis diarias individuales (Sartori L *et al*, *Aging Clin. Exp Res* 2003,15:271; Reginster JY *et al*, *Drugs Aging* 2007, 24:351; Eastell R *et al*, *J Clin Endocrinol Metab.* 2009, 94:3215).
35 Dependiendo de la potencia de BF y del tropismo óseo, se puede administrar una dosis f.i. de aproximadamente 5 mg de ácido zoledrónico cada año, una dosis de 50 mg de neridronato una vez al mes, una dosis de 100-200 mg de clodronato, 4-2 veces al mes, como ejemplos de BF con actividad alta, media y moderada.

40 Sin embargo, además la vía de administración intravenosa no está libre de límites graves, ya que, como ya se ha dicho, puede estar asociada más frecuentemente con la aparición de hipocalcemia, una afección que puede dar lugar a acontecimientos potencialmente mortales. Además, muy a menudo, se requiere que la administración se realice a través de una infusión lenta (normalmente de varias horas), diluyendo el fármaco en volúmenes grandes (es decir, 100-1000 ml), para evitar que se alcancen concentraciones plasmáticas máximas altas, lo que puede dar como resultado una excreción urinaria demasiado rápida y un posible daño renal, dando lugar también a una reducción en los niveles de tejido óseo y reducción en la eficacia. Por otra parte, este modo de administración se debe realizar en el hospital o al menos por personal preparado y puede provocar problemas de tolerabilidad local, con posible flebitis en el
45 sitio de inyección, particularmente grave en el caso de extravasación ocasional. Todo esto, por supuesto, no hace que esta vía de administración sea aceptable y adecuada, en particular para todas aquellas personas que padecen afecciones "clínicamente asintomáticas" o crónicas, tales como osteoporosis o ciertas formas de cáncer que requieren tratamiento prolongado.

50 Se ha demostrado que la vía de administración intramuscular, para la que se deben usar necesariamente volúmenes mucho menores, es decir, de alrededor de 1 o 2 ml, es una buena opción para el tratamiento de bisfosfonato intermitente porque permite una absorción más completa y menos variable del fármaco en el aparato circulatorio que la vía oral (Lauren L *et al*, *Pharmacol Toxicol* 1991, 69:365) y porque las inyecciones intramusculares se pueden realizar fácilmente en casa. Por estos motivos, el tratamiento intramuscular de BF logró una buena difusión, en especial en algunos países, lo que representa un gran porcentaje de las prescripciones de BF totales. Aunque todavía no se
55 introduce en el tratamiento, la vía de administración subcutánea también permite una buena absorción, mostrando las mismas ventajas de la vía intramuscular (Lauren L *et al*, *Pharmacol Toxicol* 1991, 69:365; Roemer-Becuwe C *et al*, *J of Pain and Symptom Management* 2003, 26:843).

El uso de estas vías de administración (intramuscular y subcutánea), sin embargo, tiene los mismos problemas de la vía intravenosa (posible aparición de la hipocalcemia, el alcance de máximos plasmáticos altos con posible daño

renal), empeorados incluso por una absorción del fármaco más rápida (por estas vías, la concentración sanguínea máxima se alcanza solo 30 minutos después de la inyección) (Muntoni E *et al*, J. Chromatogr B Analyte Technol Biomed Life Sci 2004, 5:133) en comparación con la administración por infusión intravenosa lenta. Estos problemas restringen el uso de las vías intramuscular y subcutánea a BF menos potentes o a dosis menores, evitando también la adopción de intervalos de administración más largos.

Las inyecciones intramusculares así como subcutáneas de BP, también son muy dolorosas, provocando dolor persistente local, a menudo referido como insoportable por el paciente (Rossini *et al*. Bone 1999, 24:125).

El documento WO 2005/044280 A1 divulga formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la clase de los bisfosfonatos en un vehículo estabilizante/dispersante que comprende una emulsión en agua farmacéuticamente aceptable de lípidos y/o fosfolípidos, para administración parenteral, incluyendo intramuscular.

Además de los bisfosfonatos, otra sustancia muy importante en la regulación del metabolismo óseo está representada por la vitamina D.

La vitamina D corresponde a dos sustancias estrechamente relacionadas, altamente solubles en lípidos, prácticamente insolubles en agua y biológicamente inactivas, que consisten en vitamina D3 (colecalfiferol), que se encuentra en seres humanos y animales, y vitamina D2 (ergocalciferol), presente en la planta del mundo, presentando ambas un papel central en la regulación de la homeostasis del calcio (Brown *et al*, Am J Physiol 1999, 277:F157). Un precursor de la vitamina D3 se sintetiza en la piel y se convierte en vitamina D3 por irradiación con luz ultravioleta; la exposición al sol es la principal fuente de vitamina D, que proporciona hasta un 90 % de la dosis requerida. Por otra parte, la vitamina D3 se obtiene de los alimentos, en especial pescado graso, productos lácteos y huevos (Stroud ML *et al*, Australian Family Physician 2008, 37:1002).

La vitamina D se absorbe en el intestino delgado y a continuación sufre una hidroxilación a 25-hidroxi-colecalfiferol (calcifediol), dotado de una actividad biológica "intrínseca" moderada, y/o a una hidroxilación alternativa a 1 α ,25-dihidroxi-colecalfiferol (calcitriol) o 1 α -hidroxi-colecalfiferol (alfacalcidol), en donde la sustitución en la posición 1 α da una activación completa. Estas formas biológicamente muy activas de la vitamina D3, hidroxiladas en la posición 1 α , sin embargo, debido a su alta toxicidad en mamíferos como causa potencial de hipercalcemia, no se pueden administrar en seres humanos en dosis altas, como se requeriría por los esquemas de administración intermitentes. Por el contrario, el 25-hidroxi-colecalfiferol, que es aproximadamente 100 veces menos potente que el calcitriol, pero que está dotado de actividad intrínseca y representa la forma de almacenamiento principal de la vitamina D en el cuerpo humano, se puede administrar en una base intermitente en dosis mucho mayores sin ninguna toxicidad en comparación con la vitamina D más activa.

El término "vitamina D", como se usa en este texto, se refiere a cualquier forma activa de la vitamina D, es decir, la 1 α ,25-dihidroxitamina D (1 α ,25-dihidroxicolecalciferol, calcitriol) o sus metabolitos o sus precursores inactivos o parcialmente activos, tales como 25-hidroxitamina D3 (25-hidroxicolecalciferol, calcifediol), vitamina D3 (colecalfiferol), vitamina D2 (ergocalciferol), 1- α -hidroxicolecalciferol (alfacalcidol), 3-sulfato de 25-hidroxitamina D3, dihidroxitaquisterol, doxercalciferol, provitamina D3 (7-deshidrocolesterol) y derivados o análogos de vitamina D, tales como, por ejemplo, falecalcitriol, maxacalcitol y paricalcitol.

El papel fisiológico de la vitamina D es mantener los niveles adecuados de calcio en el plasma y los espacios extracelulares, facilitando la absorción, movilización y retención de Ca e iones fosfato. Sin embargo, cada vez hay más pruebas que revelan un papel directo de la vitamina D sobre la mineralización ósea con actividad farmacológica. En dosis fisiológicas, la vitamina D se comporta de manera similar al estrógeno y a los bifosfonatos en la inhibición de la reabsorción ósea (Suda T *et al*, J of Cellular Biochemistry 2003, 88:259; Ikeda K, Endocrine Journal 2007, 54:1).

La carencia de vitamina D, caracterizada por concentraciones séricas de 25-hidroxi-vitamina D menores que alrededor de 9 ng/ml da lugar a una disminución en la mineralización ósea. La insuficiencia de vitamina D da lugar a un incremento en la hormona paratiroidea (PTH), que a su vez provoca un incremento en la actividad osteoclástica y la pérdida de calcio de los huesos, dando como resultado un empeoramiento de la osteoporosis, en especial en personas mayores. La falta prolongada de vitamina D, dependiendo de su gravedad y de la carencia de calcio concomitante, se considera como una causa principal de disminución de la masa ósea progresiva, dando lugar a raquitismo en niños y a osteoporosis u osteomalacia en adultos y ancianos, y por lo tanto se debe tratar por administración de vitamina D de forma muy oportuna.

También es importante destacar que, debido a una exposición al sol insuficiente o una ingesta dietética baja, sería útil un aporte complementario de vitamina D en sujetos de otro modo sanos, y en particular en ancianos que viven en países de clima templado. Se descubrió una alta prevalencia de sujetos con niveles de vitamina D bajos (57 %) en pacientes hospitalizados en un servicio de medicina general, con una edad media de 62 años (Thomas MK *et al*, N Eng J Med 1998, 338:777) o en ancianos inmovilizados en casa y en pacientes con fractura de cadera (Lips P, Endocrine Rev 2001, 22:47; Holick MF Am J Clin Nutr 1994, 60:619).

Aunque los requisitos pueden variar de acuerdo con las características de los pacientes, se considera que una dosis de 400-1.000 UI o más (es decir, 1.200 UI) por día (o unidades acumulativas correspondientes a intervalos intermitentes, como 7.000-14.000 UI cada 1-2 semanas, 30.000-180.000 UI cada 1-6 meses, o 360.000 UI por año) es

una ingesta de vitamina D óptima, ya que se informó de que puede reducir el riesgo de fracturas de cadera y fracturas no vertebrales (Papadimitropoulos E *et al*, *Endocrine Rev* 2002, 23:560; Bischoff-Ferrari HA *et al*, *JAMA* 2005,46:676).

5 Junto con la actividad sobre el metabolismo óseo, la vitamina D, a dosis sustancialmente más altas, se ha asociado con otros procesos biológicos incluyendo función muscular y proliferación celular. Los datos disponibles, de hecho, demuestran la utilidad de la vitamina D en la reducción de las caídas (y por tanto, indirectamente, fracturas por fragilidad resultante) y en el tratamiento del cáncer, en especial tumores renales (Fujioka T *et al*, *J Urol* 1998, 160:247), tumores hepáticos (Dalhoff K *et al*, *Br J Cancer* 2003, 89:252), tumores de la próstata (Trump DL *et al*, *Cancer* 2006.106:2136) y del colon (Garland C *et al*, *Lancet* 1985,1:307). Aunque las dosis de vitamina D necesarias para la prevención de caídas entran dentro de los límites de una buena tolerabilidad, las dosis de vitamina D y/o sus metabolitos activos, requeridas para obtener efectos beneficiosos en el tratamiento del cáncer, de hasta 10.000 UI y superiores al día, pueden determinar con frecuencia incrementos tan marcados en concentraciones plasmáticas de calcio para impedir o restringir altamente su uso en esta indicación (Schwartz GG *et al*, *Clin Cancer Res* 2005,11:8680).

La vitamina D está disponible como solución oleosa, que se administra por vía oral o intramuscular.

15 El documento WO 2007/038428 A2 divulga composiciones de vitamina D para el tratamiento de trastornos gastrointestinales asociados con quimioterapia o radioterapia. Dicha composición se puede administrar por vía oral, intravenosa, parenteral, rectal, tópica, nasal o transdérmica.

20 En el hombre, la absorción de la vitamina D después de la administración oral es buena y dosis de 100.000 UI permiten mantener las concentraciones séricas de calcidiol por encima del valor de 80 nmol/l durante dos meses, una concentración considerada óptima para la prevención de fracturas (Bischoff-Ferrari HA *et al*, *Am J Clin Nutr* 2006, 84:18).

25 Por el contrario, la absorción después de la administración intramuscular o subcutánea es tardía (con máximos plasmáticos que se pueden observar incluso después de semanas), variable y puede ser muy limitada (PM Whyte *et al*, *J Clin Endocrinol. Metabol* 1979, 48:906; Romagnoli E, *et al*, *J Clin Endocrinol Metab.* 2008, 93:3015), permaneciendo la vitamina D inalterada en el sitio de inyección.

En conclusión, la vitamina D y los bisfosfonatos ejercen un efecto terapéutico independiente, útil en la osteoporosis y en otros tumores y enfermedades óseas metabólicas, pero, además, poseen propiedades farmacológicas que hacen que su administración combinada sea extremadamente beneficiosa y apropiada para su uso terapéutico o preventivo en diferentes situaciones clínicas.

30 En particular, la combinación de las dos sustancias permite controlar un efecto secundario importante y opuesto de cada una. De hecho, la administración simultánea de la vitamina D puede ser útil en la reducción de la hipocalcemia inducida por bifosfonatos, especialmente frecuente en el caso de la administración parenteral de las dosis altas que permiten intervalos de dosificación más largos, mientras que los bisfosfonatos pueden reducir la hipercalcemia que con frecuencia se puede producir en el caso de tratamiento complementario con dosis altas de vitamina D y sus análogos para el tratamiento o prevención del cáncer.

35 Igualmente importante es la capacidad del tratamiento de combinación con vitamina D y bisfosfonatos para mejorar la respuesta clínica de la osteoporosis posmenopáusica y secundaria, medida por la densidad mineral ósea y la incidencia de fracturas, en comparación con el tratamiento con bisfosfonatos solos (Koster JC, *et al*, *Eur J Clin Pharmacol* 1996, 51:145; Dean *et al*, *BMC Musculoskeletal Disorders* 2007, 8:3). Con respecto a esto, se observó que el 66 % de los sujetos tratados con bifosfonatos y que no recibieron aporte complementario de vitamina D (se informó de que la vitamina D se prescribe sólo en un 40 % de los sujetos que recibieron bisfosfonatos) tenían concentraciones insuficientes de vitamina D en circulación (Allain TJ *et al*, *Rheumatology* 2006, 45:487).

45 Sin embargo, la combinación de vitamina D con un bisfosfonato puede ser útil para contrarrestar la reducción de los metabolitos de la vitamina D observada durante la administración de bisfosfonatos (Martinez *et al* *ME, Calcif. Tissue Int.* 1997, 61:148).

50 Se está de acuerdo en que una formulación farmacéutica que comprende un bisfosfonato y vitamina D en combinación sería muy útil, por lo tanto, en el tratamiento, tanto para obtener el efecto terapéutico de compensación de la vitamina D o de los bisfosfonatos, como se describe anteriormente (y para esto la absorción de los dos fármacos debe ser contemporánea), sino también para mejorar el cumplimiento del tratamiento de vitamina D en el caso de enfermedades tales como osteoporosis en las que el tratamiento o prevención con BF es de duración muy larga. Esta formulación debe ser adecuada para las vías de administración intramuscular o subcutánea que son las más convenientes para los pacientes, aunque por otro lado estas pueden inducir con mayor frecuencia y gravedad los efectos secundarios (hipocalcemia, insuficiencia renal, hipercalcemia) de los bifosfonatos y la vitamina D.

55 Por lo tanto, una formulación de este tipo debe tener un volumen adecuado para su uso intramuscular o subcutáneo (0,5 - 5 ml) y una cinética de absorción de los dos compuestos óptima para los fines declarados; en particular, la absorción de la vitamina D debe ser rápida, ya que la absorción de los bifosfonatos (cuyo posible efecto hipocalcémico la vitamina D debe reducir) es rápida, y debe ser completa para garantizar el suministro de la cantidad de vitamina D

requerida para su propia actividad farmacológica y actividad sinérgica con BF. La absorción de BP debe ser tardía, viceversa, para reducir el riesgo de hipocalcemia, el riesgo de daño renal y la eliminación por esta vía, al tiempo que mejora la biodisponibilidad en el hueso.

5 Una combinación farmacéutica de BF y vitamina D ha sido posible hasta ahora solo como una formulación oral (es decir, el documento WO 03/086415), en lugar de inyectable, ya que los dos ingredientes activos no son solubles en el mismo disolvente, siendo los bifosfonatos altamente solubles en agua mientras que la vitamina D solo es soluble en lípidos y prácticamente insoluble en medios acuosos. Todavía se mantienen, con respecto a una formulación oral de este tipo, todas las críticas serias consiguientes a la muy mala absorción oral de los bisfosfonatos y a su efecto irritante grave sobre la mucosa gastrointestinal.

10 De hecho, se reivindicó recientemente el uso de la combinación de BF con vitamina D, también por vía parenteral (documento WO 2008/116809). La solicitud de patente citada se refiere a composiciones para su uso parenteral que consisten en bifosfonatos, principalmente ácido zoledrónico (3-6 mg, típicamente 5 mg) o, hipotéticamente, otro BP que contiene nitrógeno, y vitamina D, esencialmente colecalciferol, informando más precisamente de que una dosis de 300.000-600.000 UI de vitamina D es apropiada para la dosificación intermitente sobre una base anual, que, siendo una unidad internacional de vitamina D3 (1 UI) igual a 0,025 microgramos, corresponde a una dosis de 7,5 - 15 mg. También se describen algunos ingredientes específicos de la composición tales como polisorbatos u otros agentes dispersantes y tensioactivos, tales como fosfolípidos (lecitina, fosfatidilcolina) y/o ácidos biliares.

20 De un examen detallado de esta solicitud, sin embargo, se pueden observar algunos inconvenientes que hacen que estas formulaciones sean inadecuadas para nuestro propósito. En primer lugar, se observó que en todos los 20 ejemplos preparativos, el volumen de las formulaciones alcanza el volumen estándar de 100 ml, haciéndolo inutilizable para la administración intramuscular o subcutánea de nuestro interés. También se indica claramente que la composición se administra como "infusión", y que esto requiere al menos 15 minutos (ejemplos de aplicación 21-22), lo que confirma por tanto la no aleatoriedad del uso de volúmenes relativamente altos y de todos modos inviables para nuestro uso, lo que requiere volúmenes reducidos y una administración rápida.

25 También se confirmó que, como los bifosfonatos son hidrófilos y la vitamina D lipófila y prácticamente insoluble en agua, esto da como resultado dificultades de formulación relevantes.

30 En este sentido, parece que la mayoría de los ejemplos preparativos demuestran que el verdadero agente solubilizante de la vitamina D es el etanol (ejemplos 1-12) y que los otros ingredientes descritos tienen un efecto dispersante prevalente. Con respecto a esto, se informa de la presencia de materia particulada (ejemplos 1 y 7) con el uso de polisorbato y de dispersiones turbias y soluciones opalescentes (ejemplos 13-17) con el uso de lecitina, si no está soportado por sales biliares (ejemplos 18-19). Solo el ejemplo 20 describe la preparación de una emulsión de lípidos que consiste en aceite de soja al 3 % y lecitina al 0,4 % con hasta un máximo de 600.000 UI de vitamina D por cada 100 ml (6.000 UI/ml).

35 En cambio, se ha descubierto que el uso de emulsiones más concentradas de lípidos y fosfolípidos en agua, pudo superar todas las dificultades, dando lugar a una solución completa de ambos BF y vitamina D3 u otras vitaminas D, y que esto puede pasar en volúmenes muy pequeños, tales como los requeridos para inyección intramuscular o subcutánea, así como en forma altamente concentrada, tales como los requeridos para las dosis acumulativas necesarias en la administración intermitente con intervalos largos.

40 Más específicamente, la composición de la presente invención incluye un BF en un contenido que varía de 300 mg a 1 mg, preferentemente de 100 mg a 2 mg, en el que el valor mayor de 100 mg puede estar representado por ácido clodronico a una dosis adecuada para una sola inyección cada 1-2 semanas y la dosis menor por el ácido zoledrónico adecuado para una única administración, trimestral o semestral, y la vitamina D en dosis que varían de 3000 UI a 360.000 UI, ya que en general se puede requerir para una única administración en intervalos de 1 semana a un año, preferentemente en un intervalo de dosificación más restringido de entre 7.000 UI y 90.000 UI, apropiado para un único tratamiento en períodos de 1 semana a 3 meses.

45 Se pretende que los valores de concentración presentados en la siguiente memoria descriptiva sean como porcentajes en peso referidos al volumen total de la formulación, a menos que se indique de forma diferente. La concentración lipídica de la emulsión puede variar de un 5 % a un 40 % del volumen total, mientras que el componente fosfolipídico puede variar de un 0,5 % a un 5 %: en todas estas condiciones los dos ingredientes activos son perfectamente solubles, dando como resultado una emulsión que se puede inyectar por vía intramuscular o bien por vía subcutánea como "inyección intravenosa rápida", es decir, muy por debajo de un minuto de duración. El volumen total será, de todos modos, alguno entre 0,5 ml y 5,0 ml, preferentemente entre 0,5 ml y 3,5 ml, más preferentemente entre 0,5 ml y 2,0 ml.

55 Por lo tanto, se deduce que la concentración de vitamina D nunca será menor de 600 UI/ml, e incluso puede alcanzar la concentración de 720.000 UI/ml.

Lo que lo hace más relevante es que esta composición hidrolipídica particular ha permitido modificar algunos parámetros farmacocinéticos pertinentes a la absorción de los dos ingredientes activos, lo que parece sorprendente y particularmente ventajoso para su uso. De las pruebas *in vivo*, realizadas en animales, se demostró que la absorción

- del componente de vitamina desde el sitio de inyección fue más rápida y más completa con respecto a las soluciones orgánicas puras, de acuerdo con datos de la literatura (Bille N *et al*, Nord Vet Med 1976, 1991, 28:496). Este aspecto también se confirmó a través de pruebas comparativas directas en el animal, donde la absorción de la vitamina D disuelta en la emulsión de la invención, es decir, en un medio lipídico concentrado acuoso, administrada por vía intramuscular, alcanza una meseta en el plazo de un día en comparación con una solución convencional solo en vehículo lipídico, que alcanzó concentraciones sanguíneas similares después de no menos de 7-14 días.
- Estas cifras se reflejaron claramente por la cantidad de vitamina D residual en el tejido muscular, después de la administración de dos soluciones comparativas, lo que confirma una liberación y absorción más rápidas en la circulación general de la emulsión concentrada de la invención.
- Al mismo tiempo, se descubrió que la cinética de absorción de BF es particularmente tardía, lo que permite (como se ha mencionado anteriormente) mejorar la proporción de la cantidad de fármaco que se une al tejido óseo diana en comparación con la cantidad que se elimina por los riñones, con claros beneficios en términos de incremento en la eficacia y reducción en la toxicidad renal.
- También se ha observado otra ventaja adicional de la formulación de BF y vitamina D de la presente invención en términos de mejora de la tolerancia local de la inyección intramuscular (reducción del dolor y daño tisular, ausencia de inflamación) en comparación con formulaciones acuosas tradicionales de BF. Este efecto se logra probablemente a través de un efecto llamado de "barrera" física para la fibra muscular de la fase lipídica concentrada, aunque se comprobó que BF permanece en la fase acuosa de la emulsión y no se incorpora en la fase lipídica, como sucede por ejemplo en forma de preparaciones liposómicas.
- Pasando a un examen más detallado de la composición de la invención, esta incluye al menos uno de los BF mencionados en la introducción, bajo la fórmula (I), todos usados y disponibles en las diversas formas ya mencionadas (ácidos y sales, con bases farmacéuticamente aceptables, típicamente sales de sodio, todos a diferentes grados de salificación; formas hidratadas o anhidras; los racematos, enantiómeros y diastereoisómeros, cuando sean elegibles).
- La dosis de BF dependerá de su potencia específica y, en comparación con la dosis oral, debe reflejar la proporción de fármaco biodisponible por vía oral, que es de alrededor de un 1 % o porcentaje bajo de la dosis oral, teniendo en cuenta que la absorción con la formulación intramuscular o subcutánea suplente, será de alrededor de un 100 %.
- La dosis de BF dependerá además, por supuesto, de la frecuencia de la administración intermitente prevista en la presente invención, como referencia 7, 30, 90 veces la dosis diaria, respectivamente para el tratamiento semanal, mensual o trimestral, y así sucesivamente.
- Las dosis típicas serán preliminarmente de 100 mg a 200 mg para clodronato (cada 1-2 hasta 2-4 semanas), 50 mg para neridronato (cada 2-4 semanas), 2 mg, 4 mg, 6 mg para ácido zoledrónico (cada 3, 6, 12 meses). En términos generales, el contenido de BF será de entre 300 mg y 1 mg, preferentemente entre 100 mg y 2 mg.
- En un modo de realización preferente de la invención, la vitamina D se usa en forma de precursor no activado de 25-hidroxivitamina D, por ejemplo en forma de colecalciferol o ergocalciferol. En la forma más preferente, la vitamina D se usa en forma de colecalciferol (vitamina D3), en una dosis unitaria dentro de un intervalo entre un mínimo de 3.000 UI gradualmente hasta 360.000 UI para la administración semanal, mensual o anual, como un promedio de dosis unitarias que contienen al menos 5.000 UI, al menos 20.000 UI y al menos 60.000 UI para administrarse una vez cada semana, cada mes y cada tres-seis meses, preferentemente de 7.000 UI, 30.000 UI y 90.000 UI, respectivamente, para administración semanal, mensual y trimestral, respectivamente.
- Otras vitaminas que pertenecen al grupo D que se pueden usar son ergocalciferol (vitamina D2), a las mismas dosis, sus formas hidroxiladas tales como 25-hidroxicalciferol (calcifediol, una forma no totalmente "activada" pero ya con actividad intrínseca) o incluso formas totalmente activadas como los metabolitos 1 α -hidroxi-y 1 α ,25-dihidroxicolecalciferol (alfacalcidol y calcitriol, respectivamente), estos, en general, para usarse en dosis 100 veces más bajas.
- También son utilizables los otros metabolitos y derivados conocidos de la vitamina D, descritos anteriormente.
- Todas las composiciones de la invención basadas en BF y vitamina D, tienen un volumen estrictamente entre 0,5 y 5,0 ml, preferentemente entre 0,5 y 3,5 ml, más preferentemente entre 0,5 y 2,0 ml, y se reservan exclusivamente para administración intramuscular y subcutánea e inyección intravenosa rápida. La infusión lenta es totalmente impracticable y todavía carece de sentido en términos clínicos. Al ser inyectable, las composiciones serán necesariamente estériles, teniendo también otras propiedades enumeradas a continuación.
- La característica distintiva de estas nuevas composiciones, es la presencia de lípidos y fosfolípidos en concentración alta, siendo el componente lipídico óptimo para una solubilización eficaz de la vitamina D. Los lípidos y fosfolípidos hacen una emulsión de apariencia lechosa, preferentemente una emulsión de aceite en agua, en la que el componente lipídico está en forma de gotitas microscópicas de tamaño promedio de menos de 1 micrómetro. Debido a su alta solubilidad en agua y polaridad, el BF se disolverá en la fase acuosa de la emulsión y no en la fase lipídica, mientras que la vitamina D se disuelve en las gotitas lipídicas.

La concentración de lípidos en la formulación varía normalmente entre un 5 y un 40 %, preferentemente entre un 10 y un 30 %, mientras que la concentración de fosfolípidos varía entre un 0,5 y un 5,0 %, preferentemente entre un 1,0 y un 3,0 %.

5 Los lípidos y fosfolípidos usados en las formulaciones de la invención pueden ser de origen diferente, es decir, animal y/o vegetal y/o semisintético.

Los lípidos pertenecen al grupo de los mono-, di- y triglicéridos, preferentemente son triglicéridos o una mezcla de triglicéridos que pueden estar sustituidos con grupos acilo de cadena larga o media.

10 Típicamente, se representan por lípidos de soja, si son de origen vegetal, y aceites de pescado (también en forma de ésteres etílicos) si son de fuente animal. Los aceites de pescado están enriquecidos preferentemente con componentes de omega-3, preferentemente más de un 40-50 % o incluso más. Se pueden usar incluso aceite de oliva, aceite de coco y aceite de palma y otros, así como una mezcla de algunos de estos aceites.

Todos estos lípidos están particularmente concentrados y purificados, pero en relación a su origen, se pueden usar todas las especies de lípidos, si es apropiado para uso farmacéutico.

15 En general, los fosfolípidos se seleccionan del grupo de fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, y en particular del grupo de fosfatidilcolina y están representados, entre otros, por diestearoilfosfatidilcolina, dimiristoilfosfatidilcolina y dimiristoilfosfatidilglicerol, si son de origen sintético; por lecitina de soja, si son de origen vegetal; por lecitinas de yema de huevo (fosfolípidos de yema de huevo), si son de origen animal.

20 Las composiciones de las formulaciones para uso farmacéutico también pueden incluir uno o más ingredientes farmacéuticamente aceptables y/o coadyuvante, reconocidos por el experto como adecuados para una formulación inyectable, que incluso en este caso, deben poder solubilizar completamente los ingredientes activos, tener un pH óptimo, ser isotónicos, etc.

25 Estas sustancias pueden pertenecer al grupo de los azúcares, tales como glucosa, sacarosa, lactosa o manosa; al grupo de polialcoholes tales como glicerol, xilitol y otros; de conservantes tales como alcohol bencílico y parabenos; de tensioactivos iónicos y no iónicos, tales como desoxicolato de sodio, glicocólico de sodio y otras sales biliares; de laurilsulfato de sodio, de Tweens y Cremophors; tampones básicos, neutros o ácidos, tales como carbonatos o bicarbonatos alcalinos, fosfatos o tampón TRIS.

30 El uso de tampones alcalinos, o de álcali es particularmente adecuado para ajustar el pH de la emulsión a valores compatibles con la administración intramuscular y subcutánea, como ejemplo, entre 4 y 8, o muy preferentemente entre 5 y 7, neutralizando de este modo la acidez alta de las soluciones de BF, contribuyendo además a una mejor tolerabilidad en el sitio de inyección independientemente del efecto protector de la fase lipídica.

Más frecuente puede ser la adición de anestésicos locales comunes, típicamente lidocaína, para el mismo fin de una mejor tolerabilidad local.

La composición normalmente contiene también antioxidantes tales como tocoferol, palmitato de ascorbilo, butilhidroxianisol y butilhidroxitolueno, y también estabilizantes, codisolventes, etc., como es conocido por el experto.

35 La composición de la invención, como formulación para uso farmacéutico, se puede producir y presentar en diferentes formas.

40 De acuerdo con un primer procedimiento, que también es el preferente, la formulación contiene directamente BF y vitamina D según se desee, disueltos en la emulsión de lípidos y fosfolípidos concentrada en agua, junto con todos los otros excipientes y/o coadyuvantes relevantes, y se proporciona como una preparación estéril lista para usar para la administración simultánea, en una única composición, de los dos ingredientes activos. Como ya se ha mencionado, las formulaciones están destinadas para su uso exclusivo como inyección intravenosa rápida intramuscular y subcutánea, de dosis que son múltiples que las adaptadas para el posible uso diario y, por lo tanto, adecuadas para su administración intermitente a intervalos largos.

45 De acuerdo con otro procedimiento, el componente BF se disuelve en una solución acuosa, junto con cualquier otro ingrediente y/o coadyuvante final, mientras que la vitamina D se disuelve en la emulsión de lípidos y fosfolípidos, junto con cualquier otro ingrediente y/o coadyuvante final, y a continuación, las dos soluciones separadas, en un volumen y concentración apropiadas, se combinan en el momento antes de la administración y a continuación se inyectan, o se inyectan por separado de manera secuencial. En una variante de este procedimiento, la solución acuosa de BF se presenta como un liofilizado, en estado seco, o en estado anhidro como polvo estéril.

50 No hay dificultades relacionadas con la disolución de BF en agua, que es el procedimiento preferente; ya que fácilmente la disolución directa de BF en la emulsión de lípidos, preferentemente (pero no necesariamente) ya contiene vitamina D disuelta.

En lo que respecta a la vitamina D, se disuelve fácilmente en la emulsión acuosa preconcebida, que es el procedimiento preferente, ya que contiene, en caso apropiado, el BF disuelto, o se disuelve en el componente lipídico

y a continuación se emulsiona la solución.

Las preparaciones en el momento se realizan fácilmente en viales-jeringuillas.

En el caso preferente, la fase terminal del procedimiento implica simplemente la mezcla de la solución acuosa estéril de BF con la emulsión de fosfolípidos y lípidos estéril de vitamina D.

- 5 Para preparar las emulsiones, incluso con vitamina D y/o BF añadidos, se requiere obviamente el uso de equipo especial, tal como, por ejemplo, el molino coloidal, un homogeneizador de presión, un generador de ultrasonidos, etc., como es conocido por el experto.

10 Las composiciones intermedias y finales se controlarán para comprobar el tamaño de las partículas de aceite (diámetro de 1 - 3 micrómetros, preferentemente menos) y la estabilidad en emulsión con el tiempo, para evitar cualquier separación de la fase lipídica (coalescencia y efecto de espumado) con un incremento en el tamaño de la partículas de aceite: este aspecto, sin embargo, no es una cuestión crítica para la inyección intramuscular/subcutánea, como lo es para la administración de fármacos por vía intravenosa, y todavía se puede resolver por el experto en el campo, cambiando concentraciones, pH, composiciones salinas y otros parámetros, de acuerdo con la práctica.

15 Los controles, por supuesto, incluyen otros aspectos relevantes para la estabilidad de los dos ingredientes activos y excipientes, la isotonicidad y esterilidad de las composiciones.

20 La formulación farmacéutica obtenida como se ha descrito anteriormente es útil en la prevención y tratamiento de todas las enfermedades óseas sensibles a BF y vitamina D, en particular, la disminución de la masa ósea y/o el incremento en su recambio, así como en afecciones de carencia de vitamina D. En general, estas enfermedades incluyen osteoporosis de cualquier origen, tal como osteoporosis posmenopáusica, o inducida por esteroides o glucocorticoides, osteoporosis masculina, y la provocada por otras enfermedades o idiopática. Además de la enfermedad de Paget; artrosis; disminución de la masa ósea localizada y asociada con implantación de prótesis u osteólisis; fracturas óseas; enfermedades óseas asociadas con metástasis; osificación incompleta o imperfecta; enfermedades periodontales y pérdida de dientes; hipercalcemia de origen tumoral; hipercalcemia inducida por fármacos; mieloma múltiple y otros cánceres sensibles. También es indicación especial la osteopenia y sus diversas formas, también inducida por inmovilización y metástasis óseas prolongadas.

25 La formulación de las invenciones también puede representar un procedimiento de tratamiento eficaz de todas estas patologías.

30 Los siguientes ejemplos se dirigen a explicar mejor las composiciones de la invención y sus procedimientos de preparación, sin tener ningún fin limitante. Otros ejemplos están destinados a probar los resultados biológicos inesperados, como se obtienen experimentalmente en animales, e informar del efecto de las emulsiones sobre la absorción de los ingredientes activos a partir de los vehículos de la composición, así como la tolerancia local y sistémica de las composiciones.

Ejemplo 1

Composición:

35	Clodronato disódico	100 mg
	Colecalciferol (7.000 UI)	0,175 mg
	Lípidos de soja	330 mg
	Fosfolípidos de yema de huevo	39,6 mg
	Glicerol	82,5 mg
40	Agua para inyectables, q.b. hasta	3,3 ml

Preparación: se prepara una emulsión de lípidos al 10 % en agua de acuerdo con procedimientos estándar, en presencia de fosfolípidos y glicerol. Se añaden colecalciferol y clodronato de sodio en polvo estéril con este orden, se agita y se distribuye en ampollas o viales fabricados de vidrio neutro, siempre en un entorno estéril. Se ha de administrar por vía intramuscular, como ejemplo a una tasa de una inyección cada dos semanas.

45 Ejemplo 2

Composición:

	Vial A: Clodronato disódico	100 mg
	Agua para inyectables, q.b. hasta	2,2 ml

ES 2 592 155 T3

	Vial B: Colecalciferol (14.000 UI)	0,35 mg
	Lípidos de soja	330 mg
	Fosfolípidos de yema de huevo	39,6 mg
	Glicerol	82,5 mg
5	Agua para inyectables, q.b. hasta	1,1 ml

Preparación: se prepara una solución de clodronato disódico, se dispensa en el vial A y se esteriliza en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Por separado se prepara una emulsión de lípidos al 30 % en agua, en presencia de fosfolípidos y glicerol, se añade colecalciferol, a continuación se solubiliza a través de agitación moderada y se distribuye en el vial B, siempre en un entorno estéril. El contenido de los dos viales se combina en el momento en la jeringuilla, inmediatamente antes de su uso, y se administra por vía intramuscular como se describe en el ejemplo 1.

Ejemplo 3

Composición:

	Vial A: Clodronato disódico	100 mg
	Vial B: Colecalciferol (14.000 UI)	0,35 mg
15	Lípidos de soja	330 mg
	Fosfolípidos de yema de huevo	39,6 mg
	Glicerol	82,5 mg
	Agua para inyectables, q.b. hasta	3,3 ml

Preparación: se prepara una solución acuosa al 5 % de clodronato de sodio, que se esteriliza por filtración en un filtro Millipore de 0,2 micrómetros, se dosifica en el vial A y se evapora hasta sequedad por liofilización.

Por separado se prepara una emulsión de lípidos al 10 % en agua, se añade colecalciferol, se agita y se distribuye en el vial B en condiciones estériles. El contenido del vial B se introduce en la jeringuilla inmediatamente antes de su uso, se añade al vial A, y se toma la solución en la emulsión y se administra con una frecuencia de una vez cada 1-2 semanas, por ejemplo por vía subcutánea.

Ejemplo 4

Composición:

	Vial A: Clodronato disódico	200 mg
	Clorhidrato de lidocaína	35 mg
	Agua para inyectables, q.b. hasta	2,2 ml
30	Vial B: como en el ejemplo 2	

Preparación: se dosifica la solución de clodronato de sodio y lidocaína en el vial A y se esteriliza en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos (de forma alternativa, la solución se esteriliza por filtración antes de la dosificación en un filtro Millipore de 0,2 micrómetros). Por separado se prepara una emulsión de lípidos al 30 % en agua, se añade colecalciferol, se solubiliza y se distribuye en el vial B como se describe en el ejemplo 2. El contenido de los viales se combina en el momento en una jeringuilla inmediatamente antes de su uso y se administra por vía intramuscular.

Ejemplo 5

Composición:

	Vial A: Clodronato disódico	100 mg
	Vial B: Colecalciferol (28.000 UI)	0,70 mg
40	Lípidos de soja	660 mg
	Fosfolípidos de yema de huevo	39,6 mg

ES 2 592 155 T3

Glicerol	82,5 mg
Alcohol bencílico	35 mg
Agua para inyectables, q.b. hasta	3,3 ml

Preparación: se dosifica clodronato de sodio en el vial A como en el ejemplo 3.

- 5 Por separado se prepara una emulsión de lípidos al 20 % en agua en presencia de fosfolípidos y glicerol, se añaden alcohol bencílico y colecalciferol, se agita la mezcla, y se distribuye en el vial B. El contenido del vial B se introduce en la jeringuilla antes de su uso, se añade al vial A, y la emulsión se administra por vía subcutánea o intramuscular, con intervalos de una vez cada 2-4 semanas.

Ejemplo 6

- 10 Composición:

Vial A: Clodronato disódico	100 mg
Agua para inyectables, q.b. hasta	1,0 ml
Vial B: Colecalciferol (14.000 UI)	0,35 mg
Lípidos de soja	200 mg
15 Fosfolípidos de yema de huevo	24 mg
Glicerol	50,0 mg
Agua para inyectables, q.b. hasta	1,0 ml

- 20 Preparación: se dosifica la solución de clodronato de sodio en el vial A y se esteriliza en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos como en el ejemplo 2. Por separado se prepara una emulsión de lípidos al 20 % en agua, en presencia de fosfolípidos y glicerol, se añade colecalciferol, se agita brevemente y se distribuye en el vial B. El contenido de los viales se combina en el momento en una jeringuilla inmediatamente antes de su uso, siendo un total volumen de 2 ml y se administra por vía subcutánea o intramuscular.

Ejemplo 7

Composición:

25 Clodronato disódico	100 mg
Colecalciferol (28.000 UI)	0,70 mg
Lípidos de aceite de pescado	200 mg
Fosfolípidos de soja (lecitinas)	24,0 mg
Glicerol	50,0 mg
30 Acetato de alfa-tocoferol	3,5 mg
Agua para inyectables, q.b. hasta	2,0 ml
Tampón, q.b. hasta	pH 7.

- 35 Preparación: se prepara la emulsión de aceite de pescado al 10 % (enriquecido con ácidos grasos omega-3, preferentemente > 50 %) en agua usando procedimientos estándar en presencia de lecitinas de soja y glicerol. Se añaden colecalciferol, clodronato de sodio y alfa-tocoferol en este orden, se agita, se tampona a pH 7 y se distribuye en ampollas de viales de vidrio neutro, siempre en condiciones estériles. Se administra por vía subcutánea o intramuscular, como ejemplo, a una tasa de una inyección cada 4 semanas.

Ejemplo 8

Composición:

40 Neridronato de sodio	50 mg
Colecalciferol (28.000 UI)	0,70 mg

Lípidos de soja	200 mg
Fosfolípidos de yema de huevo	24,0 mg
Glicerol	50,0 mg
Butil-hidroxianisol	0,05 mg

5	Agua para inyectables, q.b. hasta	2,0 ml
	Tampón, q.b. hasta	pH 7

Preparación: se prepara una emulsión de lípidos al 10 % en agua usando procedimientos estándar en presencia de fosfolípidos y glicerol. Se añaden colecalciferol, neridronato de sodio y butil-hidroxianisol con este orden, se agita, se tampona a pH 7 y se distribuye en frascos de vidrio neutro, siempre en condiciones estériles. Se ha de administrar por vía intramuscular o subcutánea, como ejemplo, a una tasa de una inyección cada 4 semanas.

10

Ejemplo 9

Composición:

Vial A: Neridronato de sodio 50 mg

Agua para inyectables, q.b. hasta 1,0 ml

15 Frasco B: Colecalciferol (28.000 UI) 0,70 mg

Lípidos de soja 200 mg

Fosfolípidos de yema de huevo 24 mg

Glicerol 50,0 mg

Agua para inyectables, q.b. hasta 1,0 ml

20 Preparación: se dosifica neridronato de sodio en el vial A y se esteriliza en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Por separado se prepara una emulsión de lípidos al 20 % en agua, en presencia de fosfolípidos y glicerol, se añade colecalciferol, se agita brevemente y se distribuye en el vial B. El contenido de los viales se combina en el momento en una jeringuilla inmediatamente antes de su uso, y el total volumen de 2 ml se administra por vía intramuscular o subcutánea.

25 Ejemplo 10

Composición:

Ibandronato de sodio 3 mg

Colecalciferol (90.000 UI) 2,25 mg

Lípidos de soja 100 mg

30 Fosfolípidos de yema de huevo 12,0 mg

Glicerol 25,0 mg

Agua para inyectables, q.b. hasta 1,0 ml

35 Preparación: se prepara una emulsión de lípidos al 10 % en agua como es habitual, en presencia de fosfolípidos y glicerol. Se añaden colecalciferol y alendronato de sodio en este orden, se agita, y se distribuye en ampollas de vidrio neutro, siempre en condiciones estériles. Se administra por vía intramuscular o subcutánea, como ejemplo, a una tasa de una inyección cada 1-3 meses.

Ejemplo 11

Composición:

Zoledronato de sodio 2,0 mg

40 Colecalciferol (180.000 UI) 4,5 mg

de lípidos de soja	100 mg
Fosfolípidos de yema de huevo	12,0 mg
Glicerol	25,0 mg
Agua para inyectables, q.b. hasta	1,0 ml

- 5 Preparación: se prepara una emulsión de lípidos al 10 % en agua como es habitual, en presencia de fosfolípidos y glicerol. Se añaden colecalciferol y zoledronato de sodio en este orden, se agita, y se distribuye en ampollas de vidrio neutro, siempre en un entorno estéril. Se administra por vía intramuscular o subcutánea, como ejemplo, a la tasa de una inyección cada 6-12 meses.

Ejemplo 12

- 10 Se sigue uno de los procedimientos de los ejemplos anteriores, usando, para la composición de la invención que se va a usar como inyección intramuscular o subcutánea, la misma dosis de BF usada para el tratamiento intravenoso, o (si se desconoce) la fracción de la dosis terapéutica oral que, de acuerdo con estudios farmacocinéticos y de biodisponibilidad, se sabe que se absorbe en la circulación general. Estas dosis proporcionan una eficacia terapéutica mejor y/o de mayor duración con respecto a las formulaciones intravenosas u orales, requiriendo por tanto una
15 frecuencia de administración igual o menor, lo que hace posible en este último caso prolongar el período de intermitencia.

Sobre esta base, a continuación se determina la dosis requerida de vitamina D en la composición, de acuerdo con múltiplos de la dosis diaria requerida, es decir normalmente de entre 400 UI y 1200 UI, preferentemente alrededor de 1000 UI.

- 20 Todo esto, con la certeza de que ambos compuestos activos en las composiciones para uso i.m. o s.c. de la invención, proporcionan una absorción cuantitativa de alrededor de un 100 %, con una mejora en la cinética de absorción.

Como ejemplo, por lo tanto, se usarán 15 mg de pamidronato, 5 mg de risedronato, 2 mg de ibandronato, todo solubilizado en las emulsiones descritas y en volúmenes de 0,5-5 ml, con referencia especial a los volúmenes menores, preferentemente de alrededor de 1 ml.

25 Ejemplo 13

- Se sigue el procedimiento como se describe en el ejemplo 12, usando múltiplos de la dosis diaria requerida de vitamina D, según lo dictado por los intervalos entre dosis del período intermitente. En el caso de colecalciferol (vitamina D3), la dosis diaria normalmente varía entre 400 UI y 1.200 UI, y está preferentemente alrededor de 1.000 UI. Dosis similares se usan para su forma metabólica no completamente activada, 25-hidroxicolecalciferol, y para ergocalciferol (vitamina
30 D2).

Otras vitaminas D incluidas en las composiciones de la invención y que consisten en metabolitos completamente activados, tales como 1 α -hidroxicolecalciferol y 1 α ,25-dihidroxicolecalciferol, requieren dosis correspondientemente reducidas, de alrededor de 100 veces menores.

35 Estudios sobre farmacocinética y tolerancia local después de una inyección intramuscular y subcutánea: efecto del incremento en las concentraciones de lípidos en la emulsión

Ejemplo A

Estudio sobre la farmacocinética de la absorción de vitamina D3 después de una administración intramuscular y evaluación del residuo en el sitio de inyección.

Materiales y procedimientos

- 40 Se usaron cien ratas Wistar, que pesaban aproximadamente 200 g, se dividieron en cuatro grupos de 25 animales. Los 4 grupos recibieron por vía intramuscular, en el cuerpo del músculo tibial anterior derecho, en un volumen de 0,5 ml/kg, 25 mg/kg de clodronato de sodio y 0,125 mg/kg de una mezcla de vitamina D3 (colecalciferol) y [1,2-3H] colecalciferol (10 % en peso; 0,51 Ci/mmol), diluidos en una emulsión de lípidos al 3 %, correspondiente al ejemplo 20 de la solicitud de patente WO 2008/116809, o en emulsiones de lípidos con un incremento en las concentraciones de lípidos, como
45 se describe anteriormente (respectivamente, 10 %, 20 %, 30 % de lípidos de soja, y 1,2 % de fosfolípidos de yema de huevo).

Se sacrificaron cinco ratas de cada grupo a las 6 y 24 horas y después de 1, 2 y 3 semanas después de la dosificación, para la determinación de 25-hidroxicolecalciferol (calcifediol) plasmático, derivado del metabolismo corporal.

- 50 En los animales, la cantidad de vitamina D marcada que permaneció en el músculo se determinó midiendo la presencia de tritio por un espectrómetro con gammagrafía líquida después de la disección del músculo inyectado y

homogeneización en hielo y tampón fosfato. La confirmación de la fuente de la radiactividad se realizó por cromatografía de los extractos de homogeneizado. Los datos sobre la absorción de la vitamina D después de la administración intramuscular con emulsiones de lípidos a diferentes concentraciones se muestran en la tabla A1, los porcentajes de la cantidad residual en el músculo en la tabla A2.

- 5 Tabla A1. Concentraciones plasmáticas de calcifediol después de la administración intramuscular de vitamina D3 (o 10.000 UI/ml) en emulsiones de lípidos con concentraciones crecientes de lípidos

Grupo	6 horas ng/ml	24 horas ng/ml	1 semana ng/ml	2 semanas ng/ml	3 semanas ng/ml
Emulsión de lípidos al 3 %	10,5 +/- 4,7	9,7 +/- 3,6	15,2 +/- 2,1	28,5 +/- 9,7	36,2 +/- 15,7
Emulsión de lípidos al 10 %	14,4 +/- 17,1	24,3 +/- 3,1	36,5 +/- 10,5	44,6 +/- 15,7	52,5 +/- 16,8
Emulsión de lípidos al 20 %	19,1 +/- 18,3	29,1 +/- 3,8	46,5 +/- 11,2	51,6 +/- 15,7	44,5 +/- 14,4
Emulsión de lípidos al 30 %	22,5 +/- 15,2	35,6 +/- 3,4	52,4 +/- 12,5	43,7 +/- 11,7	38,5 +/- 13,8

- 10 En comparación con la emulsión que contenía solo un 3 % de lípidos, las formulaciones con mayor concentración de lípidos, dieron como resultado concentraciones plasmáticas más rápidas y más altas del metabolito activo de la vitamina D3. Después de una emulsión de lípidos al 10 %, se midió un incremento de las concentraciones plasmáticas de calcifediol después de solo 6 horas después de la inyección, mientras que con la emulsión al 3 % se observó un incremento en las concentraciones plasmáticas solo una semana después de la administración. El fenómeno descrito fue proporcional al porcentaje de concentración lipídica en las emulsiones sometidas a prueba. Se informa del porcentaje de la radiactividad que permanece en el músculo inyectado hasta 3 semanas después de la inyección intramuscular en la tabla A2.

- 15 Tabla A2. Porcentaje de la dosis presente en el músculo de 6 horas a 3 semanas, expresado como un porcentaje de la radiactividad del valor de referencia

Grupo	6 horas %	24 horas %	1 semana %	2 semanas %	3 semanas %
Emulsión de lípidos al 3 %	95,6 +/- 8,4	75,7 +/- 11,1	64,5 +/- 10,7	50,2 +/- 15,7	48,5 +/- 12,7
Emulsión de lípidos al 10 %	67,5 +/- 7,5	51,9 +/- 10,8	41,5 +/- 9,6	33,3 +/- 12,6	25,5 +/- 10,1
Emulsión de lípidos al 20 %	58,6 +/- 6,4	45,8 +/- 9,8	34,5 +/- 8,7	25,2 +/- 11,6	16,8 +/- 8,8
Emulsión de lípidos al 30 %	45,9 +/- 9,3	33,6 +/- 7,9	26,5 +/- 9,7	20,2 +/- 12,3	8,5 +/- 7,9

- 20 El análisis cromatográfico de los extractos de homogeneizado mostró que un 99 % de la radiactividad medida se debía a la vitamina D3. En todos los tiempos considerados, los porcentajes de radiactividad permanecieron siempre más bajos después de la administración de emulsiones de lípidos a concentraciones iguales o superiores a un 10 %, en comparación con la emulsión que contenía un 3 % de grasa. En particular, en todos los tiempos considerados, la radioactividad medida después de la emulsión de lípidos al 10 % fue siempre un tercio menor que la de la formulación con un 3 % de grasa. En todos los tiempos, se descubrió que la disminución de la radiactividad que permaneció en el músculo se correlacionaba con el incremento en el porcentaje de lípidos en la formulación.

Ejemplo B

- 25 Estudio farmacocinético, excreción urinaria, y unión al tejido óseo, después de una administración intramuscular de clodronato de sodio en ratas.

Materiales y procedimientos.

- 30 Se usaron ciento veinte ratas 'Wistar' de aproximadamente 200 g de peso divididas en 5 grupos de 24 animales cada uno. El primer grupo recibió en un volumen de 1,0 ml/kg, 25 mg/kg de clodronato de sodio y 5 uCi/kg (aproximadamente 1 mg) de 14C-clodronato disuelto en solución salina al 0,9 %. El segundo grupo de animales recibió la misma dosis de 14C-clodronato y clodronato y 0125 mg/kg de vitamina D3 (colecalfiferol) en el mismo volumen de una emulsión de lípidos al 3 %, correspondiente al ejemplo 20 de la solicitud de patente WO 2008/116809 (lípidos de soja igual al 3 %, lecitina de soja en un 70 % igual a un 0,4 %). El tercer, cuarto y quinto grupo recibieron las mismas dosis de clodronato de sodio, 14C-clodronato y vitamina D3 disueltos en el mismo volumen de las emulsiones grasas con concentraciones crecientes de lípidos, como se describe previamente (respectivamente, lípidos de soja, en un 35 10 %, 20 % y 30 %, y fosfolípidos de yema de huevo en un 1,2 %).

Todas las inyecciones se realizaron en el músculo del muslo.

Después de 5 y 30 minutos, y 1, 2, 6 y 24 horas, se sacrificaron los animales (3 ratas por punto temporal) y se extrajo sangre para la determinación de las concentraciones plasmáticas de clodronato.

Después de 2 y 24 horas después de la administración, de los mismos grupos de ratas se retiraron muestras de hueso (fémur distal y cadera) para medir la radiactividad.

- 5 Además, se recogió la orina de los períodos de 0-24 h, 24-48 horas y 48-72 horas en jaulas metabólicas, de 3 ratas en cada uno de los grupos.

Se contó la radiactividad en las diferentes muestras con un contador para gammagrafía líquida y se convirtió a microgramos de clodronato, de acuerdo con el procedimiento descrito por Lauren *et al.* (Pharmacology & Toxicology 1991, 69, 356).

- 10 Se informa de los principales hallazgos en la tabla B1 (parámetros farmacocinéticos), tabla B2 (concentraciones en el tejido óseo) y tabla B3 (excreción urinaria).

Tabla B1. Parámetros farmacocinéticos después de la administración intramuscular de clodronato en emulsiones de lípidos con concentraciones crecientes de lípidos.

Grupo	C _{máx} (µg/ml)	T _{máx} (min)	ABC 0-inf (h µg/ml)	Biodisponibilidad relativa (%)
Solución acuosa de clodronato	118 +/- 36	< 5	52,7 +/- 19	
Emulsión de lípidos al 3 %	115 +/- 27	< 5	48,7 +/- 16	92,40
Emulsión de lípidos al 10 %	95 +/- 14	32 +/- 12	54,6 +/- 21	103,60
Emulsión de lípidos al 20 %	60 +/- 22	60 +/- 16	51,3 +/- 21	96,77
Emulsión de lípidos al 30 %	43 +/- 16	80 +/- 21	53,5 +/- 17	101,51

- 15 Los datos muestran una concentración máxima menor de clodronato después de la inyección intramuscular de la emulsión con lípidos al menos al 10 %, en comparación con la formulación acuosa, y una prolongación de tiempo contemporánea para la concentración plasmática máxima, lo que indica una absorción del fármaco retardada del sitio de inyección. Este fenómeno se incrementa con el incremento en el porcentaje de lípidos en la formulación.

La absorción retardada sugiere una excreción urinaria más gradual con un incremento en la cantidad de fármaco disponible para la unión con el tejido óseo.

- 20 En base a los valores del ABC calculada, en comparación con la formulación acuosa, la biodisponibilidad de clodronato transportado en emulsiones de lípidos fue completa y no sensiblemente diferente dentro de las diferentes concentraciones lipídicas estudiadas.

Tabla B2. Concentración de clodronato en el hueso (cadera y fémur) después de 2 y 24 horas después de la administración

Grupo	Hueso	Tiempo (hora)	µg/g
Solución acuosa de clodronato	Cadera	2	69,7 +/- 7,6
		24	73,2 +/- 12,3
	Fémur	2	171,9 +/- 14,3
		24	181,1 +/- 11,8
Emulsión de lípidos al 3 %	Cadera	2	57,5 +/- 11,4
		24	66,2 +/- 16,1
	Fémur	2	168,9 +/- 20,4
		24	175,6 +/- 16,2
Emulsión de lípidos al 10 %	Cadera	2	76,5 +/- 11,4
		24	81,2 +/- 16,1
	Fémur	2	198,2 +/- 18,3
		24	188,6 +/- 17,8
Emulsión de lípidos al 20 %	Cadera	2	88,7 +/- 14,6
		24	92,4 +/- 12,6
	Fémur	2	201,9 +/- 14,6
		24	195,4 +/- 21,5
Emulsión de lípidos al 30 %	Cadera	2	99,7 +/- 13,9
		24	101,3 +/- 18,1
	Fémur	2	218,7 +/- 26,4
		24	201,3 +/- 19,1

La concentración de clodronato en el hueso (cadera y fémur) se muestra en la tabla B2. Las concentraciones en el fémur fueron mayores (más de dos veces) que las halladas en la cadera. En ambos sitios esqueléticos, después de 2 y 24 horas, se observaron concentraciones crecientes de clodronato con un incremento en el porcentaje de lípidos en la emulsión, mientras que no se observaron diferencias significativas en los valores medidos entre la solución acuosa y la emulsión con concentración baja (3 %) de lípidos.

Tabla B3. Porcentaje acumulativo de la dosis de clodronato, medida en la orina

Grupo	0-24 horas (%)	24-48 horas (%)	48-72 horas (%)
Solución acuosa de clodronato	65,2 +/- 4,0	68,3 +/- 2,2	70,2 +/- 3,9
Emulsión de lípidos al 3 %	66,4 +/- 3,2	69,9 +/- 2,8	72,1 +/- 2,9
Emulsión de lípidos al 10 %	52,2 +/- 4,0	62,5 +/- 2,8	69,7 +/- 2,6
Emulsión de lípidos al 20 %	45,3 +/- 2,2	55,4 +/- 3,1	74,3 +/- 3,8
Emulsión de lípidos al 30 %	40,2 +/- 3,9	53,2 +/- 4,6	68,9 +/- 1,8

Además, la excreción urinaria acumulativa de clodronato en las 72 horas después de la inyección no fue significativamente diferente después de la administración de clodronato disuelto en emulsiones con diferentes concentraciones de lípidos o en solución acuosa (tabla B3). Sin embargo, el porcentaje de producto excretado en la orina durante las primeras 24 horas fue menor después de la administración de clodronato en emulsiones con una concentración de lípidos mayor de un 10 % en comparación con la formulación acuosa o con la emulsión con un 3 % de lípidos.

Ejemplo C

Estudio farmacocinético después de una administración subcutánea de neridronato de sodio en ratas.

15 Materiales y procedimientos

Se llevó a cabo un estudio usando el mismo diseño que el ejemplo anterior B, pero usando un bisfosfonato diferente, el neridronato (que contiene un grupo amino en su estructura, que pertenece a la clase llamada de amino-bisfosfonatos), una vía diferente, subcutánea (inyección en la piel del cuello), una vitamina D diferente [vitamina D2 (ergocalciferol)] a una concentración mayor. En particular, para el grupo 1 se usó una formulación de neridronato en solución acuosa, para el grupo 2 una emulsión de lípidos al 3 %, correspondiente al ejemplo 20 de la solicitud de patente WO 2008/116809, mientras que los grupos 3, 4 y 5 se trataron con neridronato en emulsiones lipídicas con concentraciones de lípidos como se describe anteriormente, lípidos de soja, respectivamente, en un 10 %, 20 % y 30 %. La dosis de neridronato administrada en cada grupo fue de 2,5 mg/kg (en un volumen de 0,5 ml/kg) mezclada con ¹⁴C-neridronato para obtener una radioactividad final de 200 nCi/ml. Las emulsiones de los grupos 3, 4 y 5 también contenían 0,25 mg/ml de vitamina D2 (ergocalciferol), equivalentes a 20.000 UI/ml. Los principales parámetros de farmacocinética de neridronato (media +/- DE) son los presentados en la tabla C1.

Tabla C1. Parámetros farmacocinéticos de neridronato después de una administración subcutánea de emulsiones de lípidos con concentraciones crecientes de lípidos.

Grupo	C _{máx} (µg/ml)	T _{máx} (min)	ABC 0-inf (h µg/ml)	Biodisponibilidad relativa %
Solución acuosa de neridronato	11,2 +/- 3,6	< 5	12,8 +/- 1,9	
Emulsión de lípidos al 3 %	13,4 +/- 2,2	< 5	12,7 +/- 1,7	99,2
Emulsión de lípidos al 10 %	8,8 +/- 0,9	37 +/- 12	11,8 +/- 2,3	92,1
Emulsión de lípidos al 20 %	6,3 +/- 1,9	58 +/- 15	13,5 +/- 1,4	105,4
Emulsión de lípidos al 30 %	4,7 +/- 2,4	85 +/- 18	13,4 +/- 2,2	104,6

Incluso con el amino-bisfosfonato neridronato y por una vía de administración diferente (subcutánea) con respecto a la intramuscular, se observó el mismo efecto ejercido por los lípidos en la formulación. Comenzando con la emulsión de lípidos al 10 %, se descubrió que la concentración plasmática máxima [C_{máx}] disminuye significativamente de acuerdo con el incremento de la concentración de lípidos y el tiempo para el máximo [T_{máx}] incrementó de manera similar. La cantidad total de fármaco absorbido, es decir, la biodisponibilidad del fármaco, fue similar en todas las formulaciones lipídicas sometidas a prueba e igual a la cantidad absorbida después de la administración del fármaco en solución acuosa.

Ejemplo D

Se ha obtenido confirmación similar de los resultados farmacocinéticos inducidos por concentraciones crecientes de

lípidos en la formulación con las composiciones de:

- neridronato y calcitriol [1 α ,25-(OH)₂ vitamina D₃], para la administración subcutánea;
- ibandronato y colecalciferol, para la administración intramuscular;
- ibandronato y ergocalciferol, para la administración intramuscular.

5 Ejemplo E

Tolerabilidad por vía intramuscular

La prueba evalúa el daño local provocado por la administración intramuscular de las composiciones a examen. Para este fin se usaron las siguientes: una solución de clodronato de sodio y colecalciferol en emulsión de lípidos al 10 % como se describe en el ejemplo 1 (prueba); una composición con el mismo ingrediente activo disuelto en la emulsión de lípidos al 3 %, como se describe en el ejemplo 20 de la solicitud de patente WO 2008/116809 (referencia); una solución de clodronato de sodio al 3 % en agua (NaCl al 0,9 %) (control).

Se trataron tres grupos de 5 ratas cada uno (peso promedio 232 g +/- 14) por inyección en el músculo tibial con 1 ml/kg de cada una de las composiciones a estudio. Después de 24 horas de tratamiento, se sacrificaron los animales y se diseccionó el músculo tratado para mostrar el sitio de inyección, y se evaluó cualquier daño usando la siguiente escala arbitraria: 0 = hiperemia normal o débil; 1 = hiperemia con área hemorrágica < 1 cm; 2 = hiperemia con área hemorrágica > 1 cm; 3 = área hemorrágica > 1 cm con hematoma; 4 = hematoma difuso > 2 cm. Los valores individuales fueron los siguientes:

- Grupo de prueba: 0,1,0,0,1;
- Grupo de referencia: 1,1,2,1,1;
- 20 - Grupo de control: 2,3,1,2,2.

De ello se desprende que el daño inducido por la composición de clodronato y colecalciferol en emulsión de lípidos al 10 % es mucho menor que el provocado cuando está en la fase acuosa, así como en lípido diluido al 3 %.

Ejemplo F

Tolerabilidad por vía intradérmica.

25 Se evalúa la respuesta al dolor inducido por la administración local. Tres grupos de tres conejos cada uno se afeitaron en el lomo y se trataron, en la región izquierda o derecha, por inyección intradérmica con cada una de las composiciones descritas en el ejemplo 5. El dolor provocado por soluciones inyectadas es proporcional a las respuestas del animal, que reacciona al dolor lamiendo el área de la inyección.

30 Por lo tanto, los conejos se mantuvieron en observación durante 30 minutos, contando el número de respuestas al dolor.

Resultado:

- Prueba de grupo: 1,1,0,2,1;
- Grupo de referencia: 2,3,3,2,5;
- Grupo de control: 6,3,5,7,4.

35 Por lo tanto, queda claro que el estímulo doloroso inducido por la inyección intradérmica de la composición de clodronato y colecalciferol en emulsión de lípidos al 10 % es mucho menor que el provocado por la composición en solución acuosa, así como en lípido diluido al 3 %.

Ejemplo G

Estabilidad de las emulsiones

40 Para evaluar la estabilidad de las emulsiones, se examinaron tres formulaciones típicas de acuerdo con los ejemplos 1, 7 y 8, en el microscopio en el momento de la preparación y después de 2 meses, y en comparación con una emulsión comercial para nutrición parenteral, libre de bifosfonatos y vitamina D.

45 El examen microscópico se llevó a cabo a 2.500 aumentos. Todas las emulsiones estaban compuestas de pequeñas gotitas de un diámetro promedio de 0,3 micrómetros. Para verificar signos de coalescencia, se contaron todas las gotitas mayores de 1 micrómetro en 40 campos microscópicos (70 x 55 micrómetros). Todas las muestras fueron extremadamente similares, teniendo un número de gotitas de entre 1 y 3 micrómetros igual a aproximadamente 20/40 campos, y estando libres de gotitas más grandes que 3 micrómetros.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición para su uso farmacéutico que comprende una sustancia de la clase de los bifosfonatos y vitamina D, en la que todos los componentes se disuelven en una emulsión que comprende lípidos y fosfolípidos en agua a una concentración de al menos un 5 % y un 0,5 % p/v respectivamente, y en un volumen adecuado para una administración intramuscular o subcutánea.
2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho volumen no es mayor de 5 ml, preferentemente en el intervalo entre 0,5 ml y 5 ml, más preferentemente entre 0,5 ml y 3,5 ml, ventajosamente entre 0,5 y 2,0 ml.
- 10 3. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la concentración de dichos lípidos en dicha emulsión es de entre un 5 % y un 40 % p/v, preferentemente entre un 10 % y un 30 % p/v.
4. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la concentración de dichos fosfolípidos en dicha emulsión es de entre un 0,5 % y un 5 % p/v, preferentemente entre un 1,0 % y un 3,0 % p/v.
- 15 5. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el contenido de la sustancia de la clase de los bifosfonatos no es menor de 1 mg, preferentemente entre 1 mg y 300 mg y más preferentemente entre 2 mg y 100 mg.
6. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el contenido de vitamina D no es menor de 3.000 UI, preferentemente entre 3.000 UI y 360.000 UI, más preferentemente entre 7.000 UI y 90.000 UI.
- 20 7. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la concentración de vitamina D no es menor de 600 UI/ml y preferentemente entre 600 UI/ml y 720.000 UI/ml.
8. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicha vitamina D es vitamina D3 (colecalfiferol), vitamina D2 (ergocalciferol), calcifediol, alfacalcidol o calcitriol, o una combinación de los mismos, o un metabolito, precursor, derivado o análogo de los mismos, preferentemente vitamina D3 (colecalfiferol).
- 25 9. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la sustancia de la clase de los bifosfonatos es un compuesto de fórmula general $PO(OH)_2-CR_1R_2-PO(OH)_2$ (I), o una sal del mismo, en la que R1 y R2 (que pueden ser iguales o diferentes entre sí) pueden ser hidrógeno, halógeno (en especial cloro), hidroxilo, grupo amino o tio, diversamente sustituido o no sustituido, alquilo C1-C3, opcionalmente sustituido con un grupo heterocíclico u homocíclico simple o condensado, que contiene hasta dos heteroátomos (en particular N), aminoalquilo C1-C6 en el que el grupo amino puede estar sustituido por alquilo C1-C6 o está incluido en un heterociclo.
- 30 10. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la sustancia de la clase de los bisfosfonatos incluye la forma ácida o sales de la misma con bases farmacéuticamente aceptables, preferentemente sales de sodio con varios grados de salificación, así como cualquier forma hidratada y anhidra, cualquier racemato, enantiómero o diastereoisómero y diversas formas cristalinas, amorfas y polimorfas.
- 35 11. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la sustancia de la clase de los bisfosfonatos está representada por clodronato, alendronato, etidronato, neridronato, pamidronato, risedronato, zoledronato, ibandronato, incadronato, olpadronato, tiludronato, o por una combinación de los mismos.
- 40 12. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dichos lípidos son lípidos de origen animal y/o vegetal y/o semisintético, seleccionados del grupo de mono-, di- y triglicéridos, sustituidos con acilos de cadena larga o media, y preferentemente son triglicéridos o una mezcla de triglicéridos.
- 45 13. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dichos lípidos están representados por lípidos de soja, aceite de oliva, aceite de coco, aceite de palma y otros, así como por una mezcla de los mismos, preferentemente por lípidos de soja, si son de origen vegetal; por aceites de pescado, también en forma de ésteres etílicos y enriquecidos en componentes de omega-3, preferentemente por encima de un 40-50 %, si son de origen animal.
- 50 14. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dichos fosfolípidos son fosfolípidos de origen animal y/o vegetal y/o semisintético, seleccionados del grupo que consiste en fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol y fosfatidilcolina, siendo preferente fosfatidilcolina y estando representada por diestearoilfosfatidilcolina, dimiristoilfosfatidilcolina y dimiristoilfosfatidilglicerol, si es de origen sintético; por lecitina de soja, si es de origen vegetal, por lecitina de yema de huevo (fosfolípidos de yema de huevo), si es de origen animal.

15. Una formulación farmacéutica que comprende una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores y que comprende otros excipientes y/o coadyuvantes farmacéuticamente aceptables.
- 5 16. Una formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15, en la que dichos excipientes y/o adyuvantes pertenecen al grupo de los azúcares, tales como glucosa, sacarosa, lactosa o manosa; polioles tales como glicerol, xilitol y otros; conservantes tales como alcohol bencílico y parabenos; tensioactivos iónicos y no iónicos tales como desoxicolato de sodio, glicocolato de sodio y otras sales biliares, laurilsulfato de sodio, Tweens y Cremophors; tampones básicos, neutros o ácidos, tales como carbonatos o bicarbonatos alcalinos, fosfatos o tampón TRIS; antioxidantes tales como tocoferol, palmitato de ascorbilo, butilhidroxianisol y butilhidroxitolueno; estabilizantes, codisolventes, y otros.
- 10 17. Una formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 16, que contiene un anestésico local, preferentemente lidocaína.
- 15 18. Una formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en la que dicha composición contiene dicha sustancia de la clase de los bifosfonatos y vitamina D, ambos directamente disueltos en la emulsión de lípidos y fosfolípidos, junto con dichos excipientes y/o adyuvantes, y es estéril para que esté lista para su administración.
- 20 19. Una formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en la que dicha sustancia de la clase de los bisfosfonatos está en solución acuosa, junto con dichos excipientes y/o adyuvantes, mientras que la vitamina D se disuelve en la emulsión de lípidos y fosfolípidos, junto con dichos excipientes y/o adyuvantes, estando destinadas dicha solución acuosa y dicha emulsión de lípidos y fosfolípidos a combinarse en el momento antes de la administración e inyectarse.
- 25 20. Una formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en la que dicha sustancia de la clase de los bisfosfonatos está en solución acuosa, junto con dichos excipientes y/o adyuvantes, mientras que la vitamina D se disuelve en la emulsión de lípidos y fosfolípidos, junto con dichos excipientes y/o adyuvantes, estando destinadas dicha solución acuosa y dicha emulsión de lípidos y fosfolípidos a inyectarse por separado de manera secuencial.
- 30 21. Una formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en la que la vitamina D está disuelta en la emulsión de lípidos y fosfolípidos, junto con dichos excipientes y/o adyuvantes, mientras que la sustancia de la clase de los bisfosfonatos está en el estado seco a través de liofilización o porque está dosificada en el estado anhidro, como un polvo estéril.
- 35 22. Una formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 21, en la que los componentes están contenidos en un vial-jeringuilla, y se combinan y se inyectan en el momento.
- 40 23. Una formulación farmacéutica para administración intramuscular o subcutánea de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-22, para su uso en la prevención y el tratamiento de todas las enfermedades óseas que son sensibles a BF y vitamina D, tales como disminución de la masa ósea y/o el incremento en su recambio, afecciones de carencia de vitamina D y cánceres sensibles.
24. Una formulación farmacéutica para administración intramuscular y subcutánea de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 16-23, para su uso en la prevención y el tratamiento de osteoporosis de cualquier origen, tal como osteoporosis posmenopáusica, osteoporosis inducida por esteroides o glucocorticoides, osteoporosis masculina, y osteoporosis inducida por otras enfermedades u osteoporosis idiopática; enfermedad ósea de Paget; artrosis; disminución de la masa ósea localizada asociada con implantes protésicos u osteólisis; fracturas óseas; enfermedades óseas relacionadas con metástasis; osificación incompleta o imperfecta; periodontitis y pérdida de dientes; hipercalcemia de origen tumoral; hipocalcemia inducida por tratamientos con fármacos; cánceres sensibles; mieloma múltiple; osteopenia y osteopenia inducida por inmovilización prolongada y por metástasis óseas.