

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 663**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/14** (2006.01)

**A61K 31/436** (2006.01)

**A61K 31/445** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

**A61K 9/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.03.2010 PCT/EP2010/054277**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.10.2010 WO10112541**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2010 E 10711896 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016 EP 2413908**

54 Título: **Composición farmacéutica que comprende un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús"**

30 Prioridad:

**31.03.2009 FR 0952049**

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

**08.03.2017**

73 Titular/es:

**ETHYPHARM (100.0%)  
194 Bureaux de la Colline Bâtiment D  
92210 Saint-Cloud, FR**

72 Inventor/es:

**DESCHAMPS, FRANTZ;  
HERRY, CATHERINE;  
JUNG, JENNIFER y  
LEBOEUF, FABRICE**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

ES 2 604 663 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

Composición farmacéutica que comprende un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús".

5 La presente invención tiene por objeto una nueva composición farmacéutica para la administración oral que comprende esencialmente unas partículas finas cristalinas de una lactona macrocíclica que pertenece a la clase terapéutica de los inmunosupresores que actúan sobre las inmunofilinas, en particular un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" y uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables.

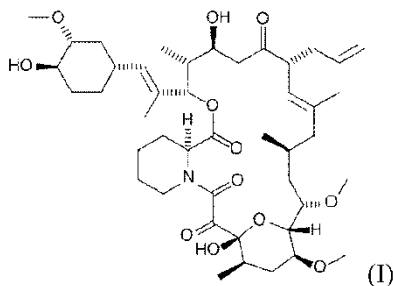
10 Más particularmente, la presente invención se refiere a formulaciones excipientes/macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" y a los comprimidos que comprenden dichas formulaciones excipientes/macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús".

15 La presente invención se refiere asimismo al procedimiento de preparación de las formulaciones excipientes/macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús".

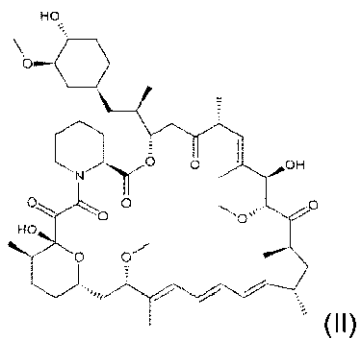
Los macrólidos inmunosupresores de la familia de los "limús" están representados por el tacrolimús, el sirolimús y sus análogos tales como el temsirolimús.

20 El tacrolimús, también conocido bajo el nombre de FK-506 o de Fujimycine, es sintetizado por una bacteria, *Streptomyces tsukubaensis*. Este producto está representado por la fórmula (I) y tiene como nombre químico el -5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26 a-hexadecahidro-5, 19-dihidroxi-3-[2-(4-hidroxi-3-metoxiciclohexil)-1-metiletetil]-14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-8-(2-propenil)-15,19-epoxi-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazaciclotricosin-1,7,20,21 (4H,23H)-tetrona.

25 El tacrolimús comercializado bajo el nombre de Prograf<sup>®</sup> se presenta en forma de dispersión sólida obtenida por coprecipitación en presencia de disolventes orgánicos.



30 El sirolimús o rapamicina es un lactamo-macrólido inmunosupresor que es producido por *Streptomyces hygroscopicus*. La patente US nº 3.929.992 describe la preparación del sirolimús. Este producto está representado por la fórmula (II) y tiene como nombre químico la (3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,10,12,13,14,21,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-hexadecahidro-9,27-dihidroxi-3-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metiletetil]-10,21-dimetoxi-6,8,12,14,20,26-hexametil-23,27-epoxi-3H-pirido[2,1-c][1,4]-oxaazaciclo hentriacontin - 1,5,11,28,29 (4H,6H,31H) - pentona.



40 El sirolimús, utilizado en la prevención de rechazo del trasplante renal, se ha comercializado bajo el nombre de RAPAMUNE<sup>®</sup>, especialidad que se presenta en la forma de comprimidos recubiertos (1 mg o 2 mg) en el que el sirolimús nanodispersado según la tecnología Nanocrystal<sup>®</sup> en presencia de poloxamer 188 se encuentra en una de las capas de recubrimiento del comprimido. La tecnología Nanocrystal<sup>®</sup> está descrita como una tecnología de trituración en medio húmedo que conduce a la obtención de una dispersión de nanopartículas en un medio acuoso que contiene unos agentes de estabilización. Por lo tanto, es necesario convertir esta dispersión en forma seca para

producir una forma farmacéutica comercial estable, lo que puede representar un trabajo de desarrollo complejo y presentar riesgos de degradación o de pérdida del principio activo durante las etapas de conversión en forma seca.

5 La utilización por vía oral de macrólidos inmunosupresores de la familia de los "limús" está limitada por su biodisponibilidad, muy baja y variable. Estos compuestos son altamente insolubles en los medios biológicos, lo que hace difícil su formulación.

10 La solicitud de patente WO 2007/091109 describe una composición en forma de granulados a base de tacrolimús amorfo previamente disuelto en etanol y que comprende al menos un excipiente diluyente y un excipiente aglutinante.

15 La patente EP 0 868 911 se refiere a composiciones de sirolimús que comprenden un núcleo y un recubrimiento de azúcar, conteniendo sirolimús dicho recubrimiento de azúcar, uno o varios azúcares y uno o varios agentes modificadores de superficie.

La patente EP 0 839 028 se refiere a composiciones de rapamicina amorfa en forma de dispersión sólida en un polímero hidrosoluble o una ciclodextrina.

20 La solicitud de patente EP 1 938 800 se refiere a nanodispersiones de sirolimús que comprenden un modificador de superficie y unas partículas de sirolimús de tamaño medio comprendido entre 400 y 1200 nm.

25 Generalmente, la nanonización de un principio activo muy poco soluble en agua permite mejorar su solubilidad aparente. Sin embargo, esta disminución de tamaño conlleva varios inconvenientes. Las partículas nanonizadas no son estables y tienden a aglomerarse, por lo tanto se producen generalmente en formas de dispersiones en un medio acuoso que contiene unos agentes de estabilización. Por otro lado, la trituración en dimensiones submicrónicas por unos procedimientos mecánicos presenta un riesgo elevado de cambio de cristalinidad y/o de polimorfismo del principio activo con un riesgo de producción de una proporción importante de forma amorfa. Ahora bien, la forma amorfa es menos estable que la forma cristalina y evolucionará hacia una forma cristalina a lo largo del tiempo con un impacto potencial sobre el comportamiento en disolución y en el hombre.

30 La solicitud de patente WO 2007/067566 describe la preparación de un derivado de sirolimús en forma cristalina a partir de materia bruta tal como se obtiene según el procedimiento descrito en la patente US nº 5.985.325. El tamaño de las partículas de los derivados de sirolimús es superior a 30 µm.

35 Esta solicitud de patente describe un método de cristalización clásica en la que el macrólido es purificado después de la disolución en una solución de acetato de etilo calentada a 52-58°C, solución que se filtra después. Se añade después un disolvente de precipitación.

40 Por otro lado, se precisa en el texto de esta solicitud que la cristalinidad del sirolimús o de sus derivados contribuye a la calidad general del producto, en particular en términos de estabilidad a la degradación oxidativa; siendo las formas amorfas o parcialmente cristalinas sometidas a una degradación oxidativa rápida.

45 Por lo tanto, es importante poder preparar una forma cristalina del sirolimús y en particular mediante un procedimiento simplificado, que no utiliza ningún disolvente orgánico y en forma de partículas finas, de manera preferida de partículas submicrónicas.

50 La presente invención tiene por lo tanto por objeto una composición farmacéutica para la administración oral, caracterizada por que comprende una formulación excipiente/producto de macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" que contiene unas partículas de al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable en los que se captan unas partículas finas cristalinas de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" según la invención.

Otro objeto de la invención se refiere a una composición farmacéutica para la administración oral a base de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" que comprende:

- 55 (a) unas partículas de al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable,
- (b) en las que se captan unas partículas finas cristalinas de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" según la invención, estando dicha composición farmacéutica en forma de cápsula blanda o de comprimido.
- 60

Otro objeto de la invención se refiere a un procedimiento de preparación de una formulación excipiente/producto de la invención.

65 Otro objeto de la invención se refiere a un procedimiento de preparación de una composición farmacéutica para la administración oral según la invención.

Definiciones en el contexto de la presente descripción de la invención:

5 Por "partículas finas" de un macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" se entienden unas partículas de un tamaño medio inferior a algunos micrones, preferentemente de un tamaño submicrónico. Las partículas finas presentan preferentemente un diámetro volúmico medio (dv(0,5)), inferior a 2  $\mu\text{m}$ , de manera también preferida inferior a 1  $\mu\text{m}$ , de manera particularmente preferida inferior a 500 nm. El 90% de las partículas finas presentan preferentemente un diámetro volúmico (dv(0,9)) inferior a 5  $\mu\text{m}$ , de manera también preferida inferior a 2  $\mu\text{m}$ .

10 Las expresiones "forma cristalina" o "partícula cristalina" designan, en el sentido de la presente descripción, un producto en forma polimórfica estable.

15 Por "forma polimórfica" se entiende una estructura organizada que implica sólo unas moléculas de producto, que poseen una huella cristalina característica.

Por "libre de disolvente" según la invención, se entiende no preparado en forma de dispersión, por ejemplo en agua, etanol, alcohol isopropílico o sus mezclas.

20 Por "libre de agente modificador de superficie" según la presente invención, se entiende libre de agente utilizado para dispersar el producto en un disolvente y aumentar la humectabilidad del producto, como por ejemplo la gelatina, la caseína, la lecitina, la goma de acacia, el ácido esteárico, el estearato de calcio, la carboximetilcelulosa y sus derivados, la metilcelulosa, la hidroxietilcelulosa, la hidroxipropilcelulosa, el hidroxipropilmetilcelulosa ftalato.

25 Por "producto" según la presente invención, se entiende un macróido inmunosupresor de la familia de los "limús".

Por "formulación excipiente/producto" según la presente invención, se entienden unas partículas finas cristalinas de un macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" captadas en unas partículas de al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, las partículas de excipientes pueden ser unos polvos directamente compresibles o unos gránulos de una granulometría comprendida entre 75 y 600  $\mu\text{m}$ .

30 Por "captadas" según la presente invención, se entiende depositadas uniformemente en la superficie y/o atrapadas en el interior de los poros de las partículas de excipiente.

35 Por "fluido a presión supercrítica", se entiende o bien un fluido supercrítico, es decir un fluido llevado a una presión y a una temperatura respectivamente superiores a su presión y a su temperatura crítica en el caso de un cuerpo puro, o bien por un punto representativo (presión, temperatura) situado más allá del revestimiento de los puntos críticos representados en un diagrama (presión, temperatura) en el caso de una mezcla; o bien un líquido denominado "subcrítico" es decir un líquido que se encuentra en un estado caracterizado bien por una presión superior a la presión crítica y por una temperatura inferior a la temperatura crítica en el caso de un cuerpo puro, o bien por una presión superior a las presiones críticas y una temperatura inferior a las temperaturas críticas de los componentes en el caso de una mezcla. Cabe señalar que las propiedades fisicoquímicas del dióxido de carbono, así como sus parámetros críticos (presión crítica: 7,4 MPa y temperatura crítica: 31°C), hacen de él el fluido preferido en numerosas aplicaciones, puesto que no presenta toxicidad y está disponible a muy bajo coste en cantidades muy grandes.

#### 45 Descripción de las figuras

50 la figura 1.1 es un esquema del funcionamiento general de la instalación de producción de partículas cristalinas finas según la invención.

la figura 1.2 es un esquema que representa los resultados de análisis entálpico diferencial de barrido (DSC) para la caracterización del estado sólido del sirolimús.

55 la figura 2.1 es un termograma de formulaciones sirolimús/manitol (ensayo 2-1) y de la mezcla física correspondiente.

la figura 2-2 es un termograma de formulaciones sirolimús/manitol (ensayo 2-2) y de la mezcla física correspondiente.

60 la figura 2-3 es un termograma de formulaciones sirolimús/celulosa (ensayo 2-3) microcristalina y de la mezcla física correspondiente.

65 la figura 2-4 es un esquema que compara unas observaciones con microscopio electrónico de barrido para el manitol puro (arriba) y la formulación sirolimús/manitol (Ensayo 2.1)(abajo).

la figura 2-5 es un esquema que compara unas observaciones con microscopio electrónico de barrido para la

lactosa pura (arriba) y la formulación sirolimús/lactosa (Ensayo 2.2)(abajo).

la figura 2-6 es un esquema que compara unas observaciones con microscopio electrónico de barrido para la celulosa microcristalina pura (arriba) y la formulación sirolimús/celulosa microcristalina (Ensayo 2-3) (abajo).

la figura 2-7 es un esquema que representa la distribución de tamaño de partículas para la formación sirolimús/manitol (ensayo 2-1).

la figura 2-8 es un esquema que representa la distribución de tamaño de partículas para la formación sirolimús/lactosa (ensayo 2-2).

la figura 2-9 es un esquema que compara unas curvas de disolución *in vitro* de las formulaciones sirolimús/excipiente envasadas en cápsulas blandas frente a comprimidos de Rapamune® 2 mg.

la figura 3-1 es un esquema que compara unas curvas de disolución *in vitro* de las formulaciones sirolimús/excipiente envasadas en forma de comprimidos frente a comprimidos de Rapamune® 2 mg

### Descripción detallada de la invención

Un primer objeto de la invención se refiere a una composición farmacéutica para la administración oral, caracterizada por que comprende una formulación excipiente/producto de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" que contiene unas partículas de al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable en los que se captan unas partículas finas cristalinas de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" según la invención.

Las partículas de excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser de cualquier naturaleza química y preferentemente formadas por un azúcar, de un poliol, de almidón, de un derivado celulósico, de aluminosilicato de magnesio o sus mezclas.

Las partículas de excipientes presentan una granulometría comprendida entre 75 y 600 micrones, preferentemente entre 300 y 600 micrones.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables se seleccionan ventajosamente entre la lactosa (Pharmatose DCL21), la celulosa microcristalina (Avicel PH 200) y el manitol (Pearlitol 200 SD).

El porcentaje de carga del macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" sobre las partículas de excipientes farmacéuticamente aceptables está comprendido entre el 0,5 y el 10%, y preferentemente entre el 1 y el 4%.

Un segundo objeto de la invención se refiere a una composición farmacéutica para la administración oral a base de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" que comprende:

- a. unas partículas de por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable,
- b. en las que se captan unas partículas finas cristalinas de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" según la invención.

Una composición farmacéutica según la invención puede presentarse en forma de cápsula o de comprimido.

Según una primera forma de de realización de la invención, una composición farmacéutica según la invención está constituida por la formulación excipiente/producto según la invención envasada en forma de cápsula.

Según una segunda forma de realización de la invención, una composición farmacéutica según la invención es un comprimido que comprende únicamente la formulación excipiente/producto según la invención. Ventajosamente, los excipientes farmacéuticamente aceptables utilizados para preparar la formulación excipiente/producto según la invención se seleccionan preferentemente entre los excipientes conocidos por el experto en la materia por presentar buenas propiedades de compresión.

Los comprimidos de la invención pueden comprender opcionalmente uno u otros varios excipientes seleccionados del grupo constituido de los agentes diluyentes, de los agentes aglutinantes, de los agentes antiestáticos, de los agentes lubricantes, de los agentes permeabilizantes, de los agentes modificadores de pH, de los agentes antioxidantes, de los edulcorantes, de los aromas y de sus mezclas. Ventajosamente, un comprimido de la invención está constituido de la formulación excipiente/producto según la invención y de uno o varios excipientes seleccionados del grupo constituido de los agentes diluyentes, de los agentes aglutinantes, de los agentes antiestáticos, de los agentes lubricantes, de los agentes permeabilizantes, de los agentes modificadores de pH, de los agentes antioxidantes, de los edulcorantes, de los aromas y de sus mezclas.

La proporción de otros excipientes con respecto a la formulación excipiente/producto de la invención en el comprimido de la invención puede ser variable.

Ventajosamente, la mezcla de excipientes comprende:

- 5
- uno o más agentes diluyentes que permiten garantizar una masa de comprimido en adecuación con las limitaciones de fabricación. Todos los excipientes farmacéuticamente aceptables y descritos como diluyentes pueden ser utilizados, entre ellos los derivados de la celulosa o la lactosa,
- 10
- uno o más agentes aglutinantes que permiten obtener unos comprimidos de propiedades físicas (dureza, friabilidad) adecuadas. Todos los excipientes farmacéuticamente aceptables y descritos como aglutinantes pueden ser utilizados, entre ellos las celulosas, los fosfatos de calcio y la lactosa,
- 15
- se pueden añadir unos agentes antiestáticos, lubricantes o que facilitan el flujo para mejorar las propiedades de la mezcla de comprimidos. Entre ellos los derivados de la sílice, el talco, el estearato de magnesio, el estearilfumarato de sodio,
- 20
- unos agentes modificadores de pH que permiten crear un micro-pH alrededor de la molécula. Entre estos agentes, se pueden considerar unos agentes básicos como el bicarbonato de sodio o el carbonato de calcio, o unos ácidos como el ácido cítrico o el ácido fumárico,
- 25
- unos colorantes, edulcorantes, aromatizantes pueden también ser añadidos en función de las necesidades de la formulación,
  - unos antioxidantes.

Una composición farmacéutica de la invención en forma de comprimido presenta preferentemente un porcentaje de disolución superior al 60%, de manera particularmente preferida superior al 70% en 10 min.

30 Una composición farmacéutica de la invención en forma de comprimido presenta preferentemente un porcentaje de disolución superior al 80%, de manera particularmente preferida superior al 90% en 20 min.

35 Una composición farmacéutica de la invención en forma de comprimido presenta preferentemente un porcentaje de disolución superior al 90%, de manera particularmente preferida superior al 95% en 30 min.

Estos porcentajes de disolución se entienden preferentemente en un medio de disolución compuesto del 0,4% de sodio dodecil sulfato (SDS) en agua conforme a la farmacopea europea.

40 Una composición farmacéutica de la invención comprende ventajosamente 1 o 2 mg de producto.

45 La presente invención se refiere también a un procedimiento de preparación de las partículas finas cristalinas de producto de la invención y de formulaciones excipiente/producto de la invención.

Las partículas finas cristalinas de producto de la invención y las formulaciones excipiente/producto de la invención se obtienen en condiciones particularmente ventajosas mediante un procedimiento que utiliza un fluido a presión supercrítica. Entre los procedimientos de producción de partículas finas que utilizan un fluido supercrítico, se conoce por ejemplo el procedimiento conocido bajo el acrónimo RESS, por "rapid expansion of supercritical solutions" descrito en los documentos US nº 4.582.731 y WO 01/43853.

50 Se describe en primer lugar el funcionamiento general de la instalación según la figura 1-1 después el funcionamiento específico de esta instalación para la preparación de una forma cristalina de un compuesto de tipo "limús", así como los medios utilizados para obtener una formulación excipiente/sirolimús compuesta de partículas de excipientes en las que se captan unas partículas cristalinas de un compuesto de tipo "limús".

55 Según la puesta en práctica más habitual de la técnica denominada RESS, el producto que se debe micronizar o nanonizar se coloca en una célula de extracción (tubo cerrado en los extremos por unos sinterizados de acero inoxidable para evitar el arrastre del producto por el fluido). Esta célula se coloca en el interior de un autoclave de extracción (5) calentado a la temperatura de extracción seleccionada. El fluido se bombea (3) desde el almacenamiento (2) y atraviesa un intercambiador caliente (4) ajustado a la temperatura de extracción deseada antes de entrar en el autoclave de extracción. La solución de producto solubilizado en el fluido a presión supercrítica que sale de la autoclave se envía hacia un recinto de pulverización (7) en el que la solución se despresa bruscamente a una temperatura y a una presión dada a través de una boquilla (8). Un dispositivo de calentamiento (6) situado inmediatamente aguas arriba del autoclave de pulverización permite ajustar la temperatura de preexpansión del fluido. La caída de presión a través de la boquilla induce a una caída brusca de la solubilidad del producto en el fluido, conduciendo a la formación de partículas finas dentro del recinto de pulverización. Este recinto de pulverización se utiliza muy frecuentemente a presión atmosférica.

60

65

5 En una forma de realización ventajosa, el recinto de pulverización contiene una cesta de recogida cuyo fondo está cerrado por un filtro a fin de evitar el arrastre de las finas partículas formadas por el fluido. El fluido se evacúa después en la atmósfera o eventualmente se recomprime y se recicla. El procedimiento RESS ofrece por lo tanto la posibilidad de producir en una etapa, en ausencia de disolvente y/o de agentes tensioactivos, unas partículas finas secas, de un producto.

10 En el contexto de la presente invención, se reveló de manera sorprendente que la utilización de una presión sustancialmente superior a la presión atmosférica en el recinto de pulverización y ajustada con la ayuda de la válvula de regulación de presión aguas arriba (11) permite, independientemente de la temperatura de preexpansión ajustada por el dispositivo de calentamiento (6), obtener partículas finas cristalinas de un macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" con un estado sólido parecido al del producto cristalino de partida, sin o con poca fase amorfa, lo que debería permitir asegurar la estabilidad a largo plazo del estado sólido del macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" dentro de las partículas, ya que se obtiene el principio activo en una forma cristalina estable sin riesgo de recristalización de una fase amorfa, pero también su estabilidad química en la medida en la que la presencia de fase amorfa en unos polvos del macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" es conocida como un factor que disminuye la estabilidad de este tipo de principio activo.

20 Otro objeto de la invención se refiere por lo tanto a un procedimiento de preparación de partículas finas cristalinas de un macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" que comprende las etapas siguientes:

- solubilización de un macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" en un fluido a presión supercrítica en una autoclave de extracción (5),
- 25 - despresurización brusca de la solución obtenida en la etapa anterior a través de una boquilla (8) en un recinto de pulverización (7), siendo la presión en el recinto de pulverización sustancialmente superior a la presión atmosférica.

30 Preferentemente, el fluido utilizado es el CO<sub>2</sub>, llevado a una presión superior a su presión crítica (7,4 MPa), entre 10 y 100 MPa, y preferentemente entre 10 y 40 MPa, y a una temperatura superior a su temperatura crítica (31°C), preferentemente entre 35 y 80°C, en la autoclave de extracción.

35 Preferentemente, la precipitación del macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" se obtiene por expansión de la solución de dicho macróido en el CO<sub>2</sub> supercrítico llevado a una temperatura de preexpansión de 60 a 140°C, y preferentemente entre 60 y 100°C.

Preferentemente, la presión en el recinto de pulverización (7) está comprendida entre 1 y 7 MPa, y preferentemente entre 1 y 4 MPa.

40 Otro objeto de la invención se refiere a un procedimiento de preparación de la formulación excipiente/producto de la invención.

45 La técnica RESS, en particular el procedimiento de preparación de partículas finas sólidas de la invención descrita anteriormente, se utiliza entonces con una etapa de captura de las partículas formadas en un lecho de excipiente (10) colocado en el recinto de pulverización (7). Esta utilización particular, descrita en la patente EP 1 239 938 permite capturar de manera muy eficaz las partículas formadas durante el procedimiento. Además, esta realización permite mejorar de manera muy significativa la calidad de uso de las finas partículas del macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" con respecto a la realización clásica de la técnica RESS, siendo las partículas finas depositadas en unas partículas de al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable tal como se ha descrito anteriormente.

50 En una forma de realización preferida del procedimiento de preparación de la formulación excipiente/producto de la invención:

- 55 - el fluido utilizado es el CO<sub>2</sub>, llevado a una presión superior a su presión crítica (7,4 MPa), entre 10 y 100 MPa, y preferentemente entre 10 y 40 MPa, y a una temperatura superior a su temperatura crítica (31°C), preferentemente entre 35 y 80°C, en la autoclave de extracción,
- 60 - la precipitación del macróido inmunosupresor de la familia de los "limús" se obtiene por expansión de la solución de dicho macróido en el CO<sub>2</sub> supercrítico llevado a una temperatura de preexpansión de 60 a 140°C, y preferentemente entre 60 y 100°C,
- la presión en el recinto de pulverización (7) está comprendida entre 1 y 7 MPa, y preferentemente entre 1 y 4 MPa,
- 65 - se capturan unas partículas finas cristalinas del macróido inmunosupresor de la familia de los "limús"

formadas en un lecho de al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable (10) colocado en el recinto de pulverización (7).

5 La presente invención tiene también por objeto una composición farmacéutica para su utilización como tratamiento inmunosupresor a título preventivo y/o curativo, en particular para tratar y/o prevenir un rechazo después de un trasplante de órgano, por ejemplo de riñón.

10 Una composición farmacéutica según la invención se puede utilizar en un método de tratamiento de un paciente que ha recibido un trasplante de órgano, por ejemplo de riñón, en una cantidad suficiente para tratar y/o prevenir el rechazo del órgano trasplantado.

La presente invención se ilustra con mayor detalle mediante los ejemplos descriptivos siguientes.

15 **Ejemplos**

**Ejemplo 1: Producción de partículas de sirolimús puros mediante el procedimiento RESS**

20 El procedimiento RESS se realiza para la producción de partículas de sirolimús puro, sin excipiente en el recinto de pulverización, con un equipamiento de tamaño de laboratorio que corresponde al esquema descrito en la figura 1-1.

25 Se disponen 0,5 g de sirolimús (lote S01) mezclado con aproximadamente 6 g de bolas de vidrio de 1 mm de diámetro en una célula de extracción de 10 ml. Dicha célula se coloca en el interior del autoclave de extracción (5) calentado a una temperatura de 60°C. Después de una etapa de puesta en marcha, el dióxido de carbono en estado supercrítico, a una presión de 40 MPa, una temperatura de 60°C y un caudal de 0,3 kg/h, percola a través de la célula de extracción para extraer el sirolimús. La solución de sirolimús en el dióxido de carbono supercrítico se libera a través de una boquilla de pulverización (8) constituida por un capilar PEEK de diámetro interno de 63 µm y de longitud adecuada para la presión y al caudal de trabajo. La temperatura de preexpansión se ajusta por medio de un dispositivo de calentamiento (6) situado inmediatamente aguas arriba de la boquilla. El recinto de pulverización (7), de un volumen interior útil de 65 ml, se calienta a 60°C. La presión dentro del recinto de pulverización se ajusta mediante una válvula de regulación de la presión aguas arriba (11). Después de 5 horas de realización, la bomba de CO<sub>2</sub> se detiene y se disminuye gradualmente la presión en el recinto de pulverización hasta la presión atmosférica en aproximadamente 30 minutos antes de la recogida del producto.

35 Se han llevado a cabo dos series de tres ensayos. Cada serie corresponde a una temperatura de preexpansión de la solución supercrítica.

40 Más precisamente, la primera serie de ensayos se lleva a cabo con una temperatura de preexpansión de 60°C. La expansión realizada a través del conducto es muy breve y se supone generalmente isentálpica. Por lo tanto, el experto en la técnica puede determinar que una expansión realizada en estas condiciones conduce a la presencia de una mezcla de CO<sub>2</sub> líquido y de CO<sub>2</sub> gaseoso inmediatamente aguas abajo del conducto. La segunda serie de ensayos se lleva a cabo con una temperatura de preexpansión de 140°C, es decir aproximadamente la temperatura mínima de preexpansión requerida para que el CO<sub>2</sub> sea integralmente en estado gaseoso aguas abajo de la boquilla de pulverización.

45 Para cada serie, se llevan a cabo unos ensayos con unas presiones en el recinto de pulverización de 3, 1 y 0,1 MPa. La tabla 1-1 resume los parámetros utilizados para los seis ensayos.

Número del ensayo	Temperatura de preexpansión de la solución supercrítica (°C)	Presión en el recinto de pulverización (MPa)
1-1	60	3
1-2	60	1
1-3	60	0,1
1-4	140	3
1-5	140	1
1-6	140	0,1

Tabla 1-1: condiciones de realización para los ensayos 1-1 a 1-6

50 Para cada ensayo, se ha extraído una masa de aproximadamente 150 mg de sirolimús y se ha recogido una muestra de aproximadamente 100 mg de partículas de sirolimús en el recinto de pulverización.

55 **Resultados**

Las partículas finas de sirolimús obtenidas mediante el procedimiento RESS se han caracterizado por análisis entálpico diferencial de barrido (DSC) para la caracterización del estado sólido del sirolimús dentro de las partículas



y por cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (CLHP) para cuantificación del título y del perfil de sustancias relacionadas.

Los resultados de análisis calorimétrico diferencial de barrido (DSC) (figura 1-2) muestran que, para las dos series de ensayos, una presión en el recinto de pulverización de 3 MPa permite producir una materia cristalina con un estado sólido similar al de la materia prima mientras que unas presiones de pulverización de 1 y 0,1 MPa conducen a la obtención de partículas de sirolimús de menor porcentaje de cristalinidad. En efecto, las curvas en la figura 1-2 ponen en evidencia una disminución sensible del la entalpía global del pico endotérmico principal que corresponde a la fusión del sirolimús entre 185 y 195°C con la presión de pulverización, sea cual sea la temperatura de preexpansión. Las partículas de sirolimús obtenidas a una presión de pulverización de 1 o 0,1 MPa están constituidas muy probablemente de la mezcla de una fase cristalizada y de una fase amorfa.

El análisis por cromatografía en fase líquida de alto rendimiento indica una buena estabilidad del sirolimús durante el procedimiento para los ensayos realizados con una temperatura de preexpansión de 60°C: título y perfil de sustancias relacionadas son similares a los del producto de partida para el conjunto de las muestras. Por el contrario, este mismo análisis revela que la zona relativa de un pico cromatográfico (tiempo de retención relativo = 1,56) para los ensayos llevados a cabo con una temperatura de preexpansión de 140°C es más importante que para el producto de partida. Además, debe apreciarse que este pico cromatográfico no se observa para las partículas de sirolimús producidas con una temperatura de preexpansión de 60°C.

En consecuencia, parece que unas condiciones de realización particulares (temperatura de preexpansión de 60°C y presión en el recinto de pulverización de 3 MPa) permiten al mismo tiempo conservar la cristalinidad del sirolimús y asegurar la estabilidad del producto con respecto al producto de partida durante el procedimiento. Por el contrario, estas condiciones de realización conducen a bajos rendimientos de recogida y a polvos de manipulación poco fácil.

#### **Ejemplo 2: producción de formulaciones excipiente/producto (sirolimús) por el procedimiento RESS**

Se realiza el procedimiento RESS para la producción de partículas de sirolimús depositadas en un excipiente previamente depositado en el recinto de pulverización, con un equipamiento de tamaño piloto que corresponde al esquema descrito en la figura 1-1.

Se disponen 50 g de excipiente en forma de polvo (10) inicialmente en la cesta de recogida situada en el recinto de pulverización. Se disponen 1,25 g de sirolimús (lote S02) mezclados con aproximadamente 20 g de perlas de vidrio de 1 mm de diámetro en una célula de extracción de 20 ml. Dicha célula se coloca en el interior del autoclave de extracción (5) calentado a una temperatura de 60°C. Después de una etapa de puesta en marcha, el dióxido de carbono en estado supercrítico, a una presión de 33 MPa, una temperatura de 60°C y un caudal de 2,0 kg/h, sufre una percolación a través de la célula de extracción para extraer el sirolimús. La solución de sirolimús en el dióxido de carbono supercrítico se libera a través de una boquilla de pulverización (8) constituida por un capilar PEEK de diámetro interno de 127 µm y de longitud adecuada a la presión y al caudal de trabajo. El recinto de pulverización (7), de un volumen interior útil de 300 ml, se calienta a 60°C. Este mismo recinto está provisto de un agitador de arrastre magnético sobre el eje al cual se adapta una pala de tipo ancla marina, que permite, en caso de que sea necesario, uniformizar la distribución del excipiente en la cesta de recogida. El procedimiento se lleva a cabo con una temperatura de preexpansión de 60°C y una presión en el recinto de pulverización de 3 MPa, es decir las condiciones optimizadas a partir del ejemplo 1 en términos de control del estado sólido del sirolimús y de estabilidad química del producto durante el procedimiento. Después de 5 horas de realización, la bomba de CO<sub>2</sub> se detiene y se disminuye gradualmente la presión en el recinto de pulverización hasta la presión atmosférica en aproximadamente 30 minutos antes de la recogida del producto.

Se han llevado a cabo unos ensayos con tres excipientes diferentes, como se indica en la tabla 2-1.

Número del ensayo	Tipo de excipiente	Nombre comercial del excipiente utilizado
2-1	Manitol	Pearlitol 200 SD
2-2	Lactosa	Pharmatose DCL21
2-3	Celulosa microcristalina	Avicel PH 200

Tabla 2.1: excipientes utilizados para los ensayos 2-1 a 2-3

En las condiciones experimentales seleccionadas, aproximadamente 1,20 g de sirolimús se ha solubilizado y pulverizado sobre aproximadamente 50 g de excipiente durante cada ensayo, es decir un porcentaje de carga teórica en sirolimús para cada formulación de aproximadamente un 2,3% en masa. Para los tres excipientes ensayados, la formulación final recogida en la cesta del recinto de pulverización es físicamente homogénea (ningún aglomerado) y presenta el mismo aspecto que las partículas de excipiente iniciales.

Resultados

Para cada ensayo, la muestra recogida se ha caracterizado por:

- 5 - un análisis entálpico diferencial de barrido (DSC) para la caracterización del estado sólido del sirolimús dentro de la formulación,
- una cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (CLHP) para la medición de los porcentajes de carga real y la verificación del perfil de sustancias relacionadas,
- 10 - una microscopía electrónica de barrido (MEB) para la observación de la superficie de las partículas de excipiente tales como recibidas y de las formulaciones sirolimús/excipiente,
- una granulometría láser por difracción de luz después de la dispersión de las formulaciones en un vehículo acuoso y disolución del excipiente para medir el tamaño de las partículas de sirolimús en la formulación, únicamente para las formulaciones sobre manitol y lactosa, no pudiendo la celulosa ser solubilizada en tal medio acuoso,
- 15 - un ensayo de disolución *in vitro* para la comparación con respecto a una formulación de referencia.
- 20

Las figuras 2-1 a 2-3 presentan, para los tres ensayos, la comparación de los termogramas del excipiente puro y de la formulación sirolimús/excipiente. Para cada una de las tres formulaciones sirolimús/excipiente, el termograma de la formulación es muy similar al del excipiente solo y no pone en evidencia ninguna anomalía en particular. En cada uno de los casos, dos picos endotérmicos característicos del sirolimús a aproximadamente 183 y 195°C son identificables e indicativos de la presencia de sirolimús cristalino. En el caso del manitol aparece un pico endotérmico mayoritario a 166°C que corresponde al observado para el excipiente puro.

Los resultados de análisis por CLHP evidencian una uniformidad de porcentaje de carga elevado de las formulaciones (véase la tabla 2-2). Por otro lado, los porcentajes de carga medidos son muy similares al porcentaje de carga teórico del 2,3% en masa, lo que indica que la realización del procedimiento RESS con captura sobre lecho de excipiente permite recoger eficazmente las partículas de sirolimús. Por otro lado, la comparación de los perfiles de sustancias relacionadas entre las formulaciones sirolimús/excipiente obtenidas por el procedimiento RESS y las mezclas físicas sirolimús de partida/excipiente correspondientes pone en evidencia la estabilidad del sirolimús depositado sobre el excipiente por el procedimiento con respecto al sirolimús de partida.

Referencia de la muestra	Media de los porcentajes de carga medidos (%)	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
2-1	2,07	0,04	1,9
2-2	2,00	0,05	2,3
2-3	2,41	0,01	0,4

Tabla 2-2: resultados de medición del porcentaje de carga para los ensayos 2-1 a 2-3

Las figuras 2-4 a 2-6 presentan las imágenes respectivas obtenidas en microscopía electrónica de barrido para las muestras 2-1 a 2-3. Salvo en el caso de la celulosa microcristalina (figura 2-6), parece muy claro que se depositan uniformemente partículas muy finas de sirolimús en la superficie de las partículas de excipiente. En el caso de la celulosa cristalina, es difícil observar la presencia de partículas muy finas de sirolimús y la superficie relativamente porosa de las partículas de excipiente deja suponer que unas partículas de sirolimús están atrapadas en el interior de las anfractuosidades de las partículas de celulosa.

En el caso de las formulaciones depositadas sobre manitol y sobre lactosa, la presencia de partículas muy finas de sirolimús se confirma por las mediciones efectuadas con el granulómetro láser por difracción de luz, en medio acuoso y después de la disolución completa de las partículas de excipiente. Las figuras 2-7 y 2-8 presentan las curvas de distribución de tamaño de partículas respectivas para la formulación sobre manitol y para la sobre lactosa. Como se indica en la tabla 2-3, las partículas de sirolimús obtenidas por el procedimiento de la invención presentan unos tamaños principalmente muy submicrónicos. En el caso de la formulación sobre lactosa, la realización del procedimiento es particularmente eficaz en términos de producción de partículas de un diámetro volumico medio  $d_v(0,5)$  de algunos centenares de nanómetros.

Número del ensayo	Tipo de excipiente	$D_v[4,3]$	$D_v(0,1)$	$D_v(0,5)$	$D_v(0,9)$
2-1	Manitol	1,742	0,176	0,567	4,681
2-2	Lactosa	0,647	0,159	0,371	1,277

Tabla 2-3: resultados de medición de granulometría láser (valores medios sobre 3 muestras de ensayos)

En el ámbito de los ensayos de disolución *in vitro* realizados en un aparato de tipo USP I, las formulaciones se han envasado en cápsulas blandas (LGA, tamaño 0, translúcida, código 000020), en cantidad equivalente a 2 mg de sirolimús, y se han analizado por comparación con unos comprimidos de Rapamune® 2 mg. El medio de disolución estaba constituido de una solución de SDS al 0,4% a una temperatura de 37°C y la velocidad de rotación de la cesta estaba fijada a 100 rpm. Las extracciones se analizaron por CLHP/UV después de la filtración. Los perfiles de disolución *in vitro* presentados en la figura 2-9 muestran que las formulaciones puestas en cápsulas blandas tienen una cinética de disolución similar o mejorada con respecto al producto de referencia Rapamune®.

Las condiciones de disolución presentadas en la figura 2-9 son del 0,4% de laurilsulfato de sodio, 500 ml, cesta a 100 rpm.

Las formulaciones sirolimús/excipiente obtenidas mediante el procedimiento de la invención, excluyendo el uso de cualquier disolvente o agente tensioactivo, simplemente envasadas en cápsulas blandas, permiten por lo tanto obtener unos rendimientos de disolución *in vitro* comparables con las de la formulación de referencia.

**Ejemplo 3: preparación y caracterización de comprimidos a partir de las formulaciones del ejemplo 2**

Se han preparado unos comprimidos a partir de la formulación excipiente/producto del ejemplo 2 y dosificados con aproximadamente 2 mg de sirolimús.

Estos comprimidos se han fabricado sobre una máquina de comprimir rotativa (SVIAC PR12) y los parámetros de compresión se han fijado para obtener unos comprimidos de masa del orden de 337 mg.

Los resultados recogidos en la tabla 3.1 muestran la buena reproducibilidad de los ensayos en términos de solubilización del sirolimús y de los rendimientos de recogida.

		Número de lote		XCXC6106		XCXC6107		XCXC6108	
		Excipientes		Manitol (Pearlitol 200 SD)		Lactosa (PharmatoseDCL21)		Celulosa microcristalina (Avicel PH200)	
		%	mg/comp.	%	mg/comp.	%	mg/comp.		
Excipientes	Ensayo 2.1	28,67	96,62						
	Ensayo 2.2			29,67	100,00				
	Ensayo 2.3	—	—	—	—	24,73	83,33		
Diluyente	Manitol	71,13	239,71						
	Lactosa			70,13	236,33				
	Celulosa microcristalina	—	—	—	—	75,07	253		
Lubricante	Estearato de magnesio	0,20	0,68	0,20	0,68	0,20	0,67		
TOTAL		100,00	337,00	100,00	337,00	100,00	337,00		
Título de la formulación	Título teórico (mg/g)	20,0		20,0		20,0			
	Título real (mg/g)	20,7 (1,9%)		20,0 (CV=2,3%)		24,1 (CV=0,4%)			
Características físicas de los comprimidos	Masa media (mg) (n=10)	336,9 (CV=0,50%)		337,0 (CV=ND)		338,3 (CV=0,27%)			
	Grosor (mm)	4,44		4,23		5,46			
	Dureza (n=10) (N)	188,0 (CV=9,0%)		131,0 (CV=6,6%)		173,8 (CV=3,6%)			
Título comprimidos	Título teórico (mg/g)	2,00		2,00		2,00			
	Título real (n=6) (mg/g)	1,81 (CV=1,0%)		2,05 (CV=2,8%)		2,11 (CV=1,5%)			

CV: coeficiente de variación expresado en %

Tabla 3-1: rendimientos de recogida y características de los comprimidos

Las condiciones de disolución presentadas en la figura 3-1 son 500 ml de medio al 0,4% de laurilsulfato de sodio, cesta a 40 rpm.

Los perfiles de disolución *in vitro* muestran (figura 3.1) que las formulaciones en forma de comprimido tienen una cinética de disolución mejorada con respecto al producto de referencia, el Rapamune®.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición farmacéutica para la administración oral, caracterizada por que comprende una formulación excipiente/producto de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" que contiene unas partículas de por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable sobre las que se captan unas partículas finas cristalinas de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús".
- 10 2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que la formulación excipiente/producto se encuentra libre de agente modificador de superficie y de disolvente.
- 15 3. Composición farmacéutica según la reivindicación 1 o 2, en la que el macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" se selecciona de entre el grupo que comprende el tacrolimús y el sirolimús.
- 20 4. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el excipiente se selecciona de entre el grupo que comprende particularmente un azúcar, un poliol, el almidón, un derivado celulósico, el aluminosilicato de magnesio o sus mezclas.
- 25 5. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que el excipiente se selecciona de entre el grupo que comprende particularmente la lactosa, la celulosa microcristalina, el manitol y sus mezclas.
- 30 6. Composición farmacéutica según la reivindicación 4 o 5, en la que la tasa de carga de macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" sobre unas partículas de excipientes farmacéuticamente aceptables está comprendida entre 0,5 y 10%, y preferentemente entre 1 y 4%.
- 35 7. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en forma de cápsula o comprimido.
- 40 8. Composición farmacéutica según la reivindicación 7, en forma de comprimido constituido por una formulación excipiente/producto de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" que contiene unas partículas de por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable sobre las que se captan unas partículas finas cristalinas de un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" y opcionalmente uno o varios excipientes seleccionados de entre el grupo constituido por los agentes diluyentes, los agentes aglutinantes, los agentes antiestáticos, los agentes lubricantes, los agentes permeabilizantes, los agentes modificadores de pH, los agentes antioxidantes, los edulcorantes, los aromas y sus mezclas.
- 45 9. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su utilización como tratamiento inmunosupresor a título preventivo y/o curativo, en particular para tratar y/o prevenir un rechazo después de un trasplante de órgano, por ejemplo de riñón.
- 50 10. Procedimiento de preparación de unas partículas cristalinas finas de macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" que comprende las etapas siguientes:
- solubilizar un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" en CO<sub>2</sub>, llevado a una presión superior a su presión crítica (7,4 MPa), entre 10 y 100 MPa, y preferentemente entre 10 y 40 MPa, y a una temperatura superior a su temperatura crítica (31°C), preferentemente entre 35 y 80°C, en un autoclave de extracción (5),
  - despresurizar de manera brusca la solución obtenida en la etapa anterior a través de una boquilla (8) en un recinto de pulverización (7), siendo la presión en el recinto de pulverización (7) sustancialmente superior a la presión atmosférica, preferentemente comprendida entre 1 y 7 MPa, y preferentemente entre 1 y 4 MPa.
- 55 11. Procedimiento de preparación de una formulación excipiente/producto que comprende las etapas siguientes:
- solubilizar un macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" en CO<sub>2</sub>, llevado a una presión superior a su presión crítica (7,4 MPa), entre 10 y 100 MPa, y preferentemente entre 10 y 40 MPa, y a una temperatura superior a su temperatura crítica (31°C), preferentemente entre 35 y 80°C, en un autoclave de extracción (5),
  - despresurizar de manera brusca la solución obtenida en la etapa anterior a través de una boquilla (8) en un recinto de pulverización (7), siendo la presión en el recinto de pulverización (7) sustancialmente superior a la presión atmosférica, preferentemente comprendida entre 1 y 7 MPa, y preferentemente entre 1 y 4 MPa,
  - capturar las partículas finas cristalinas del macrólido inmunosupresor de la familia de los "limús" formadas sobre un lecho de excipiente farmacéuticamente aceptable (10) colocado en el recinto de pulverización (7).
- 60

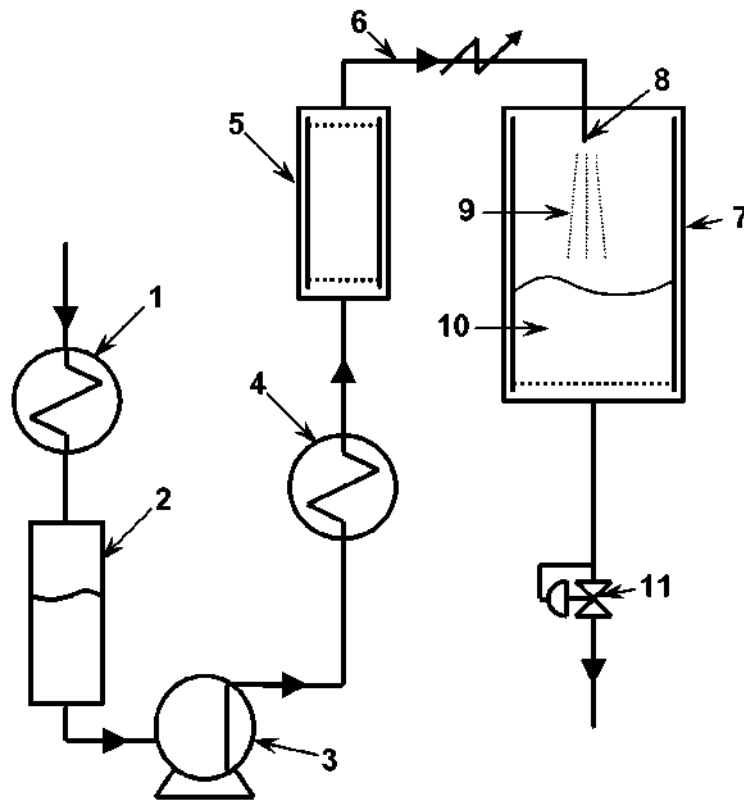


Fig. 1-1

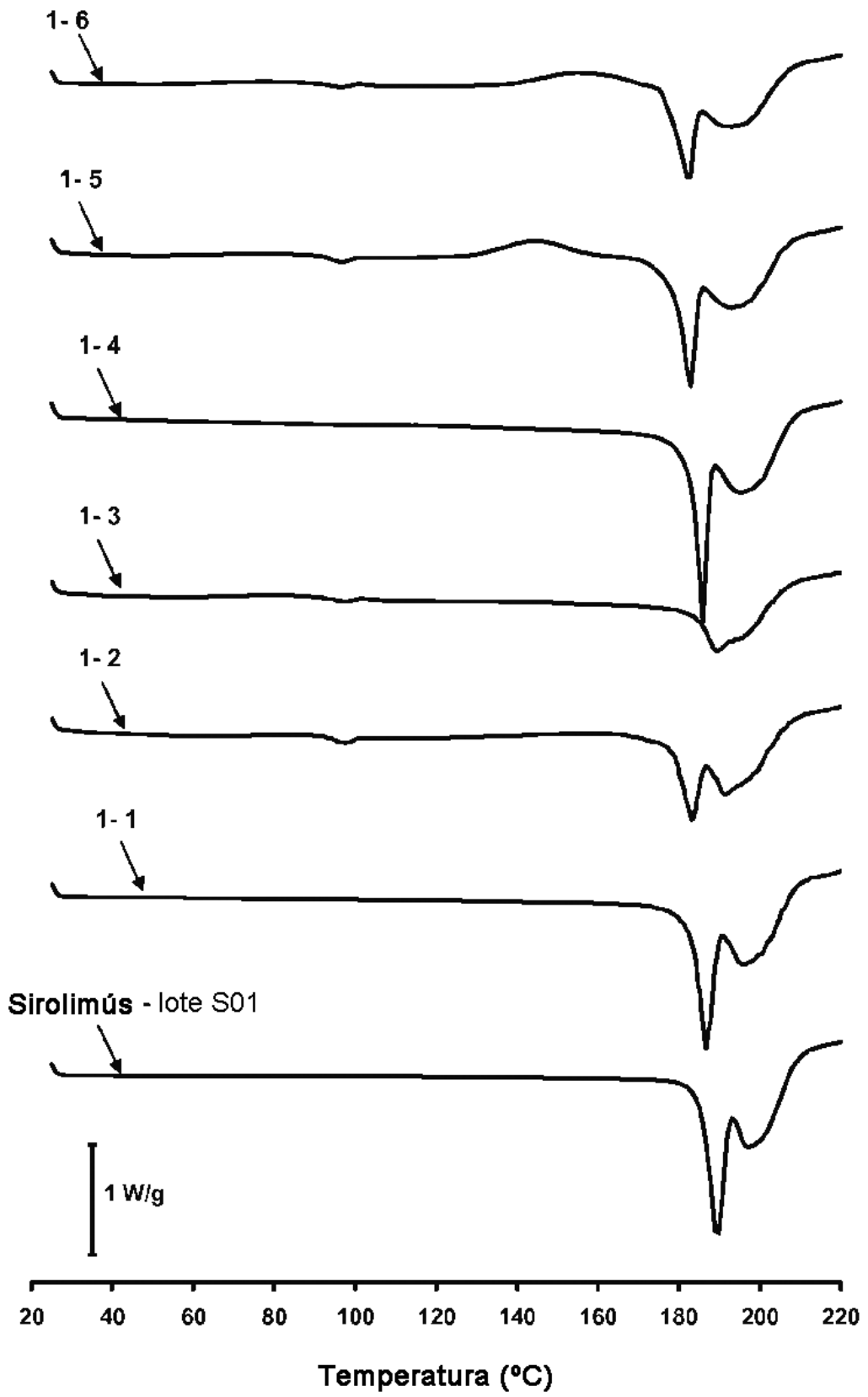


Fig. 1-2

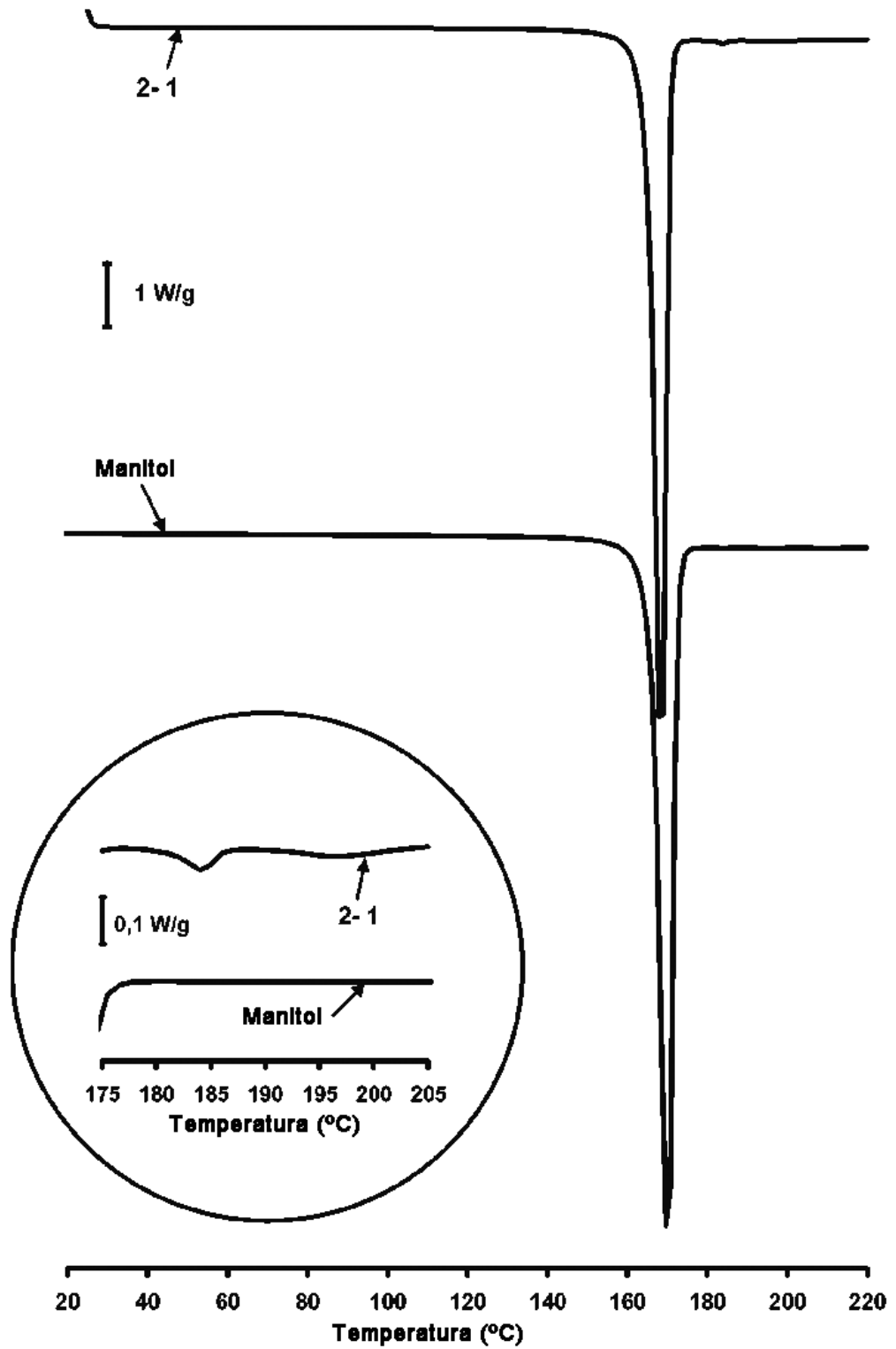


Fig.2-1

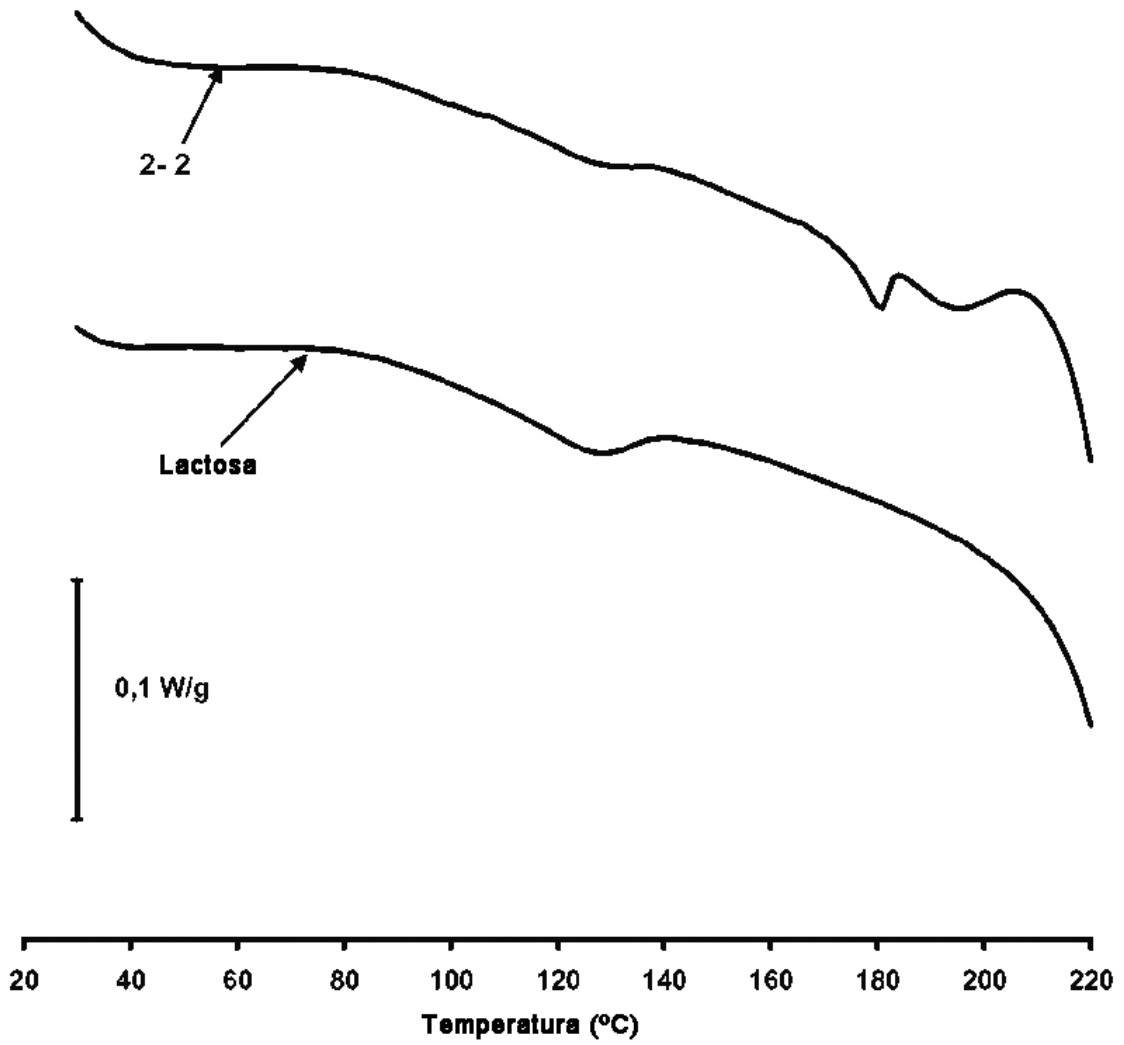


Fig. 2-2



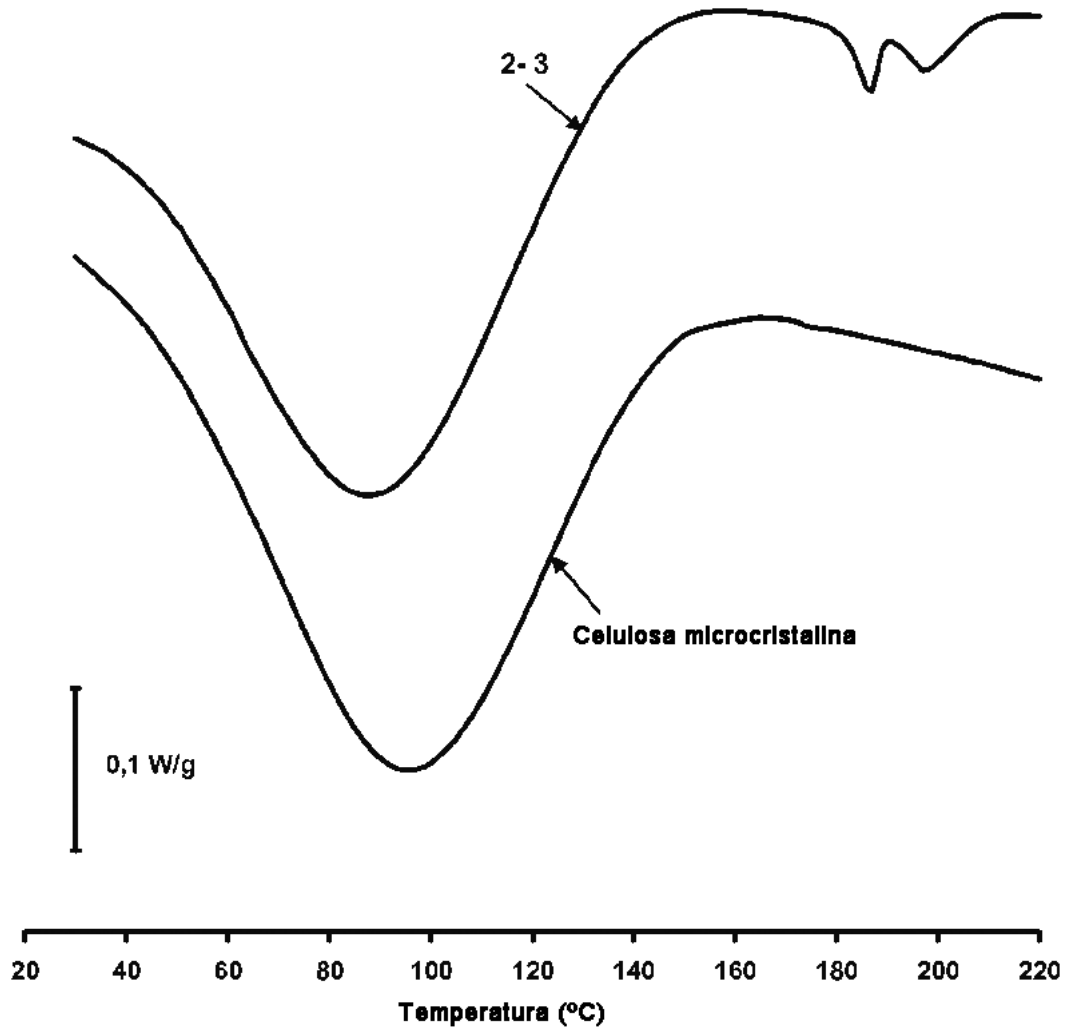


Fig. 2-3

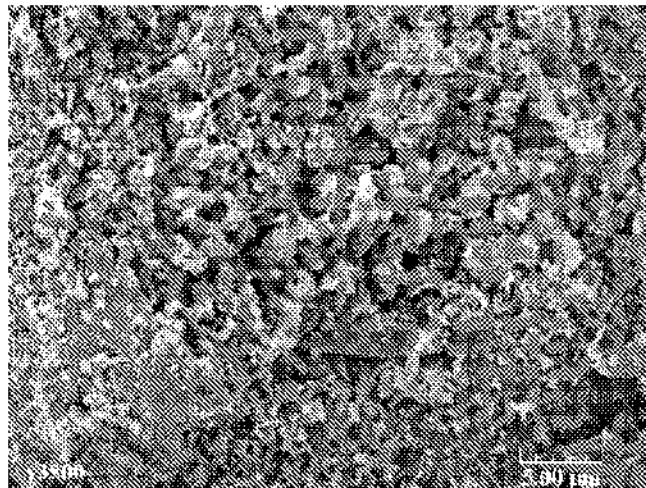
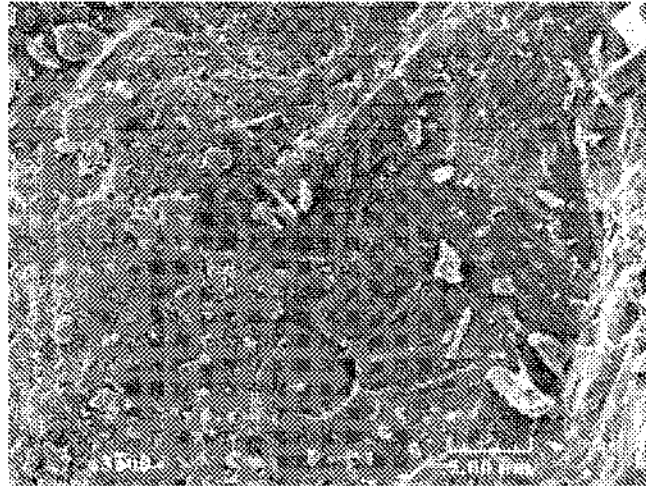


Fig. 2-4

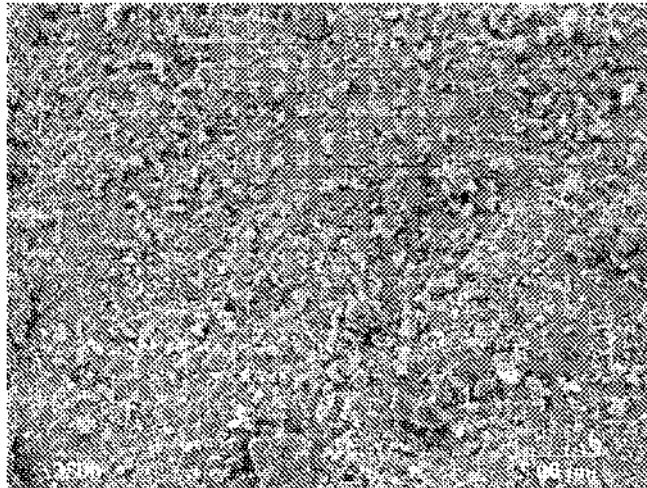
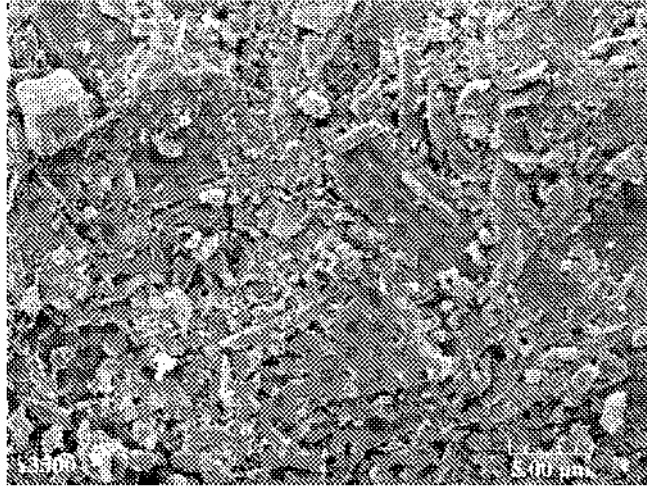


Fig. 2-5

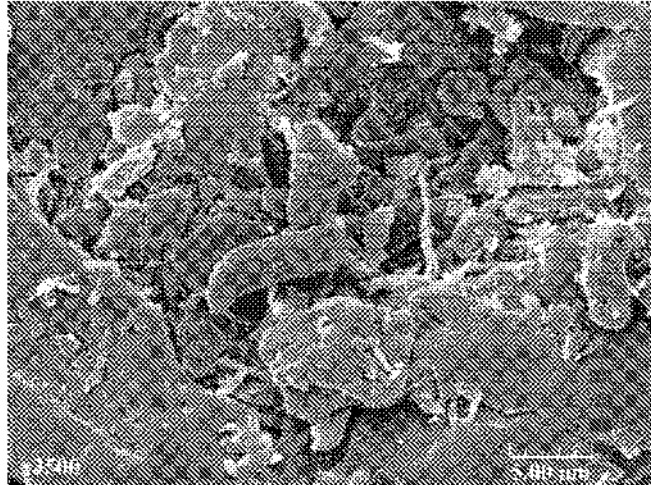
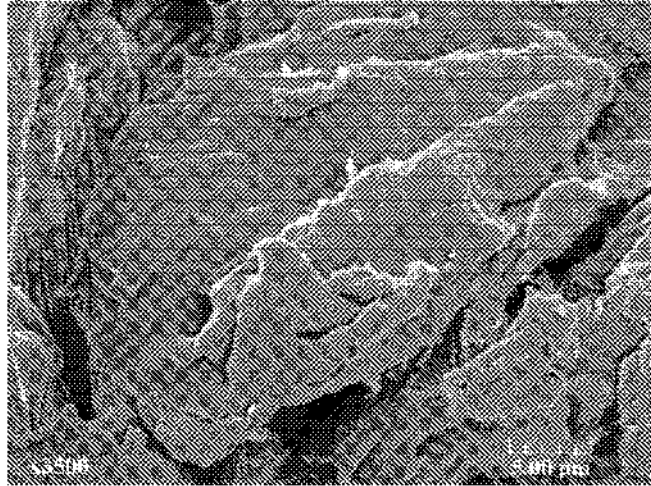


Fig. 2-6

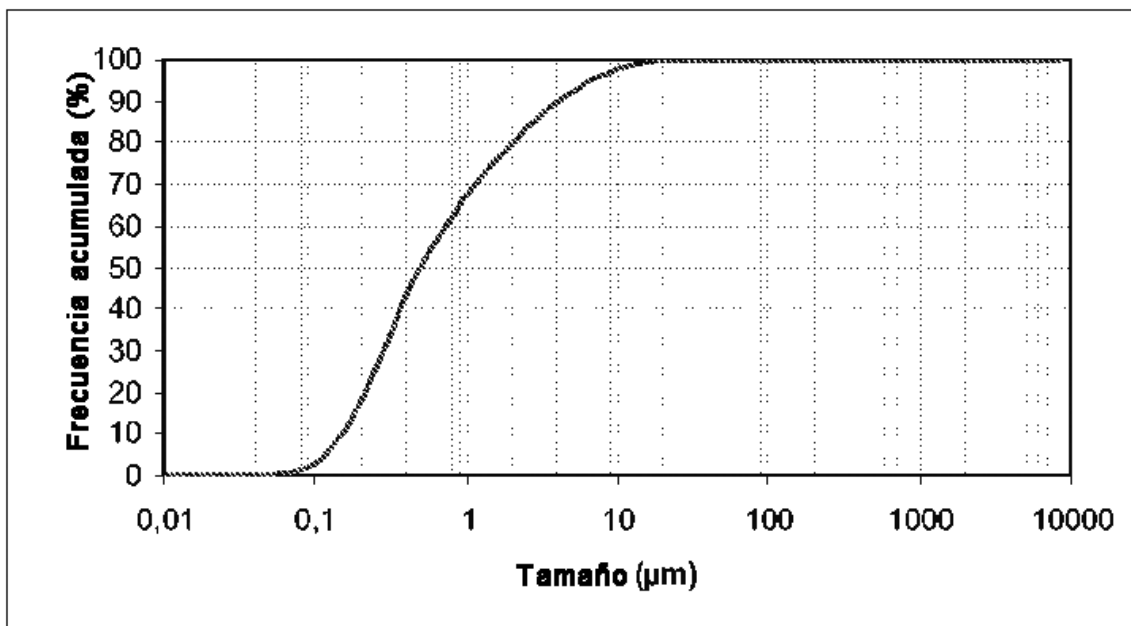
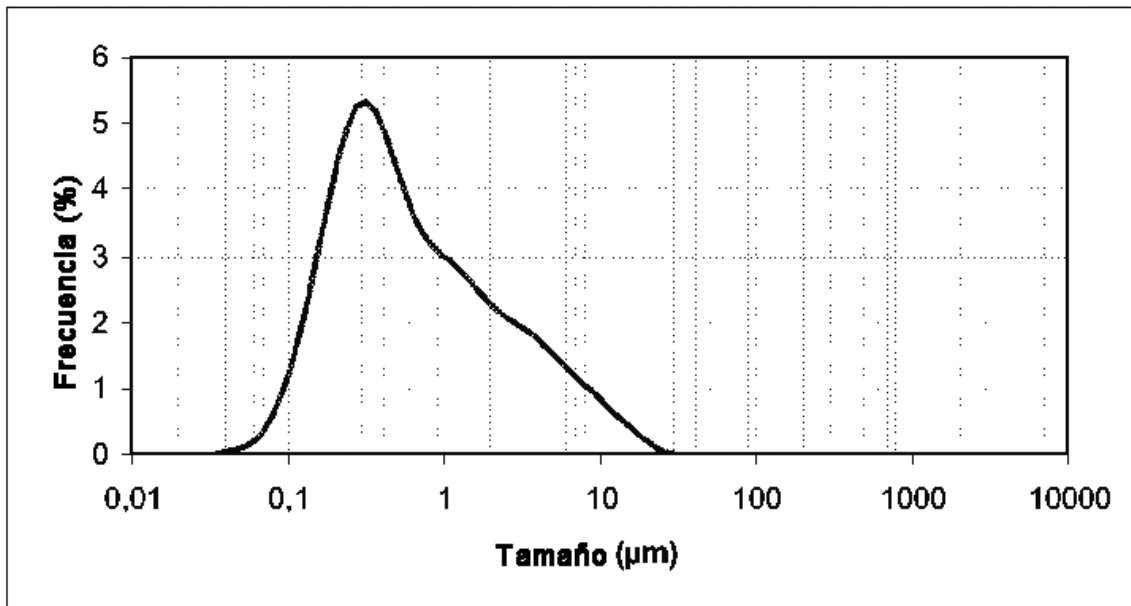


Fig. 2-7

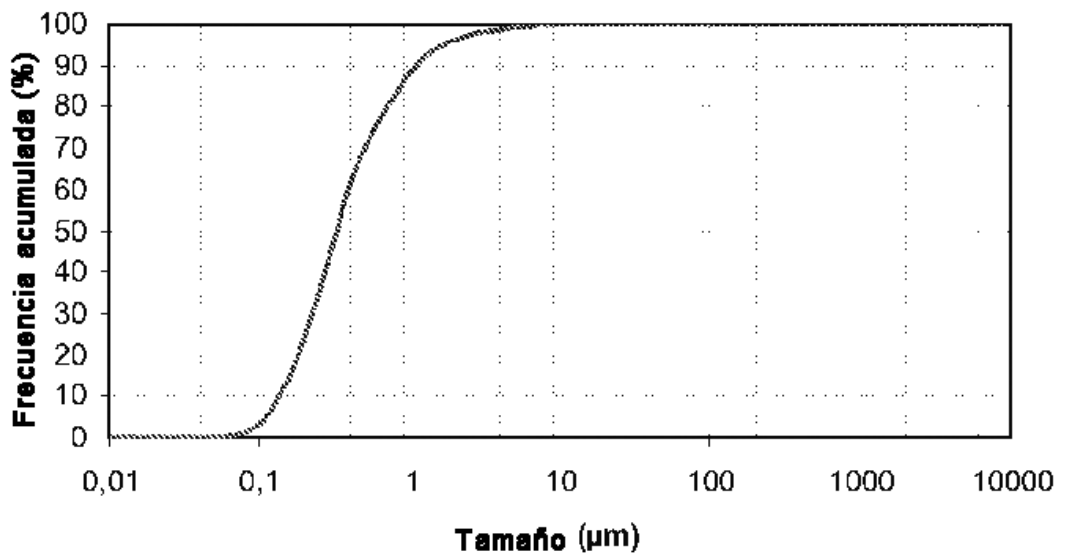
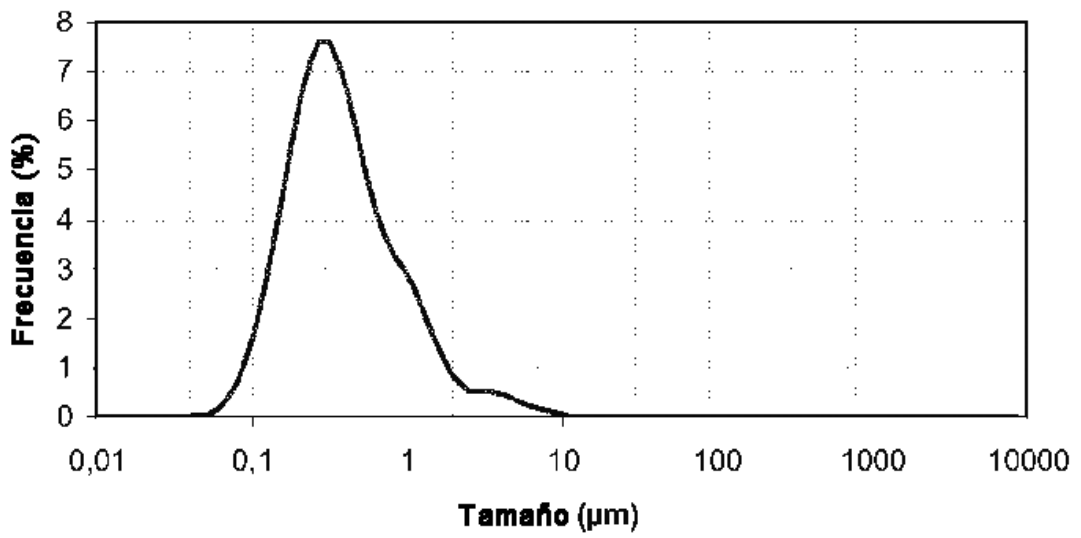


Fig. 2-8

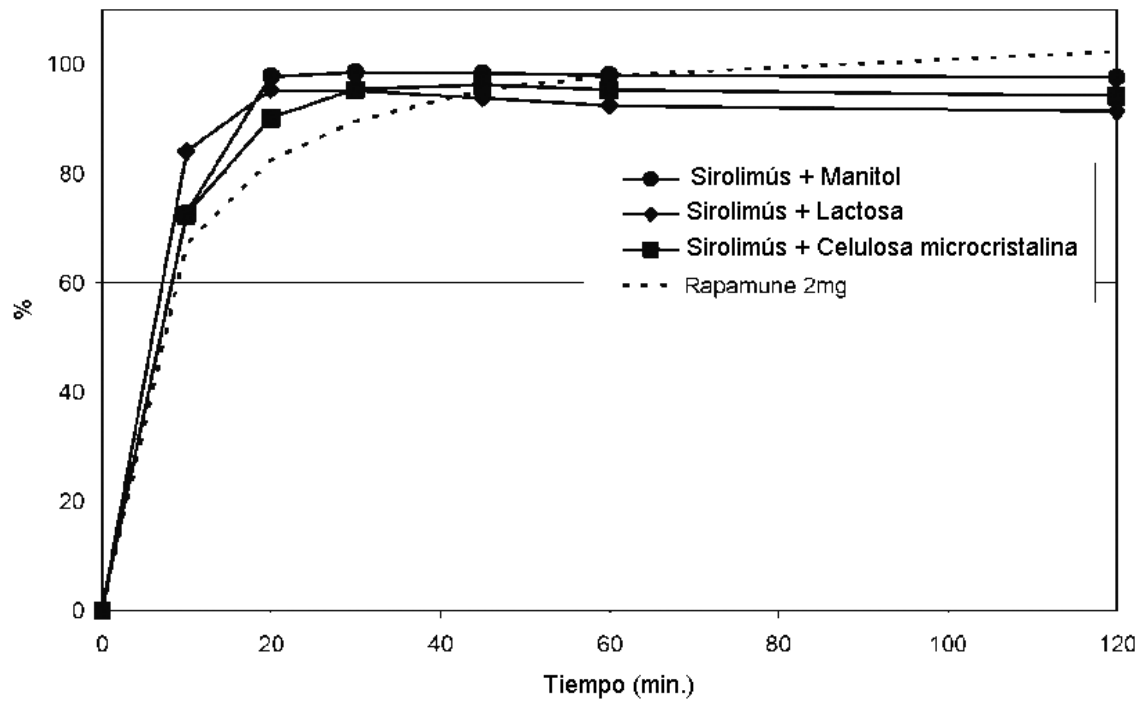


Fig. 2-9

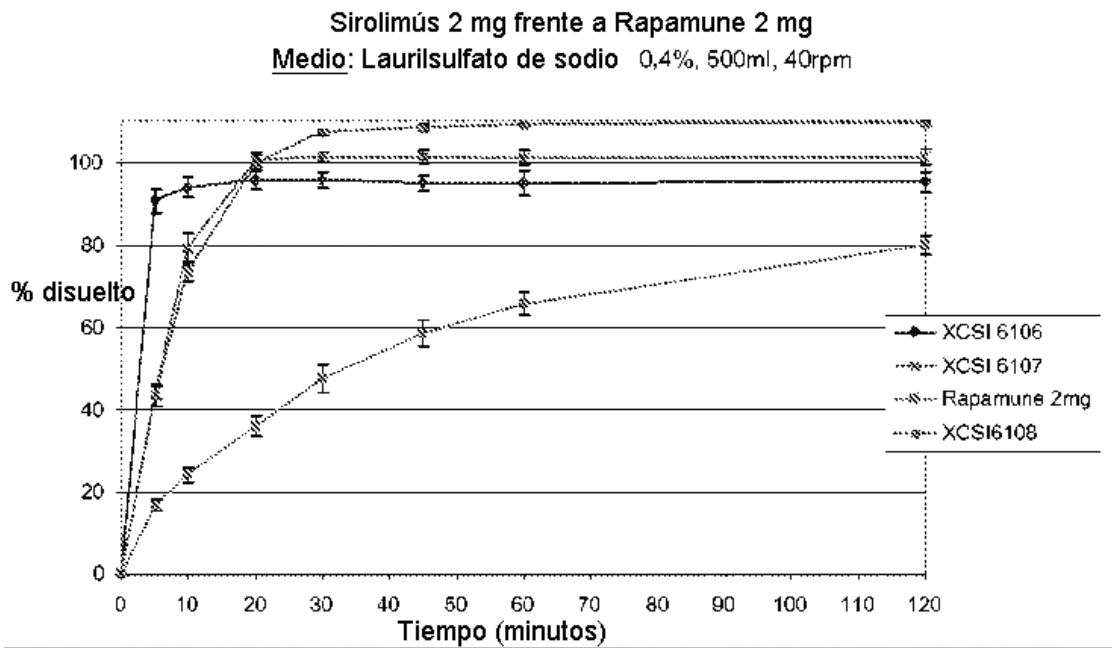


Fig. 3-1