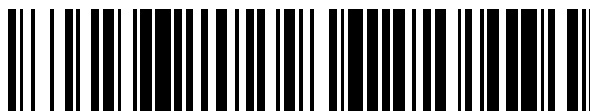


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 665**

51 Int. Cl.:

A61K 9/22 (2006.01)

A61K 31/66 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.07.2010** **PCT/US2010/043892**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.02.2011** **WO11014766**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.07.2010** **E 10805109 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017** **EP 2459176**

54 Título: **Método de cristalización y biodisponibilidad**

30 Prioridad:

29.06.2010 US 359544 P

11.03.2010 US 312879 P

29.03.2010 US 318503 P

06.02.2010 US 302110 P

18.12.2009 US 288036 P

31.07.2009 US 230222 P

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

19.01.2018

73 Titular/es:

GRÜNENTHAL GMBH (100.0%)

Zieglerstrasse 6

52078 Aachen, DE

72 Inventor/es:

HANNA, MAZEN;

SHAN, NING;

CHENEY, MIRANDA;

WEYNA, DAVID y

HOUCK, RAYMOND, K.

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBETA, Pablo

ES 2 650 665 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

Método de cristalización y biodisponibilidad

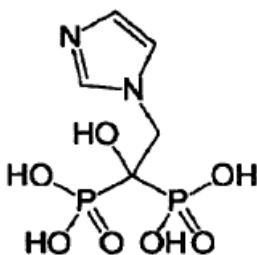
CAMPO DE LA INVENCION

Esta divulgación se refiere a la mejora de la solubilidad en agua y la permeabilidad de compuestos farmacológicos poco permeables y escasamente solubles en agua mediante la generación de nuevas formas cristalinas de dichos fármacos. Se describen métodos de preparación y composiciones farmacéuticas adecuadas para sistemas de administración de fármacos que incluyen una o más de estas nuevas formas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Muchos fármacos de las clases III o IV según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) adolecen de falta de permeabilidad en la membrana del tracto gastrointestinal (GI), lo que conduce a una mala biodisponibilidad oral. Ya se han puesto en práctica diferentes estrategias para mejorar la permeabilidad y posteriormente la biodisponibilidad de dichos fármacos. Por ejemplo, la solicitud de patente US 20060068010 describe un método de formulación para mejorar la permeabilidad de fármacos y posteriormente aumentar su biodisponibilidad mediante granulación de la mezcla sólida física del fármaco con uno o más aminoácidos, al menos un polímero hidrófilo intergranular y un excipiente de liberación inmediata adicional. Otra solicitud, WO 200602009 A1, dio a conocer el aumento de la biodisponibilidad oral de fármacos poco permeables tales como bisfosfonato; el risedronato, como uno de estos fármacos, se mezcló con un agente quelante tal como etilendiaminetetraacetato (EDTA) y otros excipientes para producir una forma de administración oral. En otra solicitud, WO 2007093226, se describe un método para mejorar la biodisponibilidad de ibandronato mediante la generación de una mezcla física del fármaco junto con un aminoácido modificado (acilación o sulfonación del grupo amino con fenilo o ciclohexilo) y otros excipientes. Otra solicitud, WO 2003007916 A1, informa sobre un sistema de retención gástrica para mejorar la biodisponibilidad de un fármaco poco permeable, el alendronato, que se formulaba para la administración oral con vitamina D y que se liberaba una hora después de la liberación inmediata de la vitamina D. El documento WO 2006080780 describe otro método más para mejorar la permeabilidad y biodisponibilidad del alendronato, un bisfosfonato poco permeable, mezclando éste con un polímero catiónico biocompatible (como quitosano soluble en agua) en una relación en peso hasta 10:1 quitosano:fármaco, mientras que la mezcla resultante se puede formular en una forma farmacéutica de administración oral sólida o líquida. En la solicitud de patente US 2007/014319 A1 se describe otro método para mejorar la permeabilidad de materiales farmacológicos, donde una forma farmacéutica de administración oral se formuló mediante mezcla de un ácido bisfosfónico (por ejemplo ácido zoledrónico) junto con un ingrediente inactivo (un éster de un ácido graso de cadena media, o un éster de polietilenglicol lipófilo). En la solicitud US 2007/0238707 A1 se describe una propuesta similar donde un ácido graso con una longitud de cadena media o su derivado (cadena de ácido graso de 6-20 átomos de carbono) se mezcló físicamente con un fármaco poco permeable (por ejemplo ácido zoledrónico) en una cápsula que presentaba un revestimiento entérico.

El ácido zoledrónico, conocido como ácido (1-hidroxi-2-imidazol-1-il-1-fosfono-etil)fosfónico, está representado por la siguiente estructura química:



El ácido zoledrónico es un bisfosfonato de tercera generación que es muy superior a las generaciones anteriores en términos de eficacia y se utiliza predominantemente para indicaciones de osteoporosis, enfermedad de Paget, hipercalcemia e inhibición de metástasis ósea. Fue desarrollado originalmente por Novartis y comercializado como monohidrato bajo los nombres comerciales Zometa® y Reclast®. El ácido zoledrónico fue aprobado por primera vez en el año 2000 para el tratamiento de la hipercalcemia en Canadá. Posteriormente se aprobó su uso en EE.UU. para la hipercalcemia en 2001, para el mieloma múltiple y metástasis óseas de tumores sólidos en 2002 y para la osteoporosis y la enfermedad de Paget en 2007. También se han realizado y están en curso ensayos clínicos para explorar el uso del ácido zoledrónico en la terapia del cáncer neoadyuvante o adyuvante, Coleman, et al., British J Cancer 2010; 102(7):1099-1105, Gnani, et al., New England J Medicine. 2009, 360 (17):679-691 y Davies, et al. J Clinical Oncology, 2010, 28(7s): Abstract 8021. El ácido zoledrónico se administra como una dosis intravenosa (IV) de 4 mg a lo largo de 15 minutos para hipercalcemia de malignidad, mieloma múltiple y metástasis óseas de tumores

sólidos, mientras que para la osteoporosis y la enfermedad de Paget se utiliza una dosis IV de 5 mg a lo largo de 15 minutos.

El ácido zoledrónico es escasamente soluble en agua y en solución de HCl 0,1 N, pero es libremente soluble en NaOH 0,1 N. El ácido zoledrónico es prácticamente insoluble en diversos disolventes orgánicos.

- 5 Se han hecho muchos esfuerzos para generar nuevas formulaciones orales de ácido zoledrónico mediante cristalización y formación de sales metálicas para mejorar su solubilidad en agua, permeabilidad y posterior biodisponibilidad oral. En la solicitud de patente U.S. 2006/0178439 A1 y la solicitud de patente internacional WO2007/032808 se describe un trihidrato cristalino. En la solicitud de patente WO2005/005447 A2 también se
- 10 dieron a conocer siete formas hidratadas, una forma amorfa, tres sales monosódicas y once sales disódicas de ácido zoledrónico con grados variables de hidratación. En la revista "Drugs of the Future" (Sorbera et al, 25(3), Drugs of the Future, (2000)) se informó sobre sales metálicas de zoledronato, incluyendo Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} . Zoledronato, zoledrónico o sal zoledrónica representan la forma iónica del ácido zoledrónico. La solicitud de patente WO2008/064849 A1 de Novartis dio a conocer sales metálicas adicionales, incluyendo dos sales de Ca^{2+} , dos sales de Zn^{2+} , una sal de Mg^{2+} , así como un monohidrato, un trihidrato, una forma amorfa y una forma anhidra.
- 15 De acuerdo con el Resumen de la Base de Aprobación (SBA) de la US Food and Drug Administration (FDA) para el ácido zoledrónico, la mala biodisponibilidad oral (aproximadamente 1%) se debe en parte a su poca permeabilidad en el tracto GI. También se señaló que en la parte superior de los intestinos se formaban complejos metálicos insolubles, en la mayoría de los casos con calcio. Además se ha comprobado que el ácido zoledrónico causa irritaciones gástricas e intestinales graves.
- 20 Todos los intentos de mejorar la biodisponibilidad oral del ácido zoledrónico arriba indicados estaban enfocados a mejorar la solubilidad en agua bien generando nuevas formas sólidas, bien mezclando el fármaco con un ingrediente inactivo de permeabilidad aumentada en el tracto GI. La mejora de la solubilidad en agua no ha logrado mejorar la biodisponibilidad del ácido zoledrónico, ya que es poco probable que se prevenga la formación de complejos
- 25 cálcicos de zoledronato insolubles. Por otro lado, las mezclas en polvo del fármaco poco permeable con mejoradores de la permeabilidad inactivos mejoraron la biodisponibilidad del fármaco. Esta propuesta de mezclar diferentes materiales con diferentes tamaños de partícula y distribuciones de tamaño podría resultar en una mala uniformidad de la combinación/mezcla física. Los constituyentes de la mezcla también se podrían separar durante el transporte o por agitación y vibración. Adicionalmente, las mezclas en polvo requieren una coherencia rigurosa de carga a carga para asegurar la uniformidad de las cargas de mezcla.
- 30 Al entender de los inventores, antes de esta invención no se ha hecho ningún intento de un diseño molecular deliberado para crear un complejo molecular del fármaco y uno o más componentes adicionales (coformadores) en una estructura cristalina simple. La ventaja de dicho diseño puede conducir a la eliminación de todos los problemas de uniformidad de mezcla de un lote a otro y de segregación de partículas de los que frecuentemente adolecen las mezclas de polvo. Además, esta invención simplifica la fabricación de la forma farmacéutica sólida (formada por
- 35 fármaco y excipiente) de modo que la forma farmacéutica sólida final es, en una realización, un polvo del complejo molecular.
- Adicionalmente, los complejos moleculares resultantes tienen propiedades fisicoquímicas muy diferentes en comparación con el fármaco original, el coformador o la mezcla física de éstos. Estas propiedades incluyen, de forma no exclusiva, el punto de fusión, la conductividad térmica y eléctrica, la solubilidad en agua, la velocidad de
- 40 disolución y la permeabilidad a través de la membrana del tracto GI. La mejora de la permeabilidad podría conducir al aumento de la biodisponibilidad oral de los fármacos de las clases BCS III y IV. Esta es la primera vez que se ha empleado el concepto de un diseño de un complejo molecular para mejorar la permeabilidad y la posterior biodisponibilidad de un fármaco poco permeable como es el ácido zoledrónico. No obstante, los mecanismos que subyacen al aumento de la permeabilidad no se comprenden por completo.
- 45 La tendencia creciente del uso de fármacos orales continúa, en especial en vista del objetivo de disminuir el gasto global de la asistencia sanitaria. Los fármacos administrados vía oral están adquiriendo más preferencia en diversas áreas terapéuticas, incluyendo el cáncer. Evidentemente, existe una oportunidad de crear formas farmacéuticas orales de fármacos IV, donde todavía no existen formas farmacéuticas orales debido a su poca solubilidad en agua y/o poca permeabilidad, lo que proporciona un beneficio clínico evidente a los pacientes. Dado que el ácido
- 50 zoledrónico solo está aprobado para la administración IV, existe la necesidad de desarrollar una forma farmacéutica oral de ácido zoledrónico. Mediante el uso de coformadores farmacéuticamente aceptables y/o aprobados para hidrógeno enlazado con ácido zoledrónico, se pueden crear nuevos complejos moleculares (por ejemplo cocrystal, sales, solvatos, y mezclas de los mismos) con mejor solubilidad y/o permeabilidad. Estos nuevos complejos moleculares podrían ser utilizados en el desarrollo de una forma farmacéutica oral para el ácido zoledrónico.

55

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente descripción está dirigida a la generación de nuevas formas de ácido zoledrónico que tienen la eficacia terapéutica del ácido zoledrónico arriba descrita, con mayor solubilidad acuosa, velocidad de disolución y/o mejor permeabilidad y, por tanto, mayor biodisponibilidad. Un aspecto de la presente divulgación incluye nuevos complejos moleculares de ácido zoledrónico que incluyen cocristales, sales y solvatos (por ejemplo hidratos y solvatos mixtos, así como solvatos de sales), y mezclas que contienen dichos materiales. Además, la divulgación incluye métodos para la preparación de dichos complejos.

La descripción incluye además composiciones de complejos moleculares de ácido zoledrónico adecuados para su incorporación en una forma de dosificación farmacéutica. Ciertos complejos moleculares específicos pertenecientes a la descripción incluyen complejos de ácido zoledrónico con L-lisina, DL-lisina y glicina.

La descripción también incluye resultados de un estudio *in vivo* de ácido zoledrónico original (puro) y complejos seleccionados de ácido zoledrónico preparados mediante los métodos de la invención en modelos de rata y perro. También están incluidas las concentraciones de fármaco en las muestras de plasma de rata y suero de perro junto con los perfiles farmacocinéticos (PK).

Lo anterior y otras características y ventajas de la tecnología descrita serán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, que se desarrolla con referencia a las figuras adjuntas. Dicha descripción está concebida para que sea ilustrativa y no limitativa de la invención.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

- FIG. 1: difractogramas de: (A = complejo de ácido zoledrónico, sal zoledrónica de sodio y agua), (B = NaCl), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico), (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 2: espectro FTIR de un complejo que comprende ácido zoledrónico, sal zoledrónica de sodio y agua.
- FIG. 3: difractogramas PXRD de: (C = complejo de sal zoledrónica de amonio y agua), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 4: espectro FTIR de complejo de sal zoledrónica de amonio y agua.
- FIG. 5: difractogramas PXRD de: (D = complejo de zoledrónico, L-lisina y agua), (E = L-lisina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 6: espectro FTIR de complejo de zoledrónico, L-lisina y agua.
- FIG. 7: difractogramas PXRD de: (F = complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua), (G = DL-lisina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 8: espectro FTIR de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua.
- FIG. 9: difractogramas PXRD de: (H = complejo de ácido zoledrónico, zoledrónico, DL-lisina, etanol y agua), (G = DL-lisina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 10: espectro FTIR de complejo de ácido zoledrónico, zoledrónico, DL-lisina, etanol y agua.
- FIG. 11: difractogramas PXRD de: (I = complejo de zoledrónico, nicotinamida y agua), (J = nicotinamida), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 12: espectro FTIR de complejo de zoledrónico, nicotinamida y agua.
- FIG. 13: difractogramas PXRD de: (K = complejo de zoledrónico, adenina y agua), (L = adenina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico), (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 14: espectro FTIR de complejo de zoledrónico, adenina y agua.
- FIG. 15: difractogramas PXRD de: (M = complejo de zoledrónico y glicina), (N = glicina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 16: espectro FTIR de complejo de zoledrónico y glicina.
- FIG. 17: difractogramas PXRD de: (O = complejo de diamoníaco zoledrónico y agua), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 18: espectro FTIR de complejo de diamoníaco zoledrónico y agua.
- FIG. 19: difractogramas PXRD de: (P = complejo de zoledrónico, DL-lisina, y agua), (G = DL-lisina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 20: espectro FTIR de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua.
- FIG. 21: difractogramas PXRD de: (R = complejo de zoledrónico, DL-lisina, y agua), (G = DL-lisina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 22: espectro FTIR de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua.
- FIG. 23: difractogramas PXRD de: (R = complejo de zoledrónico, DL-lisina, y agua), (G = DL-lisina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 24: espectro FTIR de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua.
- FIG. 25: difractogramas PXRD de: (Q = complejo de zoledrónico, L-lisina, y agua), (E = L-lisina), (Z1 = monohidrato de ácido zoledrónico) y (Z3 = trihidrato de ácido zoledrónico).
- FIG. 26: espectro FTIR de complejo de zoledrónico, L-lisina y agua.

- FIG. 27: perfil PK de 24 horas en plasma de rata de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados vía IV, oral e intraduodenal (ID).
- FIG. 28: perfil PK de 4 horas en plasma de rata de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados vía oral.
- 5 FIG. 29: perfil PK de 4 horas en plasma de rata de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados vía ID.
- FIG. 30: perfil PK de 24 horas en plasma de rata de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados por alimentación oral forzada.
- FIG. 31: perfil PK de 4 horas en plasma de rata de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados vía oral.
- 10 FIG. 32: perfil PK de 4 horas en plasma de rata de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico seleccionados administrados vía oral.
- FIG. 33: perfil PK en suero de perro de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados vía IV y oral.
- 15 FIG. 34: perfil PK de 4 horas en suero de perro de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados vía IV y oral.
- FIG. 35: perfil PK en suero de perro de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados vía IV y oral; cápsulas con y sin revestimiento entérico.
- FIG. 36: perfil PK de 6 horas en suero de perro de ácido zoledrónico original y complejos de ácido zoledrónico administrados vía IV y oral; cápsulas con y sin revestimiento entérico.
- 20 FIG. 37: datos PK de perro correspondientes a las cápsulas de gelatina dura con y sin revestimiento entérico.
- FIG. 38: perfil PK de 24 horas en suero de perro de complejos de ácido zoledrónico administrados vía IV y oral.
- FIG. 39: perfil PK de 4 horas en suero de perro de complejos de ácido zoledrónico administrados vía IV y oral.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERENTES

- 25 En general, los ingredientes farmacéuticos activos (IFA) en las composiciones farmacéuticas se pueden preparar en diversas formas diferentes, incluyendo profármacos, formas amorfas, solvatos, hidratos, cocristales, sales y polimorfos. El descubrimiento de nuevas formas de IFA puede proporcionar una oportunidad para mejorar las características de actuación de un producto farmacéutico. Adicionalmente, el descubrimiento de formas farmacológicas amplía la serie de recursos disponibles para diseñar formas de dosificación farmacéutica con perfiles de liberación dirigida u otras características deseadas.
- 30

Una característica específica que se puede buscar incluye la forma cristalina de un IFA. La alteración de la forma cristalina de un IFA dado conduciría a la modificación de las propiedades físicas de la molécula diana. Por ejemplo, diversos polimorfos de un IFA dado tienen una solubilidad en agua diferente, mientras que el polimorfo termodinámicamente estable tendría menor solubilidad que el polimorfo metaestable. Además, los polimorfos farmacéuticos también se pueden diferenciar en propiedades tales como la velocidad de disolución, período de validez, biodisponibilidad, morfología, presión de vapor, densidad, color y compresibilidad. Por consiguiente, es deseable mejorar las propiedades de un IFA mediante la formación de complejos moleculares tales como un cocrystal, una sal, un solvato o hidrato con respecto a la solubilidad en agua, velocidad de disolución, biodisponibilidad, $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, estabilidad fisicoquímica, procesabilidad aguas abajo (por ejemplo manipulación de fluidez, compresibilidad, grado de fragilidad, tamaño de partícula), disminución de la diversidad de formas polimórficas, toxicidad, sabor, costes de producción y métodos de fabricación.

35

40

En el desarrollo de fármacos administrados vía oral, con frecuencia resulta ventajoso disponer de nuevas formas cristalinas de dichos fármacos con propiedades mejoradas, incluyendo una mayor solubilidad en agua y estabilidad. En muchos casos se desea un aumento de la velocidad de disolución de los fármacos, ya que esto aumentaría potencialmente su biodisponibilidad. Esto también es aplicable al desarrollo de nuevas formas de ácido zoledrónico que, al ser administradas vía oral a un individuo, podrían lograr una biodisponibilidad y perfil PK mejores o similares en comparación con una formulación IV u otras formulaciones en una base de dosis por dosis.

45

Cocristales, sales, solvatos e hidratos de ácido zoledrónico de la presente invención podrían dar lugar a mejores propiedades del ácido zoledrónico. Por ejemplo, una nueva forma de ácido zoledrónico es particularmente ventajosa si puede mejorar la biodisponibilidad de ácido zoledrónico administrado vía oral. Aquí se ha sintetizado, caracterizado y descrito una serie de nuevas formas de ácido zoledrónico. Resultan particularmente interesantes el ácido zoledrónico y los aminoácidos estándar, dado que tienen una mayor permeabilidad indicada en comparación con otros complejos moleculares de ácido zoledrónico. El mecanismo de la mayor permeabilidad de estos complejos todavía no se entiende y, sin vincularse a esta explicación, es posible que moderen la formación de la sal de zoledronato de Ca^{2+} insoluble, lo que resulta en una mayor absorción paracelular de ácido zoledrónico a través de las uniones estrechas. Se ha de hacer hincapié en que éste es un posible mecanismo de una mayor permeabilidad.

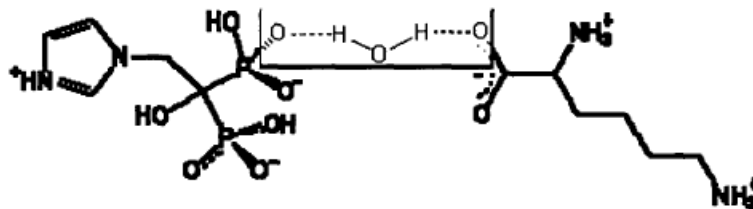
50

55

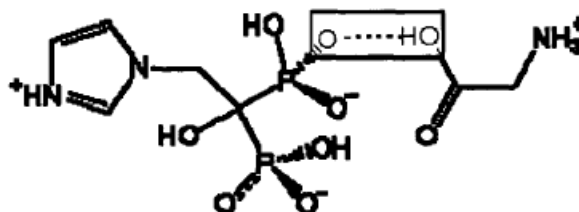
Más abajo se muestran diagramas esquemáticos de complejos de ácido zoledrónico:aminoácido (un complejo de ácido zoledrónico:lisina y un complejo de ácido zoledrónico:glicina, dos realizaciones de la invención). Los

diagramas muestran la estructura molecular del complejo e interacciones posibles entre los constituyentes del complejo que es diferente a la mezcla física de los constituyentes.

1. Complejo de ácido zoledrónico:lisina



2. Complejo de ácido zoledrónico:glicina



Éstos representan una de las disposiciones en las que las moléculas del fármaco y los coformadores de aminoácidos estándar podrían interactuar para formar un complejo estable que, incluso cuando es sometido a estrés térmico en un entorno de humedad relativa (HR) elevada, no ha mostrado ningún signo de deterioro o desintegración en sus constituyentes originales. Esta estabilidad puede ser atribuida al enlace de hidrógeno (línea discontinua en el recuadro) en estos complejos moleculares. Cuando se empaquetan en una estructura cristalina, estos complejos tienen morfologías muy diferentes a las de sus constituyentes o su mezcla física, tal como indican sus patrones de difracción de rayos X en polvo (PXRD), y, por tanto, tendrían propiedades fisicoquímicas diferentes impredecibles.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un complejo molecular cristalino que comprende ácido zoledrónico o una sal del mismo y un coformador seleccionado entre lisina y glicina. En algunas realizaciones, el complejo molecular se selecciona entre un complejo de ácido zoledrónico cristalino, agua y L-lisina; un complejo de ácido zoledrónico cristalino, agua y DL-lisina; o un complejo de ácido zoledrónico cristalino, agua y glicina.

Aquí se describe una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de complejo de ácido zoledrónico, zoledronato de sodio y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos fuertes a aproximadamente 8,1, 13,3, 21,5, 24,6 y $25,6 \pm 0,2$ grados dos-theta.

Aquí también se describe una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de complejo de sal zoledrónica de amonio y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos fuertes a aproximadamente 11,0, 14,6, 15,4, 19,9 y $29,4 \pm 0,2$ grados dos-theta.

La presente invención proporciona una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de complejo de ácido zoledrónico, L-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos fuertes a aproximadamente 9,0, 14,4, 18,1, 26,0 y $29,6 \pm 0,2$ grados dos-theta.

La presente invención proporciona una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de complejo de ácido zoledrónico, DL-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos fuertes a aproximadamente 9,1, 14,7, 18,0, 21,2 y $26,0 \pm 0,2$ grados dos-theta.

La presente invención proporciona una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de complejo de ácido zoledrónico, DL-lisina, etanol y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos fuertes a aproximadamente 8,8, 9,7, 17,6, 23,1 y $26,5 \pm 0,2$ grados dos-theta.

Aquí también se describe una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de un complejo de ácido zoledrónico, nicotinamida y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos fuertes a aproximadamente 13,1, 15,2, 21,0, 23,9 y $26,5 \pm 0,2$ grados dos-theta.

Aquí también se describe una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de un complejo de zoledrónico, adenina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos fuertes a aproximadamente 13,6, 15,9, 19,7, 27,9 y $29,5 \pm 0,2$ grados dos-theta.

La presente invención proporciona una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de un complejo de zoledrónico y glicina caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos fuertes a aproximadamente 10,2, 17,8, 19,9, 22,9 y $28,1 \pm 0,2$ grados dos-theta.

- 5 Aquí también se describe una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de un complejo de diamoníaco, zoledrónico y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos fuertes a aproximadamente 12,2, 13,0, 14,1, 17,1 y $19,3 \pm 0,2$ grados dos-theta.

La presente invención proporciona una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de un complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos fuertes a aproximadamente 8,3, 11,8, 12,3, 15,8 y $20,8 \pm 0,2$ grados dos-theta.

- 10 La presente invención proporciona una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de un complejo de ácido zoledrónico, L-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos fuertes a aproximadamente 9,6, 10,7, 14,3, 21,4, $23,5 \pm 0,2$ grados dos-theta.

- 15 La presente invención proporciona una nueva forma cristalina de ácido zoledrónico en forma de un complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende picos fuertes a aproximadamente 9,7, 10,8, 14,4, 18,9, $21,4 \pm 0,2$ grados dos-theta.

La presente invención describe niveles de concentración en plasma de rata o suero de perro y perfiles PK de compuesto original de ácido zoledrónico administrado vía IV, oral e ID frente a complejos de ácido zoledrónico creados utilizando el método de esta invención.

- 20 Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención incluye complejos de ácido zoledrónico con L-lisina, DL-lisina y glicina que pueden formar complejos en estado sólido, por ejemplo mediante molienda en seco o con goteo de disolvente (molienda apoyada con líquido), calentamiento o evaporación de disolvente en solución en sistemas de disolventes individuales o mixtos, suspensión espesa, fluidos supercríticos u otras técnicas conocidas por los expertos.

- 25 Aquí también se describe un complejo de ácido zoledrónico y nicotinamida preparado disolviendo ambos compuestos en agua:acetato de etilo (1:1 v/v) y permitiendo que la mezcla de disolventes se evapore para formar un material cristalino.

Otro aspecto de la invención proporciona un complejo sólido de zoledrónico y glicina preparado disolviendo ambos compuestos en agua y permitiendo que el disolvente se evapore para formar un material cristalino.

- 30 Otro aspecto de la invención se refiere a complejos de ácido zoledrónico y L-lisina, DL-lisina y glicina adecuados para una formulación farmacéutica que puede ser administrada al cuerpo humano vía oral. La formulación farmacéutica contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de los nuevos complejos moleculares de ácido zoledrónico de acuerdo con la invención y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable (también conocido en la técnica como excipiente farmacéuticamente aceptable). Los nuevos complejos moleculares de ácido zoledrónico son terapéuticamente útiles para el tratamiento y/o la prevención de estados de enfermedad asociados a
35 osteoporosis, hipercalcemia (TIH), metástasis ósea inducida por cáncer, enfermedad de Paget o terapias de cáncer adyuvantes o neoadyuvantes, arriba descritas.

- 40 La invención también se refiere a nuevos complejos moleculares de ácido zoledrónico de la invención o a una formulación farmacéutica que los contiene para su uso como medicamentos. Una formulación farmacéutica de la invención puede estar en cualquier forma farmacéutica que contiene un nuevo complejo molecular de ácido zoledrónico de acuerdo con la invención. La formulación farmacéutica puede consistir, por ejemplo, en una pastilla, cápsula, suspensión líquida, producto inyectable, supositorio, producto tópico o transdérmico. Las formulaciones farmacéuticas contienen generalmente de aproximadamente un 1% a aproximadamente un 99% en peso de al menos un nuevo complejo molecular de ácido zoledrónico de la invención y de un 99% a un 1% en peso de un excipiente farmacéutico adecuado.

- 45 Se han observado complejos de ácido zoledrónico y sodio, amonio, amoníaco, L-lisina, DL-lisina, nicotinamida, adenina y glicina a través de sus patrones PXRD y espectros FTIR.

Aquí también se proporcionan datos *in vivo* referentes a la biodisponibilidad oral de ácido zoledrónico administrado por vía oral e intraduodenal en ratas.

Aquí también se describen perfiles PK del compuesto original administrado por diferentes vías: IV, oral e ID.

Aquí también se describen valores modificados de biodisponibilidad oral de nuevos complejos de ácido zoledrónico preparados mediante el método de la invención, en comparación con el compuesto original administrado vía oral.

Otro aspecto de la invención prevé la adición de un exceso de al menos un coformador a los complejos de ácido zoledrónico, que puede ser igual que el coformador del complejo o un coformador diferente, o una mezcla de ambos.

- 5 Otro aspecto de la invención proporciona un método en el que los formadores de cocristales en exceso consisten en aminoácidos estándar.

Aquí también se describen perfiles PK modificados de complejos de ácido zoledrónico con formadores de cocristales en exceso, en comparación con los del compuesto original administrado vía oral.

- 10 Aquí también se describe una solubilidad en agua mejorada de nuevos complejos de ácido zoledrónico en comparación con el compuesto original.

Aquí también se describen valores modificados de biodisponibilidad oral de nuevos complejos de ácido zoledrónico conformadores de cocristales en exceso, en comparación con el compuesto original administrado vía oral.

Aquí también se describen datos *in vivo* referentes a la biodisponibilidad oral de ácido zoledrónico administrado vía IV u oral en perros.

- 15 Aquí también se describen valores modificados de biodisponibilidad oral en perros de nuevos complejos de ácido zoledrónico preparados mediante el método de la invención y administrados en cápsulas de gelatina, en comparación con el compuesto original administrado vía oral.

- 20 Aquí también se describen valores modificados de biodisponibilidad oral en perros de nuevos complejos de ácido zoledrónico preparados mediante el método de la invención y administrados en cápsulas de gel con revestimiento entérico, en comparación con el compuesto original.

Aquí también se describe una mejora sustancial de los valores de biodisponibilidad oral en perros de nuevos complejos de ácido zoledrónico con formadores de cocristales en exceso, preparados mediante el método de la invención y administrados en cápsulas de gelatina dura.

- 25 Aquí también se describe una ligera mejora de los valores de biodisponibilidad oral de ácido zoledrónico en perros de ácido zoledrónico y nuevos complejos de ácido zoledrónico administrados vía oral mediante cápsulas con revestimiento entérico.

Aquí también se describe una reducción de los valores de biodisponibilidad oral de ácido zoledrónico en perros de nuevos complejos de ácido zoledrónico con una mezcla física en exceso de coformador.

- 30 Otro aspecto de la invención se refiere a los complejos moleculares, composiciones y composiciones farmacéuticas previstos aquí para su uso en la mejora de la biodisponibilidad o permeabilidad de un ácido bisfosfónico en un paciente que lo necesite.

Las técnicas y estrategias expuestas en la presente descripción pueden ser utilizadas además por los expertos para preparar variantes de las mismas, siendo consideradas dichas variantes como parte de la descripción de la invención.

35 Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin pretender limitar su alcance.

- 40 El ácido zoledrónico como material de partida utilizado en todos los experimentos de esta descripción fue suministrado por Farmkemi Limited (Wuhan Pharma Chemical Co.), China, con una pureza de aproximadamente un 98%, y se purificó adicionalmente mediante recristalización a partir de agua. Todos los demás productos químicos puros (calidad analítica) fueron suministrados por Sigma-Aldrich y se utilizaron sin ninguna purificación adicional.

- 45 El revestimiento entérico de cápsulas de gelatina se adquirió en AzoPharma, Hollywood, FL, EE.UU. En el dispositivo de revestimiento en bandeja Vector LDCS se utilizó una solución de revestimiento al 10% p/p de Eudragit L 100-55, y citrato de trietilo, 9,09 y 0,91% p/p, respectivamente, en agua purificada y acetona, para obtener una capa de revestimiento uniforme sobre las cápsulas. La uniformidad del revestimiento y la funcionalidad para la administración vía duodenal se analizó mediante disolución durante 2 horas en fluido gástrico simulado agitado a 75 rpm y a 37°C. Todas las cápsulas permanecieron cerradas durante todo el tiempo de ensayo.

Caracterización de la fase sólida

Las técnicas analíticas utilizadas para observar las formas cristalinas incluyen difracción de rayos X en polvo (PXRD) y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). La metodología particular utilizada en estas técnicas analíticas debe ser considerada como ilustrativa y no limitativa en el contexto de la recopilación de datos. Por ejemplo, la instrumentación particular utilizada para recopilar datos puede variar; las normas de calibración o error de operador rutinario pueden variar; el método de preparación de muestras puede variar (por ejemplo, el uso de un disco KBr o de técnica Nujol mull para análisis FTIR).

Espectroscopía FTIR con transformada de Fourier (FTIR): El análisis FTIR se llevó a cabo en un espectrómetro Perkin Elmer Spectrum 100 FTIR equipado con un accesorio ATR en estado sólido.

- 10 Difracción de rayos X en polvo (PXRD): Todos los productos de complejo molecular de ácido zoledrónico se observaron mediante un difractómetro de rayos X en polvo D-8 Bruker utilizando Cu K α (λ = 1,540562 Å), 40 kV, 40 mA. Los datos se recopilaron a lo largo de un intervalo angular 2 θ de 3° a 40° en modo de exploración continuo a temperatura ambiente utilizando un tamaño de paso de 0,05° 2 θ y una velocidad de exploración de 6,17°/min.

Ejemplo 1: Preparación de un complejo de ácido zoledrónico, sal zoledrónica de sodio y agua.

- 15 200 mg de ácido zoledrónico se suspendieron con 180 mg de cloruro de sodio en etanol:agua 1:1 a lo largo de la noche. El material se filtró y se lavó. El material en forma de partículas se recogió y se guardó en un vial con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 1 y la FIG. 2, respectivamente.

Ejemplo 2: Preparación de un complejo de sal zoledrónica de amonio y agua.

- 20 300 mg de ácido zoledrónico se suspendieron en amoníaco 7 N en metanol a lo largo de la noche. El material se filtró y se lavó. El material en forma de partículas se disolvió en agua y se dejó evaporar en condiciones ambiente para obtener placas incoloras después de 1 semana. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 3 y la FIG. 4, respectivamente.

Ejemplo 3: Preparación de un complejo de zoledrónico, L-lisina y agua.

- 25 200 mg de ácido zoledrónico y 54 mg de L-lisina se suspendieron en 2 ml de tetrahidrofurano y 200 μ l de agua a lo largo de la noche. Los sólidos recogidos después de la filtración se secaron y se guardaron en viales con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 5 y la FIG. 6, respectivamente.

Ejemplo 4: Preparación de un complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua.

- 30 204 mg de ácido zoledrónico y 59 mg de DL-lisina se suspendieron en 2 ml de tetrahidrofurano y 200 μ l de agua a lo largo de la noche. Los sólidos recogidos después de la filtración se secaron y se guardaron en viales con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 7 y la FIG. 8, respectivamente.

Ejemplo 5: Preparación de un complejo de ácido zoledrónico, zoledrónico, DL-lisina, etanol y agua.

- 35 103 mg de ácido zoledrónico y 54 mg de DL-lisina se disolvieron en 400 μ l de agua, se taparon y se agitaron a lo largo de la noche. El día siguiente se añadieron gota a gota 0,25 ml de etanol. El vial se tapó con una tapa roscada y 1 día después aparecieron unos cristales, que se filtraron. El material se guardó para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 9 y la FIG. 10, respectivamente.

Ejemplo 6: Preparación de un complejo de zoledrónico, nicotinamida y agua mediante molienda con goteo de disolvente.

- 40 99 mg de ácido zoledrónico se molieron con 44 mg de nicotinamida y a la mezcla sólida se le añadieron 40 μ l de agua. Los sólidos recogidos después de la molienda se guardaron en viales con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 11 y la FIG. 12, respectivamente.

- 45 **Ejemplo 7:** Preparación de un complejo de zoledrónico, nicotinamida y agua a partir de cristalización de la solución.

25 mg de ácido zoledrónico y 138 mg de nicotinamida se disolvieron en 2 ml de una mezcla de agua:acetato de etilo (1:1 v/v). Después, la solución se dejó reposar durante varias horas para que se produjera la evaporación lenta del

disolvente. Los sólidos recogidos se caracterizaron y produjeron patrones PXRD y FTIR muy similares a los del producto del Ejemplo 7.

Ejemplo 8: Preparación de un complejo de zoledrónico, adenina y agua mediante molienda con goteo de disolvente.

- 5 96 mg de ácido zoledrónico se molieron con 65 mg de adenina y a la mezcla sólida se le añadieron 60 µl de agua. Los sólidos recogidos después de la molienda se guardaron en viales con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 13 y la FIG. 14, respectivamente.

Ejemplo 9: Preparación de un complejo de zoledrónico, adenina y agua a partir de la suspensión de una solución.

- 10 99 mg de ácido zoledrónico y 54 mg de adenina se suspendieron en 2 ml de una mezcla de agua:etanol (1:1 v/v) a lo largo de la noche. Los sólidos recogidos después de la filtración se secaron, se caracterizaron y produjeron patrones PXRD y FTIR muy similares a los del producto del Ejemplo 8.

Ejemplo 10: Preparación de un complejo de zoledrónico y glicina.

178 mg de ácido zoledrónico y 45 mg de glicina se suspendieron en 2 ml de agua a lo largo de la noche. Los sólidos recogidos después de la filtración se secaron y se guardaron en viales con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 15 y la FIG. 16, respectivamente.

- 15 **Ejemplo 11:** Preparación de un complejo de diamoniaco zoledrónico y agua.

1,5 g de ácido zoledrónico se suspendieron en amoníaco 7 N en metanol a lo largo de la noche. El material se filtró y se lavó. El material en forma de partículas se disolvió en agua con calor medio y se dejó evaporar en condiciones ambiente para obtener bloques incoloros 1 día después. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 17 y la FIG. 18, respectivamente.

- 20 **Ejemplo 12:** Preparación de un complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua.

200 mg de ácido zoledrónico y 102 mg de DL-lisina se suspendieron en 2 ml de tetrahidrofurano y 400 µl de agua a lo largo de la noche. Los sólidos recogidos después de la filtración se secaron y se guardaron en viales con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 19 y la FIG. 20, respectivamente.

- 25 **Ejemplo 13:** Preparación de un complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua.

1 g de ácido zoledrónico y 283 mg de DL-lisina se suspendieron en 80 ml de tetrahidrofurano y 8 ml de agua a lo largo de la noche. Los sólidos recogidos después de la filtración se secaron y se guardaron en viales con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 21 y la FIG. 22, respectivamente.

- 30 **Ejemplo 14:** Preparación de un complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua mediante el método de antidisolvente.

Este complejo también se puede preparar mediante el método de antidisolvente disolviendo 1 g de ácido zoledrónico y 283 mg de DL-lisina en 5 ml de agua caliente y añadiendo 40 ml de etanol como un antidisolvente agitado a lo largo de la noche. Se obtuvieron perfiles PXRD y FTIR similares, tal como se muestra en la FIG. 23 y la FIG. 24, respectivamente.

- 35 **Ejemplo 15:** Preparación de un complejo de zoledrónico, L-lisina y agua.

1 g de ácido zoledrónico y 255 mg de L-lisina se disolvieron en 60 ml de agua caliente. Después se añadieron 100 ml de etanol como un antidisolvente. Los sólidos recogidos después de la filtración se secaron y se guardaron en viales con tapa roscada para su análisis posterior. El material se caracterizó mediante PXRD y FTIR, correspondientes a la FIG. 25 y la FIG. 26, respectivamente.

- 40 **Ejemplo 16:** Estudios PK en animales

- 45 Estos estudios se llevaron a cabo en ratas y perros, ya que son modelos animales adecuados para el ácido zoledrónico. Esto puede ser atribuido al hecho de que ambos animales han sido utilizados históricamente en la evaluación de la seguridad y los estudios de selección PK y son recomendados por las agencias reguladoras apropiadas. Además, las ratas y los perros también han sido establecidos como especies apropiadas para evaluar la absorción de fármacos de bisfosfonato incluyendo el ácido zoledrónico.

A las ratas y los perros se les administraron por vías IV u orales ácido zoledrónico puro y complejos de ácido zoledrónico preparados mediante los métodos de esta invención. Otros análisis adicionales incluían la administración ID a ratas y la administración de cápsulas con revestimiento entérico a perros. Todos los compuestos administrados fueron bien tolerados por los animales sin que se observaran efectos negativos ni anomalías físicas.

- 5 Sujetos de ensayo: Se obtuvieron Ratas Sprague-Dawley macho de 8 semanas (217-259 gramos) de Hilltop Lab Animals, Scottsdale, PA EE.UU. A los animales se les implantaron catéteres quirúrgicos (vena yugular e intraduodeno) antes de los estudios. En este estudio se utilizaron perros sabuesos de Marshall Farms, NY, EE.UU., con un peso de 9-12 kg. Antes del estudio se implantaron catéteres quirúrgicos (vena yugular).

- 10 Alojamiento: Las ratas fueron alojadas individualmente en jaulas de acero inoxidable para evitar la exteriorización de los catéteres. La aclimatación (fase previa a la dosis) tuvo lugar durante 1 día. Los perros ya se encontraban en las instalaciones de prueba (Absorption Systems Inc., EE.UU.) y no necesitaron aclimatación.

Ambiente: Se establecieron controles ambientales para el espacio de los animales con el fin de mantener de 18 a 26°C, una humedad relativa del 30 al 70%, un mínimo de 10 cambios de aire/hora y un ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad. El ciclo de luz/oscuridad se podía interrumpir para actividades relacionadas con el estudio.

- 15 Dieta: A las ratas se les proporcionó agua y Rodent Diet #8728C (Harlan Teklad) certificada. A los perros se les suministró agua y dieta para perros estándar dos veces al día (cada 12 horas).

Ayuno: Todos los animales de ensayo fueron sometidos a ayuno a lo largo de la noche antes de la administración IV, oral o ID de ácido zoledrónico o complejos de ácido zoledrónico.

- 20 Vías de administración a ratas: El ácido zoledrónico y sus formulaciones en complejos se administraron vía IV, oral e ID. Las dosis administradas a todas las ratas del estudio se midieron como ácido zoledrónico, no como la forma compleja contenida en la suspensión:

- i. Administración IV: La dosis de ácido zoledrónico para la administración IV era de 0,5 mg/kg. La dosis de cada rata se calculó sobre una base por rata (no sobre un peso medio de todas las ratas del lote).
- 25 ii. Administración por alimentación oral forzada: Se administraron suspensiones sólidas. La dosis de cada rata se calculó sobre una base por rata (no sobre un peso medio de todas las ratas del lote). En cuanto a las suspensiones sólidas, a los animales se les administraron 5 mg/kg de ácido zoledrónico o 5 mg/kg de ácido zoledrónico en complejos de ácido zoledrónico contenidos en una suspensión de PEG 400.
- 30 iii. Administración por cánula duodenal: Se administraron suspensiones sólidas. La dosis de cada rata se calculó sobre una base por rata (no sobre un peso medio de todas las ratas del lote). En cuanto a las suspensiones sólidas, a los animales se les administraron 5 mg/kg de ácido zoledrónico o 5 mg/kg de ácido zoledrónico en complejos de ácido zoledrónico contenidos en una suspensión de PEG 400.

Vías de administración a perros: El ácido zoledrónico y sus formulaciones en complejos se administraron vía IV y oral. Las dosis administradas a todos los perros del estudio se midieron como ácido zoledrónico en cada complejo, no como la forma compleja contenida en el polvo dentro de la cápsula de gelatina o en solución para IV:

- 35 i. Administración IV: El volumen de dosis de cada perro se ajustó en base al peso medio del perro.
- ii. Administración oral: Las formulaciones de ácido zoledrónico y su equivalente de complejo de ácido zoledrónico se administraron mediante cápsulas de gelatina de tamaño 0 sobre la base del peso medio de los perros.
- 40 iii. Administración oral con cápsulas con revestimiento entérico: Las formulaciones de ácido zoledrónico y su equivalente de complejo de ácido zoledrónico se administraron mediante cápsulas de gelatina con revestimiento entérico de tamaño 0 sobre la base del peso medio de los perros.
- iv. Administración oral de los complejos moleculares con coformadores adicionales: Se administraron mezclas físicas de complejos de ácido zoledrónico con coformadores adicionales mediante cápsulas de gelatina de tamaño 0 en base al peso medio de los perros.

Grupos: Para el estudio se seleccionaron dos grupos principales de animales.

- 45 Grupo 1, ratas que incluían cuatro subgrupos (I-IV), donde los resultados de cada punto de datos en los gráficos del perfil PK eran la concentración de fármaco media en el plasma de 3 ratas.
- Grupo 2, estudio PK con perros que incluía tres grupos con subgrupos (A, B, C, D, E y F), donde los resultados de cada punto de datos en los gráficos del perfil PK eran la concentración de fármaco media en el suero de 5 perros.

- 50 Detalles del Grupo 1 administración a ratas

Grupo I (administración IV). Los miembros del grupo y las dosis IV designadas se citan más abajo

Grupo nº I	Designación	nº de ratas	Dosis*	Volumen de dosis
G1	Ác. zoledrónico	3	0,5 mg/kg	1 ml

Grupo de comparación IV, se llevó a cabo para calcular el TMA (tiempo medio de absorción) y la ka (constante de velocidad de absorción) para los grupos de administración oral.

Grupo II (alimentación oral forzada): Las designaciones de grupo y las dosis orales se citan más abajo:

Grupo nº II	Designación	Nº de ratas	Dosis*	Vol.dosis ml/kg	Compuesto
G2	Ác.zoledrónico en PEG400	3	5 mg/kg	1 ml	Ácido zoledrónico
G3	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de zoledrónico y glicina
G4	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de zoledrónico, nicotinamida y agua
G5	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de ácido zoledrónico, sal zoledrónica de sodio y agua
G6	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de zoledrónico, L-lisina y agua
G7	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua

Grupo III (administración ID): Las designaciones de grupo y las dosis orales están citadas abajo:

Grupo nº III	Designación	Nº de ratas	Dosis*	Vol. dosis ml/kg	Compuesto
G8	Ácido zoledrónico en PEG400	3	5 mg/kg	1 ml	Ácido zoledrónico
G9	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de zoledrónico y glicina
G10	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de zoledrónico, nicotinamida y agua
G11	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de ácido zoledrónico, sal zoledrónica de sodio y agua
G12	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de zoledrónico, L-lisina y agua
G13	Suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua

Grupo IV (alimentación oral forzada): Las designaciones de grupo y las dosis orales se citan más abajo:

Grupo nº IV	Compuesto	Nº de ratas	Dosis	Volumen dosis/kg	Coformador en exceso	Cantidad coformador en exceso mg/kg
G14	Complejo de zoledrónico y glicina, suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Glicina	45
G15	Complejo de zoledrónico y glicina, suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Glicina	25
G16	Complejo de zoledrónico y glicina, suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Glicina	5

Grupo nº IV	Compuesto	Nº de ratas	Dosis	Volumen dosis/kg	Coformador en exceso	Cantidad coformador en exceso mg/kg
G17	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua, suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Monohidrato de DL-lisina	39,32
G18	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua, suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Monohidrato de DL-lisina	28,08
G19	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua, suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	Monohidrato de DL-lisina	5,62
G20	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua, suspensión sólida en PEG400	3	5 mg/kg equivalente	1 ml	n/a	n/a

Toma, manipulación y análisis de muestras de sangre de rata: Se tomaron muestras de sangre (aproximadamente 300 µl por muestra) de cada uno de 3 animales en el Grupo I (administración IV) en ocho (8) momentos: 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 8 horas y 24 horas después de la administración inicial de ácido zoledrónico o sus complejos, en tubos de plasma EDTA. El plasma se recogió después de centrifugación a 13.000 rpm durante 5 minutos a 4°C e inmediatamente después se congeló y se guardó a una temperatura de -60 a -80°C hasta su análisis.

Las muestras se descongelaron el día del análisis y la cantidad de ácido zoledrónico en las muestras se cuantificó por análisis mediante el método LC/MS/MS.

Detalles de la administración a perros del Grupo 2: Antes de la administración, todos los perros recibieron una dosis de 20 ml de ácido cítrico (24 mg/ml en agua) para reducir el pH del estómago. Después de una administración de cápsulas o IV, todos los perros recibieron 6,25 ml adicionales de solución de ácido cítrico (24 mg/ml en agua) como lavado.

Grupo A (administración IV). Los miembros del grupo y las dosis IV designadas se citan más abajo:

Grupo A	Designación	nº de perros en ayunas	Dosis*	Vol. dosis
Etapas 1	Ác. zoledrónico	5	0,05 mg/kg	1 ml/kg

Grupo de comparación IV, se llevó a cabo para calcular el TMA (tiempo medio de absorción) y la ka (constante de velocidad de absorción) para los grupos de administración oral.

Grupo B (administración oral): Las designaciones de grupo y las dosis orales se citan más abajo:

Grupo B	Compuesto	Vía de administración	Dosis de compuesto en cápsulas de gelatina	Nº perros en ayunas (9-12 kg)	Conc. de solución de admin. mg/ml
Etapas 2	Ácido zoledrónico	oral	5 mg/kg equivalente	5	n/a
Etapas 3	Complejo zoledrónico y glicina	oral	5 mg/kg equivalente	5	n/a
Etapas 4	Complejo zoledrónico, DL-lisina y agua	oral	5 mg/kg equivalente	5	n/a
Etapas 5	Complejo zoledrónico, L-lisina y agua	oral	5 mg/kg equivalente	5	n/a

Grupo B	Compuesto	Vía de administración	Dosis de compuesto en cápsulas de gelatina	Nº perros en ayunas (9-12 kg)	Conc. de solución de admin. mg/ml
Etapas 6	Complejo zoledrónico, DL-lisina y agua	oral	5 mg/kg equivalente	5	n/a

Grupo C (administración oral): Las designaciones de grupo y las dosis orales se citan más abajo:

Grupo C	Compuesto	Nº de perros ayunas (9-12 kg)	Vía de administración	Dosis de compuesto en cápsulas de gelatina	Coformador en exceso	Cantidad coformador en exceso
Etapas 7	Monohidrato de ácido zoledrónico	5	oral	56,0 mg; cápsulas con revestimiento entérico	n/a	n/a
Etapas 8	Complejo de zoledrónico y glicina	5	oral	67,0 mg; cápsulas con revestimiento entérico	n/a	n/a
Etapas 9	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	5	oral	87,7 mg	Monohidrato de DL-lisina	294,8 mg
Etapas 10	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	5	oral	87,7 mg; cápsulas con revestimiento entérico	Monohidrato de DL-lisina	294,8 mg
Etapas 11	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	5	oral	84,2 mg	Monohidrato de DL-lisina	294,8 mg
Etapas 12	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	5	oral	87,7 mg; cápsulas con revestimiento entérico	n/a	n/a

Grupo D (15 min infusión IV): Los miembros del grupo y las dosis IV designadas se citan más abajo:

Grupo D	Designación	Nº perros en ayunas (9-12 kg)	Dosis*	Concentración de solución de dosificación
Etapas 13	Ácido zoledrónico	5	0,183 mg/kg IV	0,1 mg/ml

Grupo E (administración oral): Los miembros del grupo y las dosis IV designadas se citan más abajo:

Grupo E	Compuesto	Nº de perros ayunas (9-12 kg)	Vía de administración	Dosis de compuesto en cápsulas de gelatina	Coformador en exceso	Cantidad coformador en exceso
Etapas 14	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	2,1	oral	35,4 mg	Monohidrato de DL-lisina	123,8 mg
Etapas 15	Complejo de zoledrónico y glicina	5	oral	67,0 mg	Monohidrato de DL-lisina	294,8 mg
Etapas 16	Complejo de zoledrónico, L-lisina y agua	5	oral	87,7 mg	Monohidrato de DL-lisina	294,8 mg
Etapas 17	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	2,1	oral	35,4 mg	Monohidrato de DL-lisina	294,8 mg

Grupo F (15 min infusión IV): Los miembros del grupo y las dosis IV designadas se citan más abajo:

Grupo F	Designación	Nº de perros en ayunas (9-12 kg)	Dosis*	Concentración de solución de dosificación
Etapas 18	Ácido zoledrónico	5	0,12 mg/kg infusión IV	0,1 mg/ml

Después de la administración inicial de ácido zoledrónico o sus complejos, se extrajo sangre (aproximadamente 2,5 ml por muestra) de cada uno de 5 animales en el Grupo A (administración IV) en 15 momentos: antes de la administración (0), 2, 5, 10, 15, 30, 45 minutos, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 24 y 48 horas, y en 13 momentos en el caso del Grupo B (administración oral): antes de la administración (0), 5, 10, 15, 30, 45 minutos, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8 y 24 horas. Las muestras de sangre se dispusieron sin utilizar ningún anticoagulante y se dejaron reposar a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos. Después, las muestras se centrifugaron a una temperatura de 4°C, a una velocidad de 13.000 rpm, durante 5 minutos. El suero se recogió y se dividió en dos partes alícuotas, que se guardaron congeladas (-80°C) hasta su análisis. Las muestras se descongelaron el día del análisis y se procesaron utilizando procedimientos analíticos para ácido zoledrónico incluyendo un método de análisis LC/MS/MS.

Resultados de los estudios PK en animales

Estudio con ratas: Los resultados del primer estudio con ratas están resumidos en la Tabla 1; las concentraciones (ng/ml) de ácido zoledrónico en las muestras de plasma son los valores medios de los resultados analíticos de 3 ratas. Además, en la Figura 27 se muestran los perfiles PK de los grupos de administración IV, oral e ID. En las Figuras 28 y 29 se muestran los perfiles de grupos de administración oral e ID. Los resultados sugieren que algunos complejos de ácido zoledrónico tienen una biodisponibilidad oral mejorada en comparación con la del ácido zoledrónico original. Los complejos con biodisponibilidad mejorada se analizaron adicionalmente en un segundo estudio PK con ratas en el que se añadieron coformadores en exceso a los complejos de ácido zoledrónico y después se administraron a ratas mediante alimentación oral forzada. Los resultados de este segundo estudio están resumidos en la Tabla 2 y sus perfiles PK se muestran en las Fig. 30, 31 y 32. Estas figuras muestran biodisponibilidades mejoradas de varios complejos de ácido zoledrónico con coformadores en exceso.

Estudio con perros: Los resultados del primer estudio con perros están resumidos en la Tabla 3. Las concentraciones (ng/ml) de ácido zoledrónico son los valores medios de los resultados analíticos de 5 perros. Los perfiles PK de los grupos de administración IV y oral se muestran en las Fig. 33 y 34, que representan las primeras cuatro horas del perfil PK de 48 horas. Estos resultados y la Fig. 34 sugieren que la mayor parte de los complejos de ácido zoledrónico, si no todos ellos, ha alcanzado una biodisponibilidad oral mejorada en comparación con la del ácido zoledrónico original administrado por vía oral.

En la Tabla 4 están resumidos los resultados del segundo estudio con perros; las concentraciones (ng/ml) de ácido zoledrónico mostradas son los valores medios de los resultados analíticos de 5 perros. En las Fig. 35 y 36 se muestran los perfiles PK de los grupos de administración IV y oral. La Fig. 36 representa las 6 primeras horas del perfil PK de 24 horas. Estos resultados y la Fig. 35 sugieren que la mayor parte de los complejos de ácido zoledrónico, si no todos ellos, ha alcanzado una biodisponibilidad oral mejorada en comparación con la del ácido zoledrónico original administrado por vía oral. Específicamente se produjo una mejora significativa de la biodisponibilidad del ácido zoledrónico en el caso de los nuevos complejos de ácido zoledrónico con coformador de aminoácidos en exceso (Etapas 11, Fig. 37) en comparación con la del fármaco original. Los resultados también han mostrado que se produjo una mejora de la biodisponibilidad de las cápsulas con revestimiento entérico en comparación con las cápsulas sin revestimiento entérico (Fig. 37, Etapas 7 y 2, Etapas 8 y 3, Etapas 12 y 4), pero sorprendentemente la biodisponibilidad se alteró de forma significativa cuando se añadió un coformador de aminoácidos en exceso para formar una mezcla física dentro de las cápsulas con revestimiento entérico (Fig. 37, Etapas 9 y 10). La razón de ello no se comprende completamente.

Los resultados han demostrado que se produce un ligero aumento de la biodisponibilidad oral del ácido zoledrónico de las cápsulas con revestimiento entérico rellenas únicamente con complejos de aminoácidos de ácido zoledrónico (es decir, sin coformador en exceso). Por tanto, se supone que el coformador en exceso con los nuevos complejos de ácido zoledrónico también conduciría a una biodisponibilidad aumentada cuando se suministra en cápsulas con revestimiento entérico. Sorprendentemente, cuando se añadió coformador en exceso al ácido zoledrónico, la biodisponibilidad de las cápsulas con revestimiento entérico era menor que la de las cápsulas sin revestimiento entérico. Esto sugiere que una mezcla de polvo física del complejo molecular y coformador en exceso puede disminuir la biodisponibilidad cuando se suministra al duodeno.

Los resultados analíticos del tercer estudio con perros se muestran en la Tabla 5, que contiene los datos medios de cinco perros. En las Fig. 38 y 39 se muestran los perfiles PK de los grupos de administración IV y oral. La Fig. 39 representa las primeras 4 horas del perfil PK de 24 horas.

Tabla 1. Concentraciones plasmáticas en ratas de ácido zoledrónico puro y complejos de ácido zoledrónico suministrados por diferentes vías.

Grupo nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración plasmática media de 3 ratas (ng/ml)
G1	Ácido zoledrónico	IV	Agua	0,083333	3254,05
				0,25	1950,62
				0,5	1128,75
				1	404,28
				2	112,68
				4	30,46
				8	10,66
				24	2,98
G2	Ácido zoledrónico	PO	PEG 400	0,25	330,06
				0,5	267,45
				1	138,91
				2	47,72
				4	11,78
				8	2,00
				24	0,00
G3	Complejo de zoledrónico y glicina	PO	PEG 400	0,25	648,01
				0,5	435,38
				1	200,88
				4	12,78
				8	1,46
				24	0,00
G4	Complejo de zoledrónico, nicotinamida y agua	PO	PEG 400	0,25	434,61
				0,5	304,94
				1	122,35
				4	7,68
				8	1,82
				24	0,00
G5	Complejo de ácido zoledrónico, sal zoledrónica de sodio y agua	PO	PEG 400	0,25	278,47
				0,5	280,20
				1	171,59
				4	13,42
				8	1,78
				24	0,00
G6	Complejo de zoledrónico, L-	PO	PEG 400	0,25	258,43

Grupo nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración plasmática media de 3 ratas (ng/ml)
	lisina y agua			0,5	249,82
				1	184,95
				4	28,70
				8	3,27
				24	0,00
G7	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	PO	PEG 400	0,25	494,31
				0,5	379,27
				1	213,48
				4	14,57
				8	3,42
				24	0,00
G8	Ácido zoledrónico	ID	PEG 400	0,25	145,67
				0,5	109,92
				1	47,36
				2	12,94
				4	3,85
				8	0,97
				24	0,00
G9	Complejo de zoledrónico y glicina	ID	PEG 400	0,25	86,51
				1	33,93
				4	1,75
				8	1,55
				24	0,00
G10	Complejo de zoledrónico, nicotinamida y agua	ID	PEG 400	0,25	69,71
				1	21,03
				4	0,86
				8	0,00
				24	0,00
G11	Complejo de ácido zoledrónico, sal zoledrónica de sodio y agua	ID	PEG 400	0,25	39,99
				1	18,50
				4	0,71
				8	0,00
				24	0,00
G12	Complejo de zoledrónico, L-lisina y agua	ID	PEG 400	0,25	91,21
				1	26,53

Grupo nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración plasmática media de 3 ratas (ng/ml)
				4	0,74
				8	0,00
				24	0,00
G13	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	ID	PEG 400	0,25	98,25
				1	34,61
				4	2,65
				8	1,02
				24	0,80

Tabla 2. Concentraciones plasmáticas en ratas de complejos de ácido zoledrónico con coformadores en exceso, suministrados por alimentación oral forzada

Grupo nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración plasmática media de 3 ratas (ng/ml)
G14	Complejo de zoledrónico y glicina y 45 mg/kg de glicina	PO	PEG 400	0,0333333	14,61
				0,0833333	206,26
				0,1666667	340,19
				0,25	375,99
				0,5	321,36
				1	197,01
				4	17,35
				24	0,00
G15	Complejo de zoledrónico y glicina y 25 mg/kg de glicina	PO	PEG 400	0,0333333	24,48
				0,0833333	281,08
				0,1666667	502,20
				0,25	516,58
				0,5	430,10
				1	203,48
				2	73,27
				4	14,70
G16	Complejo de zoledrónico y glicina y 5 mg/kg de glicina	PO	PEG 400	24	0,00
				0,0333333	60,03
				0,0833333	365,23
				0,1666667	563,83
				0,25	625,05
				0,5	464,34

Grupo nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración plasmática media de 3 ratas (ng/ml)
				1	209,65
				2	74,28
				4	12,17
				24	0,00
G17	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua y 39,32 mg/kg de monohidrato de DL-lisina	PO	PEG 400	0,0333333	168,19
				0,0833333	263,28
				0,1666667	440,26
				0,25	456,18
				0,5	385,57
				1	209,26
				2	85,65
				4	14,58
				24	0,71
G18	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua y 28,08 mg/kg de monohidrato de DL-lisina	PO	PEG 400	0,0333333	219,95
				0,0833333	427,02
				0,1666667	729,65
				0,25	777,54
				0,5	632,07
				1	300,86
				2	100,59
				4	21,14
				24	0,00
G19	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua y 5,62 mg/kg de monohidrato de DL-lisina	PO	PEG 400	0,0333333	53,78
				0,0833333	394,73
				0,1666667	649,52
				0,25	669,20
				0,5	530,00
				1	265,20
				2	73,31
				4	15,41
				24	0,00
G20	Complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	PO	PEG 400	0,0333333	103,13
				0,0833333	352,18
				0,1666667	475,33
				0,25	505,48

Grupo nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración plasmática media de 3 ratas (ng/ml)
				0,5	431,41
				1	224,56
				2	69,95
				4	14,96
				24	0,00

Tabla 3. Concentraciones en suero en perros de ácido zoledrónico puro y complejos de ácido zoledrónico suministrados por diferentes vías (IV y oral)

Etapas nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
1	0,05 mg/kg de ácido zoledrónico	IV	Solución salina	0	0,00
				0,0333	413,44
				0,0833	311,68
				0,1667	228,97
				0,25	178,63
				0,5	111,11
				0,75	75,91
				1	56,07
				1,5	30,35
				2	17,61
				4	4,29
				8	1,13
				24	0,00
				48	0,00
2	Cápsula de 56,0 mg de monohidrato de ácido zoledrónico	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	0,00
				0,1667	0,00
				0,25	0,31
				0,5	110,73
				0,75	97,98
				1	103,60
				1,5	80,57
				2	75,16
				4	17,86
				8	2,71

Etapas n°	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
				24	0,56
3	Cápsula de 67,0 mg de complejo de zoledrónico y glicina	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	2,45
				0,1667	12,75
				0,25	37,07
				0,5	149,20
				0,75	206,14
				1	254,20
				1,5	176,11
				2	109,25
				4	20,43
				8	3,96
				24	0,97
4	Cápsula de 87,7 mg de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	3,11
				0,1667	6,49
				0,25	22,55
				0,5	68,28
				0,75	162,72
				1	206,14
				1,5	149,92
				2	105,81
				4	25,51
				8	4,22
				24	0,56
5	Cápsula de 87,7 mg de complejo de zoledrónico, L-lisina y agua	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	0,00
				0,1667	3,13
				0,25	10,06
				0,5	188,52
				0,75	345,28
				1	318,97
				1,5	180,77
				2	109,23
				4	23,11

Etapa nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
				8	9,73
				24	1,93
6	Cápsula de 84,2 mg de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	0,00
				0,1667	0,20
				0,25	1,92
				0,5	106,47
				0,75	120,13
				1	108,13
				1,5	90,45
				2	54,48
				4	18,14
				8	4,35
				24	1,06

Tabla 4. Concentraciones en suero en perros de ácido zoledrónico puro y complejos de ácido zoledrónico suministrados por diferentes vías, IV y oral, cápsulas de gelatina con y sin revestimiento entérico.

Etapa nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
7	Cápsula de 56,0 mg de monohidrato de ácido zoledrónico con revestimiento entérico	PO	n/a	0	0,00
				0,1667	0,00
				0,25	0,00
				0,5	0,00
				0,75	0,00
				1	9,84
				1,5	86,13
				2	109,37
				4	107,64
				6	14,15
				8	4,57
				24	0,50
8	Cápsula de 67,0 mg de zoledrónico y glicina con revestimiento entérico	PO	n/a	0	0,00
				0,1667	0,00
				0,25	0,00
				0,5	0,00

Etapas n°	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
				0,75	0,00
				1	4,42
				1,5	208,97
				2	274,53
				4	101,20
				6	16,71
				8	7,14
				24	2,17
9	Cápsula de 87,7 mg de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua con 294,8 mg de monohidrato de DL-lisina	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	13,31
				0,1667	39,76
				0,25	120,41
				0,5	364,68
				0,75	487,59
				1	499,60
				1,5	362,16
				2	254,72
				4	52,22
				6	16,61
				8	8,93
				24	2,92
10	Cápsula de 87,7 mg de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua con 294,8 mg de monohidrato de DL-lisina con revestimiento entérico	PO	n/a	0	0,00
				0,1667	0,00
				0,25	0,00
				0,5	0,00
				0,75	3,71
				1	51,32
				1,5	403,15
				2	309,08
				4	44,83
				6	13,15
				8	7,09
				24	2,66
11	Cápsula de 84,2 mg de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua con 294,8 mg de	PO	n/a	0	0,22
				0,1667	167,03

Etapas n°	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
	monohidrato de DL-lisina			0,25	533,96
				0,5	878,63
				0,75	838,82
				1	633,50
				1,5	326,63
				2	185,44
				4	46,86
				6	20,26
				8	11,49
				24	5,95
12	Cápsula de 87,7 mg de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua con revestimiento entérico	PO	n/a	0	0,57
				0,1667	0,60
				0,25	0,59
				0,5	0,61
				0,75	0,40
				1	132,15
				1,5	566,18
				2	402,12
				4	65,35
				6	21,02
				8	12,18
				24	4,33
13	0,183 mg/kg de ácido zoledrónico	IV	Solución salina	0	0,64
				0,0833	476,79
				0,1667	755,68
				0,25	1057,75
				0,3333	745,67
				0,4167	629,22
				0,5	522,78
				0,75	342,58
				1	245,36
				1,25	182,59
				1,5	139,77
				2	80,87
				4	23,40

Etapas n°	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
				8	8,78
				24	3,84

Tabla 5. Concentraciones en suero en perros de ácido zoledrónico puro y complejos de ácido zoledrónico suministrados por diferentes vías (IV y oral).

Etapas n°	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
14	Cápsula de gelatina de 35,4 mg de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua con 123,8 mg de monohidrato de DL-lisina	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	0,00
				0,1667	0,72
				0,25	11,40
				0,5	78,95
				0,75	126,46
				1	137,38
				1,5	64,73
				2	33,38
				4	6,14
				8	0,89
				24	0,00
15	Cápsula de gelatina de 67,0 mg de complejo de zoledrónico y glicina con 294,8 mg de monohidrato de DL-lisina	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	2,58
				0,1667	26,13
				0,25	55,58
				0,5	225,41
				0,75	234,95
				1	221,91
				1,5	204,90
				2	117,22
				4	17,79
				8	3,34
				24	0,77
16	Cápsula de gelatina de 87,7 mg de complejo de zoledrónico, L-lisina y agua con 294,8 mg de monohidrato de DL-lisina	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	3,26
				0,1667	17,21
				0,25	213,77

Etapa nº	Complejo	Vía de administración	Vehículo	Tiempo (horas)	Concentración en suero media de 5 perros (ng/ml)
				0,5	504,17
				0,75	436,00
				1	325,21
				1,5	171,42
				2	100,81
				4	23,38
				8	4,65
				24	1,48
17	Cápsula de gelatina de 35,4 mg de complejo de zoledrónico, DL-lisina y agua con 294,8 mg de monohidrato de DL-lisina	PO	n/a	0	0,00
				0,0833	0,00
				0,1667	13,47
				0,25	50,04
				0,5	146,68
				0,75	137,24
				1	116,38
				1,5	66,70
				2	44,94
				4	8,87
				8	1,58
				24	0,21
18	0,12 mg/kg de ácido zoledrónico	IV	Solución salina	0	0,00
				0,0833	309,13
				0,1667	524,58
				0,25	717,15
				0,3333	501,70
				0,4167	392,35
				0,5	322,84
				0,75	201,78
				1	132,86
				1,25	93,22
				1,5	69,06
				2	38,38
				4	9,14
				8	3,24
				24	1,21

Tabla 6. Solubilidad acuosa de ácido zoledrónico (AZ) y nuevos complejos de ácido zoledrónico a temperatura ambiente

Compuesto	Conc. mg/ml	mMol/l (complejo)
AZ monohidrato	1,57	5,41
AZ: glicina	11,89	34,25
AZ: dihidrato de L-lisina	8,22	18,09
AZ: dihidrato de DL-lisina	6,85	15,08
AZ: monohidrato de DL-lisina	13,9	31,86

REIVINDICACIONES

1. Complejo molecular cristalino que comprende ácido zoledrónico o una sal del mismo y un coformador seleccionado entre lisina o glicina.
2. Complejo molecular seleccionado de entre el grupo consistente en:

5 un complejo de ácido zoledrónico cristalino, agua y L-lisina;

un complejo de ácido zoledrónico cristalino, agua y DL-lisina;

un complejo de ácido zoledrónico cristalino, agua y glicina;

un complejo de ácido zoledrónico cristalino, L-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos a aproximadamente 9,0, 14,4, 18,1, 26,0 y $29,6 \pm 0,2$ grados dos-theta;

10 un complejo de ácido zoledrónico cristalino, L-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos a aproximadamente 9,6, 10,7, 14,3, 21,4, $23,5 \pm 0,2$ grados dos-theta;

un complejo de ácido zoledrónico cristalino, DL-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos a aproximadamente 8,3, 11,8, 12,3, 15,8 y $20,8 \pm 0,2$ grados dos-theta;

15 un complejo de ácido zoledrónico cristalino, DL-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos a aproximadamente 9,1, 14,7, 18,0, 21,2 y $26,0 \pm 0,2$ grados dos-theta;

un complejo de ácido zoledrónico cristalino y glicina caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos a aproximadamente 10,2, 17,8, 19,9, 22,9 y $28,1 \pm 0,2$ grados dos-theta;

un complejo de ácido zoledrónico cristalino, DL-lisina y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos a aproximadamente 9,7, 10,8, 14,4, 18,9, $21,4 \pm 0,2$ grados dos-theta;

20 un complejo de ácido zoledrónico cristalino, DL-lisina, etanol y agua caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo que presenta picos a aproximadamente 8,8, 9,7, 17,6, 23,1 y $26,5 \pm 0,2$ grados dos-theta;

cuando los patrones de difracción de rayos X en polvo se registran a lo largo de un intervalo angular 2θ de 3° a 40° utilizando radiación Cu K α con $\lambda = 1,540562 \text{ \AA}$.

25 3. Composición que comprende el complejo molecular cristalino que comprende ácido zoledrónico o una sal del mismo y lisina según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, y una cantidad en exceso de lisina, glicina o mezclas de las mismas, preferiblemente una cantidad en exceso de lisina.

4. Composición que comprende el complejo molecular cristalino que comprende ácido zoledrónico o una sal del mismo y glicina según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, y una cantidad en exceso de glicina, lisina o mezclas de las mismas, preferiblemente una cantidad en exceso de glicina.

30 5. Composición farmacéutica que comprende el complejo molecular cristalino de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, o la composición de la reivindicación 3 o la reivindicación 4, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

6. Composición farmacéutica según la reivindicación 5, donde la composición es una forma de dosificación sólida oral.

35 7. Composición farmacéutica según la reivindicación 6, donde la composición es una forma de dosificación oral seleccionada entre una pastilla, una cápsula y una suspensión líquida del complejo molecular sólido.

8. Complejo molecular según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, composición según la reivindicación 4 o la reivindicación 5, o composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, para su uso como medicamento.

40 9. Complejo molecular según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, composición según la reivindicación 3 o la reivindicación 4, o composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 6, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de estados de enfermedad asociados a osteoporosis, hipercalcemia,

metástasis ósea inducida por cáncer, enfermedad de Paget o terapias de cáncer adyuvantes o neoadyuvantes.

- 5 **10.** Complejo molecular según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, composición según la reivindicación 3 o la reivindicación 4, o composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, para su uso para aumentar la biodisponibilidad o permeabilidad de ácido zoledrónico o una sal del mismo en un paciente que lo requiera.

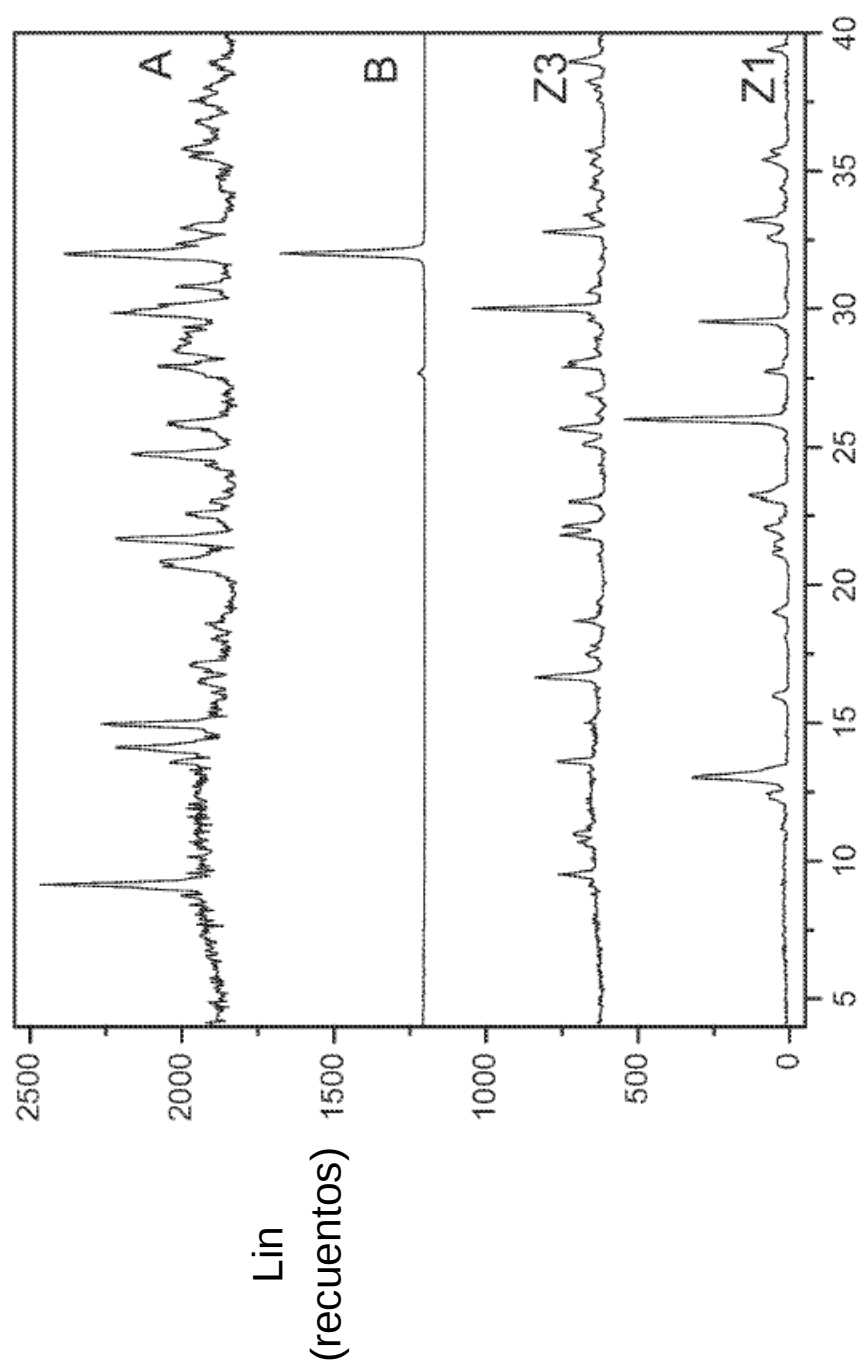


FIG. 1

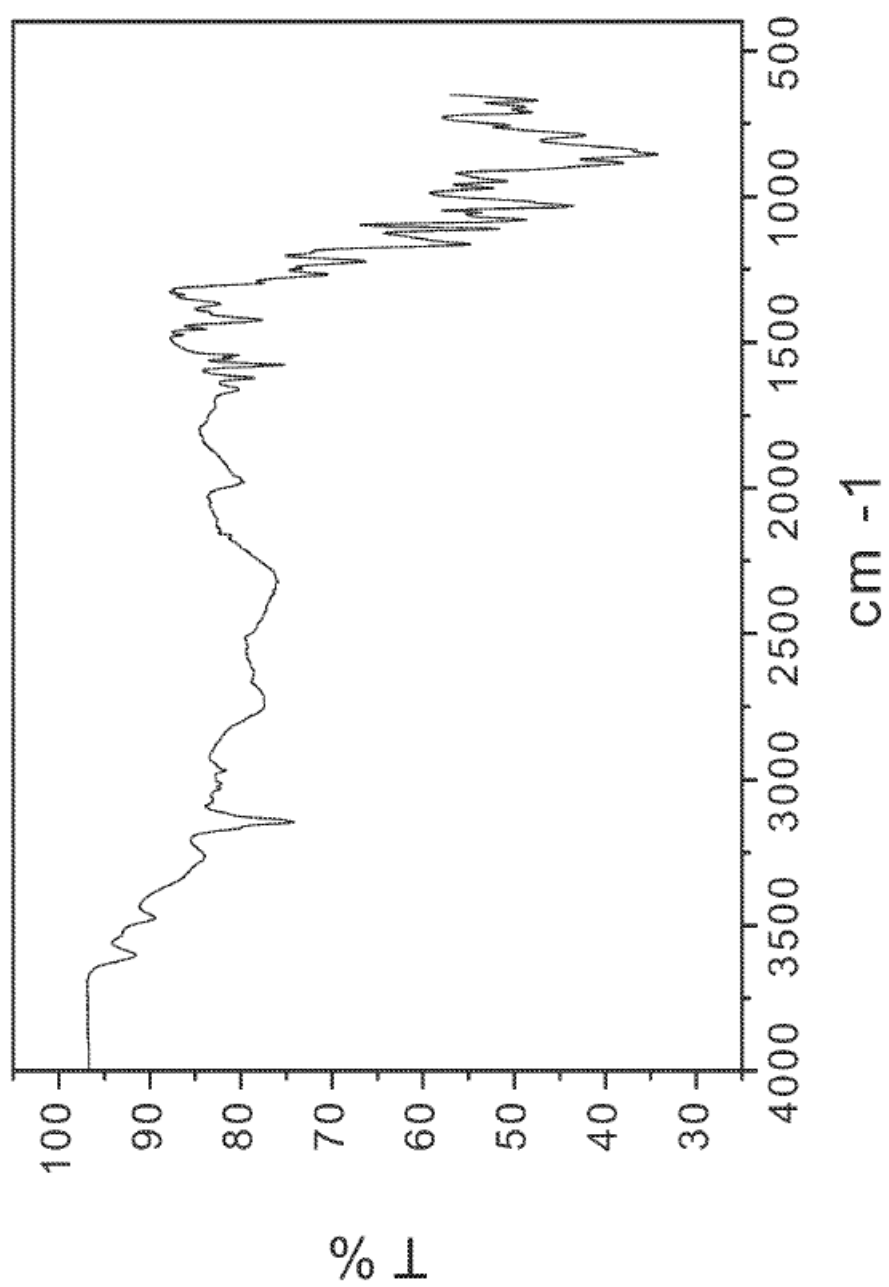


FIG. 2

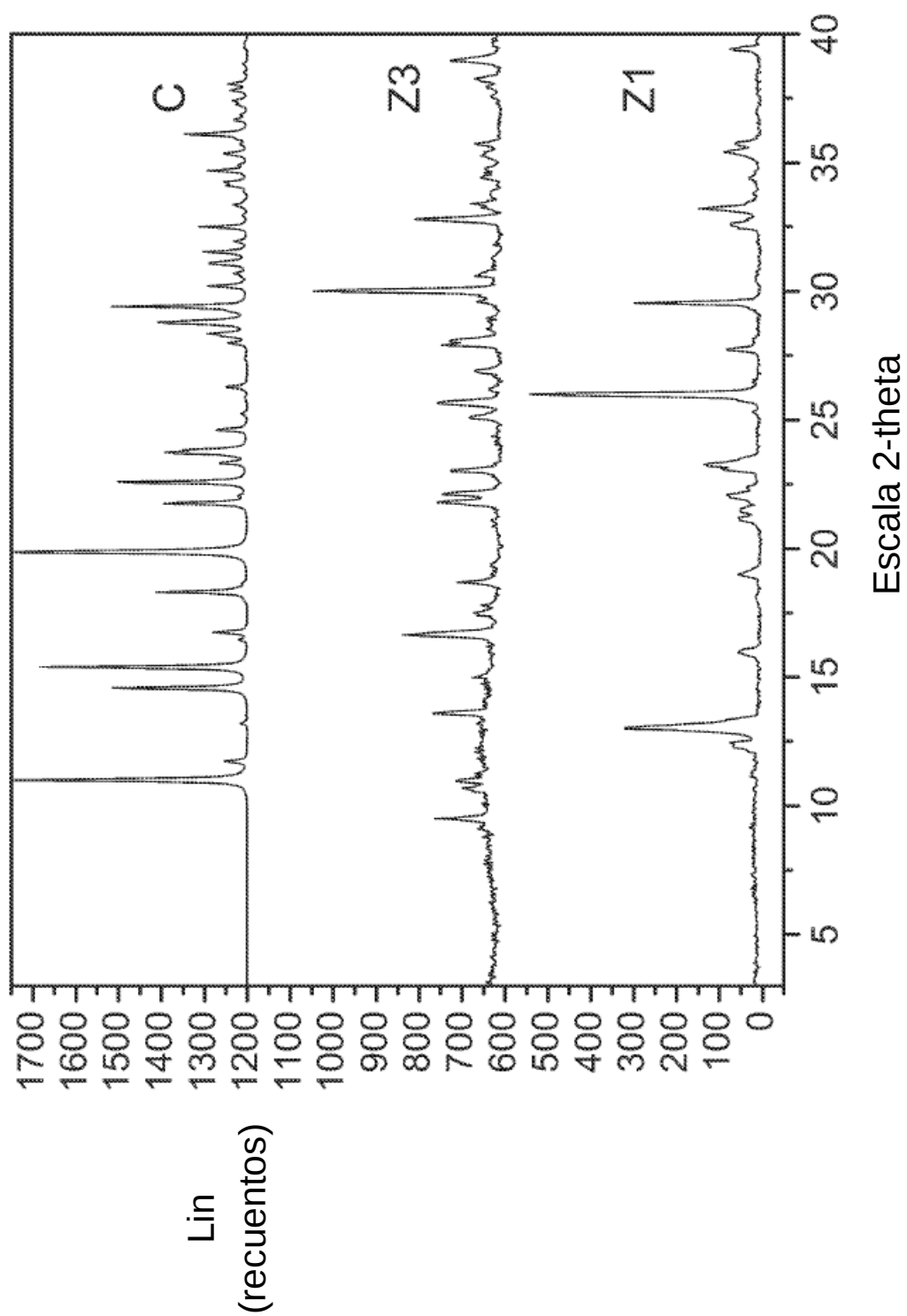


FIG. 3

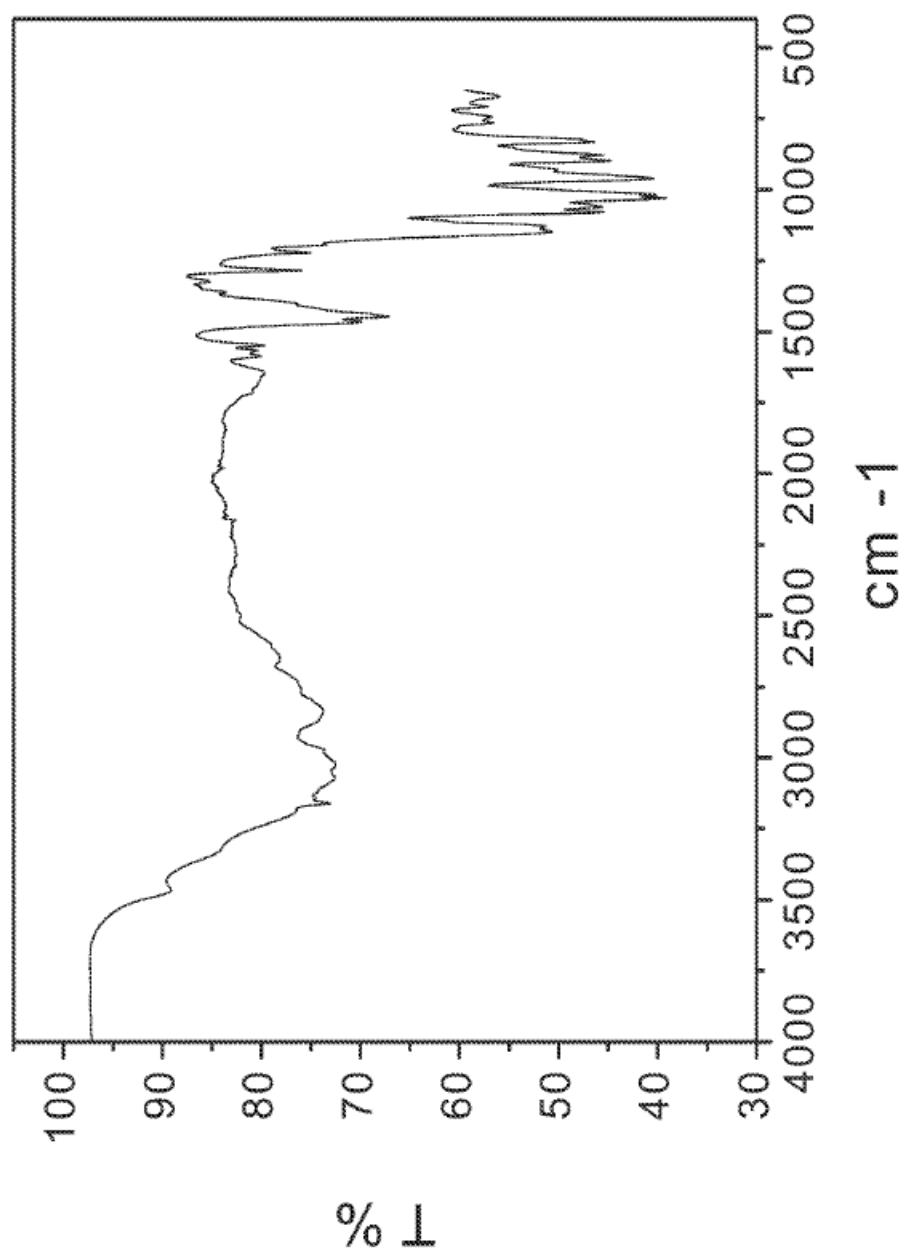


FIG. 4

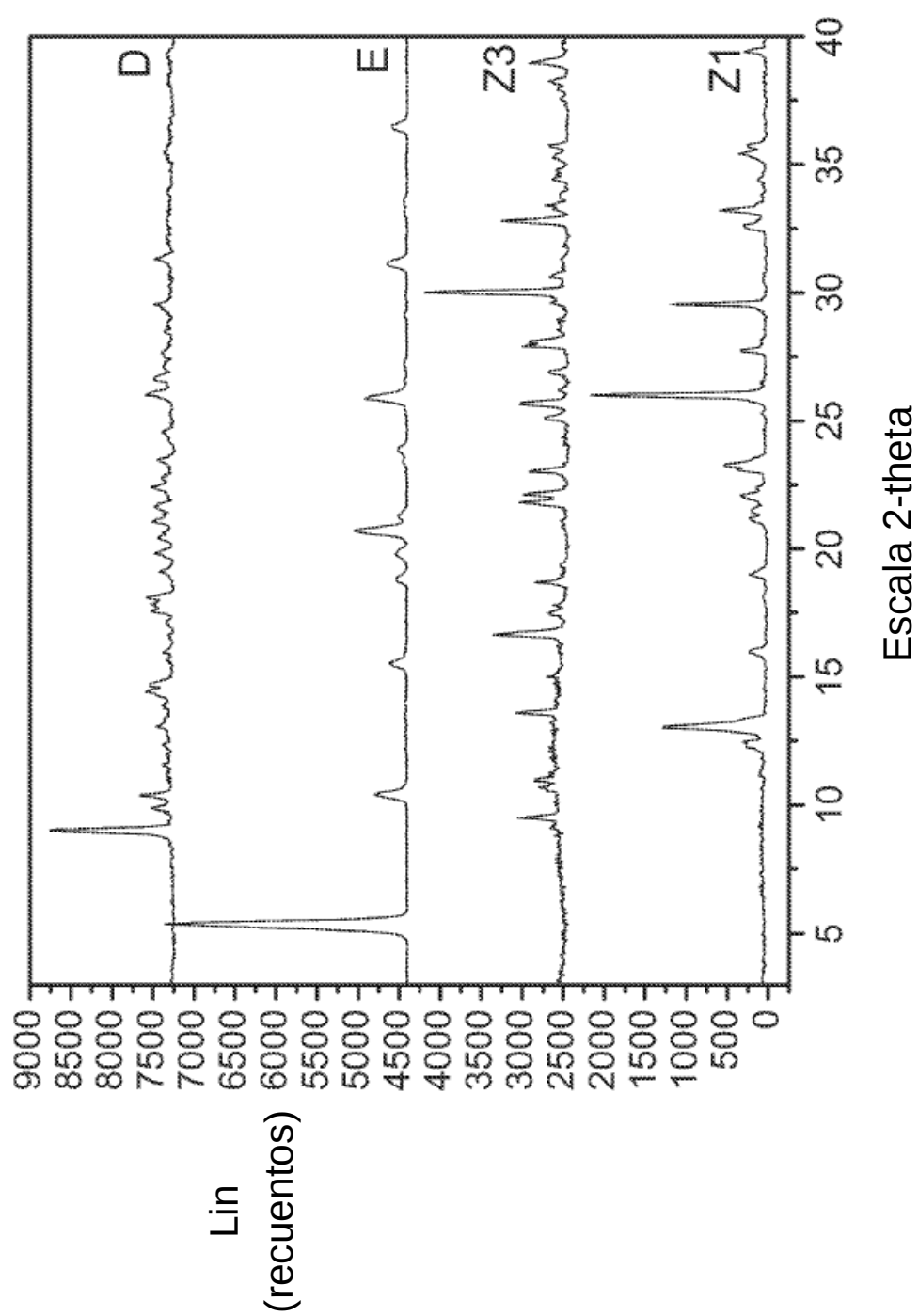


FIG. 5

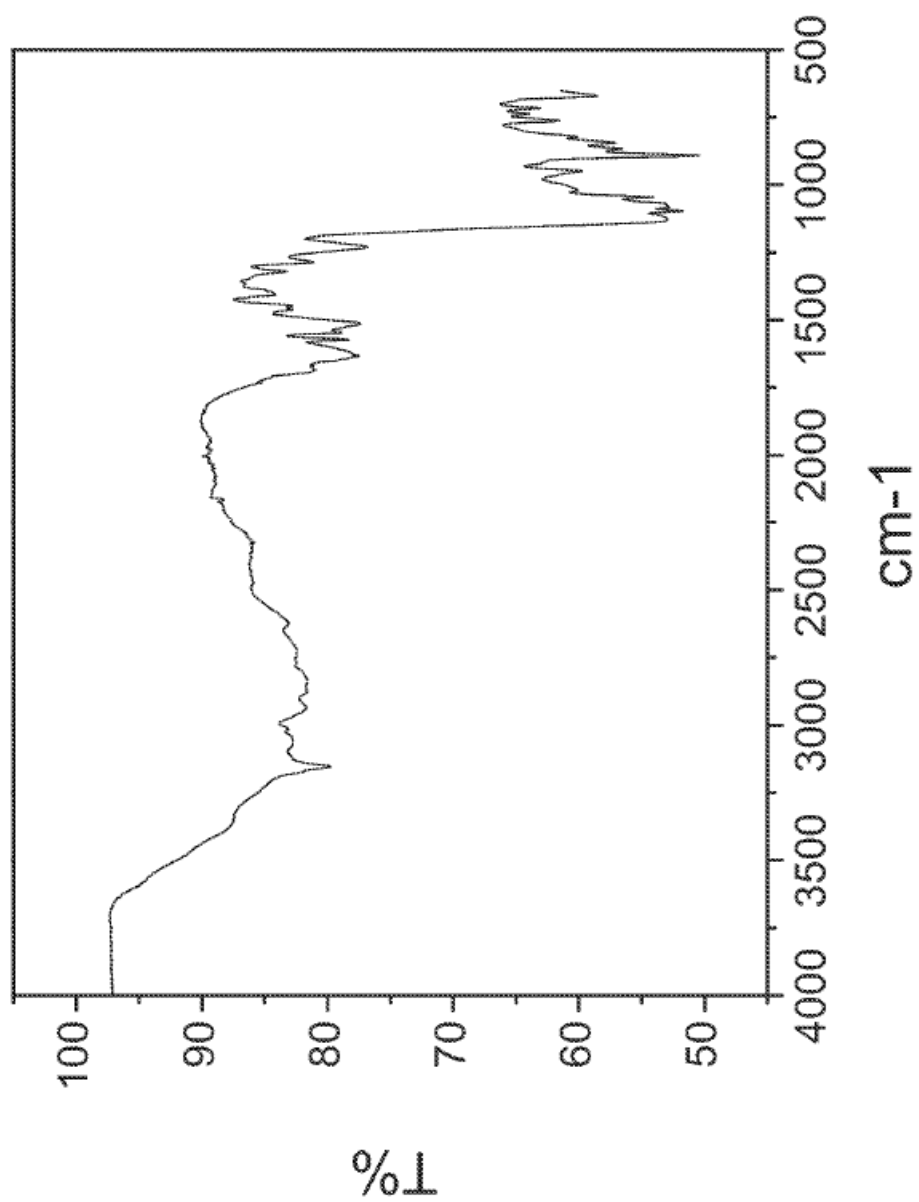


FIG. 6

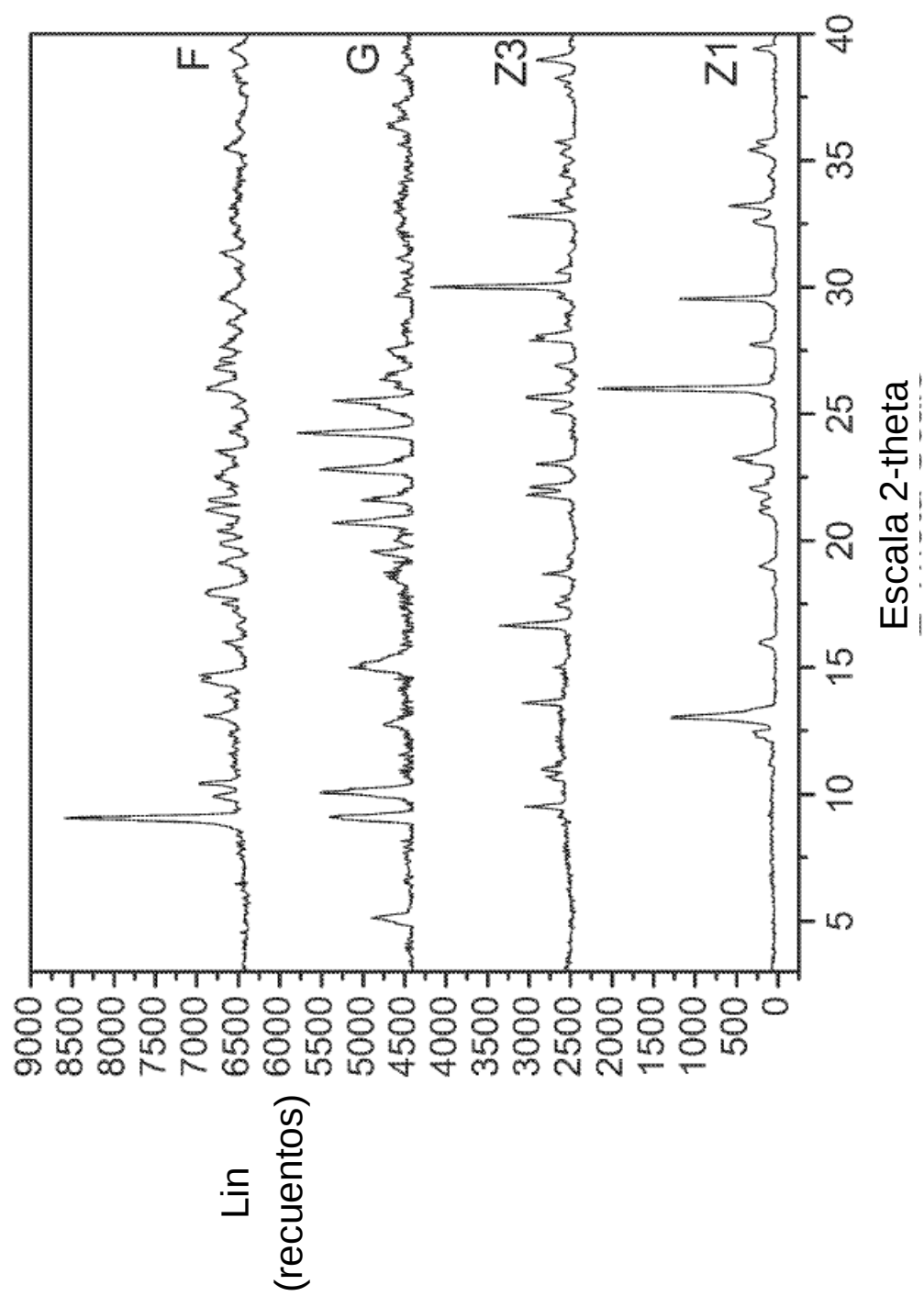


FIG. 7

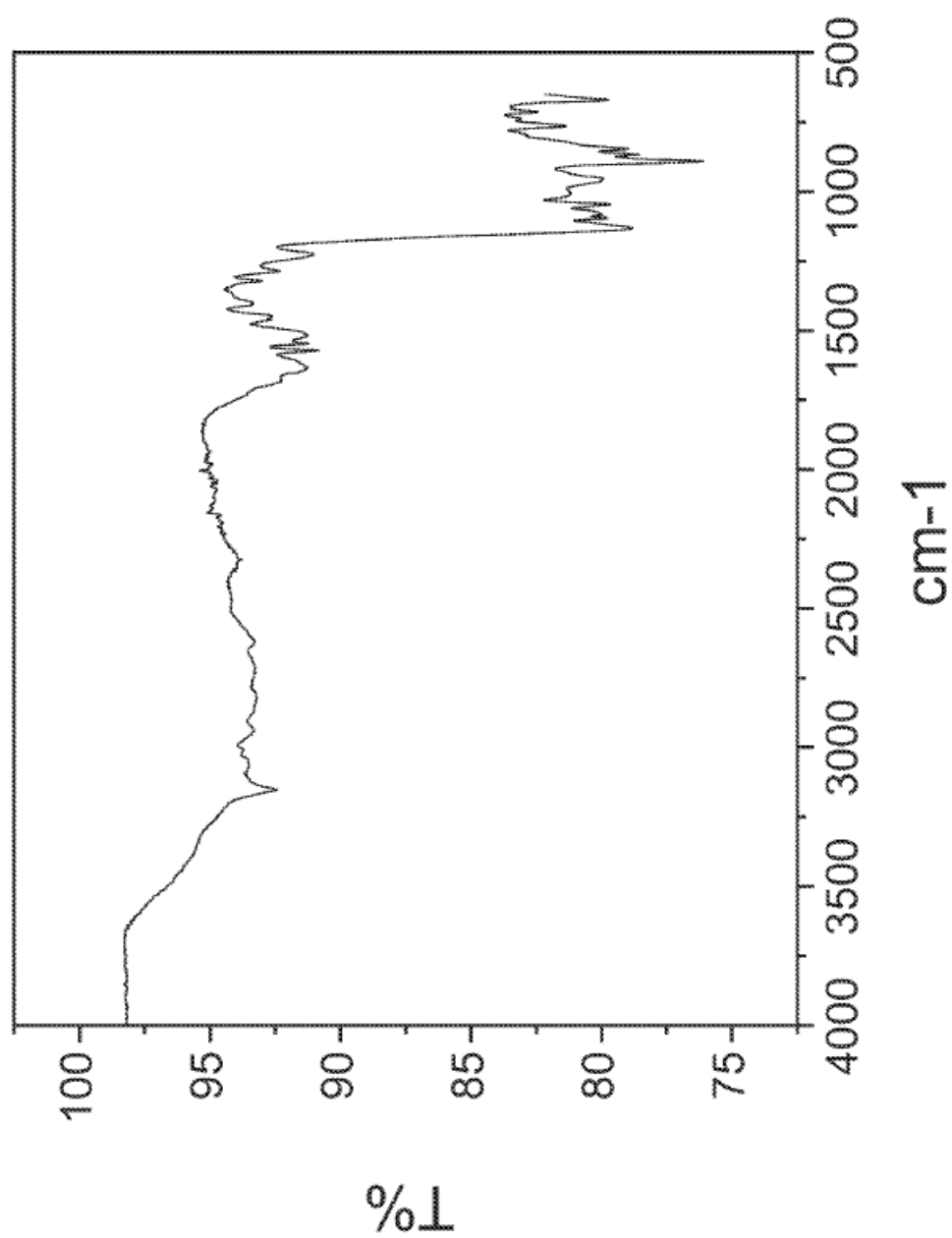


FIG. 8

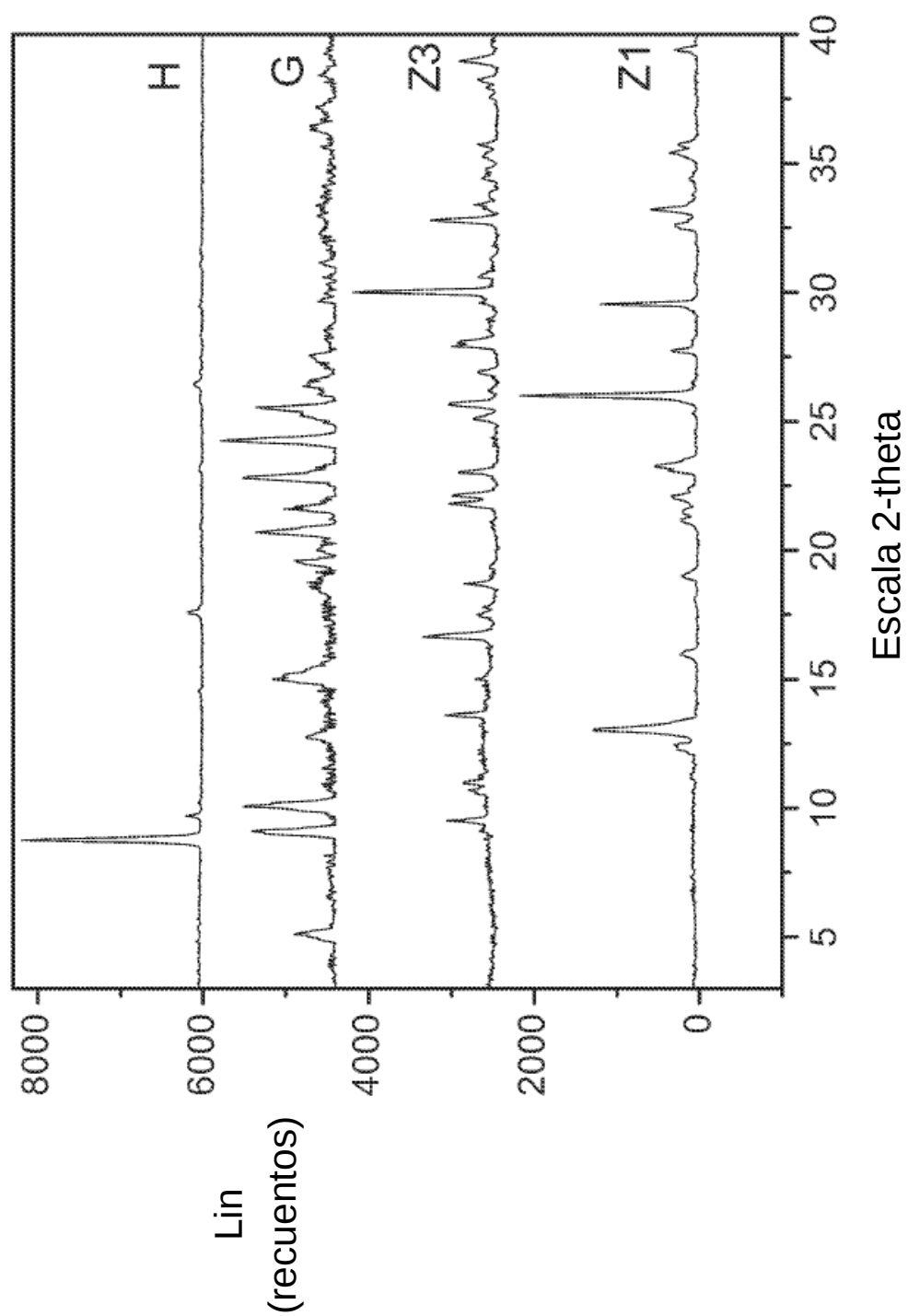


FIG. 9

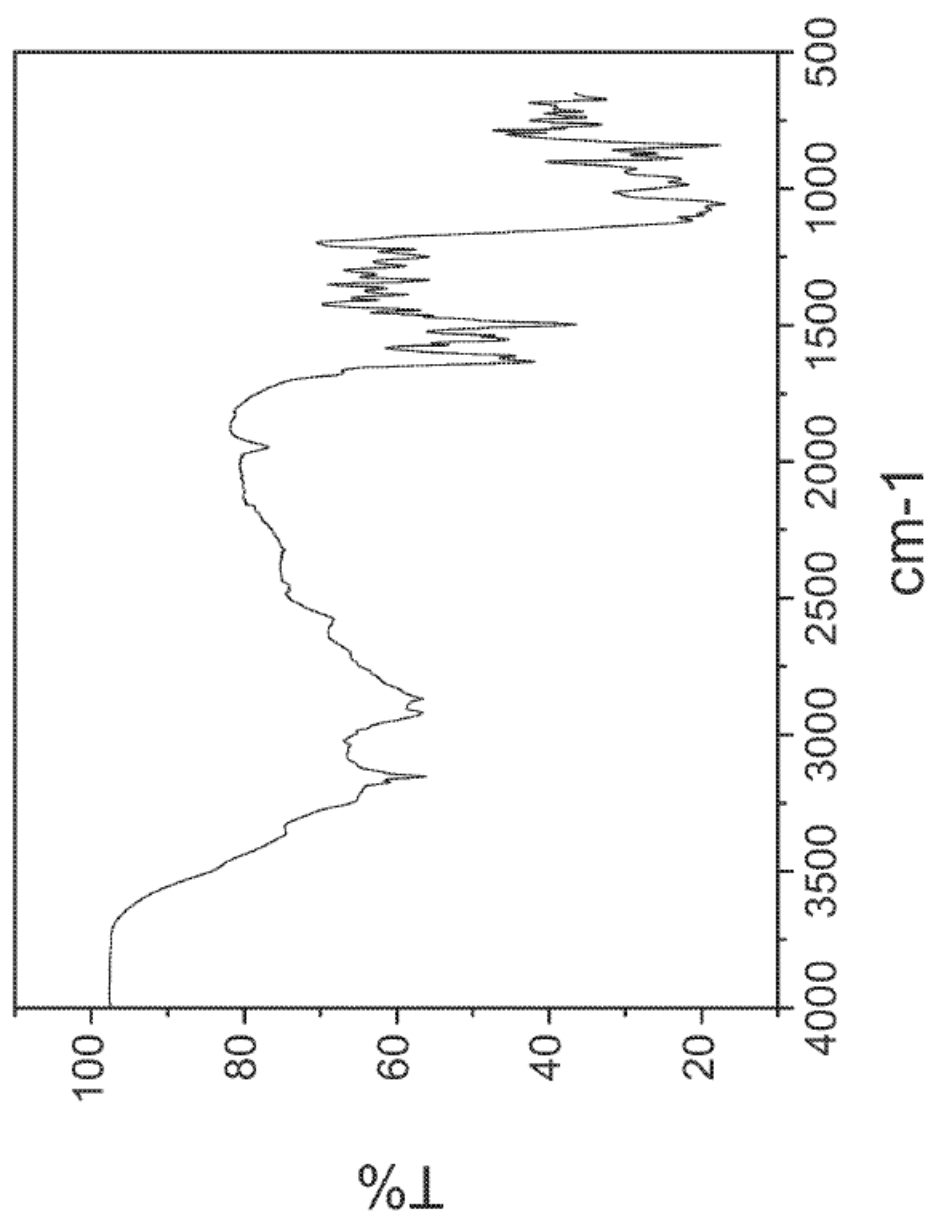


FIG. 10

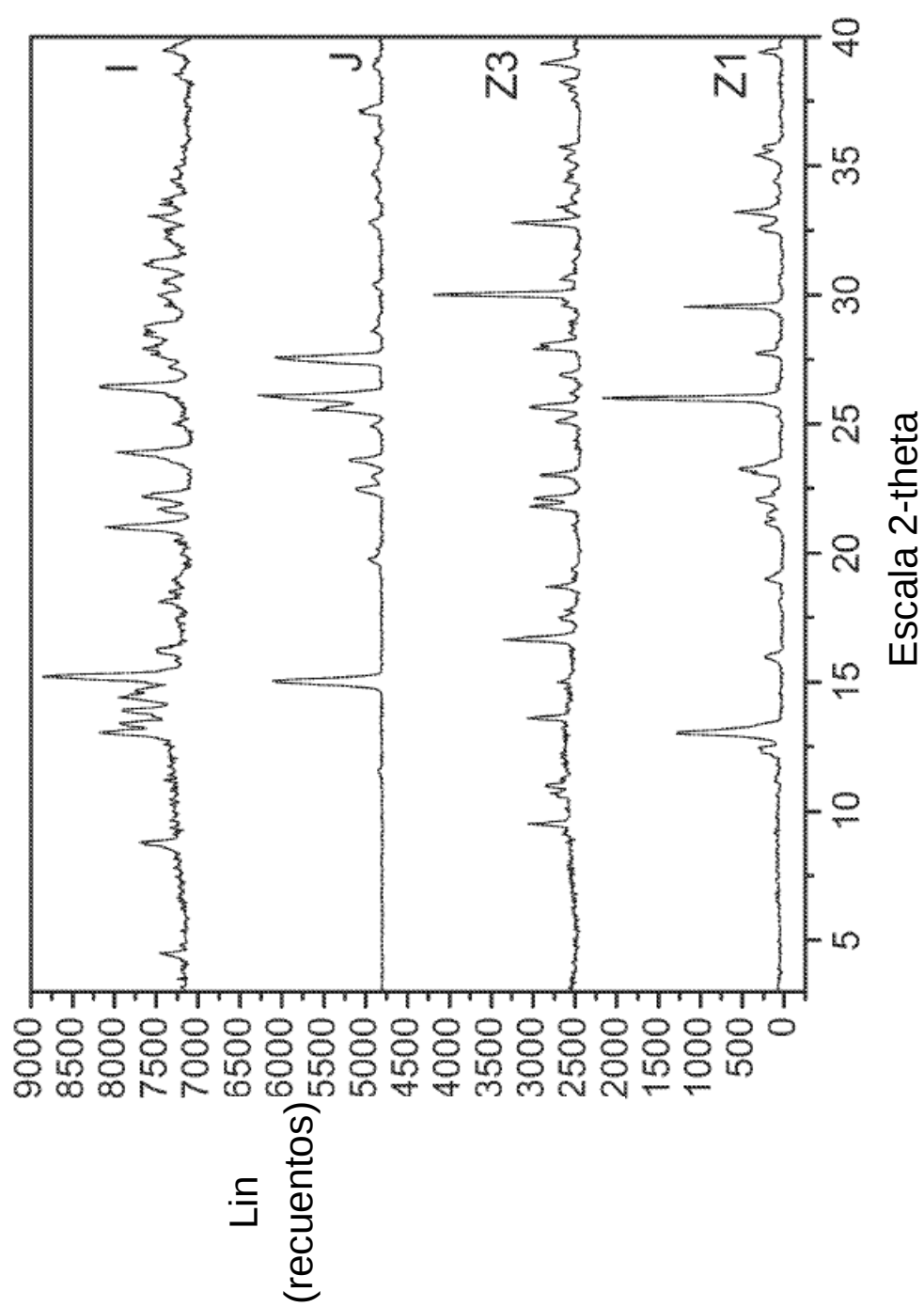


FIG. 11

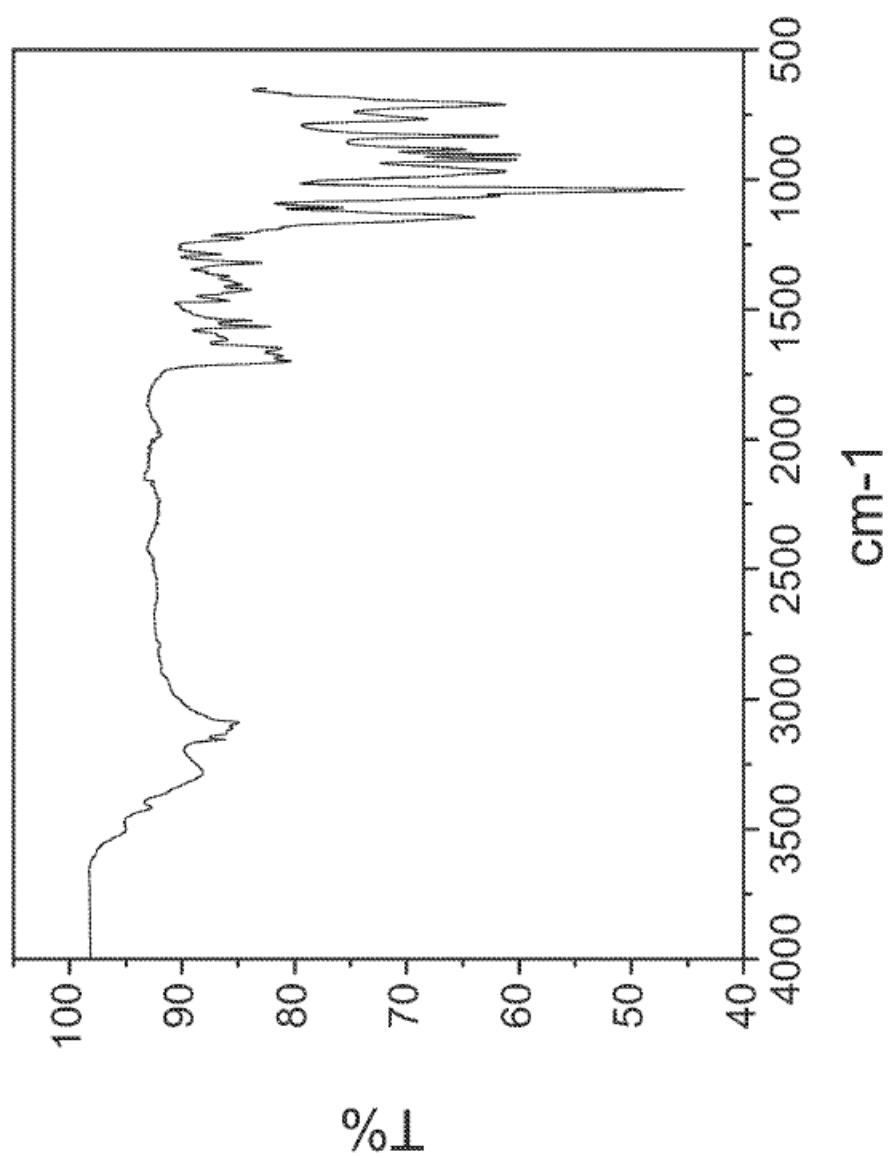


FIG. 12

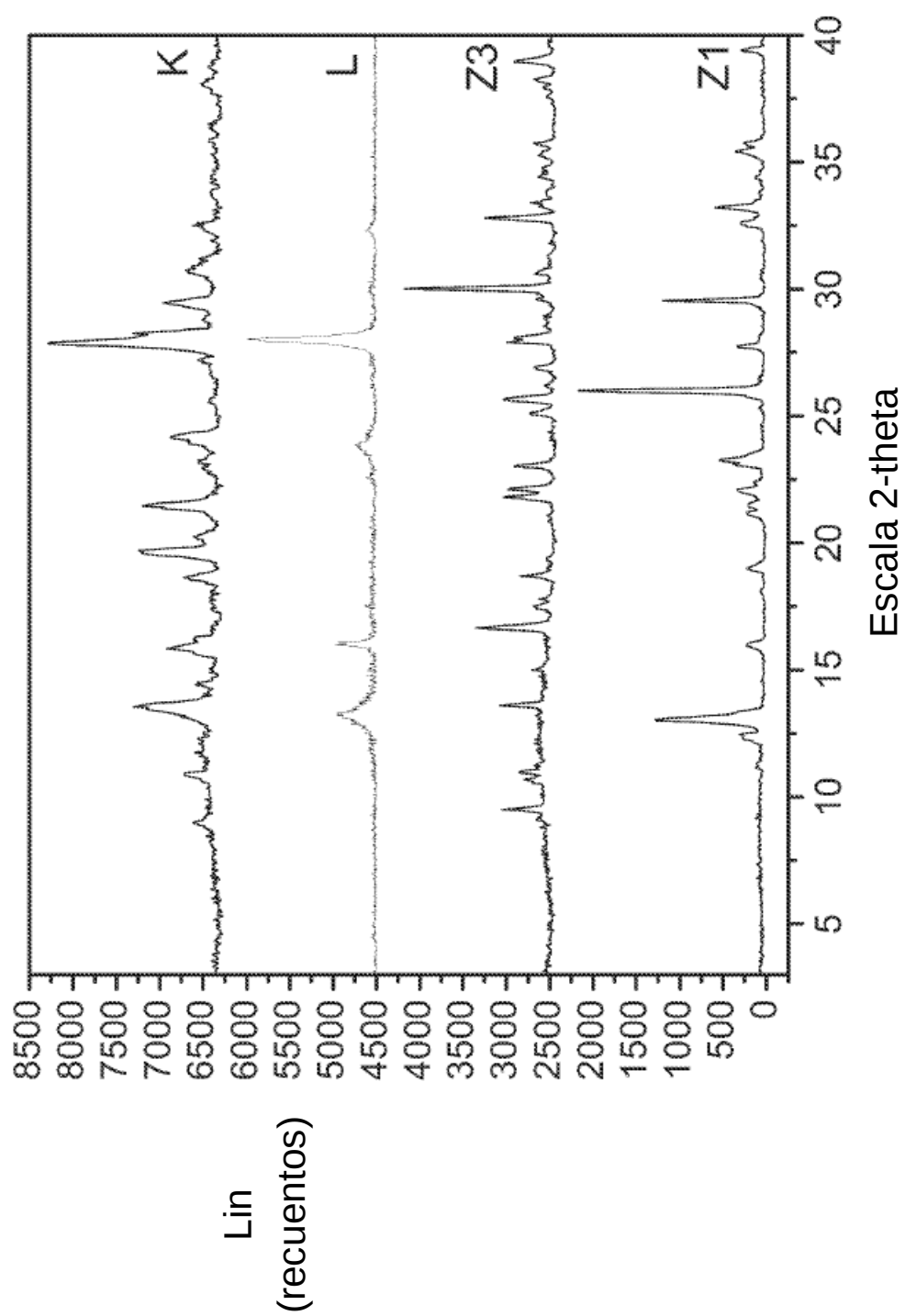


FIG. 13

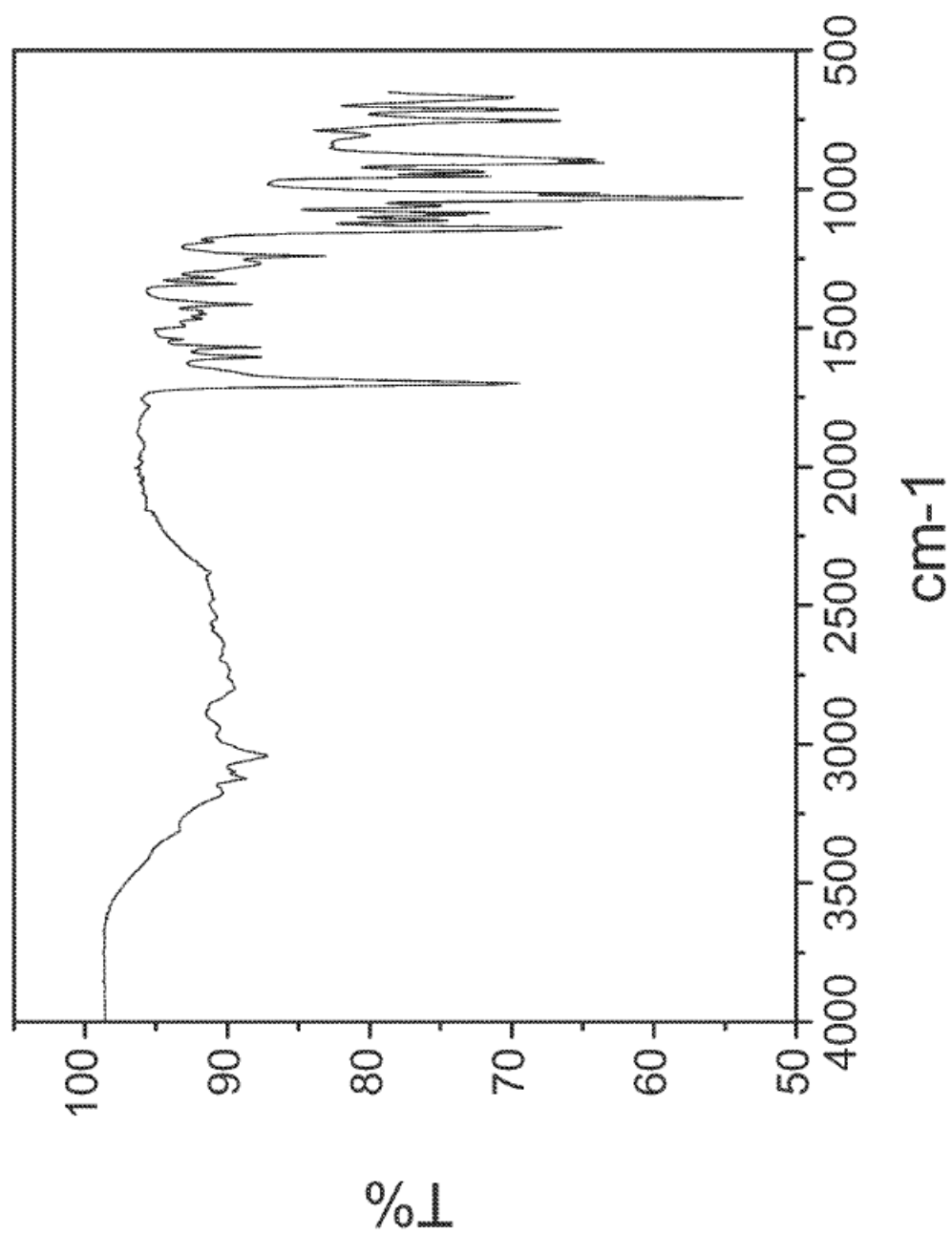
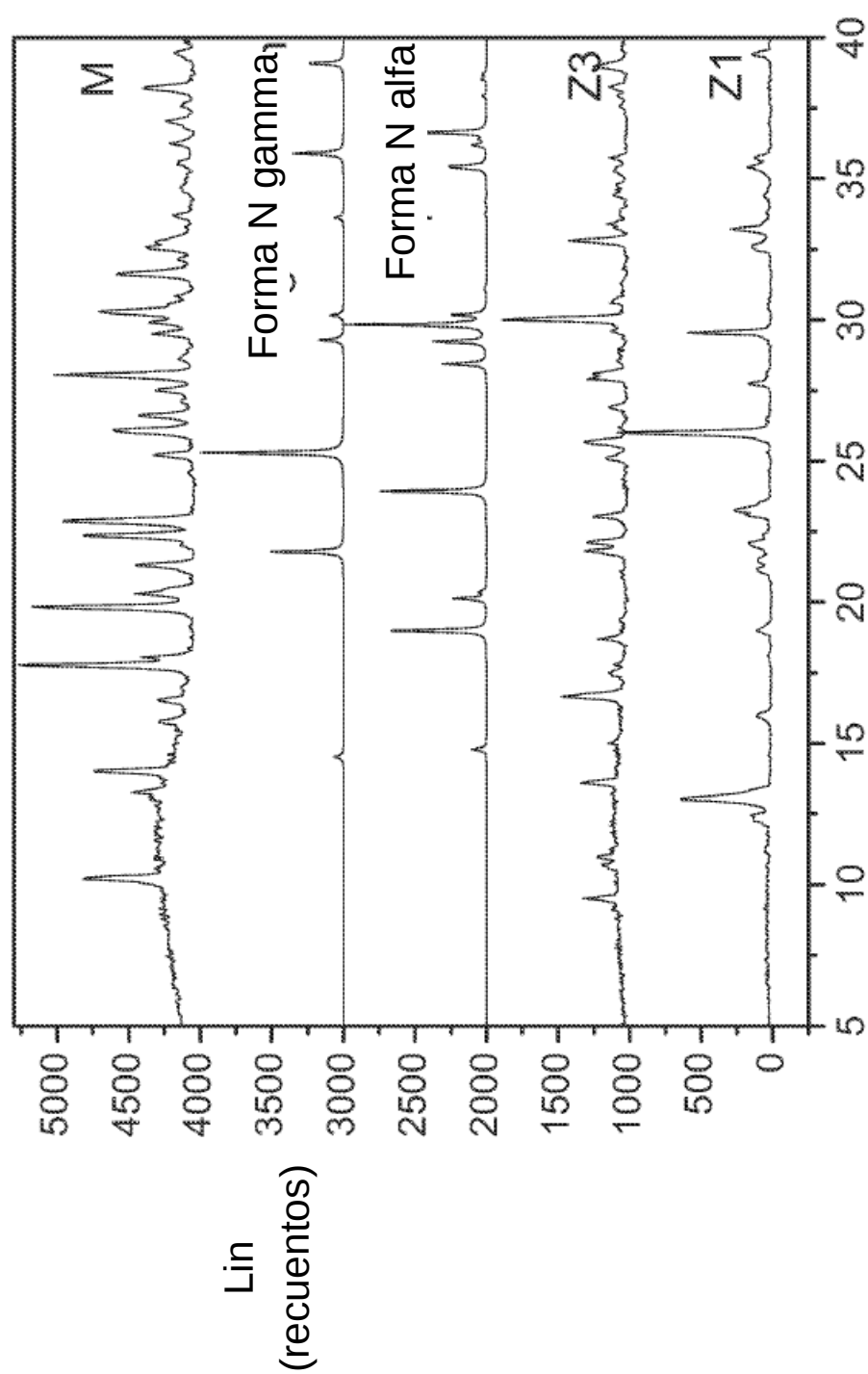


FIG. 14



2-theta

FIG. 15

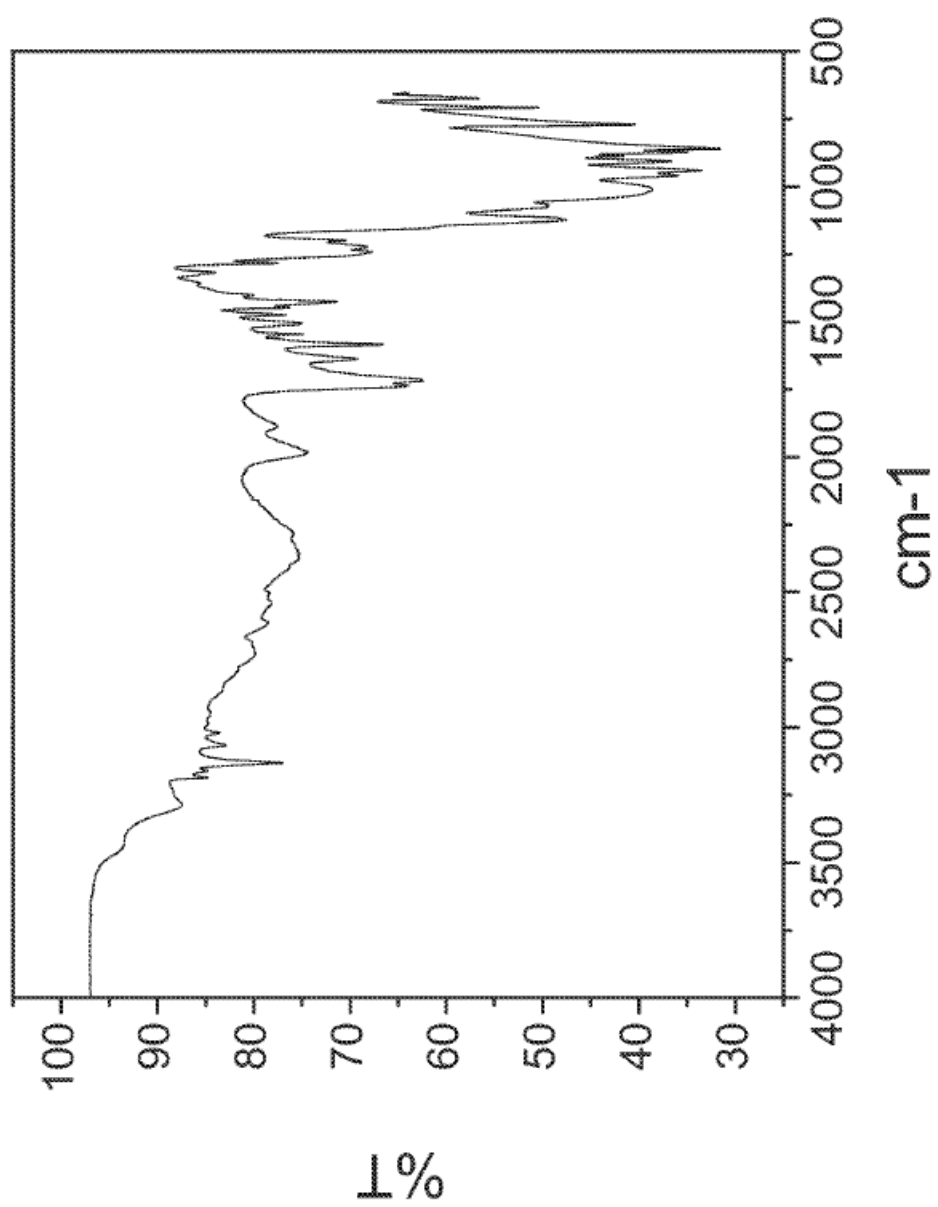
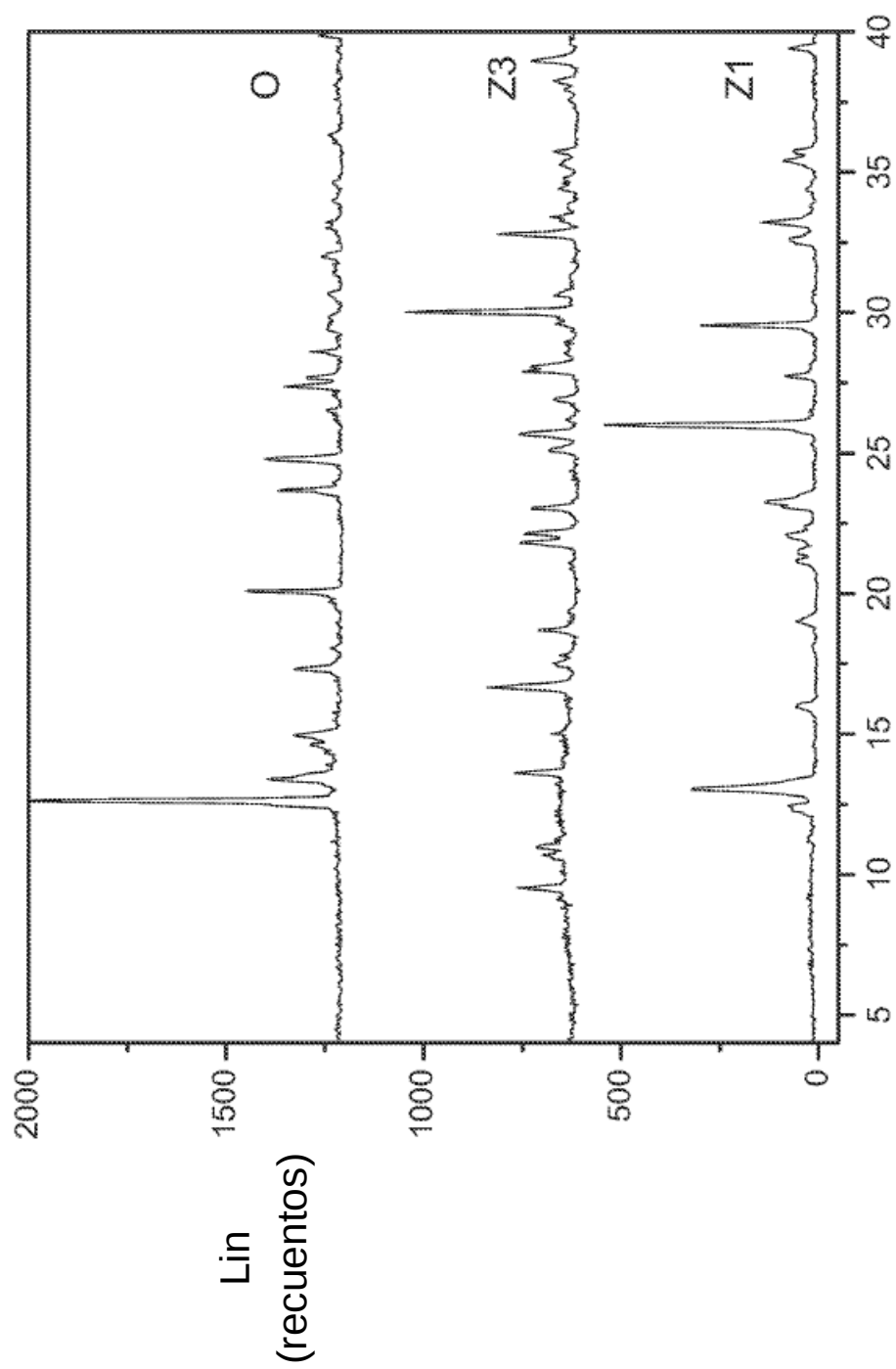


FIG. 16



Escala 2-theta

FIG. 17

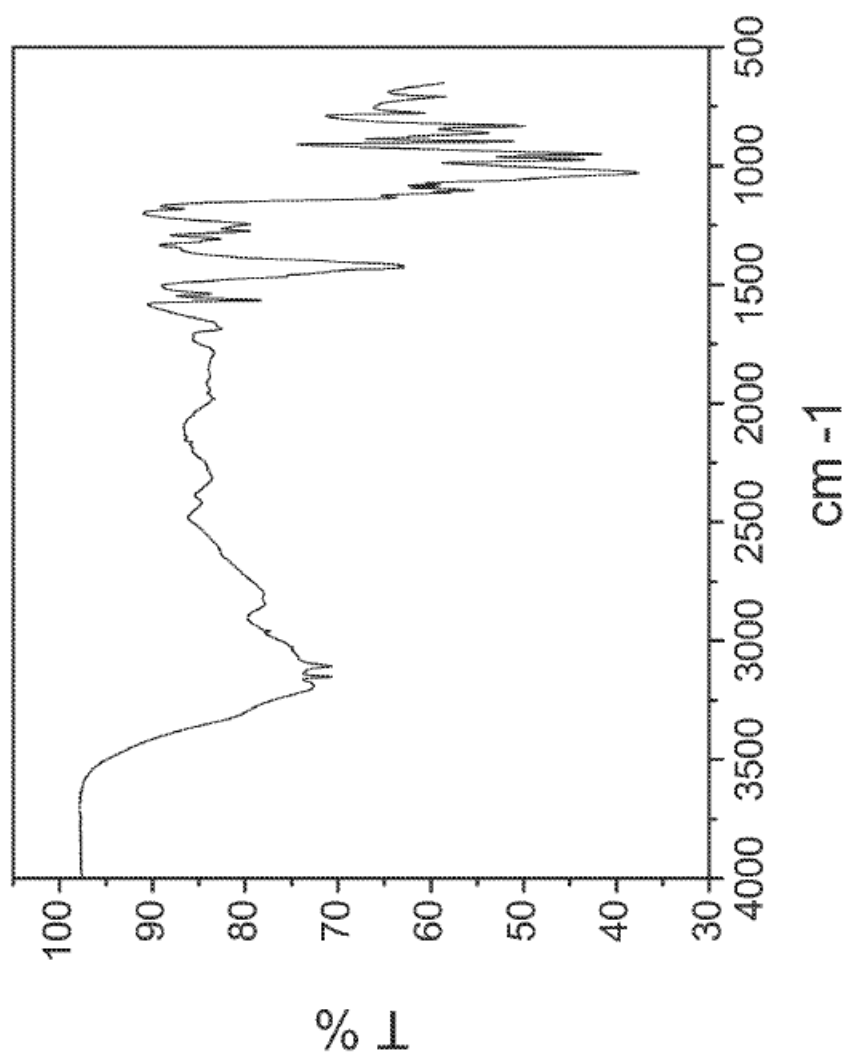


FIG. 18

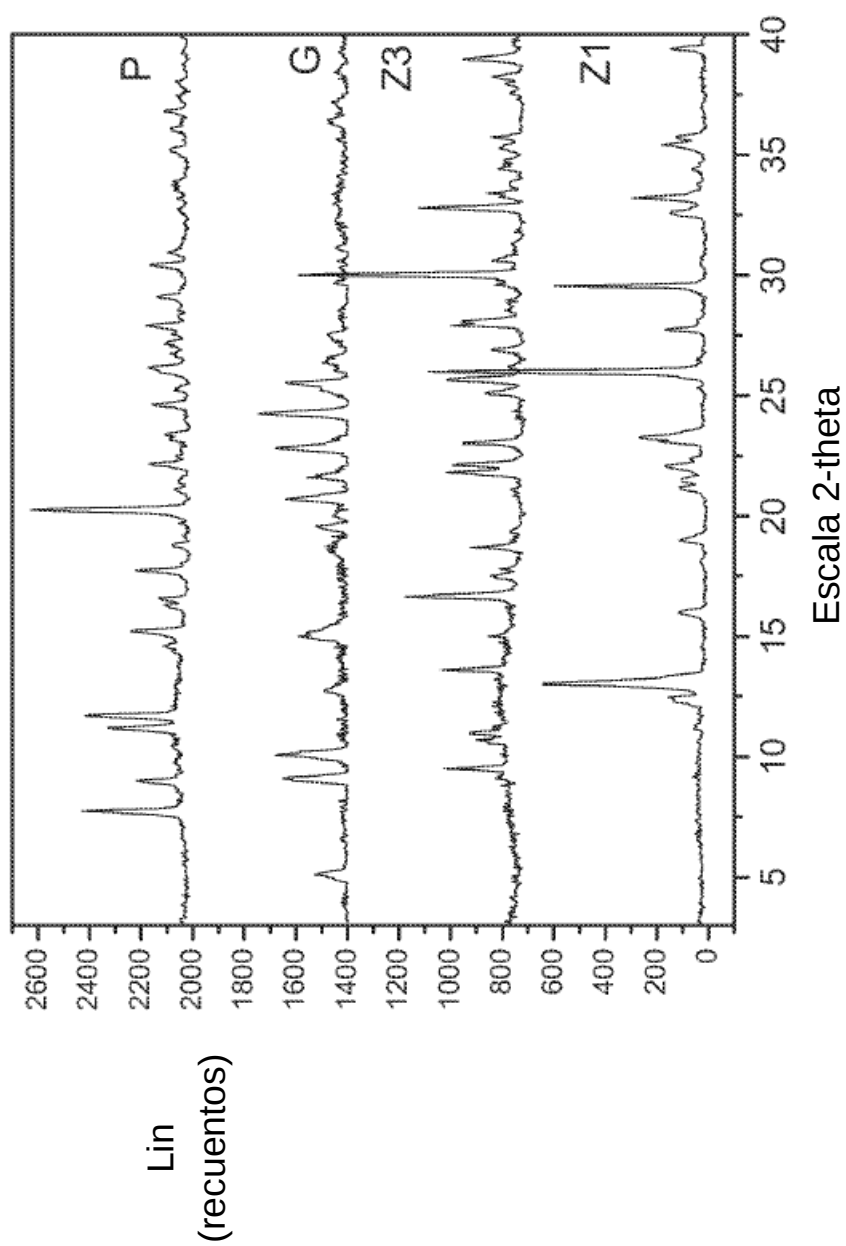


FIG. 19

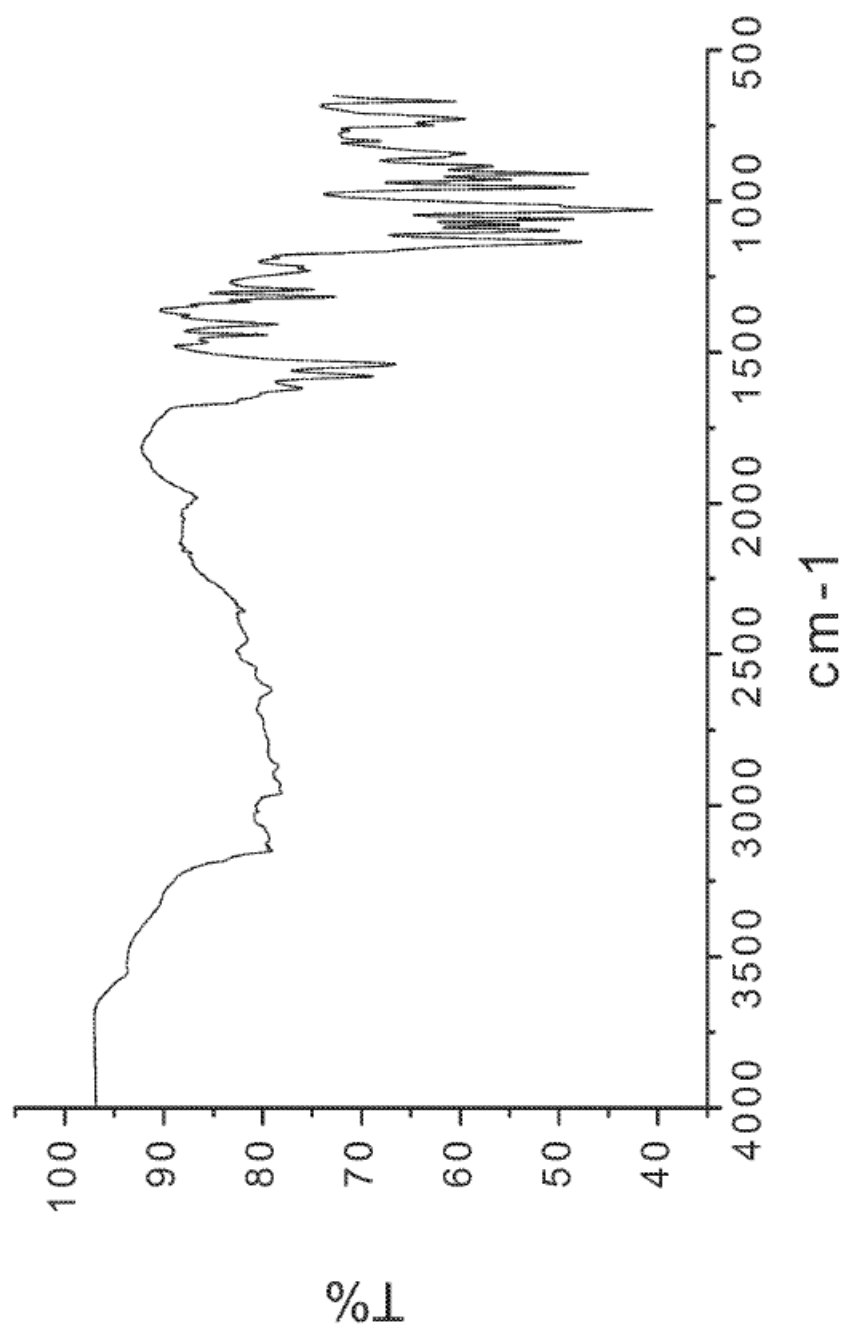


FIG. 20

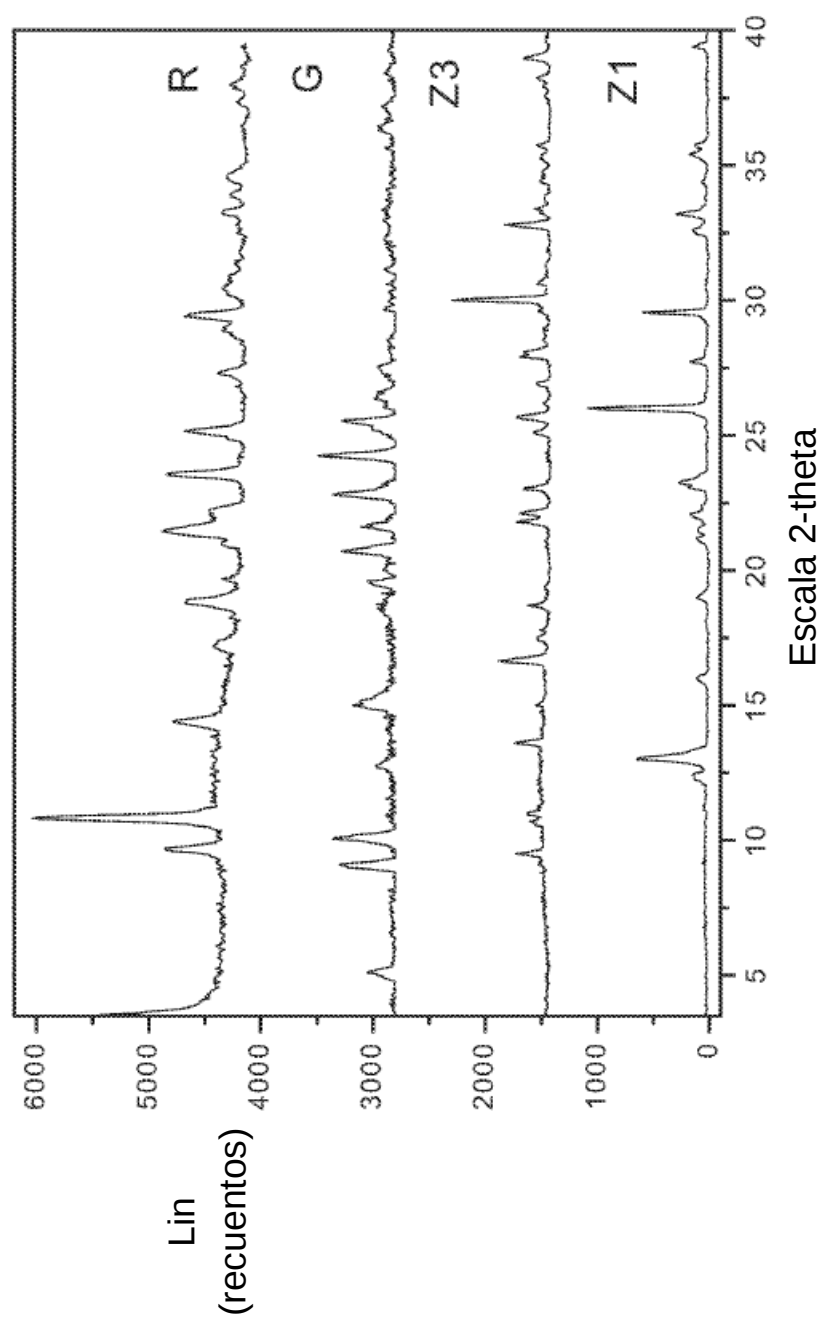


FIG. 21

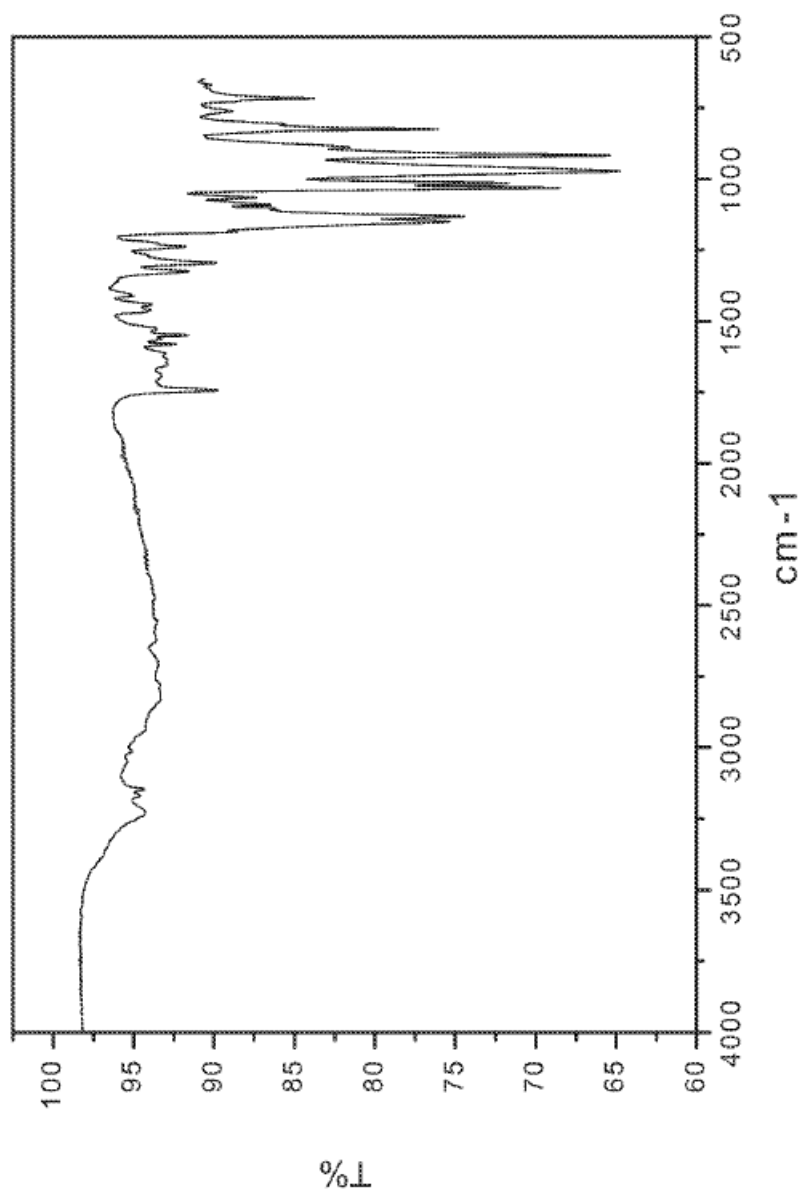


FIG. 22

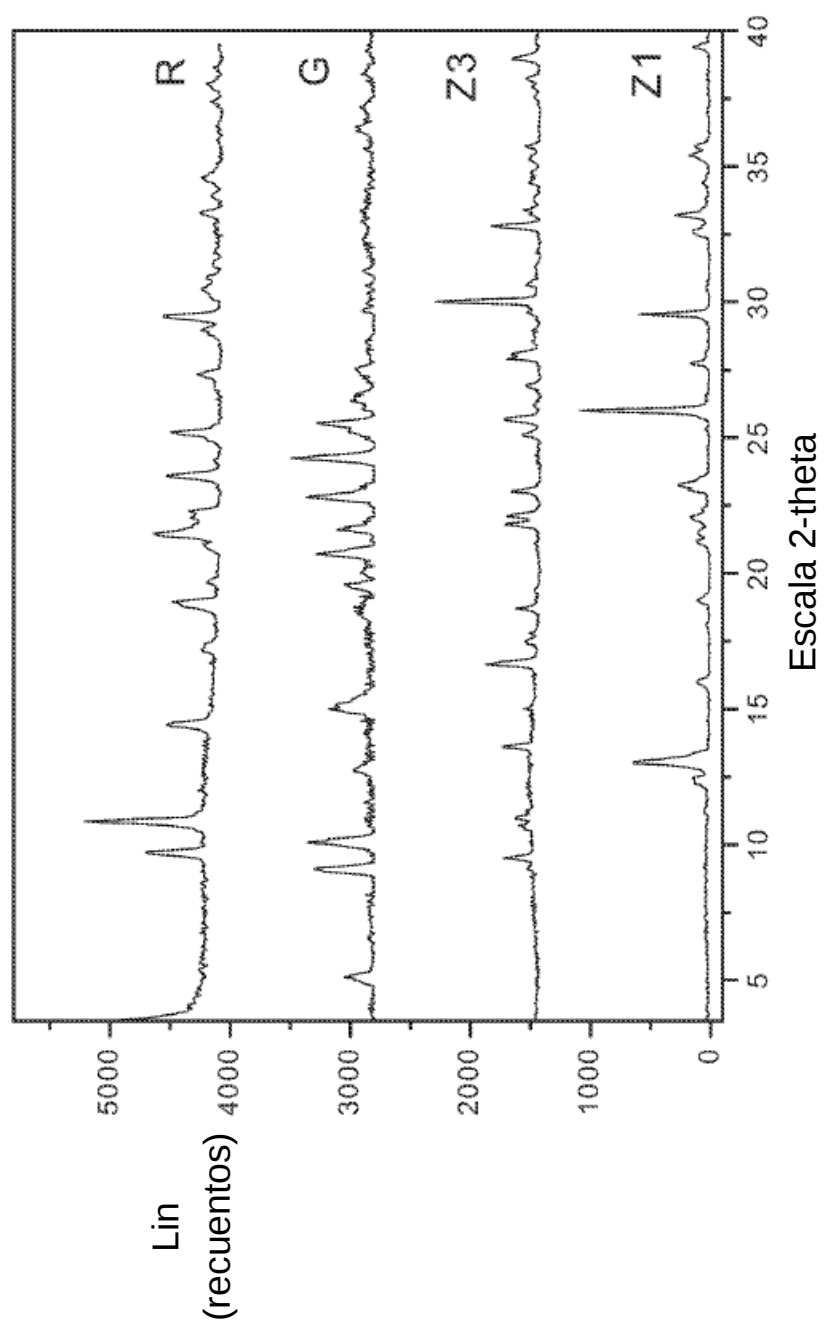


FIG. 23

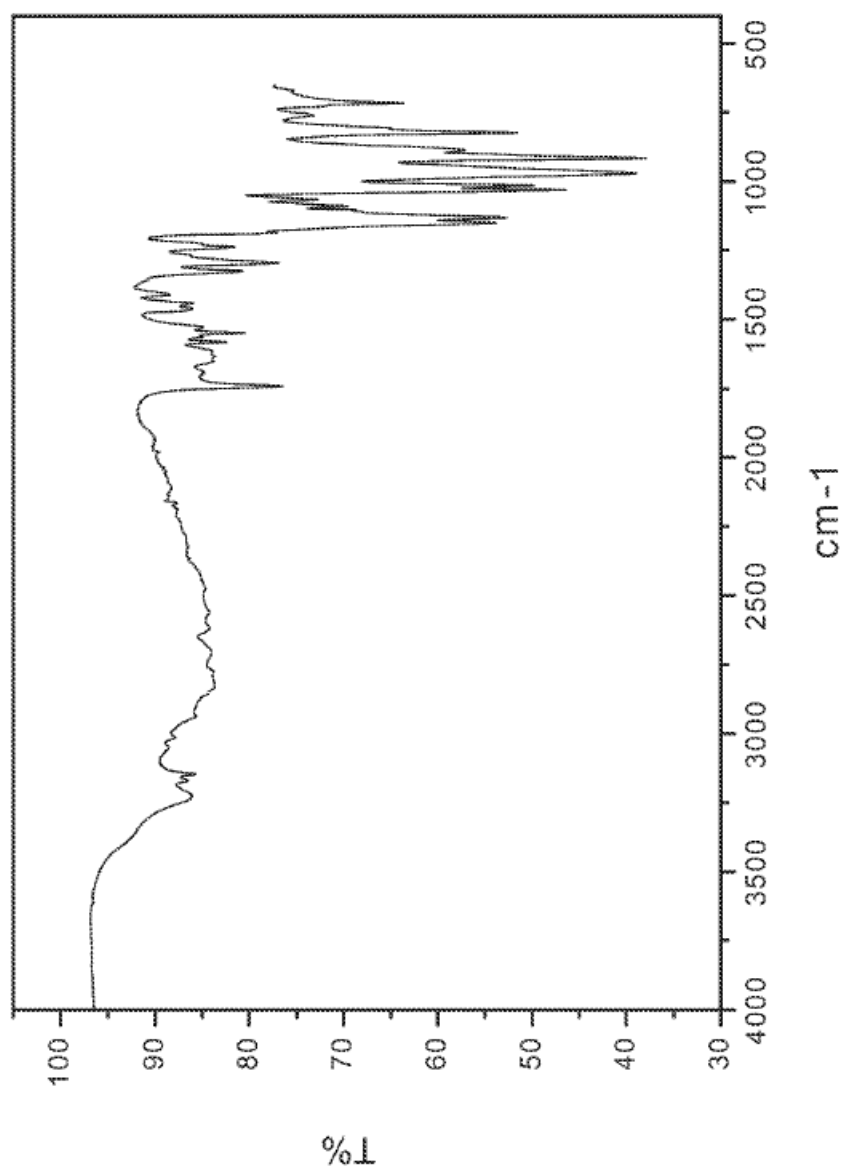


FIG. 24

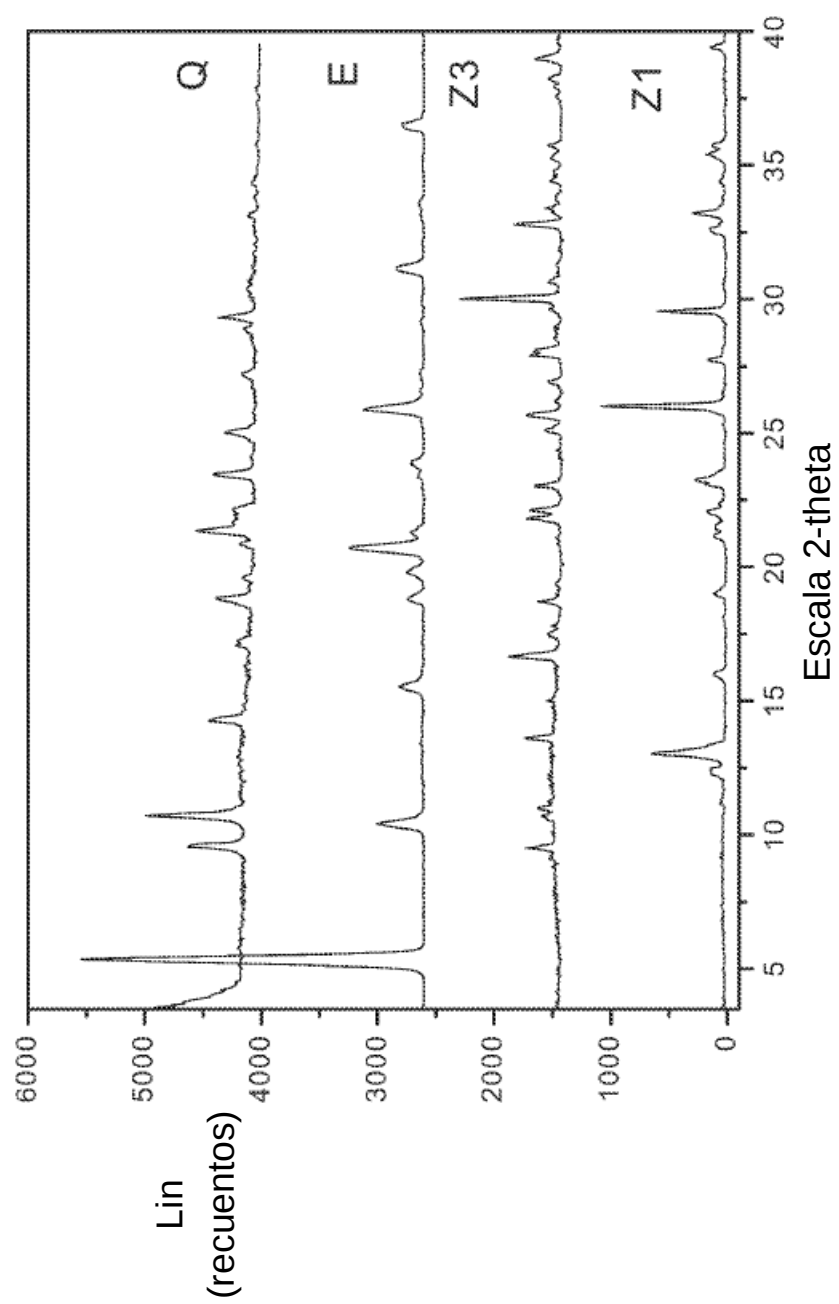


FIG. 25

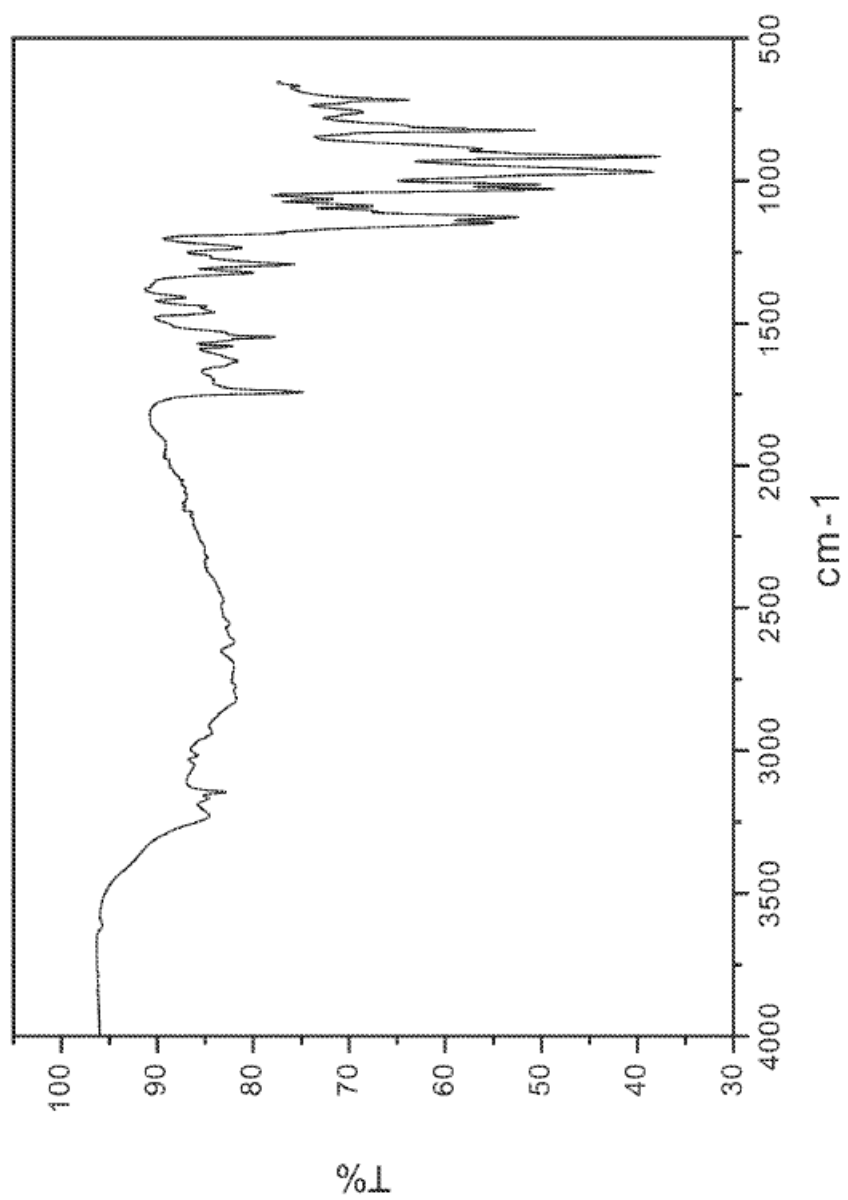


FIG. 26

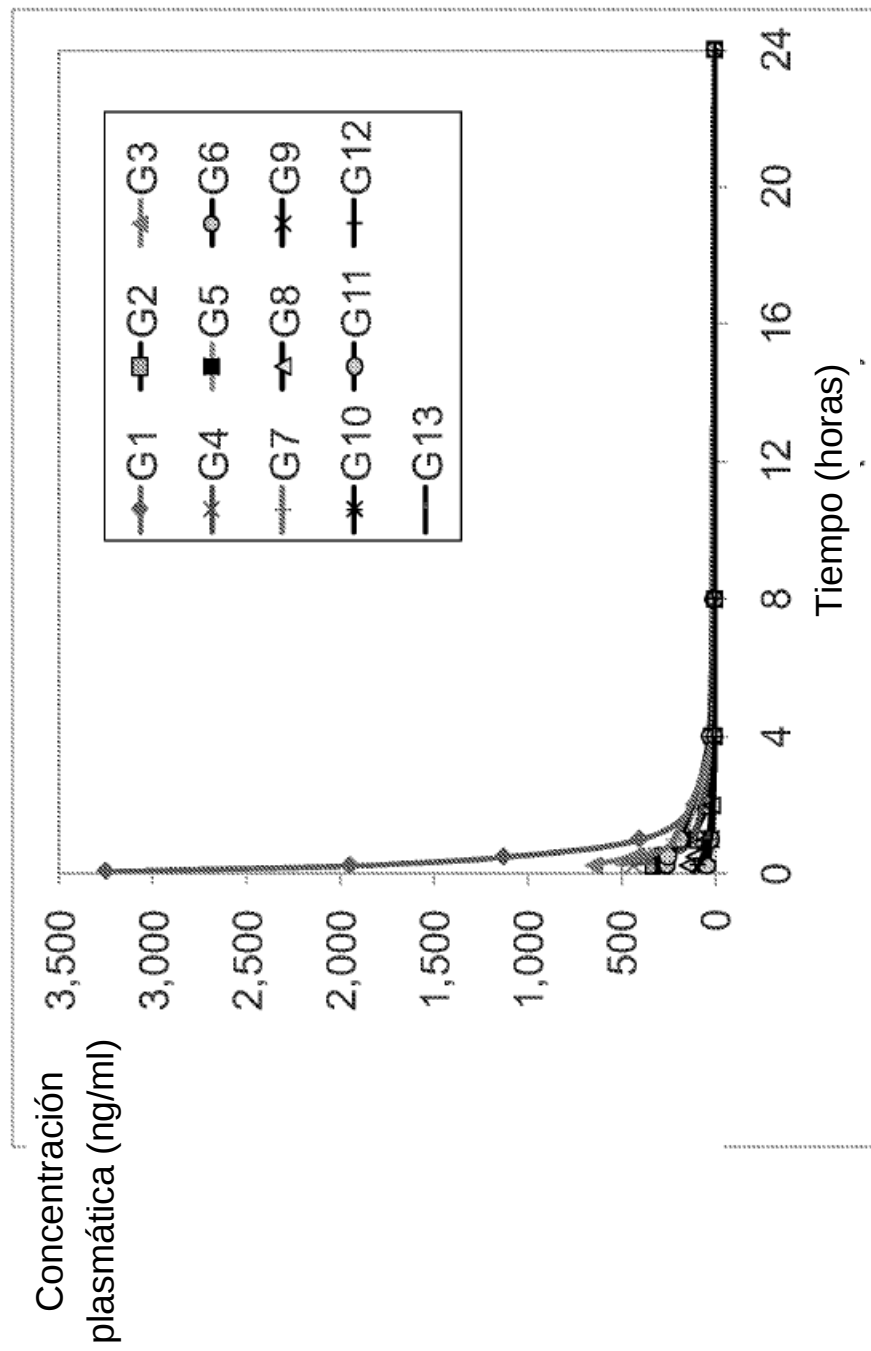


FIG. 27

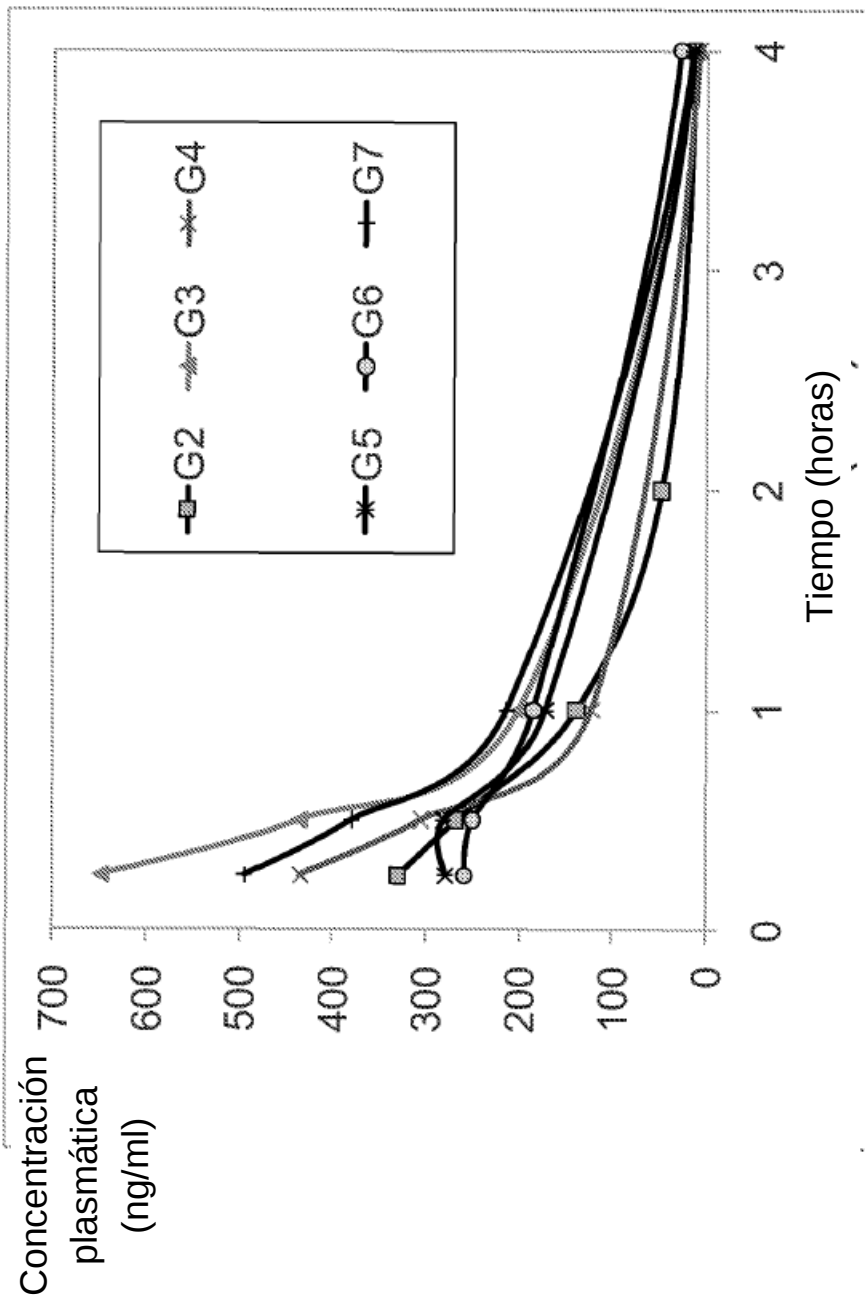


FIG. 28

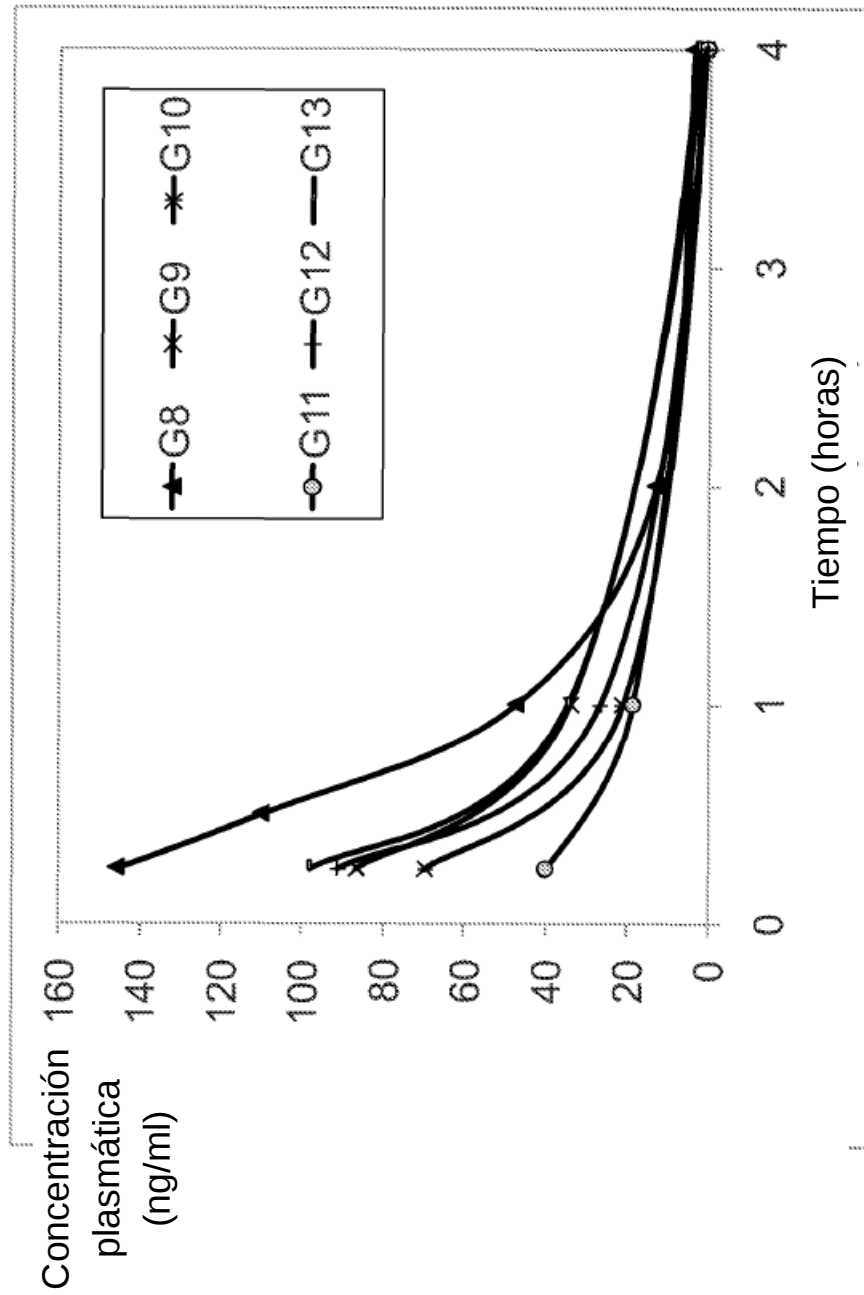


FIG. 29

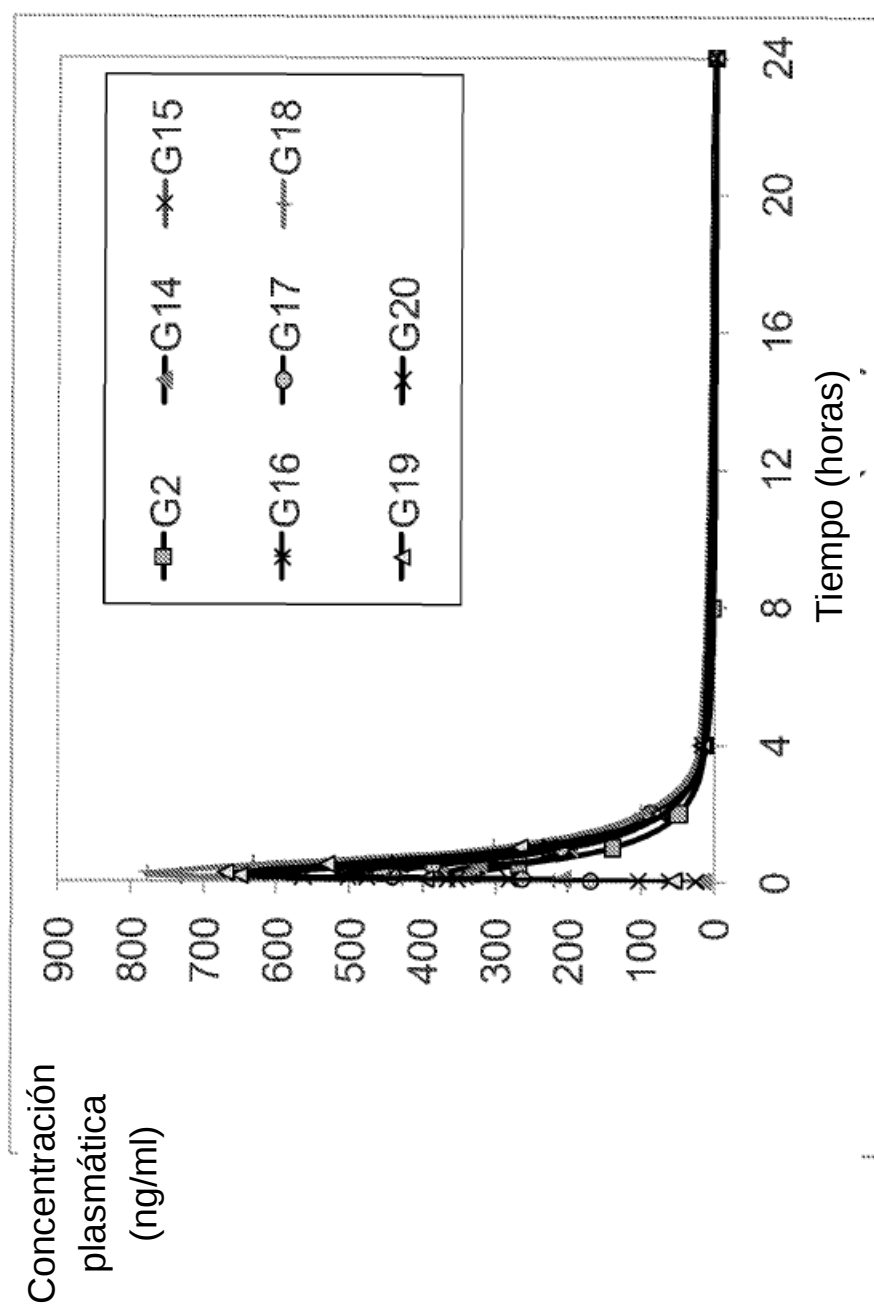


FIG. 30

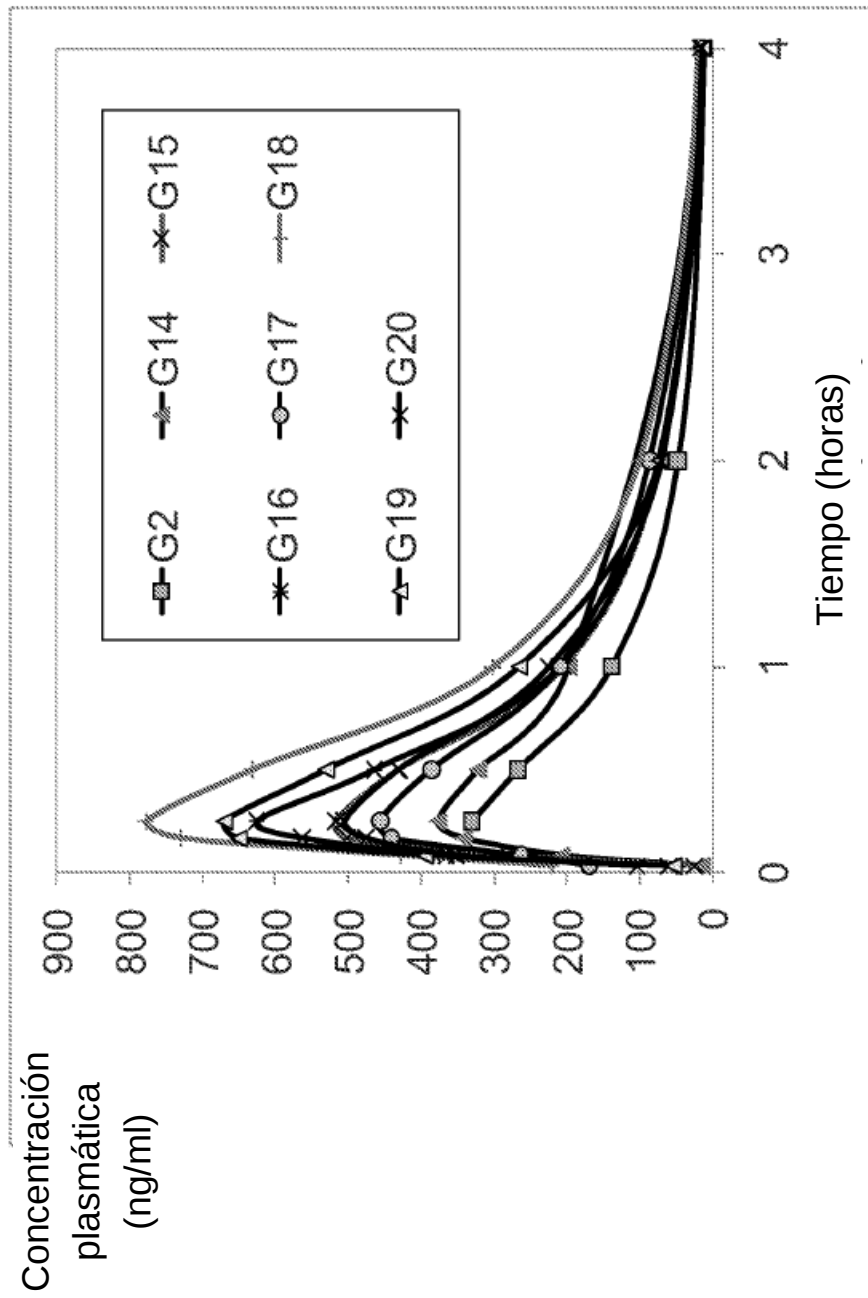


FIG. 31

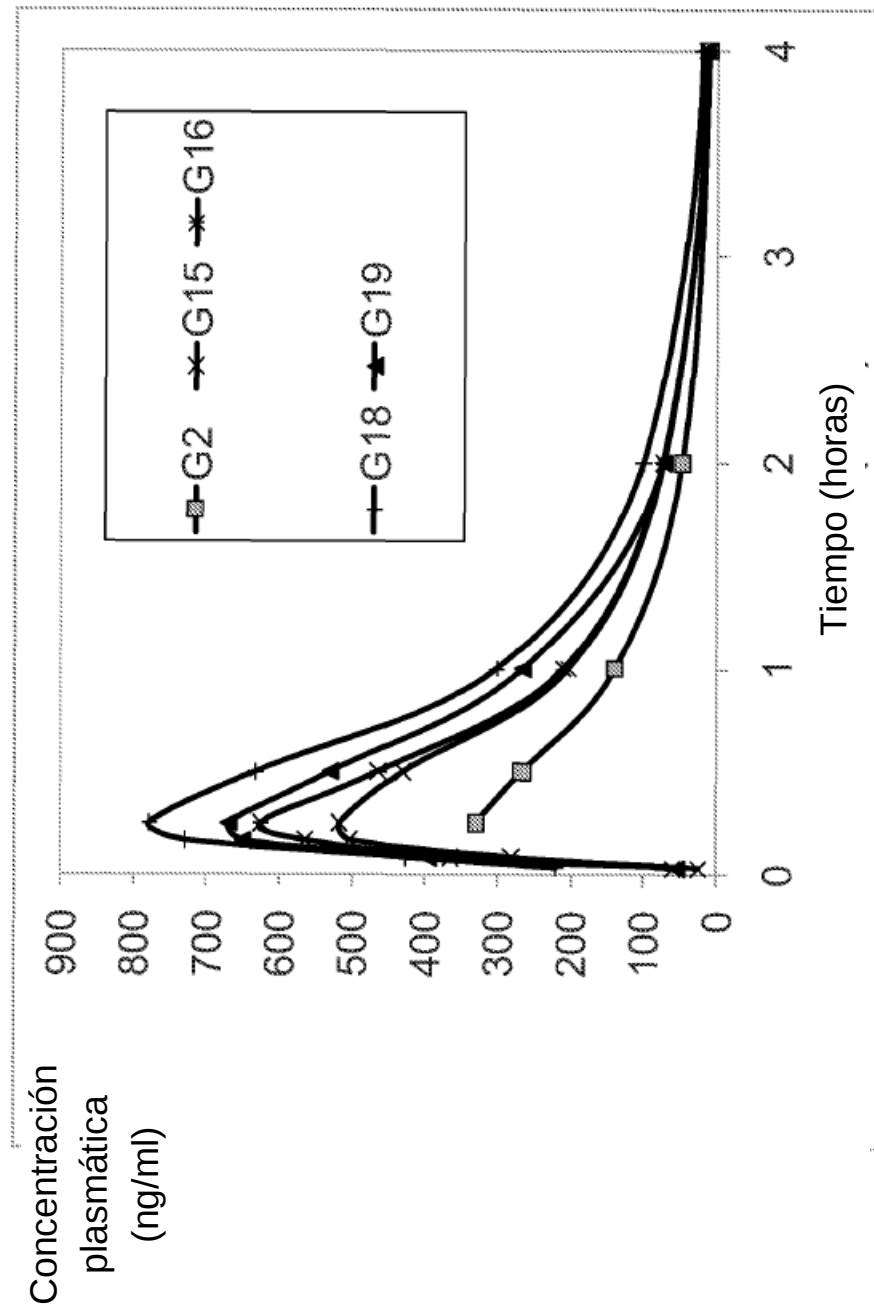


FIG. 32

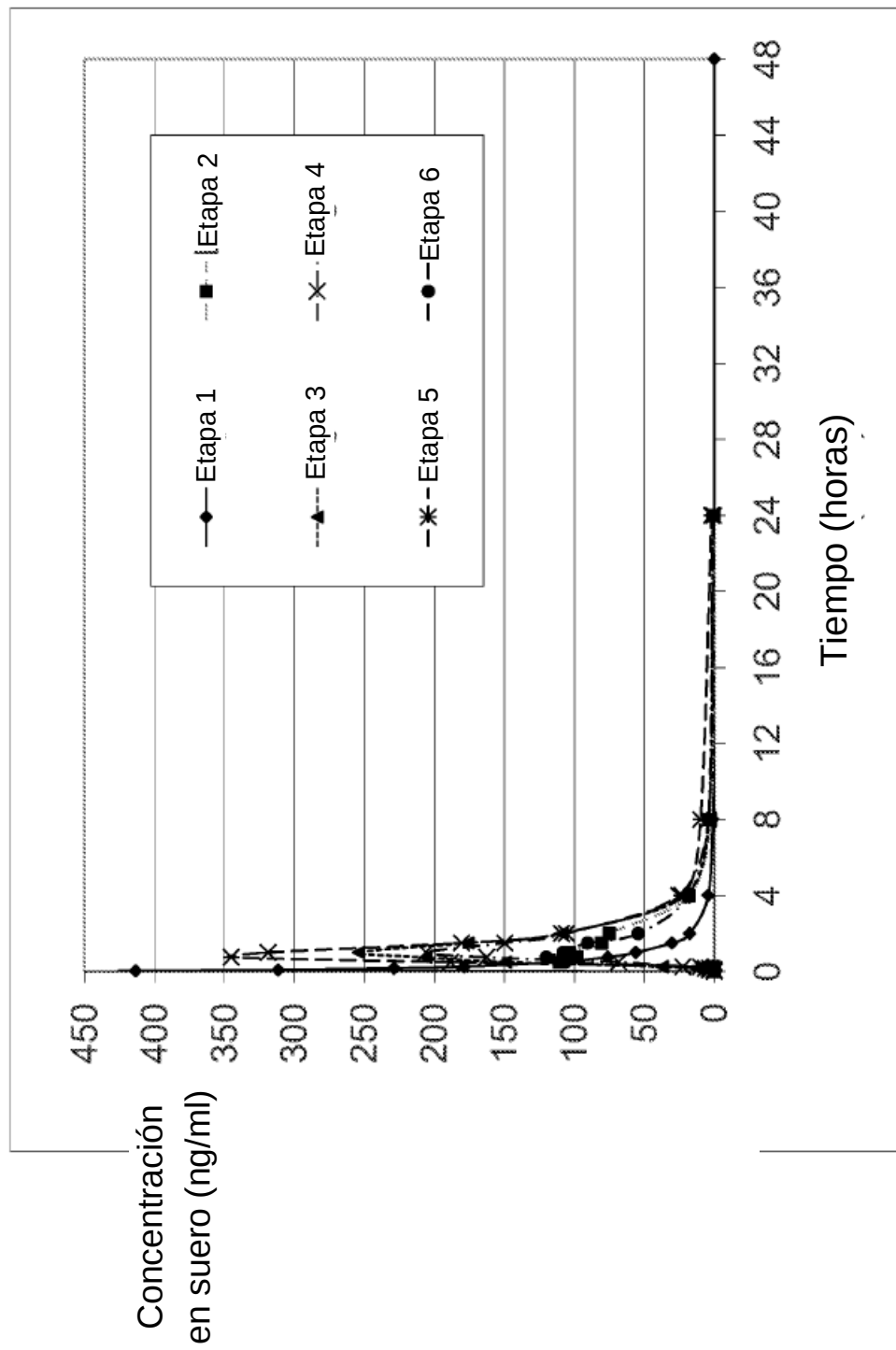


FIG. 33

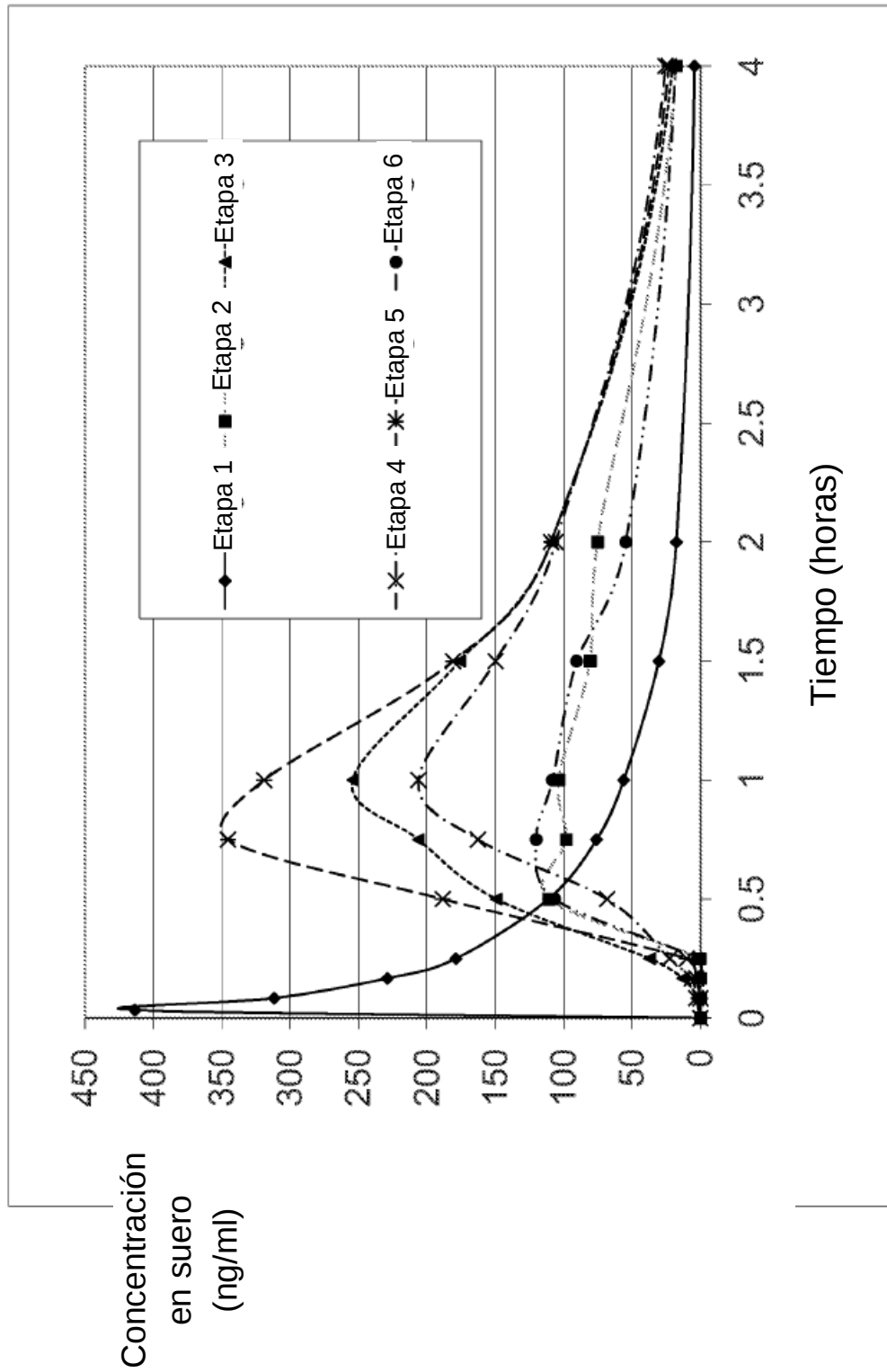


FIG. 34

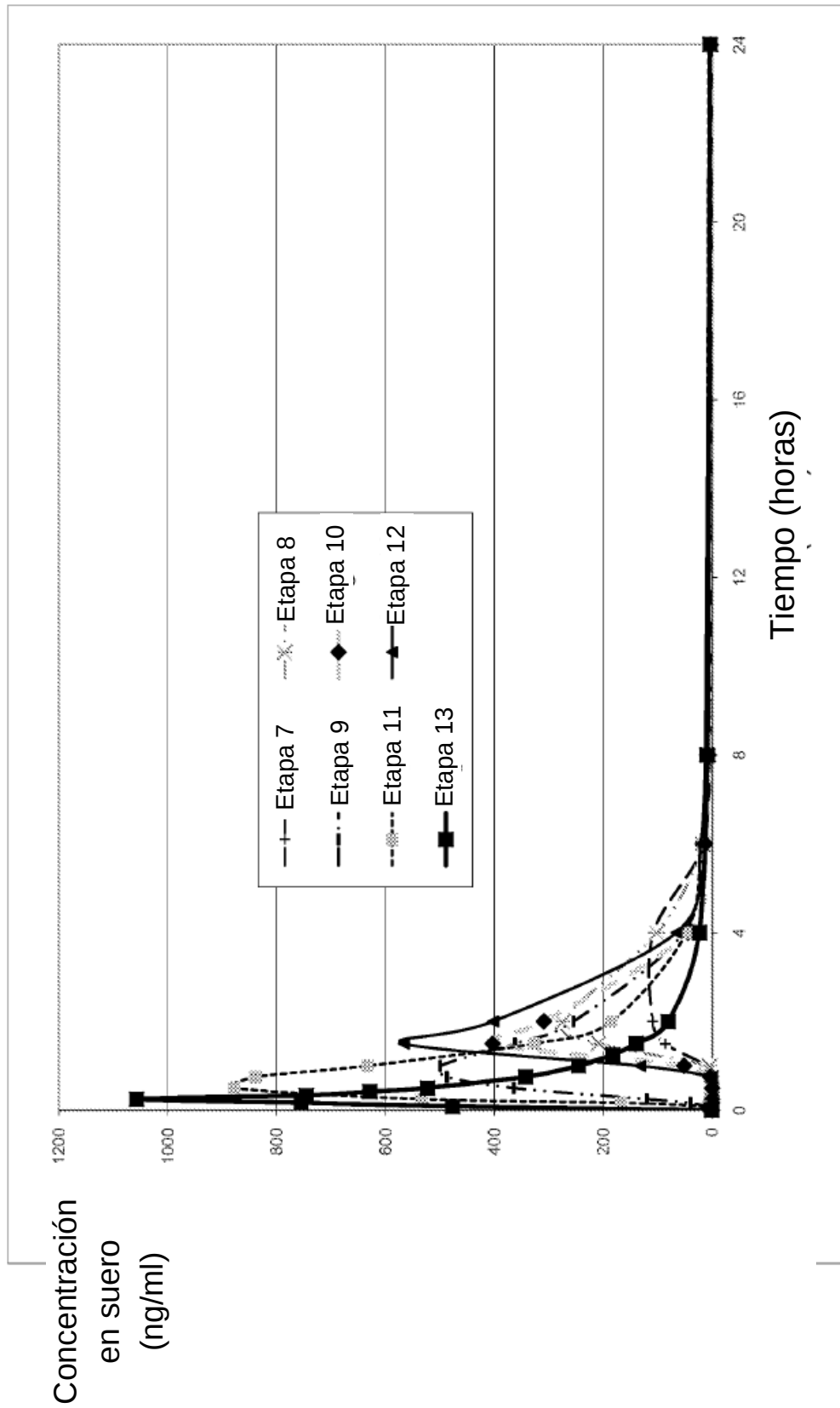


FIG. 35

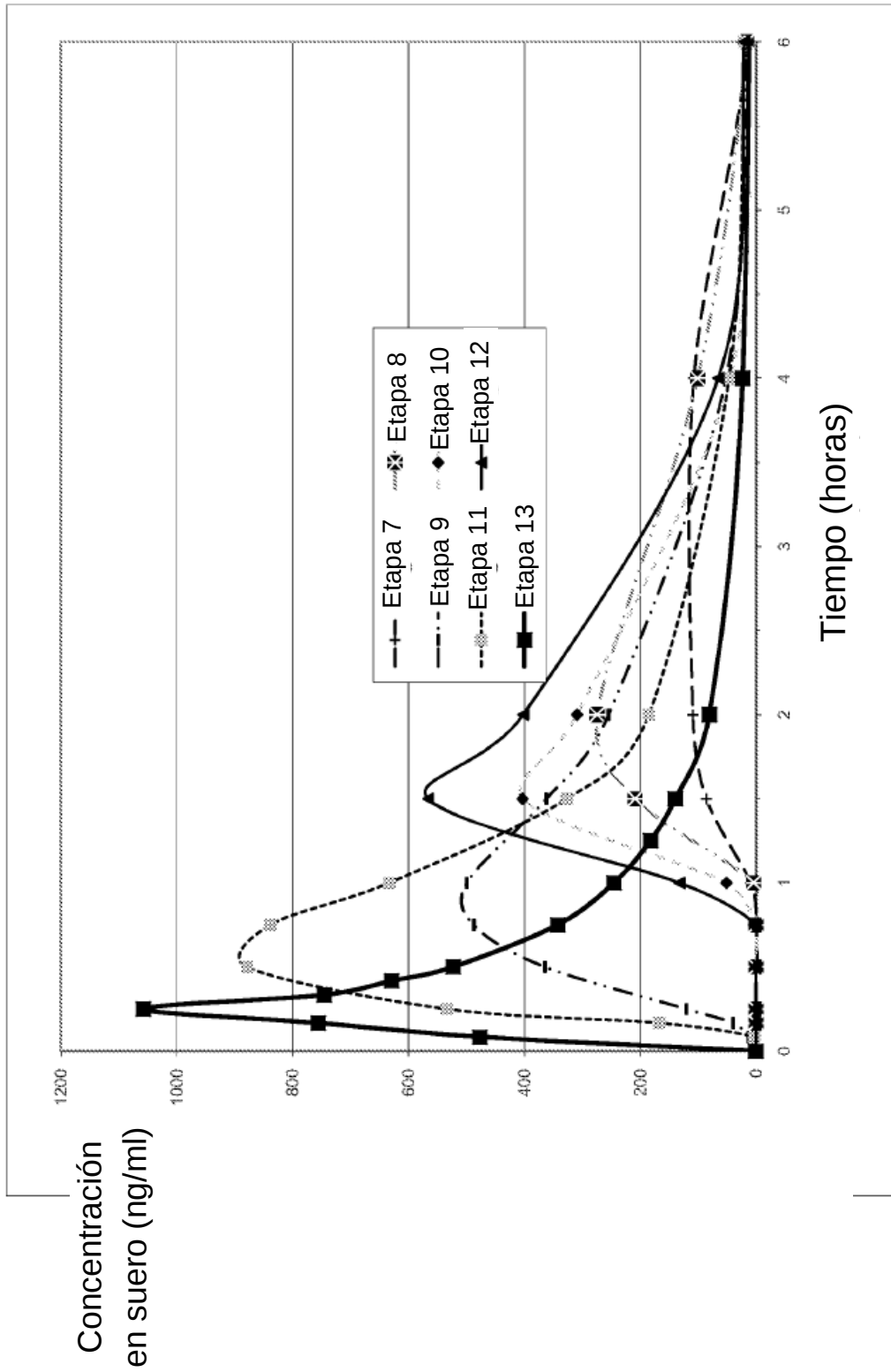


FIG. 36

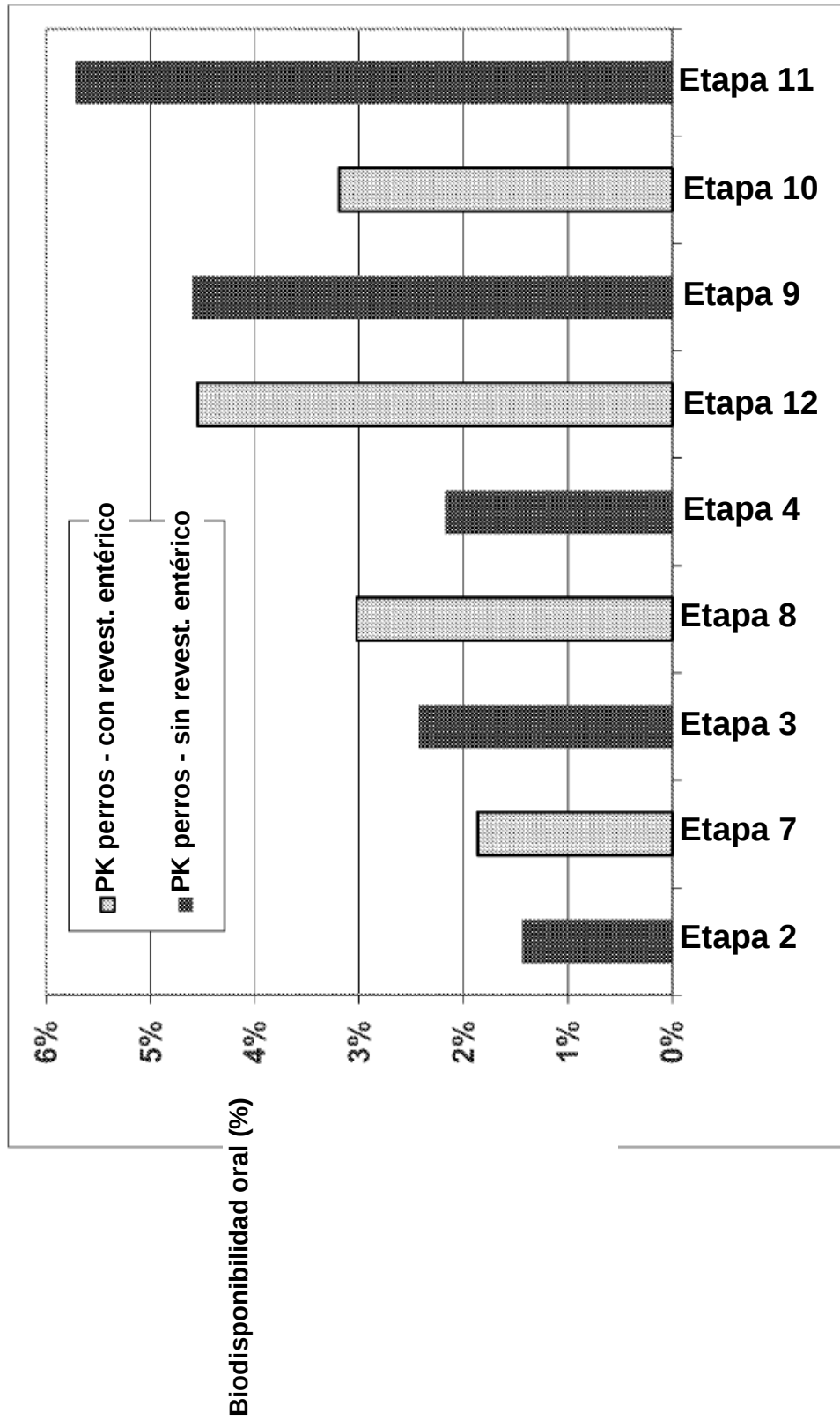


FIG. 37

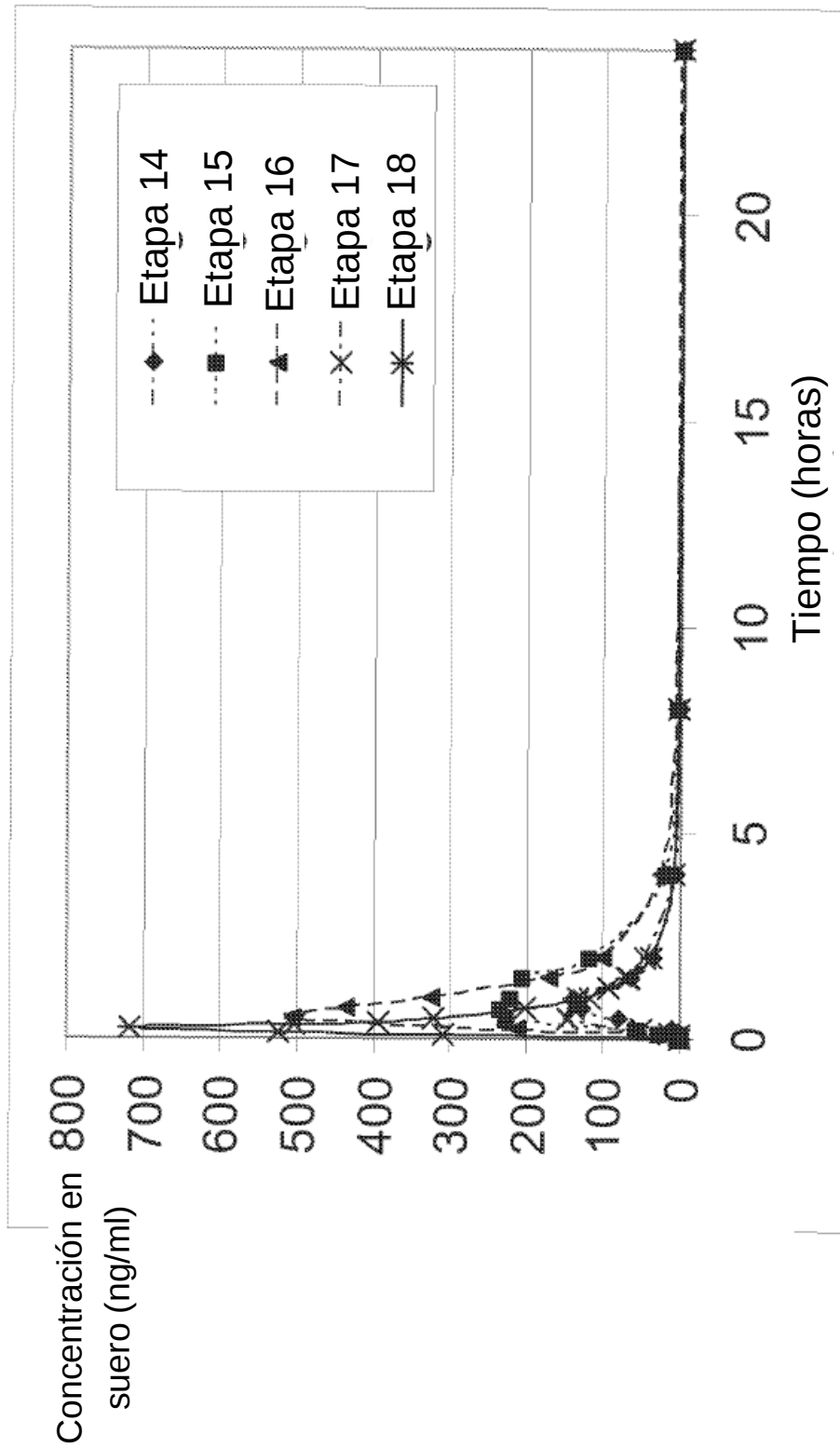


FIG. 38

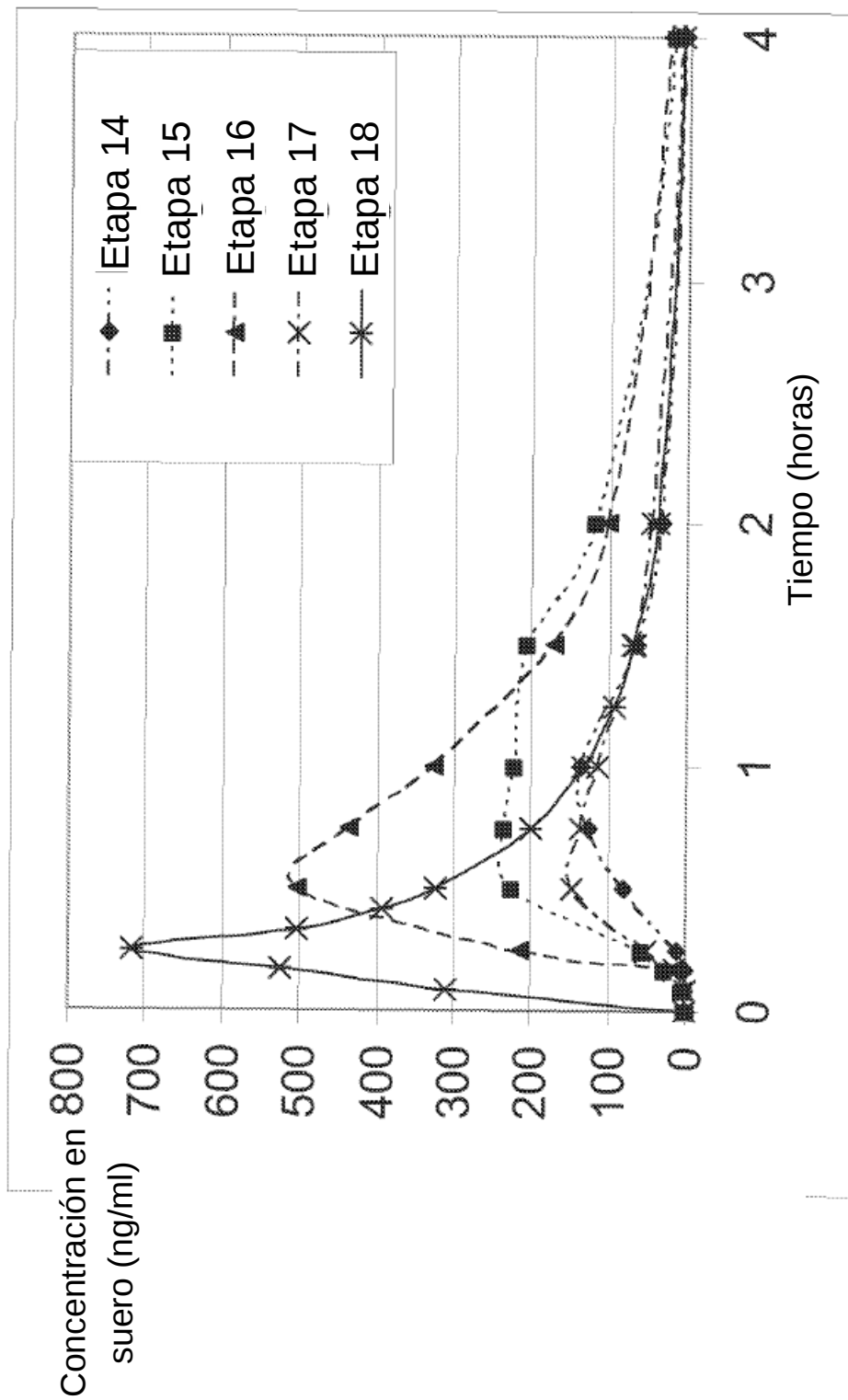


FIG. 39