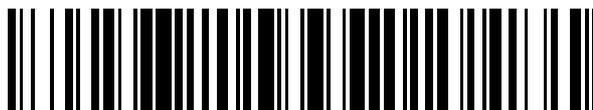


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 597 959**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/107** (2006.01)

**A61K 38/13** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.09.2011 PCT/EP2011/067117**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.04.2012 WO12042023**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.09.2011 E 11767671 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016 EP 2621469**

54 Título: **Emulsión de Ciclosporina**

30 Prioridad:

**01.10.2010 US 388633 P**  
**01.10.2010 DK 201000891 U**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**24.01.2017**

73 Titular/es:

**NEUROVIVE PHARMACEUTICAL AB (100.0%)**  
**Biomedical Center D10**  
**221 84 Lund, SE**

72 Inventor/es:

**ELMÉR, ESKIL**

74 Agente/Representante:

**DEL VALLE VALIENTE, Sonia**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 597 959 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**

Emulsión de ciclosporina

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición de ciclosporina novedosa en forma de una emulsión con un contenido de triglicéridos de cadena media. La emulsión es una emulsión de aceite en agua, es bioequivalente al producto comercializado Sandimmune® pero tiene un perfil de tolerabilidad mejorado en comparación con Sandimmune®.

**Antecedentes de la invención**

La ciclosporina es un inmunosupresor ampliamente usado en trasplantes de órganos y tejidos. La ciclosporina tiene escasa solubilidad en agua, y se ha formulado un producto comercializado Sandimmune® para infusión como un concentrado que contiene ciclosporina 50 mg/ml y aceite de ricino polioxilado (Cremophor EL®) en etanol y debe diluirse con una disolución isotónica de cloruro de sodio o una disolución al 5% de glucosa antes de la administración. Sin embargo, la administración intravenosa de una composición de ciclosporina que contiene Cremophor EL® se ha asociado con reacciones de hipersensibilidad, con respuestas que van de reacciones leves en la piel a anafilaxia y colapso cardiaco. Por tanto, existe la necesidad de composiciones de ciclosporina sin Cremophor® así como composiciones listas para usar.

Cremophor EL es la marca registrada de BASF Corp. para su versión de aceite de ricino polietoxilado. Se prepara haciendo reaccionar 35 moles de óxido de etileno con cada mol de aceite de ricino. El producto resultante es una mezcla (número CAS 61791-12-6): el componente mayoritario es el material en el que los grupos hidroxilo del triglicérido de aceite de ricino se han etoxilado con óxido de etileno para formar éteres de polietilenglicol. Componentes minoritarios son los ésteres de polietilenglicol del ácido ricinoleico, polietilenglicoles y éteres de polietilenglicol de glicerol. Cremophor EL es un tensioactivo no iónico sintético. Su utilidad proviene de su capacidad para estabilizar emulsiones de materiales apolares en sistemas acuosos.

Están disponibles varios productos Cremophor de BASF (Cremophor RH 40 (aceite de ricino hidrogenado-polioxilo 40), Cremophor EL (aceite de ricino-polioxilo 35), Cremophor ELP (calidad extrapura de EL), que son todos calidades de aceite de ricino-polioxilo, y Cremophor A 6 (cetoestearil éter de macrogol-6) y Cremophor A 25 (cetoestearil éter de macrogol-25), que son calidades de cetoestearil éteres de macrogol. Que sepan los inventores, en la actualidad sólo Cremophor EL® se ha asociado con reacciones de hipersensibilidad. Sin embargo, es probable que todos los productos Cremophor® de la serie de aceite de ricino-polioxilo tengan el mismo efecto secundario cuando se administran a un sujeto.

El documento WO 01/45673 (Ciclomulsion AG) se refiere a emulsiones de agua en aceite de ciclosporina. Las emulsiones son hiperosmolares para que penetren a través de la barrera hematoencefálica.

El documento EP-A-0 570 829 (Dietl) se refiere a emulsiones de agua en aceite de ciclosporina. La ciclosporina se disuelve parcialmente y está presente parcialmente en forma microcristalina en la emulsión.

El documento EP-A-0 799 620 (Research Triangle Pharmaceuticals Ltd.) se refiere a emulsiones de agua en aceite de ciclosporina. Se mejora la solubilidad de la ciclosporina mediante el uso de una combinación de un TCM sintético y ácido linoleico en una razón de 2:1 o 9:1. No se usa ningún otro aceite en la composición.

El documento EP-A-1 929 996 se refiere a emulsiones de agua en aceite para uso oftálmico. La emulsión puede contener ciclosporina. Para mejorar la biodisponibilidad de ciclosporina en la conjuntiva, se usa TCM junto con tiloxapol para obtener un efecto sinérgico.

**Descripción de la invención**

Se han descrito composiciones de ciclosporina listas para usar para administración parenteral, entre otros, en el documento EPA- 0 570 829. Sin embargo, han sido necesarios desarrollos adicionales de tales composiciones para obtener composiciones que son bioequivalentes al producto Sandimmune® y para garantizar una vida útil en almacenamiento apropiada.

Los desarrollos adicionales se dirigen a garantizar formulaciones que pueden tener tanto suficiente estabilidad como vida útil en almacenamiento como para satisfacer los requisitos para la comercialización y distribución en negocios comerciales con productos farmacéuticos al tiempo que son bioequivalentes y usan componentes que son beneficiosos para dianas terapéuticas tales como el metabolismo mitocondrial y que no son tóxicas.

En la práctica clínica, esto también significa que puede lograrse de mejor manera el objetivo de, por ejemplo, Sandimmune® y garantizar de ese modo que en la práctica clínica es posible evitar el efecto adverso de

Cremophor® y etanol y evitar el tener que medicar previamente con corticosteroides y/o antihistamínicos en casos en los que está contraindicado tal enfoque de pretratamiento o con múltiples fármacos.

5 La presente invención proporciona una composición de ciclosporina sin Cremophor para administración parenteral, especialmente administración intravenosa.

Una emulsión de ciclosporina que tiene la siguiente composición:

Componente	Concentración g/l
Ciclosporina	5
Lecitina de huevo	12
Glicerol (sin agua)	25
Oleato de sodio	0,3
Hidróxido de sodio 1 M	c.s.
Aceite de soja (triglicérido de cadena larga)	100
Triglicérido de cadena media	100
Agua para inyección	Hasta 1 l

10 en la que la emulsión es isoosmolar y tiene una osmolaridad de desde 280 hasta 305 mosm/l. Una composición de la presente invención tiene una osmolalidad en el rango isoosmolar, es decir la osmolaridad está en un intervalo de desde aproximadamente 280 mosm/l hasta aproximadamente 305 mosm/l, preferiblemente de aproximadamente 295-300 mosm/l, que corresponde al valor del plasma, es decir el valor isoosmolar. El uso de una composición que contiene ciclosporina con una osmolalidad isoosmolar es importante para garantizar una buena biocompatibilidad.

15 Muchas de las emulsiones de ciclosporina conocidas son hiperosmolares para lograr una buena penetración a través de la barrera hematoencefálica cuando se usan tales composiciones, por ejemplo, en el tratamiento de accidente cerebrovascular. Sin embargo, las emulsiones de ciclosporina de la invención también pueden usarse en otras áreas terapéuticas importantes tales como, por ejemplo, en relación con lesión por reperfusión cardíaca e inmunosupresión, cuando el uso de una composición hiperosmolar puede conducir a la entrada no deseada en el

20 cerebro de metabolitos, sustancias, componentes sanguíneos específicos etc., que pueden conducir a su vez a efectos tóxicos o adversos, todos los cuales son no deseados.

Los términos osmolaridad, osmolalidad y tonicidad se usan a menudo de manera intercambiable. Para definiciones específicas, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing Company 1990, páginas 1481-1498, que se incorpora al presente documento como referencia.

25

Una composición de la presente invención también puede usarse en el tratamiento de traumatismo craneoencefálico, en el que la composición atraviesa la barrera hematoencefálica debido a brechas en la misma provocadas por la propia lesión cerebral y cuando no existe por tanto la necesidad de una composición hiperosmolar para producir una brecha en la barrera hematoencefálica. Una composición isoosmolar es altamente preferible con respecto a una composición hiperosmolar en tales indicaciones.

30

#### *Ciclosporina*

35 La ciclosporina puede ser cualquier ciclosporina terapéuticamente activa o análogos y derivados de ciclosporinas. La ciclosporina puede tener propiedades inmunosupresoras o propiedades no inmunosupresoras (NICAM), o puede tener cualquier otro efecto conocido o desconocido (por ejemplo, para cardioprotección o neuroprotección de, para el tratamiento en enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio, reperfusión, o en enfermedades neurodegenerativas, lesión cerebral, isquemia, traumatismo, etc. Se sabe que las ciclosporinas tienen efectos protectores sobre las mitocondrias. Se prefieren ciclosporinas que son adecuadas para su uso en inmunosupresión. La ciclosporina puede ser una ciclosporina natural o sintética. Tal como se presenta a continuación, están presentes varios átomos de carbono quirales. Por tanto, cualquiera de estas formas, o bien solas o bien en cualquier combinación, que tienen actividad terapéutica están englobadas por el término "ciclosporina".

40

45 En los ejemplos, se ha empleado la siguiente ciclosporina:

DCI: Ciclosporina

Nombres químicos:

- 50
- a) Ciclo[[[(2S,3R,4R,6E)-3-hidroxi-4-metil-2-(metilamino)-oct-6-enoil]-L-2-aminobutanoil-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-valil-N-metil-L-leucil-L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-valil]
- b) Ciclo[[[(E)-(2S,3R,4R)-3-hidroxi-4-metil-2-(metilamino)-6-octenoil]-L-2-aminobutiril-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-

valil-L-metil-L-leucil-L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-valil]

c) [R-[R\*,R\*-(E)]-(L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-valil-3-hidroxi-N,4-dimetil-L-2-amino-6-octenoil-L- $\alpha$ -aminobutiril-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-valil-N-metil-L-leucil) cíclico

5

Otros nombres: Ciclosporina (DCI)

Ciclosporina (DCI -E)

10 Nombres de compendio: Ciclosporina (*Ciclosporinum*) (Farm. Eur.)

Ciclosporina (USP)

Número CAS: 59865-13-3

15

Fórmula estructural (véase la figura 1)

Fórmula molecular: C<sub>62</sub>H<sub>111</sub>N<sub>11</sub>O<sub>12</sub>

20

Masa molecular relativa (*M<sub>r</sub>*): 1202,61

Quiralidad: La ciclosporina es una molécula de origen natural que presenta varios átomos de carbono quirales.

Propiedades generales

25

Forma física: polvo blanco o casi blanco

Solubilidad: soluble en acetona, etanol, metanol, éter, cloroformo y cloruro de metileno; ligeramente soluble en hidrocarburos saturados; prácticamente insoluble en agua

30

Rotación óptica específica: de -185° a -193° (metanol)

*Fosfatidilcolina*

35

Se prefieren la lecitina de huevo y/o la lecitina de soja, particularmente la lecitina de huevo, como proveedores de fosfatidilcolina, especialmente 3-sn-fosfatidilcolina o 3-sn-fosfatidilcolina hidrogenada. Son adecuadas sobre todo las lecitinas con un contenido de más del 60% de 3-sn-fosfatidilcolina y/o 3-sn-fosfatidilcolina parcialmente hidrogenada y/o 3-sn-fosfatidilcolina hidrogenada.

40

*Sales de ácidos grasos farmacéuticamente tolerables*

Puede añadirse una sal de álcali de un ácido graso libre con de 6 a 26 átomos de carbono para ajustar el valor de pH o para facilitar el proceso de emulsión y homogeneización. Se prefieren especialmente las sales de sodio y potasio del ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico y ácido linolénico. En una realización preferida, se emplea oleato de sodio.

45

*Sustancia de ajuste de manera isotónica/isoosmolar*

Tal como se observa a partir de los ejemplos en el presente documento, se ha empleado glicerol para ajustar la osmolaridad de la composición a isoosmolar. Sin embargo, también pueden demostrar ser adecuadas otras sustancias como sorbitol, xilitol, cloruro de sodio, glucosa.

50

*Aceites naturales (triglicéridos de cadena larga)*

55

Pueden emplearse aceite de soja o aceite de cártamo o combinaciones de los mismos como aceites naturales. En una realización preferida, se emplea aceite de soja.

*Aceites TCM (triglicérido de cadena media)*

60

Tal como se presenta a continuación, parece que la presencia de un aceite TCM es importante para lograr la estabilidad deseada de la emulsión, especialmente con respecto a la estabilidad física de la emulsión. La ciclosporina tiene una solubilidad muy buena en aceite TCM y el aceite TCM contribuye por tanto a evitar la precipitación no deseada de ciclosporina durante el almacenamiento.

65

Además, los aceites TCM parecen tener un efecto beneficioso sobre el cerebro, por ejemplo, hay indicaciones de que pueden ser beneficiosos en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y otros estados en los que es

importante/necesaria la estabilización, protección y respaldo de la función mitocondrial. Las mitocondrias están presentes y producen energía en casi todas las células del organismo. El colapso mitocondrial puede estar asociado con una variedad de lesiones agudas, tales como infartos de miocardio y traumatismo craneoencefálico y enfermedades crónicas como esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple y otros trastornos neurológicos. En los infartos de miocardio, la reperfusión de la arteria bloqueada puede producir lesión por reperfusión y daño e incapacidad adicional del músculo cardíaco, así como un aumento de la mortalidad. La protección mitocondrial en tejido del músculo cardíaco puede moderar el impacto a largo plazo de los ataques al corazón.

Un aceite TCM adecuado es aceite de coco, aceite de palma o una combinación de los mismos.

*Agua*

El agua empleada debe tener una calidad adecuada para productos parenterales, tales como agua para inyección (criterio de la farmacopea).

*Método de fabricación*

Un método de fabricación adecuado para fabricar una composición de la invención se presenta en la figura 2 y en los ejemplos en el presente documento.

*Ejemplos de composiciones según la invención*

En todas las composiciones mencionadas en el presente documento, la osmolaridad se ajusta al valor isoosmolar de aproximadamente 285 a aproximadamente 305 mosm/l, se ajusta preferiblemente a de aproximadamente 295 a aproximadamente 300 mosm/l.

Una emulsión de ciclosporina que tiene la siguiente composición:

Componente	Concentración g/l
Ciclosporina	5
Lecitina de huevo	12
Glicerol (sin agua)	25
Oleato de sodio	0,3
Hidróxido de sodio 1 M	c.s.
Aceite de soja (triglicérido de cadena larga)	100
Triglicérido de cadena media	100
Agua para inyección	Hasta 1 l

en la que la emulsión es isoosmolar y tiene una osmolaridad de desde 280 hasta 305 mosm/l.

*Composiciones interesantes*

Otras composiciones interesantes son:

Una ciclosporina en un intervalo de concentración de desde 1 hasta 15 g/l, una fosfatidilcolina (por ejemplo, lecitina de huevo) en un intervalo de concentración de desde 5 hasta 25 g/l, una sal de álcali farmacéuticamente tolerable de un ácido graso libre (por ejemplo, oleato de sodio) en un intervalo de concentración de desde 0,1 hasta 1 g/l, opcionalmente, ajuste del pH por ejemplo hidróxido de sodio 1 M en una cantidad suficiente para alcanzar un valor de pH final de la composición de desde aproximadamente 6 hasta aproximadamente 8,8, glicerol en un intervalo de concentración de desde 10 hasta 50 g/l, un aceite natural (triglicérido de cadena larga) (por ejemplo, aceite de soja) en un intervalo de concentración de desde 50 hasta 150 g/l, aceite de triglicérido de cadena media en un intervalo de concentración de desde 50 hasta 150 g/l y agua hasta 1 litro.

Una ciclosporina en un intervalo de concentración de desde 1 hasta 15 g/l, lecitina de huevo en un intervalo de concentración de desde 5 hasta 25 g/l, una sal de álcali farmacéuticamente tolerable de un ácido graso libre (por ejemplo, oleato de sodio) en un intervalo de concentración de desde 0,1 hasta 1 g/l, opcionalmente, ajuste del pH por ejemplo hidróxido de sodio 1 M en una cantidad suficiente para alcanzar un valor de pH final de la composición de desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 8,8, glicerol en un intervalo de concentración de desde 10 hasta 50 g/l, un aceite natural (triglicérido de cadena larga) (por ejemplo, aceite de soja) en un intervalo de concentración de desde 50 hasta 150 g/l, aceite de triglicérido de cadena media en un intervalo de concentración de desde 50 hasta 150 g/l y agua hasta 1 litro.

Una ciclosporina en un intervalo de concentración de desde 1 hasta 15 g/l, una fosfatidilcolina (por ejemplo, lecitina



hidróxido de sodio 1 M en una cantidad suficiente para alcanzar un valor de pH final de la composición de desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 8,8, glicerol en una concentración de 25 g/l, un aceite natural (triglicérido de cadena larga) (por ejemplo, aceite de soja) en una concentración de 100 g/l, aceite de triglicérido de cadena media en un intervalo de concentración de 100 g/l, agua hasta 1 litro.

5 Una ciclosporina en una concentración de 5 g/l, lecitina de huevo en una concentración de 12 g/l, oleato de sodio en una concentración de 0,3 g/l, opcionalmente, ajuste del pH por ejemplo hidróxido de sodio 1 M en una cantidad suficiente para alcanzar un valor de pH final de la composición de desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 8,8, glicerol en una concentración de 25 g/l, un aceite natural (triglicérido de cadena larga) (por ejemplo, aceite de soja) en una concentración de 100 g/l, aceite de triglicérido de cadena media en un intervalo de concentración de 100 g/l, agua hasta 1 litro.

15 Una ciclosporina en una concentración de 5 g/l, una fosfatidilcolina (por ejemplo, lecitina de huevo) en una concentración de 12 g/l, una sal de álcali farmacéuticamente tolerable de un ácido graso libre (por ejemplo, oleato de sodio) en una concentración de 0,3 g/l, opcionalmente, ajuste del pH por ejemplo hidróxido de sodio 1 M en una cantidad suficiente para alcanzar un valor de pH final de la composición de desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 8,8, glicerol en una concentración de 25 g/l, aceite de soja en una concentración de 100 g/l, aceite de triglicérido de cadena media en un intervalo de concentración de 100 g/l, agua hasta 1 litro.

20 Una ciclosporina en una concentración de 5 g/l, lecitina de huevo en una concentración de 12 g/l, una sal de álcali farmacéuticamente tolerable de un ácido graso libre (por ejemplo, oleato de sodio) en una concentración de 0,3 g/l, opcionalmente, ajuste del pH por ejemplo hidróxido de sodio 1 M en una cantidad suficiente para alcanzar un valor de pH final de la composición de desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 8,8, glicerol en una concentración de 25 g/l, aceite de soja en una concentración de 100 g/l, aceite de triglicérido de cadena media en un intervalo de concentración de 100 g/l, agua hasta 1 litro.

30 Una ciclosporina en una concentración de 5 g/l, una fosfatidilcolina (por ejemplo, lecitina de huevo) en una concentración de 12 g/l, oleato de sodio en una concentración de 0,3 g/l, opcionalmente, ajuste del pH por ejemplo hidróxido de sodio 1 M en una cantidad suficiente para alcanzar un valor de pH final de la composición de desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 8,8, glicerol en una concentración de 25 g/l, aceite de soja en una concentración de 100 g/l, aceite de triglicérido de cadena media en un intervalo de concentración de 100 g/l, agua hasta 1 litro.

35 Una ciclosporina en una concentración de 5 g/l, lecitina de huevo en una concentración de 12 g/l, oleato de sodio en una concentración de 0,3 g/l, opcionalmente, ajuste del pH por ejemplo hidróxido de sodio 1 M en una cantidad suficiente para alcanzar un valor de pH final de la composición de desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 8,8, glicerol en una concentración de 25 g/l, aceite de soja en una concentración de 100 g/l, aceite de triglicérido de cadena media en un intervalo de concentración de 100 g/l, agua hasta 1 litro.

40 En todas las composiciones mencionadas anteriormente, los triglicéridos de cadena media pueden ser aceite de coco, aceite de palma, o combinaciones de los mismos.

*Composición de la invención sometida a prueba en estudios clínicos*

45 La composición de la emulsión que se ha sometido a prueba en un estudio clínico se produjo según la siguiente fórmula (tamaño de lote de 300 l):

Componente	Cantidad (kg)	Norma de calidad
Ciclosporina	1,50	R1-CEP 1999-034 Rev. 02
Lecitina de huevo	3,60	
Glicerol (sin agua)	7,50	Farm. Eur.
Oleato de sodio	0,09	
Hidróxido de sodio 1 M	c.s.	Farm. Eur.
Aceite de soja (triglicérido de cadena larga)	30,00	Farm. Eur.
Aceite TCM (triglicérido de cadena media)	30,00	Farm. Eur.
Agua para inyección	Hasta 300 l	Farm. Eur.
Gas nitrógeno	Según se requiera	Farm. Eur./USP

50 Por tanto, una composición preferida de la invención es la siguiente:

Componente	Concentración g/l
------------	-------------------

Ciclosporina	5
Lecitina de huevo	12
Glicerol (sin agua)	25
Oleato de sodio	0,3
Hidróxido de sodio 1 M	c.s.
Aceite de soja (triglicérido de cadena larga)	100
Aceite TCM (triglicérido de cadena media)	100
Agua para inyección	Hasta 1 l
Gas nitrógeno	Según se requiera (por motivos de producción)

El aceite TCM es aceite de coco, aceite de palma o una combinación de los mismos.

5 Tal como se presenta en la sección experimental, una composición según la invención, especialmente, la composición mencionada anteriormente es bioequivalente al producto Sandimmune®, es decir el concentrado diluido para dar una composición lista para usar. Se llevó a cabo el estudio de bioequivalencia según directrices bien establecidas (EMA - Agencia Europea de Medicamentos, Londres, enero de 2010. Guideline on the investigation of bioequivalence, o Departamento de Salud y Servicios Sociales de los EE.UU., Administración de Alimentos y Fármacos, marzo de 2003, Guidance for Industry, Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Product - General Considerations).

10 El estudio también revela que una composición según la invención tiene un perfil de seguridad mucho mejor que el producto Sandimmune®. Por tanto, sin medicación previa con corticosteroides, en 19 sujetos se observaron dos reacciones anafilácticas intensas después de la administración con Sandimmune®, mientras que no se observaron tales reacciones después de la administración en 33 sujetos con una composición según la invención. Para recapitular el estudio clínico, la siguiente tabla muestra los efectos adversos observados. Se notificaron dos acontecimientos adversos graves (AAG). Estos fueron reacciones anafilácticas y anafilactoides que se produjeron después de la administración de Sandimmune® solución inyectable. La proporción de efectos adversos globales fue significativamente mayor en Sandimmune® solución inyectable en comparación con la composición según la invención.

	Proporción Sandimmune solución inyectable	Proporción CicloMulsion (según la invención)	Razón media (%)	Intervalo de confianza del 95% de la razón (%)	Valor de p de McNemar
Global	0,800	0,350	-0,450	-0,668; -0,232	0,0027
Trastornos oculares	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Trastornos gastrointestinales	0,150	0,150	0,000	-0,139; 0,139	1,0000
Trastornos del sistema inmunitario	0,200	0,050	-0,150	-0,306; 0,006	0,0833
Reacción anafiláctica	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Reacción anafilactoide	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Hipersensibilidad	0,100	0,050	-0,050	-0,146; 0,046	0,3173
Trastornos del sistema nervioso	0,500	0,250	-0,250	-0,485; -0,015	0,0588
Trastornos psiquiátricos	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Trastornos del aparato reproductor y de la mama	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	0,050	0,050	0,000	0,000; 0,000	N/C
Trastornos vasculares	0,400	0,100	-0,300	-0,544; -0,056	0,0339

Otra ventaja de una composición de la invención (además de la bioequivalencia con Sandimmune® solución inyectable y un mejor perfil de seguridad que Sandimmune® solución inyectable) es la excelente estabilidad de la composición. Actualmente se cree que la presencia de triglicérido de cadena media desempeña un papel importante a este respecto. Por tanto, basándose en estudios de estabilidad llevados a cabo según las directrices de la ICH y notificados en los ejemplos, la conclusión global es que es razonable una vida útil en almacenamiento de 30-36 meses cuando se almacena por debajo de 25°C y protegida de la luz.

10 Otras ventajas son:

1. Disolución lista para usar. Sandimmune® solución inyectable se comercializa como un concentrado para infusión de 50 mg/ml que ha de aspirarse mediante una jeringa y luego inyectarse en un mayor volumen de solución salina o glucosa al 5%. La disolución del concentrado es altamente viscosa, especialmente a temperatura ambiente o por debajo, lo que hace que sea más difícil de extraer y vaciar hasta la cantidad correcta que con una composición lista para usar. Además, tras la inyección del concentrado para infusión en solución salina, se requiere un mezclado cuidadoso para evitar la inyección de grandes grupos de Cremophor® que contienen ciclosporina en la circulación, lo que también afecta a la concentración de ciclosporina administrada de manera temprana y tardía en un tratamiento.

2. Sin emulsionante no fisiológico. El contenido de una composición de la invención son grasas y fosfolípidos fisiológicos que pueden metabolizarse por el cuerpo humano.

3. Sin riesgo de reacciones de hipersensibilidad intensas relacionadas con el disolvente, incluyendo reacciones anafilácticas y muerte.

4. Sin riesgo de citotoxicidad, nefrotoxicidad o cardiotoxicidad relacionada con el disolvente.

5. Elimina la necesidad de tubos i.v. especializados requeridos para los productos que contienen Cremophor® (para prevenir la lixiviación de plastificantes).

6. No es necesaria una medicación previa con corticosteroides o antihistamínicos.

7. Sin riesgo de penetración de sustancia no deseada por la barrera hematoencefálica.

Las emulsiones de la invención son adecuadas para usarse en el tratamiento de enfermedad en la que está indicada una ciclosporina. Ejemplos son trastornos inmunosupresores, lesión por reperfusión (daño de órganos), lesión por reperfusión cardíaca (cardioprotección), lesión por reperfusión renal (nefroprotección), lesión por reperfusión hepática (hepatoprotección), prevención de daño cerebral (neuroprotección).

### Leyendas de las figuras

La figura 1 muestra la estructura de ciclosporina

La figura 2 muestra un método para la fabricación de una emulsión según la invención

La figura 3 muestra medias aritméticas con la desviación estándar de la concentración de ciclosporina en sangre en participantes a los que se les administró CicloMulsion o Sandimmune. n=52

La figura 4 muestra la concentración de ciclosporina en sangre media con la desviación estándar en participantes a los que se les administró CicloMulsion (A) o Sandimmune (B) o bien con o bien sin medicación previa que consistía en 50 mg de difenhidramina por vía oral, 10 mg dexametasona por vía intravenosa y 50 mg ranitidina por vía intravenosa.

La invención se ilustra adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitativos.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

#### Fabricación de una composición según la invención

##### *Preparación de la emulsión*

Preparación de la suspensión acuosa:

## ES 2 597 959 T3

Se proporciona a un tanque de mezclado la cantidad apropiada de agua para inyección caliente. Se muelen todas las materias primas excepto los componentes de aceite y se dispersan en agua para inyección a 55 - 70°C. Se dispersa la suspensión por medio de mezclado intenso.

### 5 Preparación de la preemulsión:

Se añade una disolución de los componentes de aceite precalentados (50 - 60°C) que contiene ciclosporina disuelta. Se mezclan la suspensión acuosa y la fase de aceite a 55 - 70°C. Si es necesario, se ajusta el pH.

### 10 Homogenización:

La preparación de la emulsión final tiene lugar mediante varias etapas de homogeneización. Se aplican presiones de 400 ± 30 bar (fase 1) y 100 ± 30 bar (fase 2). La temperatura de la emulsión es de entre 55°C y 90°C. Entre las etapas de homogenización, se almacena la emulsión en tanques de almacenamiento intermedios.

### 15 Emulsión final:

Dependiendo de la capacidad del equipo usado (homogeneizadores y recipiente) la emulsión ha de diluirse con agitación con la cantidad apropiada de agua para inyección. Se enfría la emulsión resultante hasta una temperatura de 15 - 25°C. Se toma una muestra de la concentración final para el control en proceso y puede llevarse a cabo un ajuste del pH.

### Filtración de la emulsión:

25 Se filtra la emulsión a través de un filtro de tamaño de poro absoluto de 10 µm.

### Llenado y cierre:

30 Se llenan con la emulsión bajo una atmósfera de nitrógeno frascos para infusión adecuados. Se cierran los frascos llenos con tapones de goma y tapas de aluminio con tapas levadizas transparentes.

### Esterilización:

35 Se esterilizan los envases llenos en un autoclave giratorio.

### Ejemplo 2

#### Composición según la invención

40 Se produjo la composición de la emulsión que se ha sometido a prueba en un estudio clínico según la siguiente fórmula (tamaño de lote de 300 l):

Componente	Cantidad (kg)	Norma de calidad
Ciclosporina	1,50	R1-CEP 1999-034 Rev. 02
Lecitina de huevo	3,60	
Glicerol (sin agua)	7,50	Farm. Eur.
Oleato de sodio	0,09	
Hidróxido de sodio 1 M	c.s.	Farm. Eur.
Aceite de soja (triglicérido de cadena larga)	30,00	Farm. Eur.
Aceite TCM (triglicérido de cadena media)	30,00	Farm. Eur.
Agua para inyección	Hasta 300 l	Farm. Eur.
Gas nitrógeno	Según se requiera	Farm. Eur./USP

### Ejemplo 3

#### Estabilidad de una composición según la invención

Se sometió la composición del ejemplo 2 a estudios de estabilidad según las directrices de la ICH.

50 Se pone el lote PP0915013 de emulsión para inyección de ciclosporina 5 mg/ml en estabilidad a 25°C/HR del 60% y 40°C/HR del 75% según los requisitos de la ICH. Actualmente, están disponibles datos de 12 meses.

ES 2 597 959 T3

Todos los resultados, a ambas temperaturas, están bastante dentro de las especificaciones. La ciclosporina parece ser muy estable sin tendencia a disminuir. Sólo se encuentran pequeñas cantidades de productos de degradación. Las siguientes tablas resumen los resultados.

5 25°C/HR del 60%

Artículo de prueba	Tiempo de almacenamiento (meses)				
	0	3	6	9	12
Aspecto <i>Emulsión homogénea blanca</i>	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
pH 6,0 - 8,5	8,4	7,8	7,6	7,3	7,2
Distribución de tamaño de partícula > 1 µm <i>100% ≤ 5 µm, 98% ≤ 1,5 µm</i>	100/100	100/98,6	100/99,2	100/99	100/98
Distribución de tamaño de partícula > 1 µm <i>Promedio de z ≤ 350 nm</i> <i>Polidispersión ≤ 0,25</i>	240 0,09	243 0,06	239 0,08	239 0,09	239 0,08
Índice de peróxido ≤ 2,5 mEq/l	0,02	0,04	0,05	0,10	0,0
Valoración de ciclosporina 95,0 - 105,0%	97,6	100,6	100,2	100,2	101,4
Productos de degradación ciclosporina H (≤ 1,4%) dihidrociclosporina A (≤ 1,4%) isociclosporina A (≤ 1,4%) desconocida individual (≤ 0,2%) Total (≤ 2,0%)	<DL 0,1 0,1 0,1 <0,4	0,1 0,1 0,2 0,1 <0,5	0,3 0,3 0,1 0,1 <0,8	0,2 0,2 0,2 <DL <0,7	0,3 0,2 0,1 0,1 <0,8
Ácidos grasos libres ≤ 12 mEq/l	2	2	3	3	4
Lisofosfatidilcolina ≤ 16,7%	3	6	7	7	8
Esterilidad <i>Estéril</i>	estéril	-	-	-	-

40°C/HR del 75%

Artículo de prueba	Tiempo de almacenamiento (meses)		
	0	3	6
Aspecto <i>Emulsión homogénea blanca</i>	cumple	cumple	cumple
pH 6,0 - 8,5	8,4	7,2	6,5
Distribución de tamaño de partícula > 1 µm <i>100% ≤ 5 µm, 98% ≤ 1,5 µm</i>	100/100	100/99,6	100/99,6
Distribución de tamaño de partícula > 1 µm <i>Promedio de z ≤ 350 nm</i> <i>Polidispersión ≤ 0,25</i>	240 0,09	242 0,05	240 0,05
Índice de peróxido ≤ 2,5 mEq/l	0,02	0,06	0,08
Valoración de ciclosporina 95,0 - 105,0%	97,6	101,2	99,6
Productos de degradación ciclosporina H (≤ 1,4%) dihidrociclosporina A (≤ 1,4%) isociclosporina A (≤ 1,4%) desconocida individual (≤ 0,2%) Total (≤ 2,0%)	<DL 0,1 0,1 0,1 <0,4	0,4 0,1 0,2 0,1 <0,7	0,9 0,3 0,1 0,1 <1,3
Ácidos grasos libres ≤ 12 mEq/l	2	4	6
Lisofosfatidilcolina	3	9	12

$\leq 16,7\%$			
Esterilidad Estéril	estéril	-	-

Ejemplo 4

Un estudio clínico para comparar la biodisponibilidad y farmacocinética de ciclosporina

5

Resumen

Antecedentes

10 La ciclosporina es un inmunosupresor ampliamente usado en trasplantes de órganos y tejidos. La ciclosporina tiene escasa solubilidad en agua, y se ha formulado por tanto el concentrado para disolución para infusión en aceite de ricino polioxietilado (Cremophor EL®). Sin embargo, la administración intravenosa de preparaciones de ciclosporina que contienen Cremophor se ha asociado con reacciones de hipersensibilidad, con respuestas que van de reacciones leves en la piel a anafilaxia y colapso cardiaco. Se ha desarrollado una emulsión lipídica de ciclosporina sin Cremophor®, lista para usar (CicloMulsion, ciclosporina 5 mg/ml) para uso intravenoso. Los objetivos del presente estudio eran comparar la farmacocinética y el perfil de tolerabilidad de CicloMulsion con el producto de referencia, inyección de Sandimmune.

15

Métodos

20

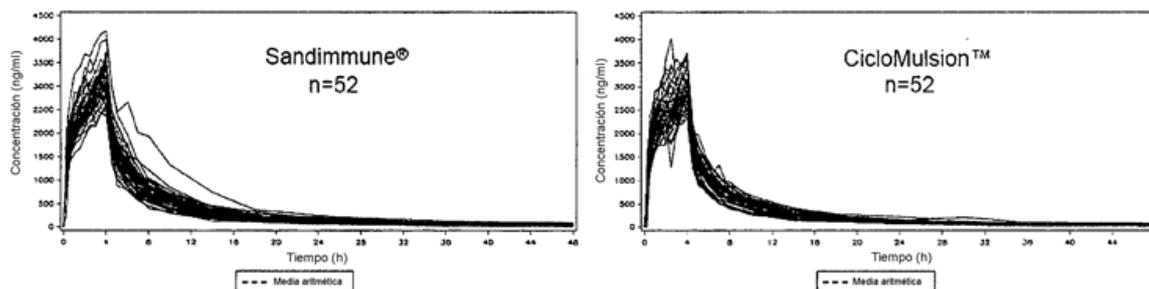
Se investigaron voluntarios sanos, hombres y mujeres, de raza blanca y de otras razas (n=52), según un diseño cruzado de dos periodos, abierto, ciego para el laboratorio, ciego para el sujeto, aleatorizado, de una sola dosis. Se infundieron por vía intravenosa cinco mg/kg de cada una de las dos formulaciones a lo largo de 4 horas. Se determinaron las concentraciones en sangre de ciclosporina mediante análisis por CL-EM/EM validado. Se realizaron comparaciones farmacocinéticas convencionales que cumplieran con la FDA y EMA usando análisis de la varianza. Se calcularon estimaciones puntuales e intervalos de confianza del 90% para las razones de medias geométricas por mínimos cuadrados de prueba/referencia de variables relevantes. Se evaluaron la tolerabilidad y seguridad mediante la monitorización de acontecimientos adversos, hemograma completo, mediciones de signos vitales, electrocardiograma y exploración física tras el estudio.

25

30

Farmacocinética

Concentraciones de ciclosporina en sangre completa



35

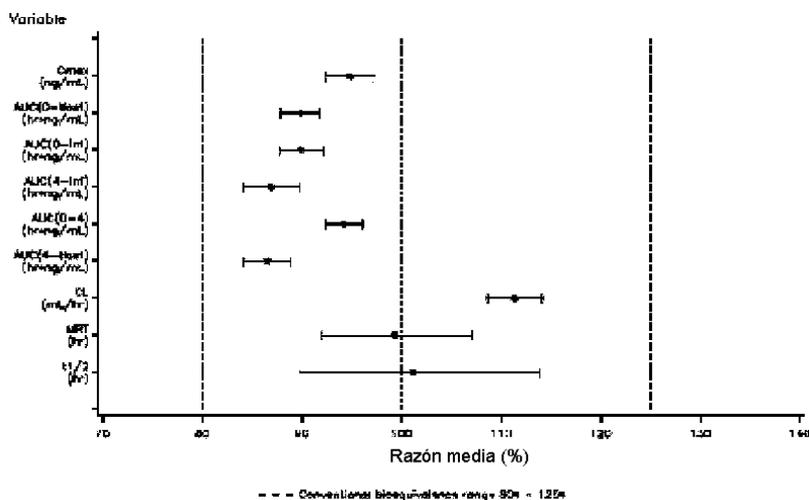
Figura 1. Gráficas individuales combinadas de concentraciones en sangre completa tras la infusión de ciclosporina 5 mg/kg de la que se toman muestras a lo largo de 48 horas en 52 individuos sanos. Izquierda – inyección de Sandimmune, derecha – CicloMulsion

40

Intervalos de confianza de variables farmacocinéticas de ciclosporina en sangre completa

Variable	Razón media (%)	Intervalo de confianza del 90% de la razón	CV intraindividual (%)	Potencia
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	94,80	(92,43 : 97,23)	7,70	>99%
AUC(0-t <sub>último</sub> ) (h*ng/ml)	89,88	(87,92 : 91,88)	6,71	>99%
AUC(0-∞) (h*ng/ml)	89,91	(87,71 : 91,16)	7,53	>99%
AUC(4-∞) (h*ng/ml)	86,90	(84,12 : 89,77)	9,91	>99%
AUC(0-4) (h*ng/ml)	94,23	(92,37 : 96,14)	6,08	>99%
AUC(4-t <sub>último</sub> ) (h*ng/ml)	86,52	(84,20 : 88,90)	8,27	>99%

CL (ml/h)	111,38	(108,67 : 114,15)	7,49	>99%
MRT (h)	99,33	(92,08 : 107,14)	23,36	>99%
t <sub>1/2</sub> (h)	101,19	(89,88 : 113,93)	37,28	93%



5 Tabla 1 y Figura 2. Intervalo de confianza (90%) para las razones medias (% de CicloMulsion / Sandimmune) y coeficiente de variación (CV) intraindividual de variables farmacocinéticas de ciclosporina en sangre completa.

Análisis proporcional de acontecimientos adversos

	Proporción		Razón media (%)	Intervalo de confianza del 95% de la razón (%)	Valor de p de McNemar
	Sandimmune solución inyectable	CicloMulsion			
Global	0,800	0,350	-0,450	-0,668; -0,232	0,0027
Trastornos oculares	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Trastornos gastrointestinales	0,150	0,150	0,000	-0,139; 0,139	1,0000
Trastornos del sistema inmunitario	0,200	0,050	-0,150	-0,306; 0,006	0,0833
Reacción anafiláctica	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Reacción anafilatoide	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Hipersensibilidad	0,100	0,050	-0,050	-0,146; 0,046	0,3173
Trastornos del sistema nervioso	0,500	0,250	-0,250	-0,485; -0,015	0,0588
Trastornos psiquiátricos	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Trastornos del aparato reproductor y de la mama	0,050	0,000	-0,050	-0,146; 0,046	N/C
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	0,050	0,050	0,000	0,000; 0,000	N/C
Trastornos vasculares	0,400	0,100	-0,300	-0,544; -0,056	0,0339

10 Tabla 2. Se notificaron dos acontecimientos adversos graves (AAG). Estos fueron reacciones anafiláticas y anafilatoides que se produjeron después de la administración de Sandimmune solución inyectable. La proporción de efectos adversos globales fue significativamente mayor en Sandimmune solución inyectable en comparación con la composición CicloMulsion.

Conclusiones

- 5 • CicloMulsion, una formulación de ciclosporina intravenosa sin Cremophor lista para usar, es bioequivalente a Sandimmune solución inyectable.
- CicloMulsion presenta una seguridad y un perfil de tolerabilidad mejorados. Por tanto pueden evitarse reacciones de hipersensibilidad intensas relacionadas con Cremophor, incluyendo reacciones anafilácticas y muerte, en pacientes que requieren ciclosporina intravenosa.

10 CicloMulsion tiene las siguientes ventajas con respecto a Sandimmune solución inyectable i.v.:

1. Disolución lista para usar.
- 15 2. Emulsionante fisiológico. El contenido de CicloMulsion son grasas y fosfolípidos fisiológicos que pueden metabolizarse por el cuerpo humano.
3. Sin riesgo de reacciones de hipersensibilidad intensas relacionadas con Cremophor, incluyendo reacciones anafilácticas y muerte.
- 20 4. Sin riesgo de citotoxicidad, nefrotoxicidad o cardiotoxicidad relacionada con Cremophor.
5. Elimina la necesidad de tubos i.v. especializados requeridos para los productos que contienen Cremophor (para prevenir la lixiviación de plastificantes).

25 Detalles referentes al estudio clínico

Introducción

30 La ciclosporina se usa ampliamente para prevenir el rechazo de injertos después de un trasplante. La formulación intravenosa actualmente en el mercado, Sandimmune® solución inyectable (Sandimmune), usa Cremophor® EL (CrEL) como excipiente emulsionante. Se sabe que CrEL provoca reacciones de hipersensibilidad en algunos pacientes, que van de reacciones en la piel a choque anafiláctico y muerte. Se evaluaron la farmacocinética y tolerabilidad de una nueva emulsión lipídica de ciclosporina sin CrEL, CicloMulsion®, en comparación con Sandimmune. Se trataron cincuenta y dos sujetos sanos con 5 mg/kg de cada una de las dos formulaciones de ciclosporina como una infusión intravenosa durante 4 h. Se realizaron evaluaciones de bioequivalencia según las directrices actuales. Las razones medias geométricas para CicloMulsion/Sandimmune (intervalo de confianza del 90%) fueron de 0,90 (0,88-0,92) para el área bajo la curva (de 0 h a la última concentración cuantificable) y 0,95 (0,92-0,97) para la concentración máxima de ciclosporina en sangre. Para todas las variables adicionales analizadas, los intervalos de confianza del 90% también estaban dentro del intervalo de bioequivalencia aceptado de 0,80-1,25. Se notificaron una reacción anafilatoide y una anafiláctica, ambas clasificadas como acontecimientos adversos graves después del tratamiento con Sandimmune. No se registraron acontecimientos adversos graves después del tratamiento con CicloMulsion. La proporción de acontecimientos adversos globales fue significativamente mayor para Sandimmune. Se concluye que CicloMulsion es bioequivalente a Sandimmune y presenta menos reacciones adversas.

Lista de abreviaturas

AA	Acontecimiento adverso
ANOVA	Análisis de la varianza
AUC	Área bajo la curva
AUC <sub>0-4</sub>	Área bajo la curva para el tiempo de 0 a 4 horas
AUC <sub>0-t</sub>	Área bajo la curva para el tiempo de 0 a la última concentración cuantificable
AUC <sub>0-∞</sub>	Área bajo la curva para el tiempo de 0 horas extrapolado a infinito
AUC <sub>4-t</sub>	Área bajo la curva para el tiempo de 4 a la última concentración cuantificable
AUC <sub>4-∞</sub>	Área bajo la curva para el tiempo de 4 horas extrapolado a infinito
IC	Intervalo de confianza
CL	Aclaramiento
C <sub>máx</sub>	Concentración máxima en sangre
CicloMulsion	Emulsión lipídica de ciclosporina sin Cremophor EL
CrEL	Cremophor EL
CsA	Ciclosporina, ciclosporin, ciclosporina A
CV	Coefficiente de variación
ECG	Electrocardiograma
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético

EMA	Agencia Europea de Medicamentos
FDA	Administración de Alimentos y Fármacos
i.v.	Intravenosa
CL-EM/EM	Cromatografía de líquidos-espectrometría de masas/espectrometría de masas
LLOQ	Nivel inferior de cuantificación
MedDRA	Diccionario Médico para Actividades Regulatoras
MRT	Tiempo de residencia medio
Farm. Eur.	Farmacopea Europea
PVC	Poli(cloruro de vinilo)
AAG	Acontecimiento adverso grave
Sandimmune	Sandimmune® solución inyectable
SpO <sub>2</sub>	Saturación de oxígeno en sangre periférica
t <sub>1/2z</sub>	Semivida terminal aparente
USP	Farmacopea de los Estados Unidos

La ciclosporina (CsA) es un potente inmunosupresor registrado por primera vez en 1983 que actúa reduciendo la función de linfocitos T a través de la inhibición de calcineurina. CsA se usa ampliamente para prevenir el rechazo de órganos y la enfermedad de injerto contra huésped después de un trasplante de órganos sólidos o médula ósea, y para tratar estados autoinmunitarios tales como psoriasis, dermatitis atópica, piodermia gangrenosa, colitis ulcerosa, síndrome nefrótico idiopático y uveítis inflamatoria (1-7). La molécula es altamente hidrófoba y requiere un disolvente lipófilo para su administración. La forma intravenosa (i.v.) de CsA actualmente en el mercado, Sandimmune® solución inyectable (Novartis Pharma Stein AG, Suiza) (Sandimmune), es una preparación con etanol y aceite de ricino polioxiethylado, Cremophor® EL (CrEL).

CrEL no es inerte (8) y ha habido varios informes de efectos adversos graves después de la administración de CsA i.v. debido a reacciones con este medio portador (9-16). También se han notificado reacciones de hipersensibilidad a CrEL cuando se usa para otras preparaciones intravenosas de fármacos tales como diazepam y Althesin® (17-21). En roedores, se han demostrado neurotoxicidad, cardiotoxicidad y nefrotoxicidad debidas a CsA i.v. disuelta en CrEL (22-25) y, en un modelo canino, se ha mostrado que CrEL reduce el gasto cardiaco y el flujo sanguíneo hepático de manera no dependiente de la dosis (26). Los efectos de CrEL incluyen activación del complemento, liberación de histamina y reacciones de hipersensibilidad intensas (8, 17, 19, 21).

CsA en CrEL requiere una etapa de dilución antes de la administración. Se ha notificado que la preparación inapropiada de formulaciones que contienen CrEL provoca reacciones anafilactoides (27, 28). Una preocupación adicional con el uso de etanol y CrEL es la lixiviación de plastificantes de equipos de infusión y bolsas de poli(cloruro de vinilo) (PVC) usado en la práctica clínica de rutina. Por consiguiente, la preparación y administración deben realizarse usando equipos de infusión de vidrio u otro material distinto de PVC (29, 30). Ha surgido la preocupación sobre la seguridad de CrEL como medio portador para fármacos i.v. en numerosas ocasiones y varios fármacos que se produjeron previamente en preparaciones con CrEL están disponibles ahora sólo con otros medios portadores tales como emulsiones lipídicas. Ejemplos conocidos son propofol (17, 31) y diazepam (32). Otros, tales como el agente quimioterápico paclitaxel, están disponibles tanto con como sin CrEL como disolvente (33), y el fármaco anestésico Althesin® que contenía CrEL ya no se comercializa para su uso en seres humanos (17, 21, 34).

En este estudio, el objetivo era evaluar la farmacocinética de una preparación novedosa, sin CrEL y etanol, lista para usar de CsA para administración i.v., CicloMulsion® (NeuroVive Pharmaceutical AB, Lund, Suecia), en relación con el producto que contiene CrEL actualmente en el mercado (Sandimmune® solución inyectable) y evaluar si las dos formulaciones son bioequivalentes. Una preparación sin CrEL lista para usar ofrece potencialmente un aumento de la seguridad del paciente con menos acontecimientos adversos debidos a una manipulación inapropiada o a reacciones inmunológicas a CrEL.

#### Diseño del estudio

Este fue un estudio cruzado de dos secuencias, de dos periodos, de dos tratamientos, de un solo centro, abierto, ciego para el sujeto, ciego para el laboratorio, de una sola dosis, aleatorizado de la farmacocinética de dos formulaciones de CsA i.v. El objetivo primario era evaluar la farmacocinética, y el objetivo secundario comparar los perfiles de tolerabilidad de las dos preparaciones.

El protocolo del estudio, incluyendo modificaciones, las hojas de información al sujeto y los documentos de consentimiento informado los revisó el Comité Ético de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Estado Libre (número de referencia ETOVS 65/09), y el Consejo de Control de Medicamentos de Sudáfrica (número de referencia BE 2009009), y se obtuvo el consentimiento por escrito. Se realizó el estudio según la declaración de Helsinki y las directrices de Buena Práctica Clínica emitidas por la Conferencia Internacional sobre Armonización. Se diseñó para cumplir con Guidance for Industry - Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence emitida por el Departamento de Salud y Servicios Sociales de los EE.UU., Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) (35), y Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence de la Agencia Europea de

Medicamentos (EMA) (36).

Formulaciones de ciclosporina

5 La formulación de CsA de referencia usada fue Sandimmune® solución inyectable (Novartis Pharma Stein AG, Suiza, CsA 50 mg/ml, Farmacopea de los Estados Unidos, USP) que contiene Cremophor®EL (se diluyó cada 1 ml de concentrado para infusión en 20 ml de solución salina al 0,9% antes de su uso). El producto de prueba usado fue CicloMulsion® (NeuroVive Pharmaceutical AB, Lund, Suecia) emulsión lipídica de ciclosporina 5 mg/ml sin Cremophor y etanol lista para usar según Farm. Eur./USP. Cada ml de la emulsión lipídica contiene 100 mg de  
10 aceite de soja refinado, 100 mg de triglicérido de cadena media, 12 mg de lecitina de huevo, 25 mg de glicerol, agua, y oleato de sodio e hidróxido de sodio para el ajuste del pH.

Participantes

15 Fueron elegibles voluntarios, hombres sanos y mujeres sanas no embarazadas ni en periodo de lactancia entre 18 y 55 años de edad con un índice de masa corporal dentro del intervalo de 19-33 kg/m<sup>2</sup>. Criterios de inclusión adicionales fueron masa corporal de 60-100 kg, electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones y signos vitales normales, datos clínicamente aceptables en la historia médica y las exploraciones físicas, resultados de laboratorio dentro de los intervalos de referencia (a menos que se considerase irrelevante la desviación para el propósito del  
20 estudio), disposición a someterse a exploraciones físicas y pruebas analíticas previas, intermedias y posteriores al estudio, capacidad para comprender y disposición a firmar una declaración de consentimiento informado, y abstinencia de tabaco durante y tres meses antes del estudio. Las mujeres participantes en edad de procrear se sometieron a una prueba de embarazo antes de cada dosificación de CsA y, si dio positivo, se excluyeron del estudio. Durante el periodo de estudio, había que usar métodos anticonceptivos fiables, no hormonales.

25 Los criterios de exclusión incluyeron evidencias de trastorno psiquiátrico, historia de o abuso actual de drogas (incluyendo alcohol), uso de cualquier medicación en el plazo de dos semanas antes de la primera administración de la medicación del estudio, participación en otros estudio con un fármaco experimental con administración en el plazo de doce semanas antes del estudio actual, enfermedad grave durante los últimos tres meses, donación o pérdida de sangre que supera los 500 ml durante las ocho semanas antes de la primera administración del fármaco del estudio, prueba positiva para hepatitis B o C o VIH, detección positiva de drogas en orina, vacunación de cualquier clase en el plazo de cuatro semanas desde la primera dosis o planificación de vacunación en el plazo de los tres meses desde la última dosis, familiar cercano que recibe una vacuna viva durante el estudio o en el plazo de tres meses tras el estudio, e hipotensión o hipertensión durante el periodo de selección.

35 Una historia de cualquiera de las siguientes enfermedades fue también criterio para la exclusión del estudio: cualquier tipo de tumor maligno, inmunodeficiencia, tendencia a infecciones recurrentes, infección parasitaria no tratada conocida, alergia a cualquier compuesto en el producto de referencia y de prueba, o al huevo o la soja, cualquier enfermedad broncoespástica, epilepsia, porfiria, psoriasis, dermatitis atópica, hipercolesterolemia, gota, artritis reumatoide o enfermedad renal.

40 Se tuvo cuidado de incluir tanto mujeres como hombres participantes, tanto de raza blanca como de otras razas. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes antes de la participación en el estudio.

45 Periodo de toma de muestras

Se aleatorizaron los sujetos en dos secuencias de tratamiento: el producto de prueba seguido por el producto de referencia o viceversa. Hubo un periodo de lavado fijado a los 14-21 días entre el primer y el segundo periodo de tratamiento. Los participantes se presentaron en la clínica la noche antes del tratamiento para realizarse análisis, incluyendo muestras de sangre, prueba de embarazo y detección de drogas en orina. Se instruyó a los sujetos que no ingiriesen ningún cítrico y/o manzana o piña 72 h antes del inicio de la infusión y, en el plazo de 24 h, no se permitieron ni alcohol ni ningún producto que contenga cafeína. El día en la clínica, el único alimento servido antes de la administración del fármaco fue un desayuno normalizado. A través de una cánula i.v., los sujetos recibieron o bien 5 mg/kg de CicloMulsion (prueba) o bien 5 mg/kg de Sandimmune (referencia), infundidos a una velocidad constante a lo largo de 4 h con una bomba de jeringa. La dosis recomendada para la inducción de inmunosupresión con Sandimmune en la práctica clínica es de 3-6 mg/kg/día.

50 Se usó el mismo brazo para la administración durante ambos periodos de tratamiento. Todos los equipos de infusión eran compatibles tanto con el producto de referencia como con el de prueba. A través de una cánula i.v. en el brazo contralateral, se obtuvieron un total de 22 muestras de sangre para el análisis de CsA antes de la dosis y a las 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 18, 24, 30, 36 y 48 h después del inicio de la infusión. Se extrajeron todas las muestras en viales que contenían ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), se etiquetaron y se almacenaron a -70°C hasta el análisis. Se sometió a ensayo la concentración de CsA en sangre con cromatografía de líquidos-espectrometría de masas/espectrometría de masas (CL-EM/EM). Se validó el método según las directrices actuales de la FDA (37). El límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 39,39 ng/ml y el CV medio fue del 3,5% para CsA. Se incluyeron conjuntos completos de patrones de calibración y controles de calidad dentro de  
65

cada serie.

5 Veinticuatro horas después del inicio de la administración de la medicación del estudio, se permitió que los sujetos abandonaran la clínica, siempre que volviesen para la extracción posterior de muestras de sangre. Se monitorizaron los signos vitales durante la infusión y se midieron 2 h después de completarse la infusión y después de extraerse la última muestra de sangre. Se normalizaron las comidas y bebidas durante los días en la clínica. Se permitió agua a voluntad antes y después de infusión de la medicación del estudio. No se permitieron alcohol, cafeína, cítricos, manzana y piña hasta que se extrajo la última muestra de sangre en cada periodo de tratamiento.

10 Evaluación de la tolerabilidad

Se monitorizó cuidadosamente cada sujeto para determinar acontecimientos adversos (AA) durante la infusión, y se le preguntó en el día del estudio por cualquier síntoma de tales acontecimientos. Se clasificaron los AA como leves, moderados o intensos según las siguientes definiciones:

15 Leve: Que no provoca ninguna limitación de las actividades habituales; el sujeto puede experimentar ligeras molestias.

20 Moderado: Que provoca cierta limitación de las actividades habituales; el sujeto puede experimentar molestias graves.

Intenso: Que provoca incapacidad para llevar a cabo las actividades habituales; el sujeto puede experimentar molestias o dolor intolerables.

25 El investigador consideró cada AA con respecto a la causalidad con el producto médico administrado como “seguro”, “probable”, “posible”, “improbable”, “no relacionado” o “no evaluable”. Se codificó cada AA con el Diccionario Médico para Actividades Reguladoras (MedDRA) y se notificó según criterios estrictos.

30 Se compararon las proporciones de AA global y AA por clase-órgano entre CicloMulsion y Sandimmune por medio del intervalo de confianza (IC) del 95% para la diferencia entre proporciones emparejadas y valores de p de la prueba de McNemar.

Evaluación de la farmacocinética y bioequivalencia

35 Se calcularon variables farmacocinéticas para CsA mediante el uso de métodos no compartimentales usando WinNonlin® Professional versión 5.2 (Pharsight Corporation, Mountain Vista CA, EE.UU.). Se realizó un análisis estadístico usando el software SAS® versión 9.1 (Instituto SAS, Cary, NC, EE.UU.). Se sustituyeron por cero todos los valores por debajo de LLOQ antes de la primera muestra positiva. Para la evaluación de la farmacocinética, se ignoraron los valores terminales por debajo de LLOQ.

40 Se comparó CicloMulsion con Sandimmune con respecto a varias variables farmacocinéticas usando análisis de la varianza (ANOVA) con efectos de secuencia, sujeto dentro de la secuencia, producto y periodo con datos transformados logarítmicamente. Los parámetros comparados fueron el área bajo las curvas de tiempo-concentración de CsA para tiempo 0 al tiempo de la última concentración cuantificable ( $AUC_{0-t}$ ), tiempo de 0 h extrapolado a infinito ( $AUC_{0-\infty}$ ), tiempo de 4 h extrapolado a infinito ( $AUC_{4-\infty}$ ), tiempo de 0 a 4 h ( $AUC_{0-4}$ ) y tiempo de 4 a la última concentración cuantificable ( $AUC_{4-t}$ ), concentración máxima de CsA en sangre ( $C_{m\acute{a}x}$ ), semivida de CsA terminal aparente ( $t_{1/2,z}$ ), aclaramiento de CsA en sangre (CL) y tiempo de residencia medio (MRT).  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $AUC_{0-\infty}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{4-\infty}$  se consideraron variables primarias y el resto secundarias. Se calcularon estimaciones puntuales e intervalos de confianza del 90% para las razones de medias geométricas de CicloMulsion/Sandimmune de todas las variables. Los dos productos se consideraron bioequivalentes si el IC del 90% para las variables primarias se encontraba dentro de los límites de 0,8 y 1,25.

55 Basándose en el intervalo de bioequivalencia recomendado por la FDA y la EMA de 0,80 a 1,25 para  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$ , un coeficiente de variación (CV) intrasujeto estimado del 35%, y una razón media de “prueba/referencia” entre 0,95 y 1,05, fueron necesarios 52 sujetos para lograr una potencia del 80% a un nivel de alfa de 0,05 para mostrar bioequivalencia (38).

Modificaciones en el diseño del estudio

60 El diseño del estudio inicial no incluía una medicación previa, pero, debido a una incidencia inesperadamente alta de acontecimientos adversos graves (AAG) para el producto de referencia, se realizó el resto del estudio con medicación previa. Se redactó una modificación del protocolo del estudio y la aprobaron los comités éticos nombrados anteriormente. Por motivos de coherencia, se usó medicación previa antes tanto de CicloMulsion como de Sandimmune aunque se observasen los AA que desencadenaron la instauración de medicación previa tras la administración de Sandimmune. Trece sujetos completaron ambos periodos de tratamiento sin medicación previa. 65 Dieciocho sujetos recibieron el producto de prueba en el primer periodo de tratamiento sin medicación previa, y

recibieron el producto de referencia con medicación previa en el segundo periodo de tratamiento. El resto (21 sujetos) recibieron medicación previa durante ambos periodos de tratamiento y, por tanto, tanto con el producto de prueba como con el de referencia.

5 La medicación previa consistió en una cápsula de 50 mg de difenhidramina por vía oral 1 h antes del comienzo de la infusión de fármaco de prueba o referencia, 10 mg de dexametasona mediante inyección i.v. lenta, y 50 mg de ranitidina mediante infusión i.v. a lo largo de 5 minutos, aproximadamente 30 minutos antes de cada dosificación de fármaco del estudio. El estudio se dejó en suspenso para que se aprobasen las modificaciones del protocolo. Esto provocó que el periodo de lavado para los 18 sujetos que recibieron el producto de prueba en el primer periodo de tratamiento sin medicación previa y el producto de referencia con medicación previa en el segundo periodo de tratamiento se prolongase más de seis semanas. No se sabe que ninguna de las medicaciones previas cambie las propiedades farmacocinéticas de CsA o afecte al ensayo bioanalítico.

Resultados

15 Se incluyeron sesenta y cinco voluntarios en el estudio y se aleatorizaron a una secuencia de tratamiento. Se retiraron dos sujetos antes de la primera dosificación debido a enfermedad, y se retiraron once más antes de completar el estudio. De estos once, tres se debió a la retirada del consentimiento, dos debido a la decisión del investigador/promotor (incertidumbre de la dosis recibida debido a problemas con la infusión), y seis debido a AA. No se incluyó ninguno de estos sujetos en el análisis de bioequivalencia. Cincuenta y dos participantes completaron el estudio y se incluyeron en la evaluación farmacocinética. En la tabla 1, se presentan los datos demográficos de los sujetos que completaron el estudio.

Tabla 1: Datos demográficos de sujetos incluidos en el estudio farmacocinético

n = 52	
Sexo	
masculino/femenino	33/19
Edad (años)	
media (intervalo)	24,4 (18-46)
Raza	
blanca/africana/herencia mixta	35/16/1
Masa corporal (kg)	
media (intervalo)	70,4 (60,0-99,8)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	
media (intervalo)	23,3 (18,8-28,3)

30 Sesenta y tres participantes recibieron al menos una dosis de la medicación del estudio y se incluyeron en la evaluación de tolerabilidad global. Debido a un número inesperadamente alto de reacciones adversas graves a Sandimmune, se cambió el protocolo del estudio y se introdujo medicación previa tal como se describió anteriormente. Se realizó un análisis estadístico de la incidencia de AA incluyendo únicamente los trece participantes que recibieron tanto el fármaco de prueba como el de referencia sin medicación previa.

Evaluación de la farmacocinética y bioequivalencia

35 Para cada punto de tiempo, se calcularon las medias aritméticas con la desviación estándar para las concentraciones de CsA en sangre completa para el fármaco de prueba, CicloMulsion y el fármaco de referencia, Sandimmune. En la figura 1, se proporciona una presentación gráfica de las concentraciones de CsA a lo largo del tiempo. En las figuras 4A y B, se presentan curvas de tiempo-concentración por separado para sujetos que recibieron y que no recibieron medicación previa concomitante. En la tabla 2, se presentan los parámetros farmacocinéticos.

Tabla 2: Parámetros farmacocinéticos de ciclosporina en sujetos tratados con CicloMulsion o Sandimmune como infusión intravenosa individual a lo largo de 4 h en la dosis de 5 mg/kg. Medias aritméticas, desviación estándar (D.E.) y coeficiente de variación (CV).

Parámetro (unidad)	CicloMulsion®			Sandimmune® solución inyectable (n=52)		
	Media	D.E.	CV, %	Media	D.E.	CV, %
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	2972	381	12,8	3134	386	12,3
AUC <sub>0-t</sub> (h*ng/ml)	19412	3202	16,5	21679	4165	19,2
AUC <sub>0-∞</sub> (h*ng/ml)	20519	3488	17,0	22904	4466	19,5
AUC <sub>4-∞</sub> (h*ng/ml)	11496	2569	22,3	13349	3626	27,2
AUC <sub>0-4</sub> (h*ng/ml)	9023	1232	13,7	9555	1148	12,0
AUC <sub>4-t</sub> (h*ng/ml)	10389	2240	21,6	12124	3256	26,9

CL (ml/h)	17446	2543	14,6	15746	2860	18,2
MRT (h)	8,8	3,2	36,1	9,1	5,8	63,5
t <sub>1/2,z</sub> (h)	14,6	6,4	43,4	14,7	8,2	55,7
Extrapolación de AUC (%)	5,3	2,5	46,6	5,2	4,0	76,7
T <sub>máx</sub> (h)	3,7	0,4	11,4	3,7	0,4	10,1

La parte de AUC<sub>0-∞</sub> que se extrapoló era aproximadamente el 5% para ambas medicaciones del estudio, indicando que se obtuvo una estimación fiable de AUC<sub>0-∞</sub>. No estaban presentes valores por debajo de LLOQ entre muestras positivas.

5 En la tabla 3, se presenta el análisis estadístico de bioequivalencia después de la dosificación con CicloMulsion o Sandimmune 3. Las estimaciones puntuales de las razones medias geométricas de CicloMulsion/Sandimmune (IC del 90%) de las variables primarias C<sub>máx</sub> y AUC<sub>0-t</sub> para CsA fueron de 0,95 (0,92-0,97) y 0,90 (0,88-0,92), respectivamente, y AUC<sub>0-∞</sub> y AUC<sub>4-∞</sub> para CsA fueron de 0,90 (0,88-0,92) y 0,87 (0,84-0,90), respectivamente. Por 10 tanto, el IC del 90% de todas las variables primarias estaba dentro del intervalo aceptable para bioequivalencia de 0,80 a 1,25. El IC del 90% para todas las variables secundarias también cumplió los criterios para bioequivalencia.

15 Tabla 3: Evaluación de bioequivalencia de exposición a ciclosporina en sangre completa después de la dosificación con una única dosis de CicloMulsion (prueba) y Sandimmune solución inyectable (referencia). Medias geométricas de datos transformados logarítmicamente, desviación estándar (SD), estimaciones puntuales e intervalo de confianza del 90% (IC) de la razón de CicloMulsion/Sandimmune solución inyectable y coeficiente de variación intrasujeto (CV).

Parámetro (unidad)	Media geométrica y D.E.		Media geométrica y D.E.		Razón	IC del 90%	CV, %
	CicloMulsion®	Sandimmune® solución inyectable	CicloMulsion®	Sandimmune® solución inyectable			
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	2949	371	3111	382	0,95	(0,92-0,97)	7,7
AUC <sub>0-t</sub> (h*ng/ml)	19157	3162	21315	3950	0,90	(0,88-0,92)	6,7
AUC <sub>0-∞</sub> (h*ng/ml)	20235	3431	22507	4247	0,90	(0,88-0,92)	7,5
AUC <sub>4-∞</sub> (h*ng/ml)	11216	2562	12906	3417	0,87	(0,84-0,90)	9,9
AUC <sub>0-4</sub> (h*ng/ml)	8943	1200	9490	1113	0,94	(0,92-0,96)	6,1
AUC <sub>4-t</sub> (h*ng/ml)	10150	2253	11732	3061	0,87	(0,84-0,89)	8,3
CL (ml/h)	17258	2608	15495	2837	1,11	(1,09-1,14)	7,5
MRT (h)	8,3	2,8	8,3	3,2	0,99	(0,92-1,07)	23,4
t <sub>1/2,z</sub> (h)	13,5	5,8	13,3	6,0	1,01	(0,90-1,14)	37,3

20 Tolerabilidad

De los 63 sujetos, 55 notificaron uno o más AA. Los AA clasificados como al menos “posiblemente” relacionados con la medicación del estudio se notificaron predominantemente a partir de las clases de órganos codificadas por medDRA de trastornos del sistema nervioso y trastornos vasculares (tabla 4). Los trastornos del sistema nervioso 25 incluyeron cefalea, sensación de quemazón, parestesia, mareo y pérdida sensitiva. Los trastornos vasculares incluyeron acontecimientos de sofocos e hipotensión ortostática. Cuando los sujetos recibieron Sandimmune sin medicación previa, el 84% (16/19) experimentaron AA evaluados como al menos posiblemente relacionados con la medicación del estudio, en comparación con el 64% (21/33) cuando recibieron CicloMulsion. Con medicación previa, las cifras fueron del 76% (31/41) para Sandimmune y el 67% (16/24) para CicloMulsion. Se realizó un análisis 30 proporcional de AA para los sujetos tratados tanto con CicloMulsion como con Sandimmune sin medicación previa. Hubo una proporción significativamente mayor de AA globales (p=0,003) y trastornos vasculares (p=0,03) cuando se trataron los sujetos con Sandimmune. Otras proporciones no fueron significativamente diferentes entre las dos formulaciones.

35 Tabla 4: Resumen de todos los acontecimientos adversos al menos posiblemente relacionados con la medicación del estudio. Número de pacientes (n) que notificaron acontecimientos adversos e incidencia en %. Se presentan con y sin medicación previa para CicloMulsion y Sandimmune solución inyectable.

	Todos los sujetos		Sin medicación previa				Con medicación previa			
			Sandimmune® solución inyectable		CicloMulsion®		Sandimmune® solución inyectable		CicloMulsion®	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Número de sujetos expuestos	63		19		33		41		24	
Número total de sujetos	54	86	16	84	21	64	31	76	16	67

con acontecimientos adversos										
Clase de sistema-órgano:										
Trastornos del sistema nervioso	40	63	9	47	16	48	16	39	12	50
Trastornos vasculares	32	51	8	42	8	24	19	46	2	8
Trastornos gastrointestinales	17	27	3	16	7	21	7	17	4	17
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	11	17	-	-	1	3	7	17	3	13
Trastornos cardiacos	6	10	-	-	1	3	3	7	3	13
Trastornos del sistema inmunitario	6	10	4	21	1	3	1	2	1	4
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	5	8	-	-	1	3	4	10	1	4
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	4	6	-	-	-	-	3	7	1	4
Trastornos renales y urinarios	3	5	-	-	-	-	3	7	2	8
Trastornos del aparato reproductor y de la mama	3	5	1	5	1	3	1	2	-	-
Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo	2	3	-	-	-	-	2	5	-	-
Trastornos oculares	1	2	1	5	-	-	-	-	-	-
Trastornos psiquiátricos	1	2	1	5	-	-	-	-	-	-

Se registraron dos AAG. El primero afectó a un hombre de 21 años de edad, que se aleatorizó en el primer periodo de tratamiento para recibir la medicación de referencia, Sandimmune. Directamente después del inicio de la infusión, experimentó dificultad para respirar y una sensación de sofoco. Se detuvo la infusión, se inició un tratamiento con el 40% de oxígeno a través de una máscara Hudson, y recibió 25 mg de prometazina y 200 mg de hidrocortisona por vía i.v. Debido a la disnea continuada, se comenzó la inhalación con salbutamol nebulizado. Treinta y siete minutos después del inicio de la infusión, se consideró resuelto el acontecimiento y se interrumpió la terapia con oxígeno. Al día siguiente, dejó la clínica pero notificó sentirse cansado durante otros tres días. Se diagnosticó el acontecimiento como reacción anafilactoide.

El segundo de los dos AAG notificados se refirió a un hombre de 42 años de edad que también recibió el fármaco de referencia, Sandimmune en el primer periodo de tratamiento. Once minutos después de comenzarse la infusión de la medicación, presentó tos, rubor facial y disnea. La auscultación del tórax reveló sonidos sibilantes y la saturación de oxígeno en sangre periférica (SpO<sub>2</sub>) medida mediante un pulsioxímetro fue del 95%. Su estado se deterioró rápidamente, se puso pálido y sudoroso, y se registró una tensión arterial sistólica/diastólica de 75/42 mmHg. Se detuvo la infusión y se comenzó una terapia con el 40% de oxígeno a través de una máscara Hudson e infusión i.v. con Ringer lactato. La tensión arterial no se elevaba y la SpO<sub>2</sub> disminuyó hasta el 91% después de un par de minutos; se trató con 0,5 mg de adrenalina y 25 mg de prometazina por vía intramuscular y 5 mg de salbutamol como inhalación nebulizada. También se comenzó una infusión de 200 mg de hidrocortisona. Cinco minutos después de la primera intervención médica, se normalizó su tensión arterial; en el plazo de una hora, pudo interrumpirse todo el tratamiento farmacológico. Después de 24 horas, se detuvo el tratamiento con líquidos i.v. y el sujeto pudo abandonar la clínica. Notificó que se sintió fatigado durante otros cinco días pero pudo llevar a cabo todas las actividades normales. Se diagnosticó el acontecimiento como reacción anafiláctica. Se excluyeron ambos sujetos del resto del estudio.

Debido a los acontecimientos descritos anteriormente, así como una reacción alérgica considerada moderada y posiblemente relacionada con Sandimmune que también provocó la retirada del sujeto, se dejó en suspenso el estudio y se realizó una modificación del protocolo del estudio con la adición de medicación previa tal como se describió anteriormente. Otros tres sujetos no completaron el estudio debido a AA. Todos estos fueron moderados y posible o probablemente relacionados con la mediación del estudio. De estos, dos participantes recibieron el producto de prueba con medicación previa y uno el producto de referencia con medicación previa. No se retiró ningún sujeto que recibió el fármaco de prueba, CicloMulsion sin medicación previa debido a AA.

En la tabla 4, se presenta un resumen de todos los AA al menos posiblemente relacionados con la medicación del estudio. No hubo cambios clínicamente significativos o sistemáticos en los valores de las pruebas analíticas o datos de ECG debido a la administración de CsA. Los signos vitales y los datos clínicos permanecieron esencialmente inalterados durante el estudio para todos los participantes excepto para los dos AA descritos anteriormente.

Discusión

Después de una única dosis i.v. de 5 mg/kg, CicloMulsion y Sandimmune cumplieron los criterios convencionales para bioequivalencia. CicloMulsion fue la que se toleró mejor de las dos formulaciones de CsA.

Hubo que excluir a tres pacientes del estudio debido a reacciones adversas a Sandimmune, así se cambió el diseño del estudio después de una decisión de las autoridades locales. Debido a esta alta incidencia de AAG en sujetos que recibieron Sandimmune, se introdujo medicación previa. Los parámetros farmacocinéticos calculados entre sujetos que recibieron y que no recibieron medicación previa fueron similares, y pudo establecerse bioequivalencia con un bajo CV intrasujeto (para la mayor parte de las variables inferior al 10%) incluyendo sujetos premedicados y no premedicados. Por tanto, los cambios en el protocolo y la introducción de medicación previa no afectaron al perfil farmacocinético de CsA. En la práctica clínica, la mayor parte de los fármacos que contienen CrEL i.v. (tales como el agente anticancerígeno, paclitaxel) se administran con medicación previa debido al riesgo conocido de reacciones de hipersensibilidad a CrEL o, en el caso de Sandimmune, se administra a menudo como parte de un régimen combinado con corticosteroides. Es factible suponer que la incidencia real de reacciones adversas a Sandimmune es confusa por el efecto protector de los corticosteroides. Varios de los informes de reacciones de CrEL se han explicado por una dilución inapropiada del concentrado de Sandimmune solución inyectable. CrEL tiene una mayor densidad relativa que el agua y una alta viscosidad y, a menos que se mezcle de manera apropiada, no se repartirá equitativamente en el frasco para infusión. Se han notificado concentraciones de CrEL y CsA hasta nueve veces mayores que la dosis pretendida durante los primeros 10 minutos de infusión cuando se mezcla de manera inapropiada (15, 27, 28). Con una preparación estable, lista para usar sin necesidad de dilución, esto no sería un problema.

Cuando se retiró Althesin® a finales de los años 1980 debido a efectos secundarios graves debido a CrEL, algunos autores argumentaron que CrEL no debía usarse como disolvente para futuros fármacos (39). Hasta ahora, no ha estado disponible CsA para administración i.v. con ningún otro excipiente emulsionante; esto es sorprendente considerando la extensa bibliografía que notifica reacciones relacionadas con CrEL graves o incluso mortales (27, 40)

Existen varios estudios previos que comparan la farmacocinética de formulaciones de CsA administradas por vía oral, pero pocos para la administración i.v. En su forma oral, se ha encontrado frecuentemente que CsA tiene una gran variación en la biodisponibilidad entre individuos (41-45) debido a varios factores, tales como tasa de vaciado gástrico, tasa de secreción biliar, pancreática e intestinal, polimorfismo en las enzimas del citocromo P4503A, y diferentes haplotipos de glicoproteína p expresada en la mucosa de la pared intestinal. Las diferencias intraindividuales se explican habitualmente por factores de la dieta y el estado clínico (42-44, 46, 47).

Hay ejemplos de fármacos i.v. en los que los perfiles farmacocinéticos se han alterado significativamente cuando se introdujo una emulsión lipídica como emulsionante; ejemplos conocidos son propofol y diazepam (17, 48-50). Teniendo esto en cuenta, se estimó que el coeficiente de variación intraindividual estimado (CV) era del 35% cuando se diseñó el estudio. Resultó ser inferior al 10% para todas las variables primarias, respaldado la opinión de que la mayor parte de la variación intrasujeto en la biodisponibilidad se debe a factores relevantes principalmente para las formulaciones de CsA administradas por vía oral. El % de CV interindividual en este estudio fue de entre el 10% y el 20% para  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $AUC_{0-t}$  y  $AUC_{0-\infty}$ , lo que concuerda con informes previos para CsA i.v. (41, 51, 52). La discusión abierta sobre la capacidad de cambio entre formulaciones con marca registrada y genéricas de CsA administradas por vía oral por motivos de variabilidad, no debe extrapolarse por tanto a formulaciones i.v. del fármaco.

A partir del estudio, se concluye que CicloMulsion es bioequivalente a Sandimmune y que la formulación de CsA i.v. sin etanol y CrEL, lista para usar, CicloMulsion se tolera mejor.

**Bibliografía**

1. Griveas I, Visvardis G, Papadopoulou D, Nakopolou L, Karanikas E, Gogos K *et al.* Effect of cyclosporine therapy with low doses of corticosteroids on idiopathic nephrotic syndrome. *Artif Organs*;34(3):234-237.
2. Warren RB, Griffiths CE. Systemic therapies for psoriasis: methotrexate, retinoids, and cyclosporine. *Clin Dermatol* 2008;26(5):438-447.
3. Fritsche L, Dragun D, Neumayer HH, Budde K. Impact of cyclosporine on the development of immunosuppressive therapy. *Transplant Proc* 2004;36(2 Suppl):130S-134S.
4. Naganuma M, Fujii T, Watanabe M. The use of traditional and newer calcineurin inhibitors in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*.
5. Hijnen DJ, ten Berge O, Timmer-de Mik L, Bruijnzeel-Koomen CA, de Bruin-Weller MS. Efficacy and safety of long-term treatment with cyclosporin A for atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007;21 (1):85-89.

6. Kacmaz RO, Kempen JH, Newcomb C, Daniel E, Gangaputra S, Nussenblatt RB *et al.* Cyclosporine for ocular inflammatory diseases. *Ophthalmology*;117(3):576-584.
- 5 7. Storb R, Antin JH, Cutler C. Should methotrexate plus calcineurin inhibitors be considered standard of care for prophylaxis of acute graft-versus-host disease? *Biol Blood Marrow Transplant*;16(1 Supl.):S18-27.
8. Dorr RT. Pharmacology and toxicology of Cremophor EL diluent. *Ann Pharmacother* 1994;28(5 Supl.):S11-14.
9. Chapuis B, Helg C, Jeannet M, Zulian G, Huber P, Gumovski P. Anaphylactic reaction to intravenous cyclosporine. *N Engl J Med* 1985;312(19):1259.
- 10 10. Kahan BD, Wideman CA, Flechner S, Vanburen CT. Anaphylactic Reaction to Intravenous Cyclosporin. *Lancet* 1984;1(8367):52-52.
- 15 11. Leunissen KML, Waterval PWG, Vanhooff JP. Anaphylactic Reaction to Intravenous Cyclosporin. *Lancet* 1985;1(8429):636-636.
12. Friedman LS, Dienstag JL, Nelson PW, Russell PS, Cosimi AB. Anaphylactic Reaction and Cardiopulmonary Arrest Following Intravenous Cyclosporine. *Am J Med* 1985;78(2):343-345.
- 20 13. Volcheck GW, Van Dellen RG. Anaphylaxis to intravenous cyclosporine and tolerance to oral cyclosporine: case report and review. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;80(2):159-163.
14. van Hooff JP, Bessems P, Beuman GH, Leunissen KM. Absence of allergic reaction to cyclosporin capsules in patient allergic to standard oral and intravenous solution of cyclosporin. *Lancet* 1987;2(8573):1456.
- 25 15. Mackie FE, Umetsu D, Salvatierra O, Sarwal MM. Pulmonary capillary leak syndrome with intravenous cyclosporin A in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant* 2000;4(1):35-38.
- 30 16. Howrie DL, Ptachcinski RJ, Griffith BP, Hardesty RJ, Rosenthal JT, Burckart GJ *et al.* Anaphylactoid reactions associated with parenteral cyclosporine use: possible role of Cremophor EL. *Drug Intell Clin Pharm* 1985;19(6):425-427.
- 35 17. Baker MT, Naguib M. Propofol: the challenges of formulation. *Anesthesiology* 2005;103(4):860-876.
18. Dye D, Watkins J. Suspected anaphylactic reaction to Cremophor EL. *Br Med J* 1980;280(6228):1353.
19. Huttel MS, Schou Olesen A, Stoffersen E. Complement-mediated reactions to diazepam with Cremophor as solvent (Stesolid MR). *Br J Anaesth* 1980;52(1):77-79.
- 40 20. Moneret-Vautrin DA, Laxenaire MC, Viry-Babel F. Anaphylaxis caused by anti-cremophor EL IgG STS antibodies in a case of reaction to althesin. *Br J Anaesth* 1983;55(5):469-471.
21. Briggs LP, Clarke RS, Watkins J. An adverse reaction to the administration of disoprofol (Diprivan). *Anaesthesia* 1982;37(11):1099-1101.
- 45 22. Thiel G, Hermle M, Brunner FP. Acutely impaired renal function during intravenous administration of cyclosporine A: a cremophore side-effect. *Clin Nephrol* 1986;25 Suppl. 1:S40-42.
- 50 23. Verani R. Cyclosporine nephrotoxicity in the Fischer rat. *Clin Nephrol* 1986;25 Suppl. 1:S9-13.
24. Windebank AJ, Blehrud MD, de Groen PC. Potential neurotoxicity of the solvent vehicle for cyclosporine. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268(2):1051-1056.
- 55 25. Sanchez H, Bigard X, Veksler V, Mettauer B, Lampert E, Lonsdorfer J *et al.* Immunosuppressive treatment affects cardiac and skeletal muscle mitochondria by the toxic effect of vehicle. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32(2):323-331.
26. Bowers VD, Locker S, Ames S, Jennings W, Corry RJ. The hemodynamic effects of Cremophor-EL. *Transplantation* 1991;51(4):847-850.
- 60 27. Theis JG, Liao-Chu M, Chan HS, Doyle J, Greenberg ML, Koren G. Anaphylactoid reactions in children receiving high-dose intravenous cyclosporine for reversal of tumor resistance: the causative role of improper dissolution of Cremophor EL. *J Clin Oncol* 1995;13(10):2508-2516.
- 65 28. Liao-Chu M, Theis JG, Koren G. Mechanism of anaphylactoid reactions: improper preparation of high-dose intravenous cyclosporine leads to bolus infusion of Cremophor EL and cyclosporine. *Ann Pharmacother*

- 1997;31(11):1287-1291.
29. Gotardo MA, Monteiro M. Migration of diethylhexyl phthalate from PVC bags into intravenous cyclosporine solutions. *J Pharm Biomed Anal* 2005;38(4):709-713.
- 5 30. Venkataramanan R, Burckart GJ, Ptachcinski RJ, Blaha R, Logue LW, Bahnson A *et al.* Leaching of diethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride bags into intravenous cyclosporine solution. *Am J Hosp Pharm* 1986;43(11):2800-2802.
- 10 31. Trapani G, Altomare C, Liso G, Sanna E, Biggio G. Propofol in anesthesia. Mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery. *Curr Med Chem* 2000;7(2):249-271.
32. Mattila MA, Rossi ML, Ruoppi MK, Korhonen M, Larni HM, Kortelainen S. Reduction of venous sequelae of i.v. diazepam with a fat emulsion as solvent. *Br J Anaesth* 1981;53(12):1265-1268.
- 15 33. Micha JP, Goldstein BH, Birk CL, Rettenmaier MA, Brown JV, 3rd. Abraxane in the treatment of ovarian cancer: the absence of hypersensitivity reactions. *Gynecol Oncol* 2006;100(2):437-438.
- 20 34. Morgan M, Whitwam JG. Althesin. *Anaesthesia* 1985;40(2):121-123.
35. Guidance for Industry: Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence. United States Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA) Rockville, MD, EE.UU. 2001
- 25 36. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence. European Medicines Agency (EMA) CPMP/EWP/QWP/1401/98. Londres, Gran Bretaña. 2001
37. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. United States Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA) Rockville, MD, EE.UU. 2001
- 30 38. Diletti E, Hauschke D, Steinijans VW. Sample size determination for bioequivalence assessment by means of confidence intervals. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1992;30 Supl. 1:S51-58.
- 35 39. Kanto JH. Propofol, the newest induction agent of anesthesia. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1988;26(1):41-57.
- 40 40. Kloover JS, den Bakker MA, Gelderblom H, van Meerbeeck JP. Fatal outcome of a hypersensitivity reaction to paclitaxel: a critical review of premedication regimens. *Br J Cancer* 2004;90(2):304-305.
41. Gupta SK, Manfro RC, Tomlanovich SJ, Gambertoglio JG, Garovoy MR, Benet LZ. Effect of food on the pharmacokinetics of cyclosporine in healthy subjects following oral and intravenous administration. *J Clin Pharmacol* 1990;30(7):643-653.
- 45 42. Christians U, Klawitter J, Clavijo CF. Bioequivalence testing of immunosuppressants: concepts and misconceptions. *Kidney Int Suppl.* (115):S1-7.
43. Christians U, First MR, Benet LZ. Recommendations for bioequivalence testing of cyclosporine generics revisited. *Ther Drug Monit* 2000;22(3):330-345.
- 50 44. Kahan BD, Dunn J, Fitts C, Van Buren D, Wombolt D, Pollak R *et al.* Reduced inter- and intrasubject variability in cyclosporine pharmacokinetics in renal transplant recipients treated with a microemulsion formulation in conjunction with fasting, low-fat meals, or high-fat meals. *Transplantation* 1995;59(4):505-511.
- 55 45. Kees F, Bucher M, Schweda F, Gschaidmeier H, Faerber L, Seifert R. Neoimmun versus Neoral: a bioequivalence study in healthy volunteers and influence of a fat-rich meal on the bioavailability of Neoimmun. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2007;375(6):393-399.
46. Christians U, Schmitz V, Haschke M. Functional interactions between P-glycoprotein and CYP3A in drug metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2005; 1(4):641-654.
- 60 47. Kovarik JM, Mueller EA, van Bree JB, Fluckiger SS, Lange H, Schmidt B *et al.* Cyclosporine pharmacokinetics and variability from a microemulsion formulation--a multicenter investigation in kidney transplant patients. *Transplantation* 1994;58(6):658-663.
- 65 48. Dutta S, Matsumoto Y, Ebling WF. Propofol pharmacokinetics and pharmacodynamics assessed from a cremophor EL formulation. *J Pharm Sci* 1997;86(8):967-969.

49. Fee JP, Dundee JW, Collier PS, McClean E. Bioavailability of intravenous diazepam. *Lancet* 1984;2(8406):813.

50. Fee JP, Collier PS, Dundee JW. Bioavailability of three formulations of intravenous diazepam. *Acta Anaesthesiol Scand* 1986;30(4):337-340.

51. Lee M, Min DI, Ku YM, Flanigan M. Effect of grapefruit juice on pharmacokinetics of microemulsion cyclosporine in African American subjects compared with Caucasian subjects: does ethnic difference matter? *J Clin Pharmacol* 2001;41(3):317-323.

52. Min DI, Lee M, Ku YM, Flanigan M. Gender-dependent racial difference in disposition of cyclosporine among healthy African American and white volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2000;68(5):478-486.

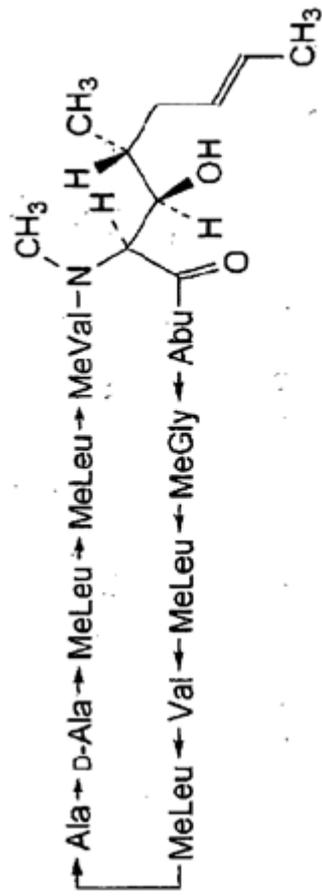
15

**REIVINDICACIONES**

1. Emulsión de ciclosporina que tiene la siguiente composición:

Componente	Concentración g/l
Ciclosporina	5
Lecitina de huevo	12
Glicerol (sin agua)	25
Oleato de sodio	0,3
Hidróxido de sodio 1 M	c.s.
Aceite de soja (triglicérido de cadena larga)	100
Triglicérido de cadena media	100
Agua para inyección	Hasta 1 l

- 5 en la que la emulsión es isoosmolar y tiene una osmolaridad de desde 280 hasta 305 mosm/l.
2. Emulsión de ciclosporina según la reivindicación 1, que es isoosmolar, es decir que tiene una osmolaridad de desde 295 hasta 300 mosm/l.
- 10 3. Emulsión de ciclosporina según la reivindicación 1 ó 2, que tiene una vida útil en almacenamiento de al menos 30 meses cuando se almacena por debajo de 25°C y protegida de la luz.
- 15 4. Emulsión de ciclosporina según la reivindicación 3, en la que la vida útil en almacenamiento es de 36 meses.
5. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el pH de la emulsión es de desde 6 hasta 8,8.
- 20 6. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en inmunosupresión u otros estados susceptibles al tratamiento con ciclosporina, en la que la administración de la emulsión a un sujeto que lo necesita se realiza sin una medicación previa con corticosteroides.
- 25 7. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el triglicérido de cadena media comprende aceite de coco o aceite de palma o una combinación de los mismos.
8. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el triglicérido de cadena media es aceite de coco, aceite de palma o una combinación de los mismos.
- 30 9. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para su uso en la reducción de la tasa de reacciones anafilácticas en pacientes sometidos a tratamiento con ciclosporina.
- 35 10. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para su uso en el tratamiento inmunosupresor con ciclosporina.
11. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para su uso en lesión por reperfusión cardiaca.
12. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para su uso para prevenir daño cerebral.
- 40 13. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para su uso para prevenir lesión por reperfusión.
14. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para su uso en lesión por reperfusión renal.
- 45 15. Emulsión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para su uso en lesión por reperfusión hepática.



Fórmula estructural:

Fig. 1

Diagrama de flujo

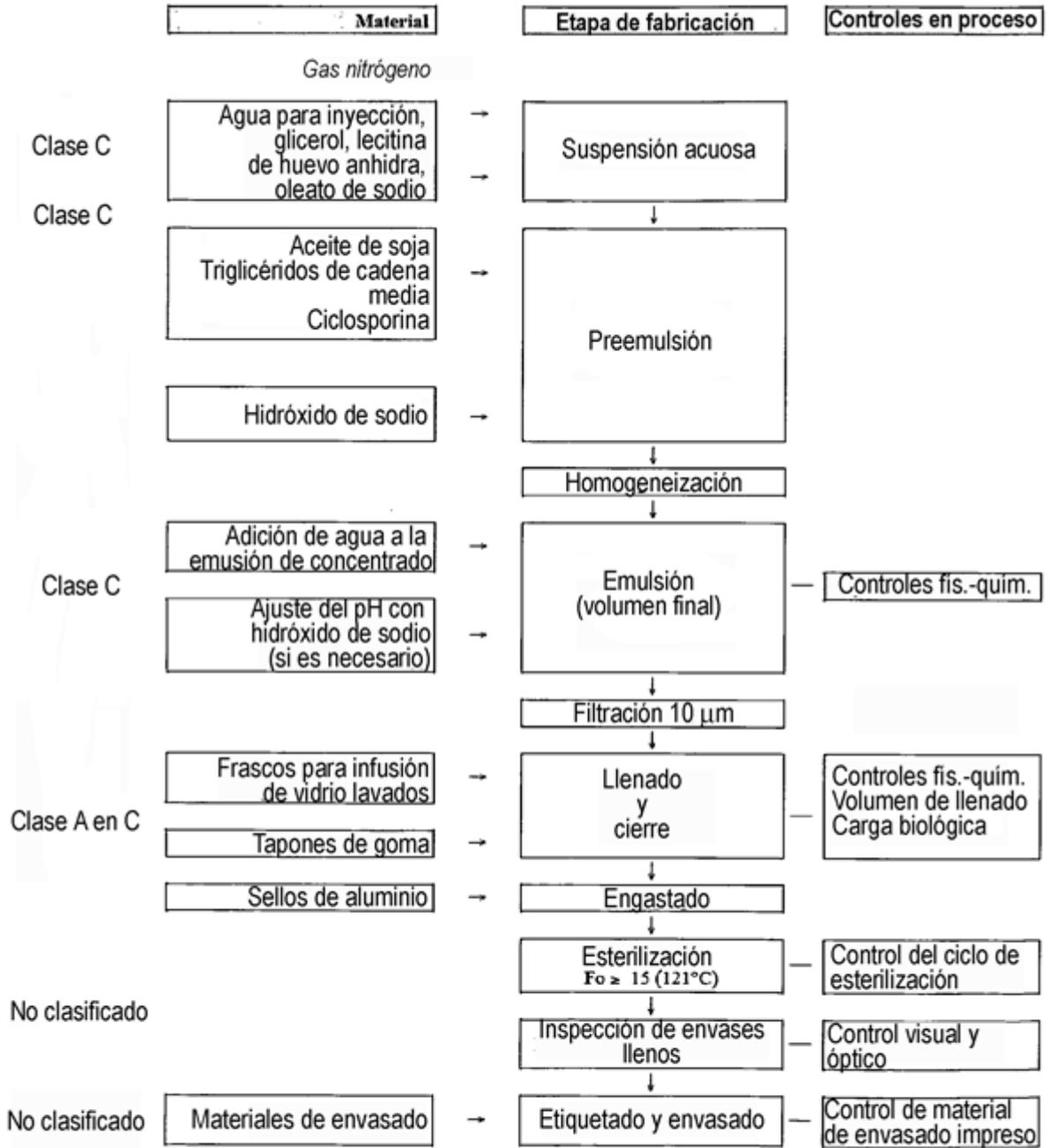


Fig. 2

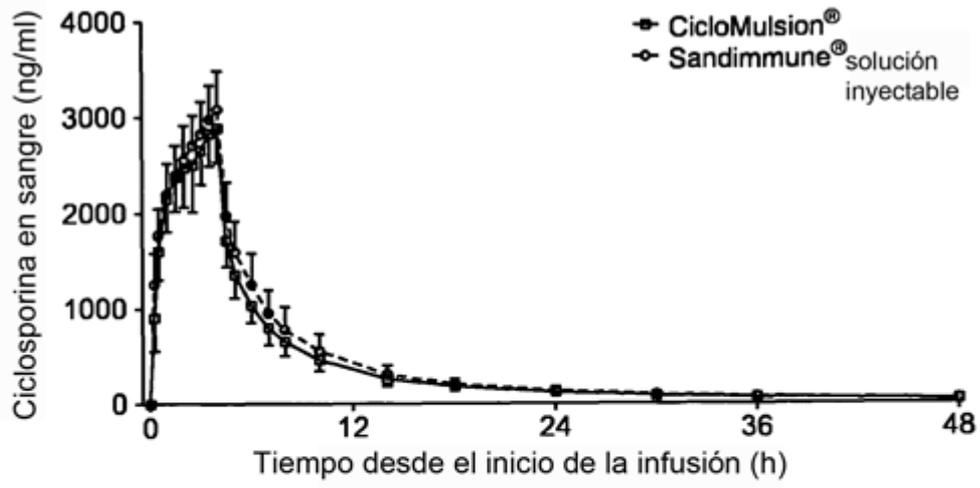


Fig. 3

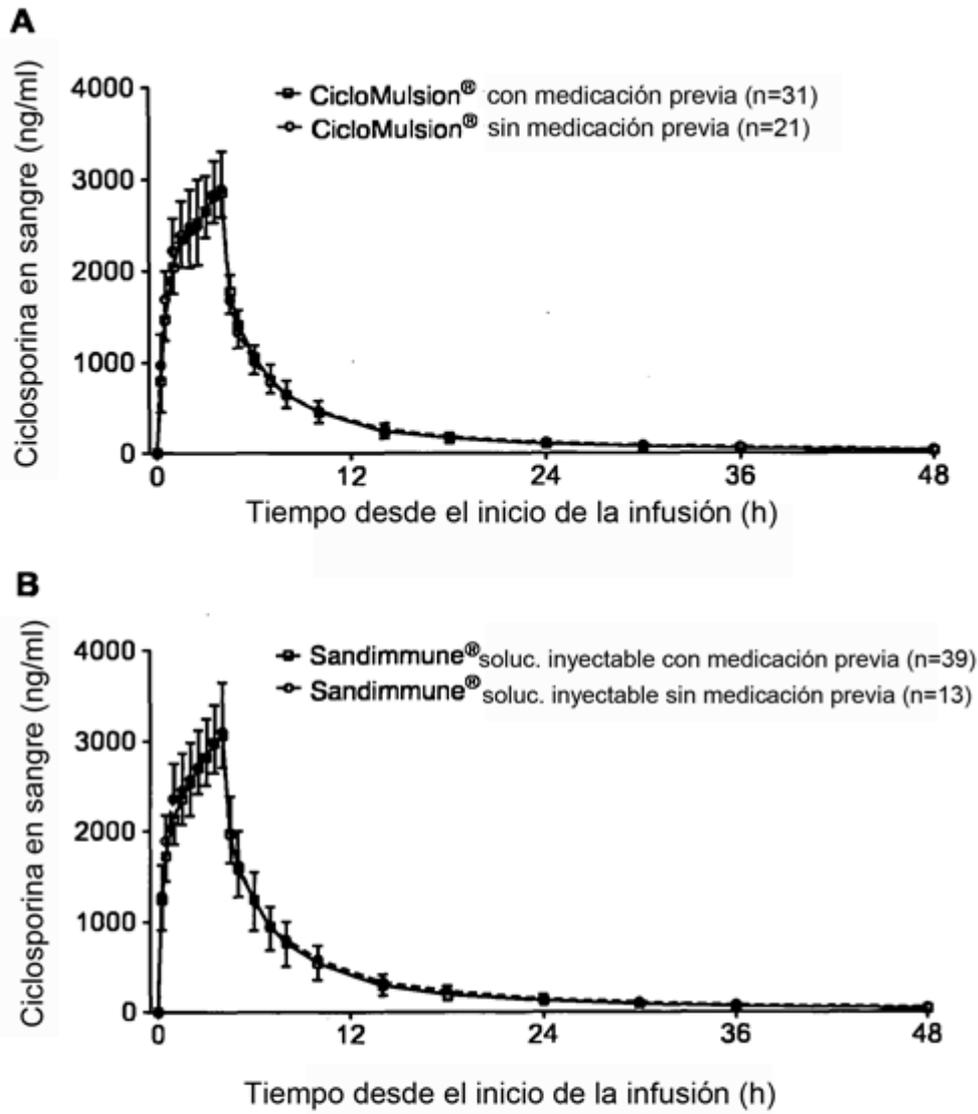


Fig. 4