

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 689**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/20** (2006.01)

**A61P 7/02** (2006.01)

**A61K 31/727** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.01.2010 PCT/EP2010/051127**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.08.2010 WO10086425**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.01.2010 E 10702287 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2017 EP 2391352**

54 Título: **Formas farmacéuticas para la liberación de compuestos activos**

30 Prioridad:

**30.01.2009 EP 09382014**

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

**21.02.2018**

73 Titular/es:

**LABORATORIOS FARMACÉUTICOS ROVI, S.A.  
(100.0%)  
C/ Julián Camarillo 35  
28037 Madrid, ES**

72 Inventor/es:

**FRANCO RODRÍGUEZ, GUILLERMO y  
GUTIERRO ADURIZ, IBÓN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 655 689 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**

Formas farmacéuticas para la liberación de compuestos activos

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a formas farmacéuticas para la liberación de glicosaminoglicanos (GAG) para la absorción por vía mucosa tras su administración, así como a formulaciones farmacéuticas que contienen dichas formas farmacéuticas y al uso de dichas formas farmacéuticas y dichas formulaciones para la fabricación de un medicamento aplicable a mucosas.

La vía de administración se selecciona a partir de mucosa orofaríngea, mucosa gastrointestinal, mucosa pulmonar, mucosa nasal y mucosa vaginal.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

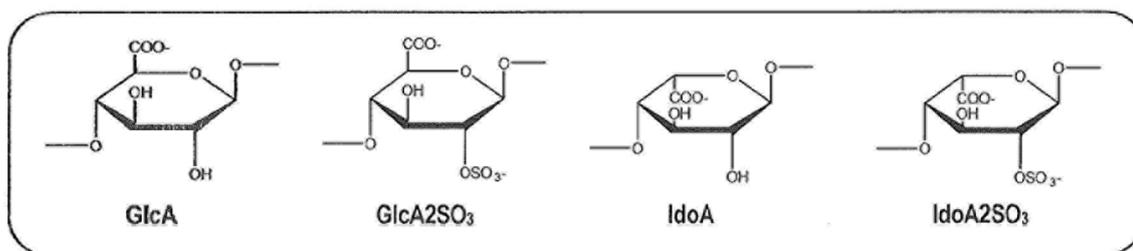
Un problema que se ha planteado en los últimos años en el sector farmacéutico es que hay una gran variedad de compuestos activos que se caracterizan fundamentalmente porque no pueden administrarse por vía oral.

Las causas principales por las que estos compuestos no pueden administrarse por esta vía son:

- su rápida degradación enzimática y metabólica,
- 15 - su inestabilidad química y biológica,
- su baja solubilidad en medio acuoso, o
- su limitada permeabilidad en el tubo digestivo.

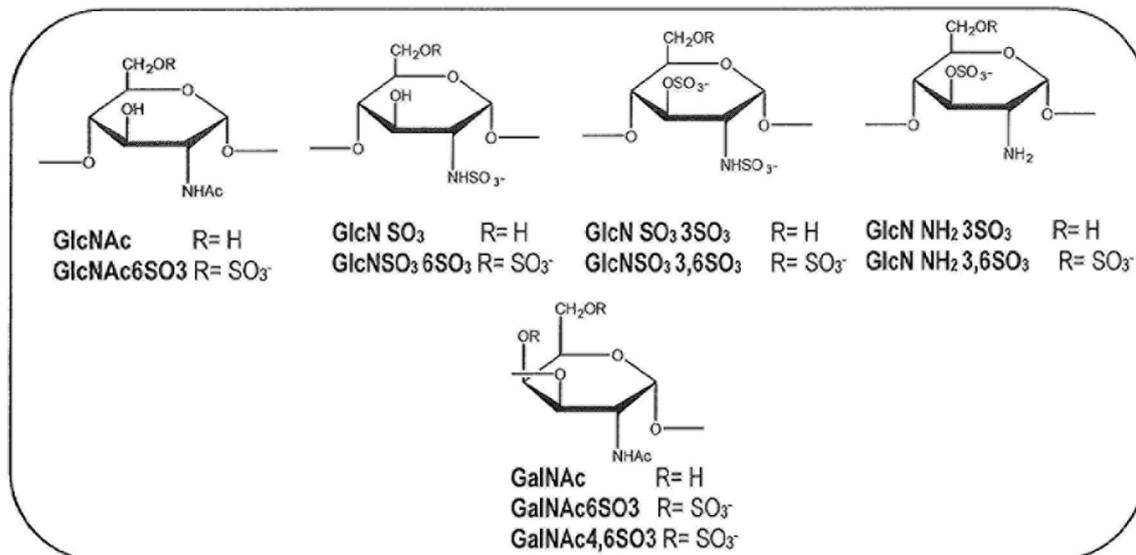
20 Un ejemplo de este tipo de compuestos activos que presentan estos problemas son las macromoléculas de tipo glicosaminoglicano (GAG), como la heparina y sus derivados, LMWH (heparinas de bajo peso molecular), pentasacáridos (como fondaparinux), ULMWH (heparinas de ultrabajo peso molecular), condroitina sulfato, dermatán sulfato, etc.

Las macromoléculas de tipo glicosaminoglicano son polisacáridos no ramificados altamente sulfatados que comprenden disacáridos repetidos de un ácido urónico (ídurónico o glucurónico) ligados a un aminoazúcar (glucosamina o galactosamina). Los bloques estructurales de estas macromoléculas son los siguientes:



Ácidos urónicos

25



Aminoazúcares

El contenido de grupos sulfato y urónico es esencial para evaluar la distribución de la carga a lo largo de la cadena polielectrolito.

- 5 El conductímetro proporciona un método sencillo y rápido para determinar el contenido absoluto tanto de grupos sulfato como carboxilo en los glicosaminoglicanos (GAG), ya que las curvas de conductimetría obtenidas mediante valoración de la forma ácida de un GAG con una base fuerte son características del GAG [A conductimetry method for the determination of sulphate and carboxyl groups in heparin and other muopolysaccharides. Benito Casu y Ugo Genaro. Carbohydrate Research, 39, 168-179, 1975]. Usando esta metodología se ha determinado el porcentaje de sulfato y carboxilo en diferentes GAG:

GAG	% de SO <sub>3</sub> <sup>-</sup> en peso de sustancia seca	de% de COO <sup>-</sup> en peso de sustancia seca
Heparina no fraccionada	25-35 %	7-8 %
Heparina de bajo peso molecular	25-29 %	6-7 %
Condroitina sulfato	11-17%	6-9 %
Dermatán sulfato	15-20 %	5-8 %
Fondaparinux	37 %	5 %

- 10 Estas macromoléculas de tipo glicosaminoglicano son muy importantes para el tratamiento de diferentes enfermedades, por ejemplo, las heparinas de bajo peso molecular (LMWH) son el estándar de anticoagulante utilizado en la prevención y tratamiento de la trombosis venosa profunda y la embolia pulmonar (Ageno 2000 "Treatment of venous thromboembolism". Thromb Res 97(1): V63-72; Agnelli, G. y F. Sonaglia (2000). "Prevention of venous thromboembolism" Thromb Res 97(1): V49-62.). Durante muchos años, las LMWH han superado a la heparina no fraccionada (UFH) en muchos países debido a la disminución de los costes sanitarios y a su utilización sencilla (Kakkar, A. K. (2004). "Low- and ultra-low-molecular-weight heparins." Best Pract Res Clin Haematol 17(1): 77-87). De hecho, las LMWH tienen mejor predictibilidad del efecto farmacodinámico, una excelente biodisponibilidad tras la administración s.c. y un menor riesgo de trombocitopenia inducida por heparina (Boneu, B. (2000). "Low molecular weight heparins: are they superior to unfractionated heparins to prevent and to treat deep vein thrombosis?" Thromb Res 100(2): V113-20). "Low molecular weight heparins: are they superior to unfractionated heparins to prevent and to treat deep vein thrombosis?" Thromb Res 100(2): V113-20; Gerotziapas, G. T., A. D. Petropoulou, y col. (2007). "Effect of the anti-factor Xa and anti-factor IIa activities of low-molecular-weight heparins upon the phases of thrombin generation." J Thromb Haemost 5(5): 955-62). Desafortunadamente, su administración por vía parenteral es una desventaja principal especialmente en el tratamiento ambulatorio a largo plazo.
- 25 Por tanto, las formas de dosis oral supondrían una mejora importante para la administración de dicha LMWH, ya que representan la vía más conveniente y fisiológica. A pesar de la fuerte carga aniónica y el importante tamaño molecular de las LMWH, los investigadores han intentado durante muchos años desarrollar una formulación oral de

estas macromoléculas (Jaques Lb, 1979 "Heparins - Anionic Poly-Electrolyte Drugs" Pharmacol. Rev., 68).

De hecho, las heparinas son macromoléculas de glicosaminoglicano compuestas por una mezcla de cadenas de longitudes diferentes: su composición es muy heterogénea (Hemker, H. C. y S. Beguin, Eds. (1994). Low-Molecular-Weight Heparins in Prophylaxis and Therapy of Thromboembolic Diseases. Fundamental clinical cardiology Editions Medicales Internationales). Estas actúan uniéndose a la antitrombina, un inhibidor natural de la cascada de la coagulación. La capacidad de la heparina para unirse y catalizar la acción de la antitrombina (AT) está respaldada de forma selectiva por una estructura pentasacárida específica, presente sólo en una cuarta parte de las cadenas de la población total (Choay, J. (1986). "Une nouvelle approche de la chimie de l'heparine et de ses fragments : structure et synthese." *angiologie* 38(4): 123-132). El complejo heparina-AT tiene una acción de inhibición equimolar sobre el factor Xa o el factor IIa de la cascada de la coagulación dependiendo de la longitud de la cadena de heparina que presenta la estructura pentasacárida.

En el documento "Review of bemiparin sodium, a new second, generation low molecular weight heparin and its applications in venous thromboembolism" de Andre Planes, Expert Opin. Pharmacother (2003) 4(9):1551-1561 se describe la bemiparina sódica. La bemiparina tiene el peso molecular medio más bajo (3600 Da), la semivida más larga (5,3 h) y la mayor relación antifactor Xa:antifactor IIa (8:1) de todas las LMWH.

Es necesario considerar que, aunque algunos de estos compuestos pueden administrarse por vía oral, tienen una absorción gastrointestinal muy baja y/o muy errática, lo que supone un grave problema para la comercialización de este tipo de fármacos, ya que los resultados obtenidos difieren notablemente de los esperados debido a este comportamiento en los procesos farmacocinéticos LADME (Liberación, Absorción, Distribución, Metabolización y Eliminación). Adicionalmente, estas macromoléculas tienen un carácter hidrófilo y muy baja permeabilidad, lo que les condiciona a una absorción baja por las vías mucosas que, en el caso de la vía oral, es peor ya que estas macromoléculas tienen que pasar a través del estómago.

Al igual que cualquier estructura celular, la mucosa digestiva permite con facilidad el paso a su través de moléculas lipófilas pequeñas, aunque es muy impermeable a macromoléculas hidrófilas cargadas. Adicionalmente, este aspecto se amplifica por el hecho de que el tubo digestivo está recubierto por una mucosa cargada negativamente que tiene una tendencia natural a repeler a las moléculas de la misma carga.

Un ejemplo claro de compuesto activo cuya absorción es limitada por vía oral es la heparina, ya que tras su administración por vía oral, la absorción a través de la mucosa digestiva no se verá limitada por su solubilidad, sino por su baja permeabilidad con respecto a la membrana intestinal, principalmente debido a su carga negativa. La permeabilidad de las heparinas a través del epitelio digestivo es, por tanto, muy baja, lo que hace que la administración de heparina o formulaciones que contienen heparina por vía oral sea muy difícil.

Por este motivo, la vía de administración elegida en la mayoría de las clases de compuestos mencionados anteriormente es la vía de administración parenteral, principalmente mediante inyecciones intramusculares o subcutáneas. En el momento actual, algunos de estos compuestos se administran incluso a través de formulaciones nasales o pulmonares como en el caso de la calcitonina de salmón o la insulina [Alpar, H. J.; Somavarapu, S; Atuah, K. N.; Bramwell, V. W. Adv. Drug Deliv. Rev. 2005, 57, 411-430; Paltz, R. M.; Patton, J. S; Foster, L.; Mohammed, E. Solicitud de patente de EE. UU. N.º 355578].

No obstante, un problema planteado por estas vías de administración es que, en la mayoría de los casos, estos tratamientos requieren periodos de terapia largos como, por ejemplo, en algunos tipos de diabetes, para los que se necesita tratamiento de por vida, siendo la frecuencia de administración diaria. Esto supone una gran desventaja, principalmente para el paciente, y por este motivo es importante buscar vías alternativas. Fundamentalmente, la vía oral, que es la más conveniente para el paciente y la más económica, debe corresponderse con la preferida. No obstante, para este tipo de moléculas (principalmente para oligosacáridos y proteínas), las formulaciones diseñadas preparadas para su administración por vía oral suponen un problema e implican muchas complicaciones, ya que el tubo digestivo degrada estos compuestos activos. Esto significa que deben formularse de modo que se permita, en primer lugar, que la forma farmacéutica pase a través del estómago sin que se degrade el compuesto activo y una vez que alcance la mucosa de absorción óptima, se libere una gran cantidad de este compuesto activo de forma selectiva sobre la pared de la mucosa en un intervalo de tiempo relativamente corto, obteniéndose de este modo, la actividad terapéutica o preventiva deseada.

Dentro de las líneas de investigación desarrolladas para obtener vehículos diseñados para aumentar la biodisponibilidad sistémica tras la administración mucosa de varias moléculas de tipo glicosaminoglicano que tradicionalmente se absorben mal, se incluyen las siguientes:

- Diseño de profármacos [*Prodrug strategies to enhance the intestinal absorption of peptides*. Gangwar y col. Drug Discovery Today (1997), 2(4), 148-155.]

- Diseño de sales del glicosaminoglicano, con un cambio en la estructura química del glicosaminoglicano [Solicitud de patente WO2007079252].

- Desarrollo de protómeros de absorción [*Patente* EP1652836; *patente* IS 200602146].

- Desarrollo de dispositivos mucoadhesivos como sistemas bioadhesivos o parches intestinales [Oral delivery of macromolecules using intestinal patches: applications for insulin delivery. *Journal of Controlled Release* (2004), 98(1), 37-45].

5 - Desarrollo de sistemas particulados.

La investigación actual en farmacología (en base a sistemas particulados) se centra en dos áreas diferentes aunque complementarias: sistemas dirigidos y de liberación controlada.

El perfil de liberación del compuesto activo depende de numerosos parámetros: tamaño, distribución, porosidad, degradación, permeabilidad del polímero, etc.

10 Un ejemplo de forma de dosis oral es la forma multiparticulada a base de una mezcla de un polímero biodegradable y un polímero policatiónico no biodegradable. Se han obtenido biodisponibilidades medias absolutas del 59 % y el 48 % con nanopartículas de LMWH (Hoffart, V., A. Lamprecht, y col. (2006). "Oral bioavailability of a low molecular weight heparin using a polymeric delivery system." *J Control Release* 113(1): 38-42) y macropartículas de UFH (Jiao, Y., N. Ubrich, y col. (2002). "Anticoagulant activity of heparin following oral administration of heparin-loaded microparticles in rabbits." *J Pharm Sei* 91(3): 760-8), respectivamente.

15 En la solicitud de patente US 2005/0020539 A1 se describen composiciones farmacéuticas y métodos de preparación para la administración oral de heparina para su liberación selectiva en el intestino, que comprenden una estructura de matrices múltiples que comprende a) una matriz interna de compuestos anfífilos y compuestos lipófilos en los que el compuesto activo está al menos parcialmente embebido y b) una matriz hidrófila externa donde la matriz a) está dispersa. En este documento, se necesitan siempre matrices múltiples con compuestos anfífilos y compuestos lipófilos para obtener un perfil de disolución lenta.

20 Para que las partículas tengan la actividad deseada, debe favorecerse la degradación homogénea a través de la masa polimérica para conseguir una liberación adecuada, también debe favorecerse una superficie potencial adecuada de modo que las partículas se aproximen a la mucosa de absorción. En la actualidad, el esfuerzo de las grandes compañías multinacionales en el sector farmacéutico se centra en el desarrollo de sistemas coloidales con tamaño de partícula reducido, como estrategia para aumentar la biodisponibilidad sistémica de compuestos activos.

25 Una de las opciones prometedoras para mejorar la absorción oral es el uso de potenciadores de la absorción como N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]decanoato de sodio (SNAD) diseñado para la facilitación específica de la absorción intestinal de LMWH de forma similar a la del N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]caprilato de sodio (SNAC) con la UFH. De hecho, la biodisponibilidad de una administración oral de UFH junto con el agente de administración SNAC en ratas era del 6 % (Leone-Bay, A., D. R. Paton, y col.(1998). "Acylylated non-alpha-amino acids as novel agents for the oral delivery of heparin sodium, USP." *J Control Release* 50(1-3): 41-9).

30 Otro estudio prometedor se basó en la síntesis de nuevos derivados de heparina mediante la conjugación de LMWH con ácido deoxicólico (DOCA). Tras la administración de LMWH-DOCA en DMSO a ratones, la biodisponibilidad fue del 17,6 % (Kirn, S. K., B. Vaishali, y col. (2006). "Oral delivery of chemical conjugates of heparin and deoxycholic acid in aqueous formulation." *Thromb Res* 117(4): 419-27).

35 Otras publicaciones sobre el estado de la técnica se dirigen a obtener una forma de liberación mantenida de heparina. La memoria descriptiva WO2007079252 se refiere a una sal de amonio cuaternario de un fármaco ácido en forma de una suspensión o emulsión, adecuada para la administración parenteral y que proporciona una liberación mantenida del fármaco. En una realización preferida, esta invención se dirige a una composición de liberación mantenida a largo plazo para administración parenteral. En este caso la estructura química de la heparina está modificada.

40 En el documento US 4 703 042 se describen sales activas por vía oral del ácido heparínico polianiónico con materiales policatiónicos seleccionados. Las sales son "pares iónicos" lipoidol estables que pueden absorberse a través de la pared gastrointestinal y que liberan lentamente ácido heparínico para conseguir una actividad anticoagulante de larga duración.

45 En la solicitud de patente WO0203960 se describe un vector particulado para mejora la absorción oral de principios activos formados a partir de una matriz polimérica que comprende al menos un polímero biodegradable combinado con al menos un polímero policatiónico. El polímero policatiónico puede ser un copolímero del éster de ácidos acrílico y metacrílico como Eudragit, el principio activo puede ser heparina, una heparina de bajo peso molecular o un producto relacionado. En los ejemplos de la solicitud de patente WO0203960 no se especifica el tipo de heparina.

50 En la solicitud de patente WO2005032703 se describe un dispositivo para la fabricación de micropartículas o nanopartículas y su uso en un proceso para la fabricación de dichas partículas, específicamente micropartículas de interferón y micropartículas de nadroparina.

En el documento redactado por Hoffart y col. "Oral bioavailability of a low molecular weight heparin using a polymeric delivery system", Journal of Controlled Release 2006, vol. 113, n° 1, páginas 38-42, se describe la biodisponibilidad oral de nanopartículas cargadas con tinzaparina preparadas con una mezcla de un poliéster y un polimetacrilato policatiónico.

- 5 Finalmente, en 1969, en el documento US 3 482 014 se notificaron sales ácidas de heparina (heparinato ácido de sodio), en contraste con las sales neutras de heparina conocidas, para la preparación de píldoras o comprimidos entéricos.

Sigue existiendo la necesidad en la técnica de una forma farmacéutica para la liberación de glicosaminoglicanos que logre una absorción eficaz y rápida por vía mucosa de dichos glicosaminoglicanos tras su administración.

10 BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los inventores han encontrado sorprendentemente que es posible preparar formas farmacéuticas que consigan la liberación rápida y la posterior absorción de glicosaminoglicanos, especialmente bemiparina, fondaparinux y enoxaparina y sus sales farmacéuticamente aceptables, por vía mucosa de forma rápida y eficaz. En particular, se ha encontrado que, al contrario que en algunas invenciones de la técnica previa donde las cargas de estos glicosaminoglicanos se neutralizan por completo o prácticamente por completo con el material policatiónico, cuando las cargas de los glicosaminoglicanos están solo parcialmente neutralizadas con cationes seleccionados, de modo que los glicosaminoglicanos seleccionados mantienen ciertos grados de libertad, tanto la liberación como la posterior absorción de los glicosaminoglicanos por vía mucosa, por ejemplo, en el intestino, se realiza de forma rápida y eficaz, lo que recuerda al efecto de una administración subcutánea. También se ha encontrado que estas formas farmacéuticas son solo capaces de llevar a cabo la liberación rápida y eficaz referida de forma adecuada y la posterior absorción de los glicosaminoglicanos seleccionados si dicha forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad inferior al 10 % p/p.

Por consiguiente, la presente solicitud de patente se refiere a una forma farmacéutica que comprende un glicosaminoglicano seleccionado a partir del grupo compuesto por: bemiparina, fondaparinux y enoxaparina y sus sales farmacéuticamente aceptables y un compuesto que presenta grupos amonio cuaternario independientes o dependientes de pH, que es una estructura de polímeros y copolímeros derivados de los ésteres de los ácidos acrílico y metacrílico, en los que:

- la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,01 y 2.0  $\mu$ moles de amonio/mg de forma farmacéutica,
- 30 - la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica estén entre el 15 % y el 50 % p/p, y
- la forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad (p/p) inferior al 10%, en la que las cargas del glicosaminoglicano se neutralizan solo parcialmente con cationes seleccionados que son grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH.

En esta forma farmacéutica las cargas del glicosaminoglicano se neutralizan solo parcialmente con cationes seleccionados que son los grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH.

Según se muestra en los ejemplos la proporción de amonio de nuestra formulación farmacéutica debe ser inferior a 2  $\mu$ moles de unidades de amonio/mg de formulación para obtener buenos resultados en los valores de la actividad en plasma. El contenido de humedad para nuestra forma farmacéutica inferior al 10 % (p/p) también contribuye a conseguir una buena absorción mucosa.

40 En un segundo aspecto, la invención proporciona una formulación farmacéutica para la administración de las formas farmacéuticas descritas previamente, dicha formulación comprende la forma farmacéutica como se definió anteriormente junto con excipientes o vehículos farmacéuticos.

Un tercer aspecto de la invención es una forma farmacéutica o una formulación farmacéutica como se describe anteriormente para su uso como un medicamento.

45 DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Vista esquemática de la estructura tridimensional de la interacción heparina-amonio cuaternario. Los grupos sulfato próximos al amonio se representan dentro de círculos.

A) La estructura amonio es  $-NH_3^+$

C) La estructura amonio es  $-N(CH_3)_3^+$

50 B) D) Para obtener una mejor imagen de la interacción, se ha representado la superficie accesible al solvente para la heparina.

- Figura 2: Perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en el ejemplo 1 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RSPO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=400mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 5 Figura 3: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 1.
- Figura 4: Perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 2 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RSPO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=200mg/100mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 10 Figura 5: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de 20 000 UI de bemiparina en dos comprimidos de 10 000 UI cada uno obtenidos en el ejemplo 2.
- Figura 6: Perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 3 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RSPO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=200mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 15 Figura 7: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 3.
- Figura 8: Perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 4 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RSPO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=800mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 20 Figura 9: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 4.
- Figura 10: Perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en el ejemplo 6 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RL)/glicosaminoglicano (bemiparina)=400mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 25 Figura 11: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 6.
- Figura 12: Perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en el ejemplo 7 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® E)/glicosaminoglicano (bemiparina)=400mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 30 Figura 13: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 7.
- Figura 14: Perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en el ejemplo 8 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® L)/glicosaminoglicano (bemiparina)=400mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 35 Figura 15: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 8.
- Figura 16: Perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 9 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RSPO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=5mg/2,5mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 40 Figura 17: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 9.
- Figura 18: Perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 10 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RSPO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=3,75mg/3,75mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 45 Figura 19: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 10.
- Figura 20: Perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 11 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RSPO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=6,0mg/1,5mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.
- 50 Figura 21: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 11.

Figura 22: Actividad plasmática anti Xa en ratas Wistar tras la administración intragástrica de minicomprimidos que contienen 2,5 mg de fondaparinux como GAG y 5 mg de Eudragit RSPO como compuesto que presenta grupos amonio cuaternario unidos a un andamio no hidrosoluble obtenidos en el ejemplo 12.

5 Figura 23: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de 20 000 UI de bemiparina en dispersión de Eudragit RS obtenida en el ejemplo 13.

Figura 24: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de 20 000 UI de bemiparina en dispersión de Eudragit RS obtenida en el ejemplo 14.

10 Figura 25: Perfil de liberación de enoxaparina a partir de los comprimidos obtenidos en el ejemplo 15 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RS PO)/glicosaminoglicano (enoxaparina)=400mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de enoxaparina a partir de los comprimidos en función del tiempo.

Figura 26: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 IU de enoxaparina obtenidos en el ejemplo 15.

15 Figura 27: Perfil de liberación de enoxaparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 16 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RS PO)/glicosaminoglicano (enoxaparina)=200mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de enoxaparina a partir de los comprimidos en función del tiempo.

Figura 28: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 IU de enoxaparina obtenidos en el ejemplo 16.

20 Figura 29: Perfil de liberación de enoxaparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 17 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RS PO)/glicosaminoglicano (enoxaparina)=5mg/2,5mg]. Los resultados se expresan como % de enoxaparina a partir de los comprimidos en función del tiempo.

Figura 30: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 IU de enoxaparina obtenidos en el ejemplo 17.

25 Figura 31: Perfil de liberación de enoxaparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 18 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RS PO)/glicosaminoglicano (enoxaparina)=3,75mg/3,75mg]. Los resultados se expresan como % de enoxaparina a partir de los comprimidos en función del tiempo.

Figura 32: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 IU de enoxaparina obtenidos en el ejemplo 18.

30 Figura 33: Perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 19 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RS PO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=400mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.

Figura 34: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 19.

35 Figura 35: Perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en el ejemplo 20 [compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RS PO)/glicosaminoglicano (bemiparina)=160mg/410mg/200mg]. Los resultados se expresan como % de bemiparina a partir de comprimidos en función del tiempo.

Figura 36: Actividad plasmática anti Xa en perros Beagle tras la administración oral de comprimidos de 20 000 UI de bemiparina obtenidos en el ejemplo 20.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Un aspecto de la presente solicitud de patente se refiere a una forma farmacéutica según se describe anteriormente.

40 Según se usa en la descripción, los términos siguientes tienen el significado indicado anteriormente, siempre que no se indique lo contrario:

"Forma farmacéutica" es una combinación de compuestos según se define en la reivindicación 1 opcionalmente en presencia de componentes farmacéuticamente aceptables. Esta forma farmacéutica se usa para preparar la formulación farmacéutica que es la forma física de una dosis de medicamento.

45 "Compuestos con grupos amonio dependientes de pH" se refiere a compuestos en los que el átomo de nitrógeno se vuelve cuaternario en ambientes ácidos. Por tanto, tras la administración a un paciente de una forma farmacéutica de la invención que comprende un compuesto con grupos amino, o mono o dialquilamino, estos grupos se transforman en grupos mono o dialquilamonio cuando el compuesto alcanza zonas del tubo digestivo con un medio fisiológico ácido.

"Compuestos con grupos amonio independientes de pH" se refiere a compuestos en los que los grupos amonio, mono, di o trialquilamonio están presentes en la forma farmacéutica en la que se administra el paciente.

Las cargas del glicosaminoglicano "parcialmente neutralizado" según se utiliza el término en la presente invención, se refiere a una unión no covalente para que esa heparina mantenga ciento grado de libertad.

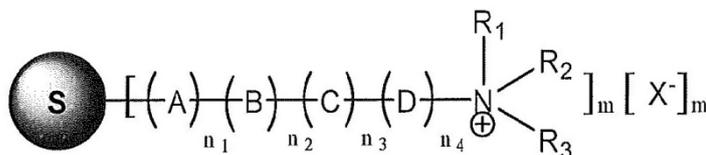
- 5 "Formulación de liberación no prolongada" o "formulación de liberación rápida" según los términos utilizados en la presente invención, se refiere a aquella formulación con un perfil en el que el 60 % del GAG se libera durante las primeras seis horas y el 80 % durante 24 horas. Más preferiblemente, el 80 % del GAG se libera durante las primeras nueve horas. Incluso más preferiblemente, el 80 % del GAG se libera durante las primeras seis horas.

- 10 Como se mencionó anteriormente, la forma farmacéutica de la invención comprende un glicosaminoglicano seleccionado a partir del grupo compuesto por: bemiparina, fondaparinux y enoxaparina y sus sales farmacéuticamente aceptables y un compuesto que presenta grupos amonio cuaternario independientes o dependientes de pH, que es una estructura de polímeros o copolímeros derivados de ésteres de los ácidos acrílico y metacrílico, donde: la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,01 y 2,0  $\mu$ moles de amonio/mg de forma farmacéutica, la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 15 % y el 50 % p/p, y la forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad (p/p) inferior al 10%, estando en esta forma farmacéutica las cargas del glicosaminoglicano solo parcialmente neutralizadas con cationes seleccionados que son los grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH.

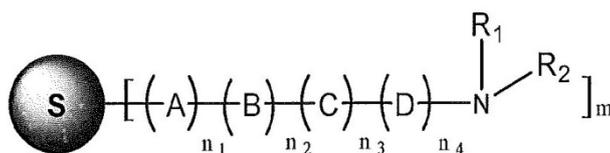
- 20 La proporción específica del glicosaminoglicano en la forma farmacéutica y de grupos amonio variará dependiendo del glicosaminoglicano elegido, ya que diferentes glicosaminoglicanos tendrán un número diferente de grupos ácidos.

Como se ha mencionado en la sección de antecedentes de la técnica el conductímetro proporciona un método sencillo y rápido para determinar el contenido absoluto tanto de grupos sulfato como carboxilo en los glicosaminoglicanos (GAG).

- 25 De hecho, el compuesto que presenta grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH puede ser un compuesto de fórmula (I) o (II)

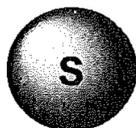


Fórmula I



Fórmula II

donde:



- 30 es la estructura química o andamio que comprende las cadenas -(A)-n<sub>1</sub>-(B)n<sub>2</sub>-(C)n<sub>3</sub>-(D)n<sub>4</sub>- que soportan grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH como parte de la estructura global;

m es un número entero de 1 a 150

n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, n<sub>3</sub> y n<sub>4</sub> son independientes entre sí: 1, 2 o 3

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son, independientes entre sí, un radical seleccionado a partir de: H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> y CH<sub>2</sub>OH,

A, B, C y D son, independientes entre sí, un radical seleccionado a partir de: NH, O, S, HOP=O, O=P=O, CH<sub>2</sub>, C=O, CH-OH, CH-NH<sub>2</sub>,

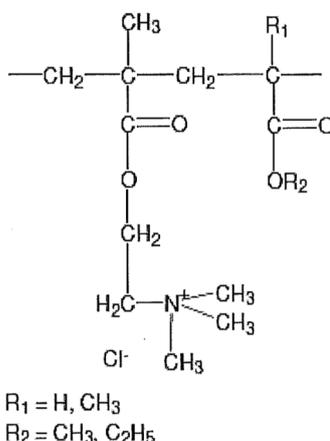
[X] es un anión farmacéuticamente aceptable.

- 5 Compuestos de fórmulas (I) y (II) significa una estructura química en las que las cadenas de los grupos amonio cuaternario dependientes o independientes que soportan -(A)-n<sub>1</sub>-(B)-n<sub>2</sub>-(C)-n<sub>3</sub>-(D)-n<sub>4</sub>- están ancladas.

Estas estructuras químicas pueden corresponder a estructuras de polímeros y copolímeros derivados de ésteres de ácidos acrílico y metacrílico (por ej., Eudragit® RS, Eudragit® RL), hidrosolubles o no hidrosolubles. En una realización en particular, las estructuras de polímeros y copolímeros derivados de ésteres de ácidos acrílico y metacrílico es Eudragit RS PO. En otra realización en particular, la estructura de polímeros y copolímeros derivados de ésteres de ácidos acrílico y metacrílico es Eudragit RL PO.

- 10

Por ejemplo, la estructura de Eudragit puede estar representada como sigue:



- 15 Eudragit RL 100/ RL PO y Eudragit RS 100/ RS PO son copolímeros de ésteres de ácidos acrílico y metacrílico con un contenido bajo en grupos amonio cuaternario, Eudragit RL 100/RL PO, 8,85-11,96 % de unidades de metacrilato de amonio en sustancia seca (SS) y Eudragit RS 100/Eudragit RS PO, 4,48-6,77 % de unidades de metacrilato de amonio en SS.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" según se usa en esta descripción, se refiere a una cuestión que es seguro y eficaz cuando se aplica en el contexto de la invención.

- 20 En una realización en particular, un anión [X] farmacéuticamente aceptable en compuestos de fórmula (I) y (II) es, por ejemplo, un anión de halógeno, más especialmente, clorhidrato.

La absorción oral de GAG se mejora por el hecho de que estos amonios se localizan en un andamio estructurado.

Según una realización de la forma farmacéutica, el compuesto que presenta grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH es un compuesto no hidrosoluble.

- 25 Según una realización de la forma farmacéutica, la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,01 y 2 μmoles de amonio/mg de forma farmacéutica.

En una realización preferida, la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,05 y 1,7 μmoles de amonio/mg de forma farmacéutica, en una realización más preferida, la proporción de grupos amonio está entre 0,16 y 1,0 μmoles de amonio/mg de forma farmacéutica y aún en una realización más preferida la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,21 y 0,4 μmoles de amonio/mg de forma farmacéutica.

- 30

Según otra realización de la forma farmacéutica, la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 15 y el 50 % p/p. En una realización más preferida, la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 20 y el 50 % p/p. En una realización aún más preferida, la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 20 y el 50 % y en una realización incluso más preferida la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica esta entre el 33 y el 50 % p/p.

- 35

Preferiblemente, la forma farmacéutica comprende un glicosaminoglicano y un compuesto que presenta grupos amonio cuaternario independientes o dependientes de pH, que es una estructura de polímeros y copolímeros derivados de ésteres de ácidos acrílico y metacrílico, donde:

- la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,16 y 1,7  $\mu$ moles de amonio/mg de forma farmacéutica,

- la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 20 y el 50 % p/p, y

- la forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad (p/p) inferior al 10 %.

- 5 donde las cargas del glicosaminoglicano se neutralizan solo parcialmente con cationes seleccionados que son los grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH.

Más preferiblemente, la forma farmacéutica comprende un glicosaminoglicano y un compuesto que presenta grupos amonio cuaternario independientes o dependientes de pH, que es una estructura de polímeros y copolímeros derivados de ésteres de ácidos acrílico y metacrílico, donde:

- 10 - la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,21 y 0,4  $\mu$ moles de amonio/mg de forma farmacéutica,

- la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 33 y el 50 % p/p, y

- la forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad (p/p) inferior al 10 %.

- 15 donde las cargas del glicosaminoglicano se neutralizan solo parcialmente con cationes seleccionados que son los grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH.

En otra realización preferida, la forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad (p/p) inferior al 10 %, más preferiblemente inferior al 8 % (p/p) y más preferiblemente inferior al 5 % (p/p).

Entre los glicosaminoglicanos de interés, pueden mencionarse las heparinas.

- 20 Las heparinas son glicosaminoglicanos (GAG) que presentan actividad anticoagulante que actúa mediante la inactivación de determinados factores de la cascada de coagulación. Las heparinas se utilizan esencialmente por sus propiedades anticoagulantes (relacionadas con la inhibición del factor IIa) y antitrombóticas (por la inhibición del factor Xa) para la prevención y el tratamiento de enfermedades tromboembólicas [Low- and ultra-low-molecular-weight heparins. Best Pract Res Clin Haematol. 2004; 17: 77-87]:

- 25 - en la prevención, para reducir la incidencia de complicaciones tromboembólicas tras una inmovilización prolongada debido a una enfermedad, y tras intervenciones quirúrgicas [Prevention of venous thromboembolism. Agnelli y Sonaglia, Tromb Res. 2000; 97: V49-62].

- en la curación, para el tratamiento de la trombosis venosa profunda [Treatment of venous thromboembolism. Ageno. Tromb Res. 2000; 97: V63-72.J, de embolias pulmonares, de coagulación intravascular diseminada, obstrucción arterial aguda y la fase aguda del infarto de miocardio.

- 30 Actualmente, la heparina se extrae de la mucosa intestinal porcina o bovina [Heparins: all a nephrologist should know. Hetzel y col. Nephrol Dial Transplant. 2005; 20: 2036-42] la heparina no fraccionada es una mezcla heterogénea de cadenas de mucopolisacáridos sulfatadas cuya masa molecular está entre 3000 y 30 000 daltons. Su masa molecular media es de 15 000 daltons, y se corresponde con una molécula de heparina de aproximadamente 45 unidades ácidas [Molecular weight dependency of the heparin potentiated inhibition of thrombin and activated factor X. Effect of heparin neutralization in plasma. Andersson y col. Tromb Res. 1979; 15: 531-41].

- 35 Si se lleva a cabo una despolimerización química o enzimática, se producen heparinas compuestas por cadenas más cortas y, por consiguiente, con una masa molecular menor, entre 1000 y 10 000 daltons. Su masa molecular media es de 4500 daltons. Estas heparinas, denominadas heparinas de bajo peso molecular (LMWH), se distinguen por tanto de las heparinas no fraccionadas (UH) en su actividad predominantemente anti-Xa.

- 40 La heparina actúa mediante la intervención de un cofactor: la antitrombina III (ATIII), que es un inhibidor plasmático natural de la coagulación [Heparin and Low-Molecular-Weight Heparin: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Hirsh y Raschke. Chest. 2004; 126: 188S-203S] y se comporta como un catalizador con respecto a la ATIII. ATIII tiene una acción lenta y progresiva. Una vez que la heparina se ha fijado a la ATIII por la intervención del fragmento pentasacárido, esta acción se convierte en inmediata. Esta fijación causa un cambio en la formación de la ATIII que permite a continuación la fijación irreversible de la misma al centro activo de los factores de coagulación de tipo serin proteasa (factores IIa, Xa y IXa, principalmente). A continuación, la heparina se libera intacta y, después puede reaccionar con una nueva molécula de antitrombina.

- 45 Debe mencionarse que el efecto farmacodinámico de las heparinas depende de la longitud de la cadena de oligosacáridos. De hecho, para inhibir la trombina, la heparina debería fijarse a la ATIII y a la trombina a través de un bloque pentasacárido. Por otro lado, para inhibir el factor Xa, la heparina debería fijarse exclusivamente a ATIII mediante el bloque pentasacárido. Por tanto, los fragmentos con una masa molecular (MM) menor de 5400 Da, es decir, de 18 unidades de sacárido, pierde su capacidad para fijarse simultáneamente a la trombina y a la ATIII, y por

tanto, tendrán una actividad esencialmente anti-Xa. Los fragmentos con una MM mayor o igual a 5400 Da serán tanto anti-Xa como anti-IIa. La heparina estándar comprende fragmentos con una masa molecular variable de 2000 a 30 000 Da y, por tanto, tiene actividad sobre los dos factores, Xa e IIa [Heparin and Low-Molecular-Weight Heparin: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Hirsh y Raschke. Chest. 2004; 126: 188S-203S]. Por tanto, tiene tanto actividad antitrombótica como anticoagulante, en comparación con las heparinas de bajo peso molecular, que son agentes antitrombóticos esenciales con predominancia de actividad anti-Xa. La enfermedad tromboembólica venosa continua siendo responsable de una morbilidad y/o mortalidad importantes. De hecho, en Estados Unidos, se estima que el número de personas hospitalizadas por este motivo está entre 300 000 y 600 000 al año. Adicionalmente, esta enfermedad, debido a la embolia pulmonar de la cual es causa, podría ser responsable de 50 000 [Development of oral heparin therapy for prophylaxis and treatment of deep venous thrombosis. Money y Gorka. Caridovasc Surg.2001; 9: 211-8) a 100 000 muertes al año en Estados Unidos [Prevention of venous thromboembolism. Agnelli y Sonaglia. Tromb Res. 2000; 97: V49-62].

Puesto que la heparina actúa sobre los factores de coagulación mediante un mecanismo de catálisis mediado por la ATIII, la medida de su concentración en plasma no constituye un medio eficaz para determinar su actividad biológica.

Los procedimientos utilizados deberían reflejar más bien la capacidad de la heparina para inhibir los factores Xa e IIa. Por este motivo, puede utilizarse un proceso de medida diferente en seres humanos y en animales:

- La medida de la actividad de factores de coagulación, expresada en unidades de inhibición de la actividad Xa o IIa.

- La medida del tiempo de hemorragia determinado por el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa). En esta prueba se explora la vía intrínseca de la coagulación midiendo el tiempo de coagulación del plasma descalcificado y empobrecido en plaquetas en presencia de un equivalente de plaquetas (cefalina) y de calcio.

- La medida del tiempo de protrombina que explora la vía de coagulación intrínseca; en este procedimiento se utiliza plasma sanguíneo recalcificado en presencia de tromboplastina tisular [Digestive absorption of heparin with alternative formulations. Ubrich y col., 2002. S.T.P. Pharma Sciences. 2002; 12: 147-55].

Existe otro proceso que solo se realiza en animales, y consiste en medir la variación del tamaño de un trombo. Esto no permite cuantificar la respuesta, pero muestra si existe una acción farmacéutica probada del anticoagulante.

En una realización en particular, el glicosaminoglicano es bemiparina. En otra realización en particular, el glicosaminoglicano es enoxaparina.

Otros glicosaminoglicanos que podrían utilizarse en las formas farmacéuticas son condroitina, dermatán y fondaparinux y sus sales, etc.

Por tanto, en una realización de la forma farmacéutica, el glicosaminoglicano se selecciona a partir del grupo compuesto por heparina no fraccionada, heparina de bajo peso molecular, heparina de ultrabajo peso molecular, condroitina, dermatán y fondaparinux y sus sales.

En una realización en particular la forma farmacéutica adicionalmente comprende uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables como, por ejemplo, plastificantes, deslizantes, potenciadores de la absorción, humectantes, tensioactivos, colorantes, dispersantes, etc., o vehículos.

En una realización preferida, el porcentaje (p/p) de excipientes o vehículos en la formulación es igual o inferior al 10 %. La formulación farmacéutica de la invención está en forma sólida.

La forma farmacéutica según la presente invención puede procesarse sustancialmente para obtener una formulación farmacéutica que sea el producto final que se administre a un paciente. Las características de la formulación farmacéutica dependen de la vía de administración, en especial de los perfiles de liberación o de otros efectos pretendidos.

Por ejemplo, pueden producirse gránulos y pellas y también pueden diseñarse para la preparación de comprimidos y/o cápsulas [Characterization of 5-Fluorouracil Release from Hydroxypropylmethylcellulose Compression-Coated Tablets. Wu y col. Pharmaceutical Development and Technology (2007), 12(2), 203-210], o pueden someterse a tratamientos adicionales como recubrimientos poliméricos de los gránulos producidos para aportarles:

- **Gastroresistencia:** [In vitro dissolution studies of sodium diclofenac coated granules with eudragit L-30D-55 by fluidized-bed system. Silva, OR. y col. Drug Development and Industrial Pharmacy (2006), 32(6), 661-667], como por ejemplo, ftalato de polivinilacetato, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros acrílicos como copolímeros de ácido metacrílico y éster metacrílico, succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, etc.

- **Mucoadhesividad:** como, por ejemplo, quitosano.

En una realización preferida, la forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad (p/p) inferior al 10 %, más preferiblemente inferior al 8 % (p/p) y más preferiblemente inferior al 5 % (p/p).

En una realización, el compuesto que presenta grupos amonio cuaternario forma parte de la superficie de dicha formulación. Se ha encontrado que la presencia de cargas amonio en la superficie de una forma sólida mejora la absorción oral de GAG.

Especialmente, la formulación es una pella, un gránulo, un comprimido o un minicomprimido.

- 5 La administración oral sigue siendo una vía atractiva para la liberación de moléculas farmacológicamente activas. Su administración fácil, la ausencia de dolor asociada a la administración, la mayor aceptación del paciente y la relación coste/beneficio favorable han convertido a estas formulaciones orales en las más utilizadas para la administración de compuestos activos por vía oral. Por tanto, en una realización preferida la formulación farmacéutica de la invención es para administración por vía oral. Por tanto, más en particular la formulación es para administración por vía oral, y en una realización aún más en particular, la formulación es una formulación de liberación no prolongada.

Como se mencionó anteriormente, también forma parte de la invención la forma farmacéutica o la formulación farmacéutica según se define anteriormente para su uso como medicamento. Especialmente la forma o formulación farmacéutica se aplica a una mucosa seleccionada a partir de la mucosa orofaríngea, mucosa gastrointestinal, mucosa pulmonar, mucosa nasal y mucosa vaginal.

## 15 EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran la invención y no deberían considerarse en un sentido limitante de la misma.

### Ejemplo 1: Comprimidos de bemiparina

- 20 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	400
Bemiparina	200
Estearato Mg	3

Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,173 a 0,261 (aproximadamente una media de 0,21)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

- 25 El contenido en humedad de la composición de comprimido actual se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 5,79, expresado como (p/p, %).

#### *Perfil de liberación in vitro:*

- 30 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo permaneció 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

El perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 2. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los comprimidos en función del tiempo.

#### *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

- 40 Los comprimidos de bemiparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

- 45 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles en plasma detectables como se muestra en la figura 3. Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a aproximadamente 0,21

µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

### Ejemplo 2: Comprimidos de bemiparina

5 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	200
Bemiparina	100
Estearato Mg	1,5

Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,173 a 0,261 (aproximadamente una media de 0,21) µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

10 El contenido en humedad del comprimido que se corresponde con esta composición ejemplo se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 4,67, expresado como (p/p, %).

#### *Perfil de liberación in vitro:*

15 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

20 El perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 4. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los comprimidos en función del tiempo.

#### *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

25 Los comprimidos de bemiparina en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con dos comprimidos por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

30 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 5. Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a aproximadamente una 0,21 µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

### Ejemplo 3: Comprimidos de bemiparina

35 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	200
Bemiparina	200
Estearato Mg	2

Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,130 a 0,196 (aproximadamente una media de 0,16) µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero

de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

El contenido en humedad de la presente composición de comprimido se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 3,89, expresado como (p/p, %).

*Perfil de liberación in vitro:*

- 5 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

El perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos en este ejemplo se muestra en la figura 6. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los comprimidos en función del tiempo.

15 *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

Los comprimidos de bemiparina en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

- 20 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 7. Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a aproximadamente 0,16 µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

**Ejemplo 4: Comprimidos de bemiparina**

- 25 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	800
Bemiparina	200
Estearato Mg	5

- 30 Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,207 a 0,313 (aproximadamente una media de 0,26) µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

El contenido en humedad del comprimido que se corresponde con esta composición ejemplo se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 7,85, expresado como (p/p, %).

*Perfil de liberación in vitro:*

- 35 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

El perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 8. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los comprimidos en función del tiempo.

45 *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

Los comprimidos de bemiparina en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

- 5 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 9. Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a aproximadamente 0,26  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

#### Ejemplo 5: Comprimidos de bemiparina

- 10 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RSPO	1000
Bemiparina	200
Estearato Mg	6

- 15 Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,216 a 0,326 (aproximadamente una media de 0,27)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

El contenido en humedad de la presente composición de comprimido se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 7,15, expresado como (p/p, %).

#### *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

- 20 Los comprimidos de bemiparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

- 25 La administración de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos por debajo de 0,1 UI/ml en todos los puntos de obtención de muestras. Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a aproximadamente 0,27  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

- 30 Como se puede ver en los ejemplos 1 a 5, se han probado diferentes relaciones entre GAG y polímero para elucidar que proporción proporciona una mejor absorción mucosa. Una relación 1:5 (véase el ejemplo 5) da lugar a una mala absorción del compuesto con niveles plasmáticos por debajo de 0,1 UI/ml en todos los puntos de obtención de muestras. No obstante, las relaciones 1:1 y 1:2 (véanse los ejemplos 1 a 3) dan lugar a una buena absorción mucosa, con niveles plasmáticos por encima de 0,20 UI/ml y por encima de 0,1 UI/ml para la relación 1:4 (ejemplo 4).

#### Ejemplo 6: Comprimidos de bemiparina

- 35 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RL	400
Bemiparina	200
Estearato Mg	3

Esta proporción de Eudragit® RLPO da lugar a un intervalo de 0,341 a 0,461 (aproximadamente una media de 0,40)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero

de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RLPO y no como su sal clorhidrato.

El contenido en humedad del comprimido que se corresponde con esta composición ejemplo se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 3,92, expresado como (p/p, %).

5 Perfil de liberación in vitro:

10 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

15 El perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 10. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los comprimidos en función del tiempo. Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a aproximadamente 0,4 µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

*Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

20 Los comprimidos de bemiparina en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

25 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 11. Esta proporción de Eudragit® RL da lugar a aproximadamente 0,4 µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

**Ejemplo comparativo 7: Comprimidos de bemiparina**

Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® E	400
Bemiparina	200
Estearato Mg3	

30 Esta proporción de Eudragit® E da lugar a aproximadamente una media de 2,12 µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el grupo dimetil aminoetilo presente en el polímero Eudragit® E.

35 El contenido en humedad de la presente composición de comprimido se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era del 6,19, expresado como (p/p, %).

*Perfil de liberación in vitro:*

40 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

45 El perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 12. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los comprimidos en función del tiempo.

Como puede observarse en la figura, Eudragit® E se acompleja fuertemente con bemiparina y la liberación en 24 h es de aproximadamente el 50 %. Incluso si el comprimido se desintegra mecánicamente (punto de 27 h) no se disolvía más del 60 % del total de la bemiparina en el medio de liberación.

*Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

- 5 Los comprimidos de bemiparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.
- 10 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 13. Esta proporción de Eudragit® E da lugar a aproximadamente 2,1 µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

**Ejemplo comparativo 8: Comprimidos de bemiparina**

- 15 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® L	400
Bemiparina	200
Estearato Mg3	

- 20 La composición presentada en este ejemplo no tiene compuestos que proporcionen grupos amonio. El contenido en humedad del comprimido que se corresponde con esta composición ejemplo se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 4,26, expresado como (p/p, %).

*Perfil de liberación in vitro:*

- 25 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

- 30 El perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 14. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los comprimidos en función del tiempo.

Como puede verse en la figura, Eudragit® L no impide la difusión rápida de bemiparina a través del polímero. Esto se debe probablemente al porcentaje relativamente alto de bemiparina en el polímero que ayuda a la formación de poros en la estructura del polímero insoluble Eudragit® L.

35 *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

- Los comprimidos de bemiparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.
- 40

La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 15.

- 45 Como podemos observar en los ejemplos 6 a 8, se han probado diferentes tipos de polímeros para determinar la influencia de la cantidad de cargas y la naturaleza de la absorción mucosa del compuesto GAG cargado (todos estos polímeros tienen estructuras químicas similares pero diferentes proporciones de amonio). En todos los ensayos la relación GAG/polímero es de 1:2.

En las figuras 11, 13 y 15 se representan los valores de la actividad en plasma obtenidos cuando se prueban Eudragit® RL, Eudragit® E y Eudragit® L, respectivamente.

Eudragit® RL (aprox. 0,4 µmoles de unidades de amonio/mg de formulación) proporciona los mejores resultados alcanzando una actividad en plasma de 0,35 UI/ml.

- 5 Eudragit® E (aprox. 2,12 µmoles de unidades de amonio/mg de formulación) proporciona una deficiente actividad en plasma alcanzado el valor máximo a 0,06 UI/ml.

Eudragit® L, un polímero sin grupos amonio, proporciona los peores resultados con una mala absorción (0,09 UI/ml) y niveles irregulares.

- 10 Para resumir estos resultados, podemos concluir que la mejor proporción de amonio para nuestra formulación farmacéutica debe ser inferior a 2 µmoles de unidades de amonio/mg de formulación.

**Ejemplo 9: Minicomprimidos de bemiparina**

Los minicomprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 2 mm de diámetro en una prensa de minicomprimidos. La composición de la mezcla en polvo, por minicomprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO5	5
Bemiparina	2,5
Estearato Mg	0,05
Sílice pirogénica	0,05

- 15 Esta proporción de Eudragit® RS da lugar a un intervalo de 0,173 a 0,261 (aproximadamente una media de 0,21) µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

- 20 El contenido en humedad de la presente composición de minicomprimido se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 3,44, expresado como (p/p, %).

*Perfil de liberación in vitro:*

- 25 La liberación de bemiparina a partir de los minicomprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría.

El perfil de liberación de bemiparina a partir de minicomprimidos en este ejemplo se muestra en la figura 16. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los minicomprimidos en función del tiempo.

*Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

- 30 Los minicomprimidos de bemiparina en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis fue de 20000 UI de bemiparina. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en las muestras.

- 35 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en minicomprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 17. Esta proporción de Eudragit® RS da lugar a aproximadamente una 0,21 µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

**Ejemplo 10: Minicomprimidos de bemiparina**

- 40 Los minicomprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 2 mm de diámetro en una prensa de minicomprimidos. La composición de la mezcla en polvo, por minicomprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	3,75
Bemiparina	3,75
Estearato Mg	0,04
Sílice pirogénica	0,04

5 Esta proporción de Eudragit® RS da lugar a un intervalo de 0,130 a 0,196 (aproximadamente una media de 0,16)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

El contenido en humedad del comprimido que se corresponde con esta composición ejemplo se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 2,56, expresado como (p/p, %).

*Perfil de liberación in vitro:*

10 La liberación de bemiparina a partir de los minicomprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría.

15 El perfil de liberación de bemiparina a partir de los minicomprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 18 (los resultados se expresan como % de bemiparina liberada a partir de los minicomprimidos en función del tiempo).

*Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

20 Los minicomprimidos de bemiparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis fue de 20000 UI de bemiparina. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

La administración oral de 20000 UI de bemiparina en minicomprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 19.

**25 Ejemplo 11: Minicomprimidos de bemiparina**

Los minicomprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 2 mm de diámetro en una prensa de minicomprimidos. La composición de la mezcla en polvo, por minicomprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	6,0
Bemiparina	1,5
Estearato Mg	0,04
Sílice pirogénica	0,04

30 Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,207 a 0,313 (aproximadamente una media de 0,26)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

El contenido en humedad de la presente composición de minicomprimido se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 3,79, expresado como (p/p, %).

35 *Perfil de liberación in vitro:*

La liberación de bemiparina a partir de los minicomprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

El perfil de liberación de bemiparina a partir de los minicomprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 20. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los minicomprimidos en función del tiempo.

#### *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

Los minicomprimidos de bemiparina en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis fue de 20000 UI de bemiparina. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

La administración oral de 20000 UI de bemiparina en minicomprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables como se muestra en la figura 21.

Como podemos ver en los ejemplos 9 a 11 con el mismo polímero (Eudragit® RS), se han probado relaciones entre GAG y polímeros para elucidar que proporción aporta una mejor absorción mucosa, la relación 1:4 bemiparina:Eudragit (véase el ejemplo 11) da lugar a una absorción del compuesto con niveles plasmáticos por encima de 0,2 UI/ml. No obstante, las relaciones 1:2 y 1:1 (véanse los ejemplos 9 a 10) daba lugar a una buena absorción mucosa, con niveles plasmáticos máximos desde 0,35 UI/ml a 0,5 UI/ml.

En conexión con los ejemplos 1 a 5 (comprimidos), para nuestra forma farmacéutica se prefieren las relaciones 1:1 y 1:2 (véanse los ejemplos 1, 3, 6, 9 y 10) debido a que dan lugar a una buena absorción mucosa, con niveles plasmáticos superiores a 0,20 UI/ml.

Por tanto, para nuestra forma farmacéutica, el porcentaje de GAG en la formulación está entre el 20 % y el 50 % p/p.

#### **Ejemplo 12: Minicomprimidos de fondaparinux**

Los minicomprimidos de fondaparinux se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 2 mm de diámetro en una prensa de minicomprimidos. La composición de la mezcla en polvo, por minicomprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Fondaparinux	2,5
Eudragit® RSPO	5,0
Estearato Mg	0,04

#### *Niveles en plasma in vivo después de administración intragástrica a ratas Wistar*

Los minicomprimidos de fondaparinux obtenidos en este ejemplo se administraron por vía intragástrica a ratas Wistar con un peso medio de 300 g. La dosis era de 2,5 mg de fondaparinux. El número total de ratas fue de 6. Tras la administración intragástrica, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 0,5, 1, 2 y 4 horas y la absorción de fondaparinux se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras. Los resultados se expresan como mg/l de fondaparinux en el plasma.

La administración intragástrica de 2,5 mg de fondaparinux en minicomprimidos a ratas Wistar daba lugar a niveles plasmáticos

detectables como se muestra en la figura 22.

La actividad plasmática anti Xa en ratas Wistar tras la administración intragástrica de los comprimidos de 2,5 mg de fondaparinux obtenidos en este ejemplo [glicosaminoglicano (fondaparinux)/compuesto que presenta grupos amonio cuaternario (Eudragit® RSPO)=2,5 mg/5,0 mg]. Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a aproximadamente una media de 0,22  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

Este ejemplo se ha llevado a cabo para comprobar si un compuesto que contiene grupos amonio unidos a un

andamio no hidrosoluble puede mejorar la absorción oral mucosa de un glicosaminoglicano (GAG).

- 5 Eudragit® RS Se seleccionó como un buen candidato debido a su naturaleza catiónica (este polímero contiene grupos de amonio trimetilados) y ausencia de solubilidad en agua. A priori, los grupos trimetil amonio también parecen ser una buena opción ya que la distancia entre los grupos sulfato en el GAG estudiado es lo suficientemente grande como para ajustarse a ellos (3.5 Å).

Los resultados se expresan como mg/l de fondaparinux en el plasma.

Trimetil amonio combinado con un andamio no hidrosoluble da resultados significativamente mejores que las combinaciones previas ya que los niveles plasmáticos de fondaparinux alcanzan 0,5 mg/l en cuatro horas.

**Ejemplo comparativo 13: Bemiparina en dispersión de Eudragit® RS**

- 10 Se preparó una formulación de bemiparina en dispersión de Eudragit® RS como sigue. En primer lugar, la cantidad necesaria de bemiparina y Eudragit® RS se disolvió en agua. La composición de la formulación por dosis de 200 mg de bemiparina, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Bemiparina	200
Agua	350
Eudragit® RS	200

- 15 Esta proporción de Eudragit® RS da lugar a un intervalo de 0,069 a 0,105 (aproximadamente una media de 0,09) µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

Este ejemplo se ha llevado a cabo para comprobar si una forma farmacéutica de matriz no sólida puede mejorar la absorción oral mucosa de un glicosaminoglicano (GAG).

- 20 Como puede observarse, la misma composición con respecto a la naturaleza del GAG y el polímero y las cantidades formuladas como matriz sólida (comprimidos y minicomprimidos) alcanzaba niveles plasmáticos por encima de 0,3 UI/ml. Por otro lado, la formulación del ejemplo 13 presentada como forma no sólida daba lugar a niveles plasmáticos por debajo de 0,1 UI/ml.

La presencia de cargas de amino sobre la superficie de una forma sólida mejora la absorción oral del GAG. La absorción oral del GAG también mejora por el hecho de que estos amonios se localizan en un andamio estructurado, lo que parece ser un punto clave para mejorar notablemente la absorción oral del GAG.

- 25 *Niveles en plasma in vivo después de administración oral a perros Beagle*

Las formulaciones de bemiparina obtenidas en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis fue de 20000 UI de bemiparina por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

- 30 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en una formulación según este ejemplo a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos muy bajos como se muestra en la figura 23. Esta proporción de Eudragit® RS da lugar a aproximadamente 0,1 µmoles de unidades de amonio por miligramo de formulación.

Este ejemplo se ha llevado a cabo para comprobar si una forma farmacéutica de matriz no sólida puede mejorar la absorción oral mucosa de un glicosaminoglicano (GAG).

- 35 Como puede observarse, la misma composición con respecto a la naturaleza del GAG y el polímero (véanse los ejemplos 3 y 10) formulada como matriz sólida (comprimidos y minicomprimidos) alcanzaba niveles plasmáticos por encima de 0,3 UI/ml. Por otro lado, la formulación del ejemplo 13 presentada como forma no sólida daba lugar a niveles plasmáticos por debajo de 0,1 UI/ml.

**Ejemplo 14: Comprimidos de bemiparina**

- 40 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	400
Bemiparina	200
Estearato Mg	3

5 Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,207 a 0,313 (aproximadamente una media de 0,26)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

El contenido en humedad del comprimido que se corresponde con esta composición ejemplo se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 12,07, expresado como (p/p, %).

#### *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

10 Los comprimidos de bemiparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

15 La administración de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles plasmáticos detectables por debajo de 0,1 UI/ml en todos los puntos de obtención de muestras como se muestra en la figura 24.

20 Como podemos ver en el ejemplo 2, se ha probado una composición con una misma relación de GAG con respecto al polímero y presencia de grupos amonio (expresado como  $\mu$ moles/mg de formulación) que en el ejemplo 16, pero con diferente humedad (p/p, %), para elucidar la influencia de este parámetro sobre la absorción mucosa. La misma composición con una humedad del 5,79 % (figura 3, ejemplo 2) da lugar a una mejor absorción mucosa con niveles plasmáticos por encima de 0,20, mientras que la composición con un contenido en humedad del 12,07 % da lugar a una mala absorción del compuesto con niveles plasmáticos por debajo de 0,1 UI/ml en todos los puntos de obtención de muestras. Por tanto, las diferentes composiciones descritas en los ejemplos 1 a 4 y 9 a 11, que se corresponden todas ellas con valores de contenido de humedad en el rango del 2,56 % al 7,85 %, inducen una absorción mucosa de GAG sustancial con niveles en plasma por encima de 0,15 UI/ml.

25 Para resumir estos resultados podemos concluir que el mejor contenido de humedad para nuestra formulación farmacéutica debería ser inferior al 12 % (p/p).

#### **Ejemplo 15: Comprimidos de enoxaparina**

30 Los comprimidos de enoxaparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	400
Enoxaparina	200
Estearato Mg	3

35 Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,173 a 0,261 (aproximadamente una media de 0,21)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

#### *Perfil de liberación in vitro:*

La liberación de enoxaparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en

5 puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de enoxaparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

El perfil de liberación de enoxaparina a partir de comprimidos en este ejemplo se muestra en la figura 25. Los resultados se expresan como % de enoxaparina liberada de los comprimidos en función del tiempo.

#### *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

10 Los comprimidos de enoxaparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de enoxaparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de enoxaparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

15 La administración oral de 20000 UI de enoxaparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a una nueva absorción mucosa alcanzando niveles plasmáticos de 0,28 UI/ml (figura 26).

#### **Ejemplo 16: Comprimidos de enoxaparina**

Los comprimidos de enoxaparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	200
Enoxaparina	200
Estearato Mg	2

20 Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,130 a 0,196 (aproximadamente una media de 0,16)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

#### *Perfil de liberación in vitro:*

25 La liberación de enoxaparina® a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de enoxaparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

El perfil de liberación de enoxaparina a partir de los comprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 27. Los resultados se expresan como % de enoxaparina liberada de los comprimidos en función del tiempo.

#### 35 *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

Los comprimidos de enoxaparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de enoxaparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de enoxaparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

40 La administración oral de 20000 UI de enoxaparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a niveles en plasma por encima de 0,2 UI/ml como se muestra en la figura 28.

#### **Ejemplo 17: Minicomprimidos de enoxaparina**

45 Los minicomprimidos de enoxaparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 2 mm de diámetro en una prensa de minicomprimidos. La composición de la mezcla en

polvo, por minicomprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO5	
Enoxaparina	2,5
Estearato Mg	0,05
Sílice pirogénica	0,05

5 Esta proporción de Eudragit® RS da lugar a un intervalo de 0,173 a 0,261 (aproximadamente una media de 0,21)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

*Perfil de liberación in vitro:*

10 La liberación de enoxaparina a partir de los minicomprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de enoxaparina presente se determinó mediante nefelometría.

El perfil de liberación de enoxaparina a partir de los minicomprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 29. Los resultados se expresan como % de enoxaparina liberada de los minicomprimidos en función del tiempo.

15 *Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

Los minicomprimidos de enoxaparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis fue de 20000 UI de enoxaparina. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de enoxaparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

20 La administración oral de 20000 UI de enoxaparina en minicomprimidos a perros Beagle daba lugar a una buena absorción mucosa de enoxaparina con niveles en plasma por encima de 0,3 UI/ml como se muestra en la figura 30.

**Ejemplo 18: Minicomprimidos de enoxaparina**

25 Los minicomprimidos de enoxaparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 2 mm de diámetro en una prensa de minicomprimidos. La composición de la mezcla en polvo, por minicomprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO3,75	
Enoxaparina	3,75
Estearato Mg	0,04
Sílice pirogénica	0,04

Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,130 a 0,196 (aproximadamente una media de 0,16)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

30 **Perfil de liberación in vitro:**

35 La liberación de enoxaparina a partir de los minicomprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de enoxaparina presente se determinó mediante nefelometría.

El perfil de liberación de enoxaparina a partir de los minicomprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 31 (los resultados se expresan como % de enoxaparina liberada a partir de los minicomprimidos en función del tiempo);

*Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

5 Los minicomprimidos de enoxaparina obtenidos en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis fue de 20000 UI de enoxaparina. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de enoxaparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

10 La administración oral de 20000 UI de enoxaparina en minicomprimidos a perros Beagle daba lugar a una buena absorción del compuesto con niveles por encima de 0,45 UI/ml (figura 32).

**Ejemplo 19: Comprimidos de bemiparina**

Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	400
Bemiparina	200

15 Esta proporción de Eudragit® RSPO da lugar a un intervalo de 0,174 a 0,262 (aproximadamente una media de 0,22)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato.

20 El contenido en humedad de la presente composición de comprimido se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 4,03, expresado como (p/p, %).

*Perfil de liberación in vitro:*

25 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paletas USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

30 El perfil de liberación de bemiparina a partir de comprimidos en este ejemplo se muestra en la figura 33. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado de los comprimidos en función del tiempo.

*Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

35 Los comprimidos de bemiparina en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a una buena absorción del compuesto con niveles por encima de 0,2 UI/ml (figura 34).

**Ejemplo 20: Comprimidos de bemiparina**

40 Los comprimidos de bemiparina se obtuvieron mediante compresión directa de los componentes en polvo usando un sacabocados de 10 mm de diámetro en una prensa de comprimidos de sacabocados único. La composición de la mezcla en polvo, por comprimido, era la siguiente:

Componente	Cantidad (mg)
Eudragit® RS PO	160

Eudragit® E	410
Bemiparina	200
Dispersante	24
Estearato Mg	4

5 Esta proporción de Eudragit® RSPO y Eudragit® E da lugar a un intervalo de 1,536 a 1,899 (aproximadamente una media de 1,72)  $\mu$ moles de unidades de amonio por miligramo de formulación. La unidad de amonio se consideró como el monómero de metacrilato de amonio presente en Eudragit® RSPO y no como su sal clorhidrato, y como los grupos dimetilaminoetilo para Eudragit® E.

El contenido en humedad de la presente composición de comprimido se determinó por pérdida de peso secando a 100 °C durante 15 min. El valor medio de humedad era de 5,13, expresado como (p/p, %).

*Perfil de liberación in vitro:*

10 La liberación de bemiparina a partir de los comprimidos se evaluó en un aparato de paleta USP (Vankel VK 300, Vankel Industries, Edison, NJ, EE. UU.) a 37 °C, 100 rpm, n=2. El medio de liberación eran 750 ml de HCl 0,1 N durante 2 h seguido de la adición de 225 ml de fosfato trisódico 0,2M para ajustar a pH = 6,8. Se recogieron 3 ml en puntos temporales previamente programados (1 h, 2 h, 2h 5min, 2 h 30 min, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h) y la cantidad de bemiparina presente se determinó mediante nefelometría. Después de 24 h los comprimidos se desintegraron en el  
15 medio de liberación con un homogeneizador y el contenido completo se mantuvo durante 10 min para determinar la liberación máxima de bemiparina a partir de la muestra. Para representar este valor con claridad en la gráfica se dibujó el punto de datos a las 27 h.

El perfil de liberación de bemiparina a partir de los comprimidos obtenidos en este ejemplo se muestra en la figura 35. Los resultados se expresan como % de bemiparina liberado a partir de los comprimidos en función del tiempo.

*Niveles en plasma in vivo tras la administración oral a perros Beagle*

20 Los comprimidos de bemiparina en este ejemplo se administraron por vía oral a perros Beagle con un peso medio de 15 kg. La dosis era de 20000 UI de bemiparina que se correspondía con un único comprimido por animal. El número total de perros fue de 3. Tras la administración oral, las muestras de plasma se obtuvieron a las 0, 4, 8, 12, 18 y 24 horas y la absorción de bemiparina se evaluó midiendo la actividad anti factor Xa en plasma en las muestras.

25 La administración oral de 20000 UI de bemiparina en comprimidos a perros Beagle daba lugar a una absorción del compuesto moderada con niveles entre 0,1 y 0,2 UI/ml (figura 36).

**REIVINDICACIONES**

- 5 1.- Una forma farmacéutica que comprende un glicosaminoglicano seleccionado a partir del grupo compuesto por: bemiparina, fondaparinux y enoxaparina y sus sales farmacéuticamente aceptables; y un compuesto que presenta grupos amonio cuaternarios independientes o dependientes de pH, que es una estructura de polímeros y copolímeros derivados de ésteres de los ácidos acrílico y metacrílico, en la que:
- la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,01 y 2.0  $\mu$ moles de amonio/mg de forma farmacéutica,
  - la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 15 % y el 50 % p/p, y
  - la forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad (p/p) inferior al 10%, en la que las cargas del glicosaminoglicano están neutralizadas solo parcialmente con cationes seleccionados que son los grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH.
- 10 2.- La forma farmacéutica según la reivindicación 1 en la que el compuesto que presenta grupos amonio cuaternario dependientes o independientes de pH es un compuesto no hidrosoluble.
- 15 3.- La forma farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en la que la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,05 y 1,7  $\mu$ moles de amonio/mg de forma farmacéutica.
- 4.- La forma farmacéutica según la reivindicación 3, en la que la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre 0,21 y 0,4  $\mu$ moles de amonio/mg de forma farmacéutica.
- 5.- La forma farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la que la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 25 % y el 50 % p/p.
- 20 6.- La forma farmacéutica según la reivindicación 5, en la que la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica está entre el 33 % y el 50 % p/p.
- 7.- La forma farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la forma farmacéutica presenta un porcentaje de humedad (p/p) inferior al 8 %.
- 8.- La forma farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en la que,
- 25 - la proporción de grupos amonio en la forma farmacéutica está entre aproximadamente 0,16 y 1,7  $\mu$ moles de amonio/mg de forma farmacéutica, y
- la proporción de glicosaminoglicano en la forma farmacéutica es del 20 % al 50 % p/p.
- 9.- La forma farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 que además comprende excipientes farmacéuticamente aceptables, en la que el porcentaje (p/p) de excipientes o vehículos en la formulación es igual o inferior al 10 %.
- 30 10.-Una formulación farmacéutica que comprende la forma farmacéutica según se define en la reivindicación 9, en la que el compuesto que presenta grupos amonio cuaternario forma parte de la superficie de dicha formulación.
- 11.-La formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, en la que dicha formulación es una pella, un gránulo, un comprimido o un minicomprimido.
- 35 12.-La formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en la que dicha formulación es para administración por vía oral.
- 13.-La formulación farmacéutica según la reivindicación 12, en la que dicha formulación es una formulación de liberación no prolongada.
- 40 14.-Una forma farmacéutica según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una formulación farmacéutica según se define en cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, para su uso como medicamento.

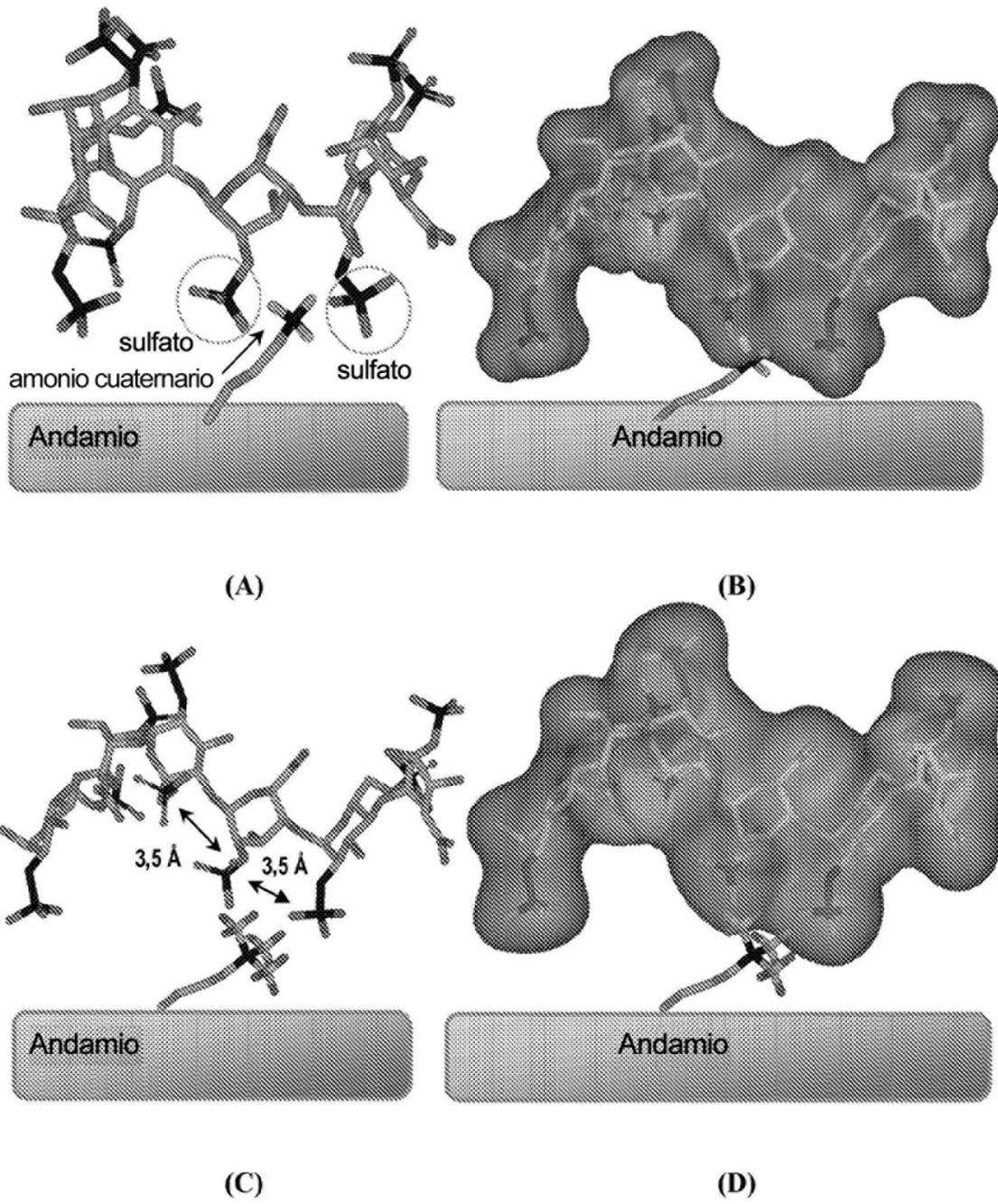


FIGURA 1

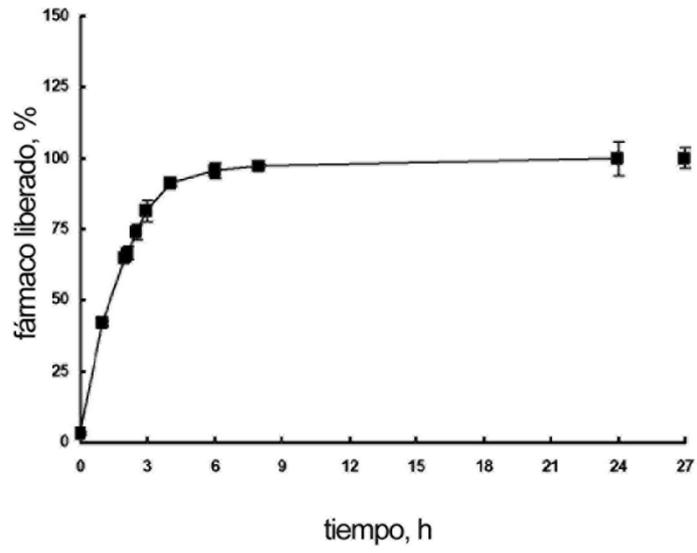


FIGURA 2

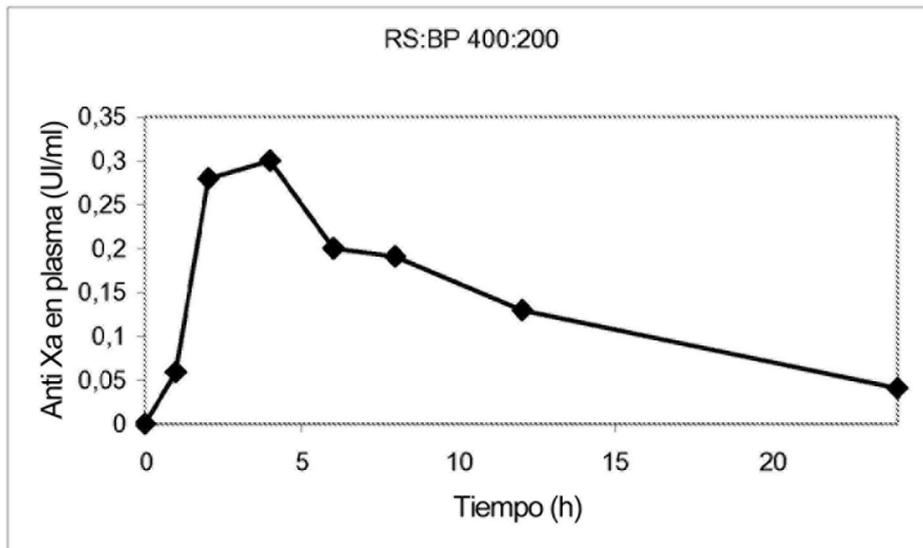


FIGURA 3

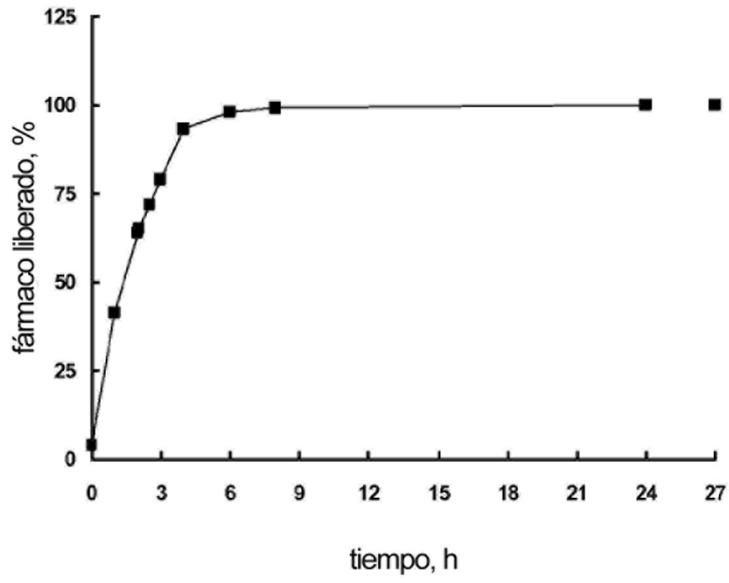


FIGURA 4

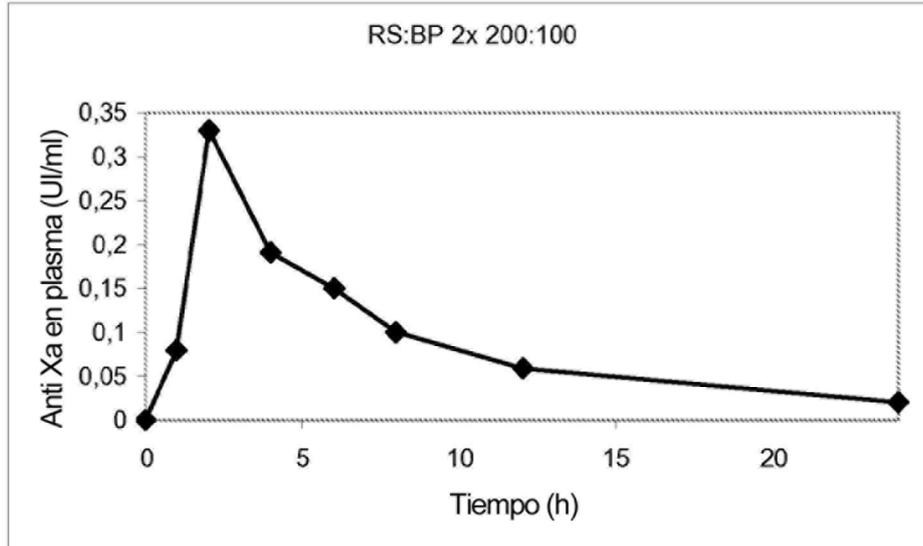


FIGURA 5

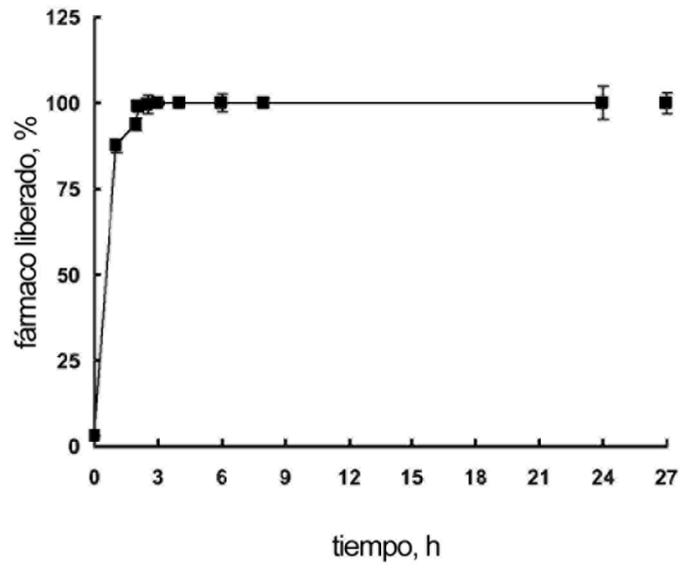


FIGURA 6

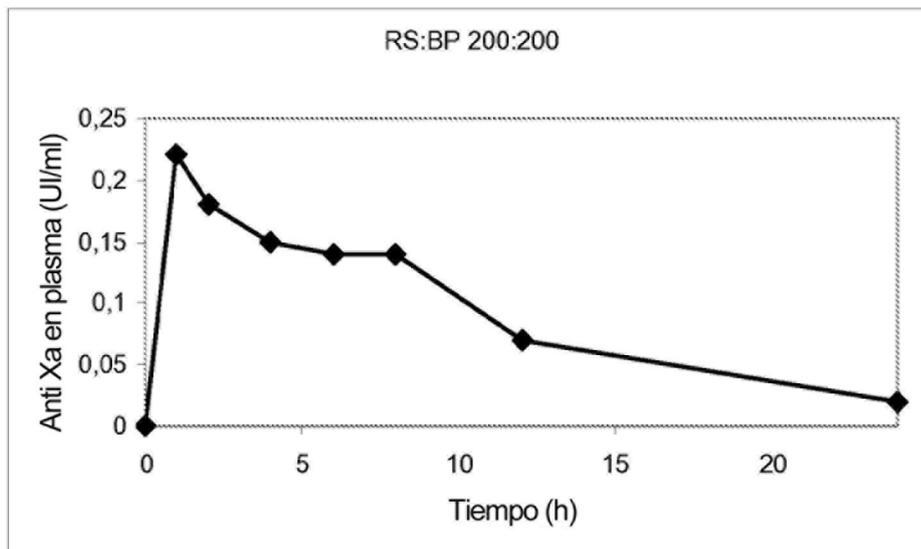


FIGURA 7

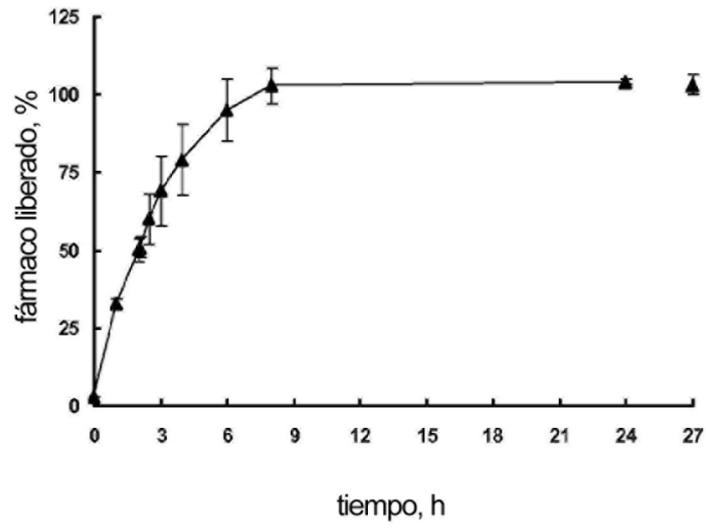


FIGURA 8

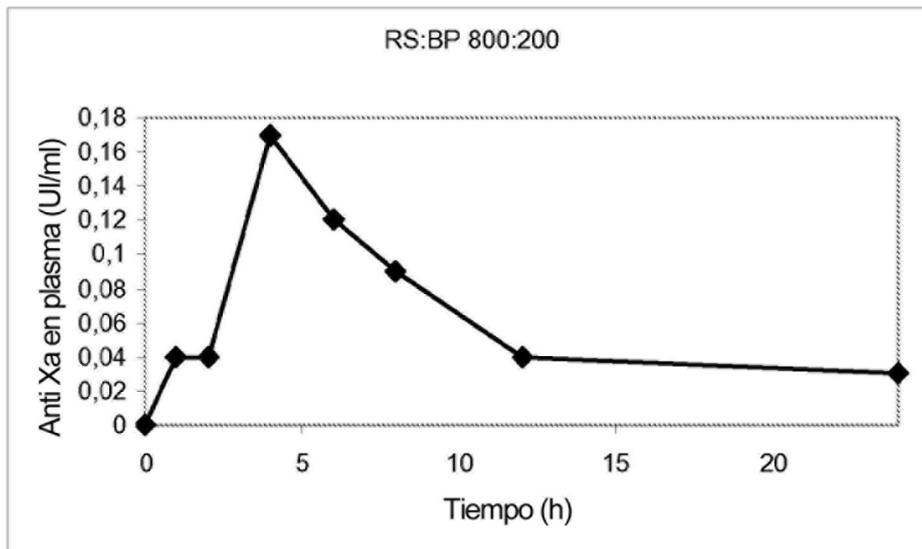


FIGURA 9

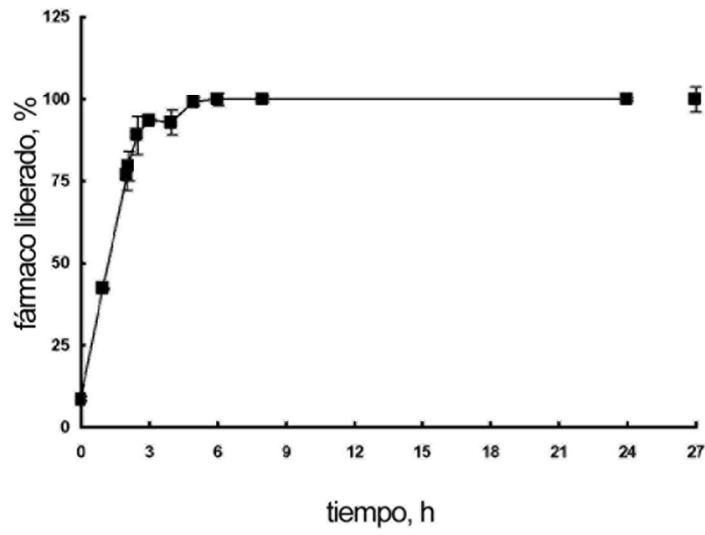


FIGURA 10

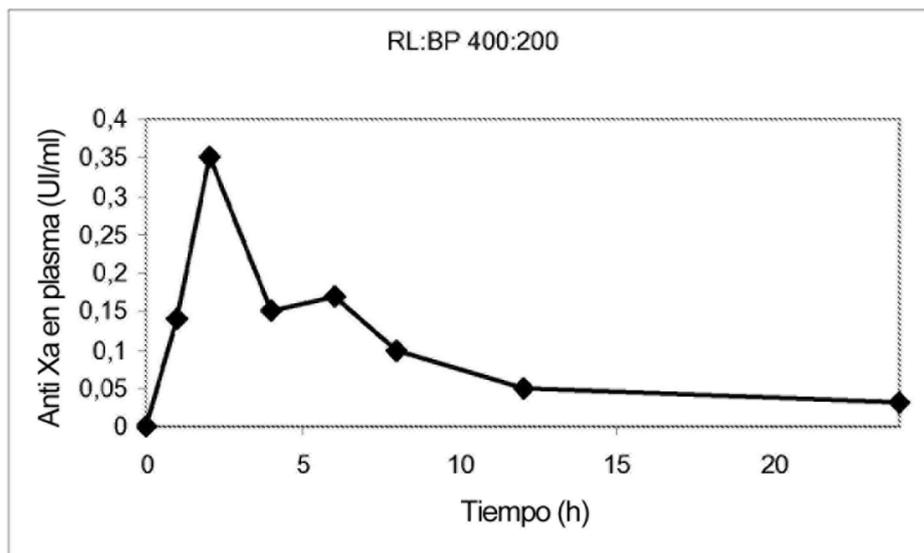


FIGURA 11

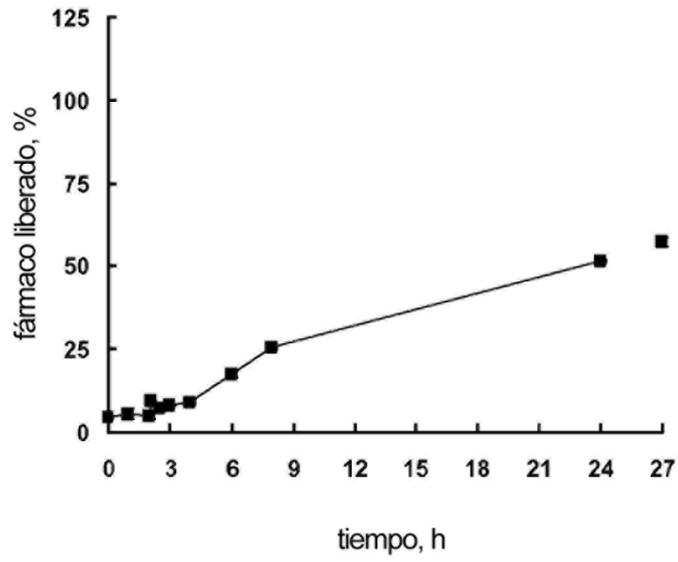


FIGURA 12

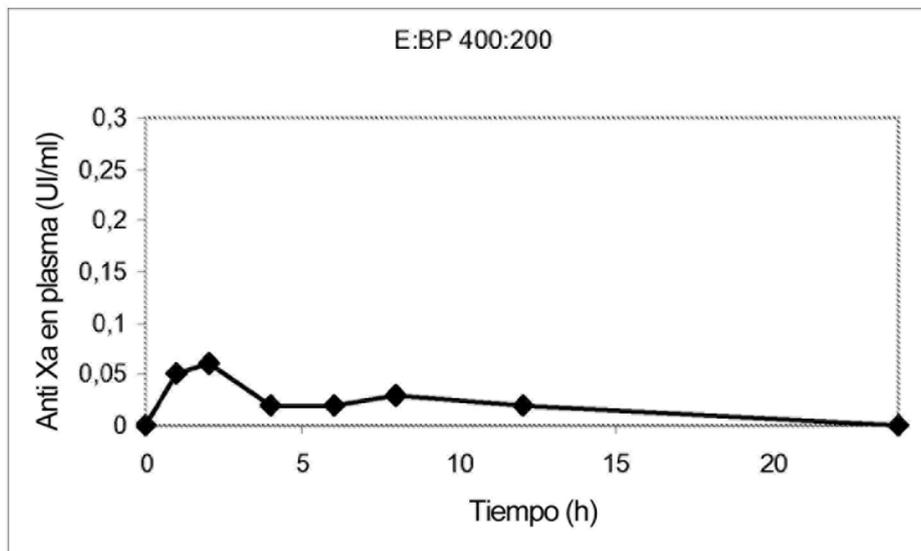


FIGURA 13

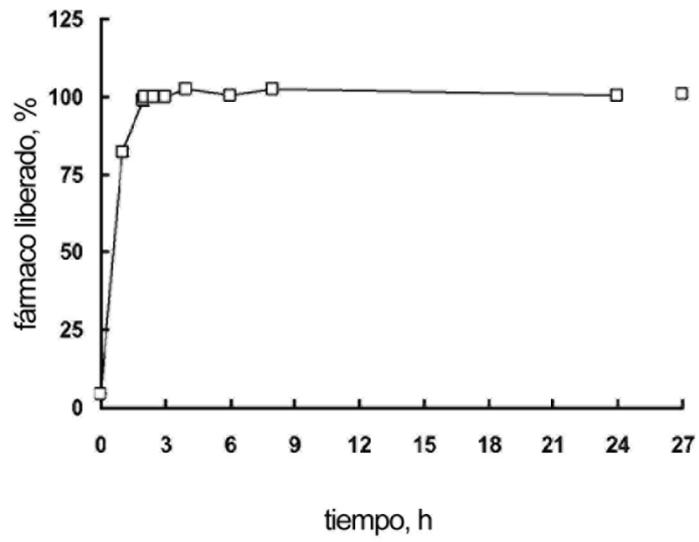


FIGURA 14

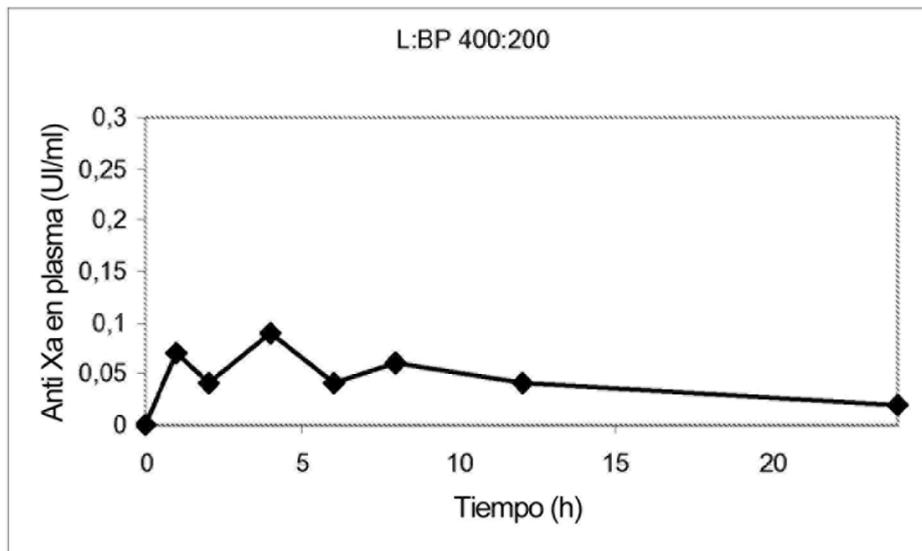


FIGURA 15

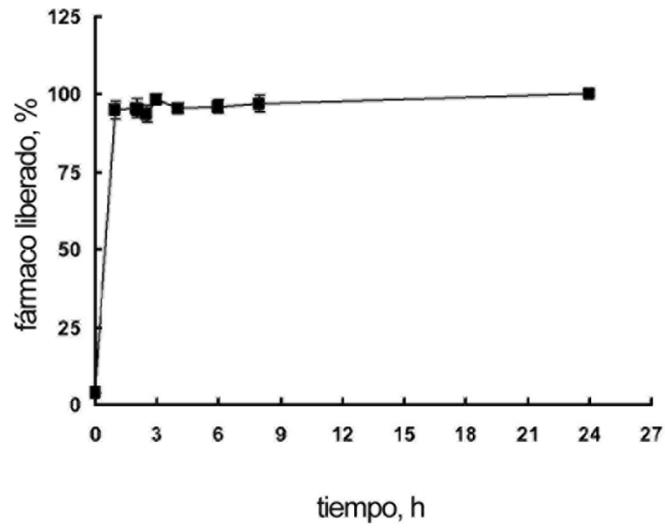


FIGURA 16

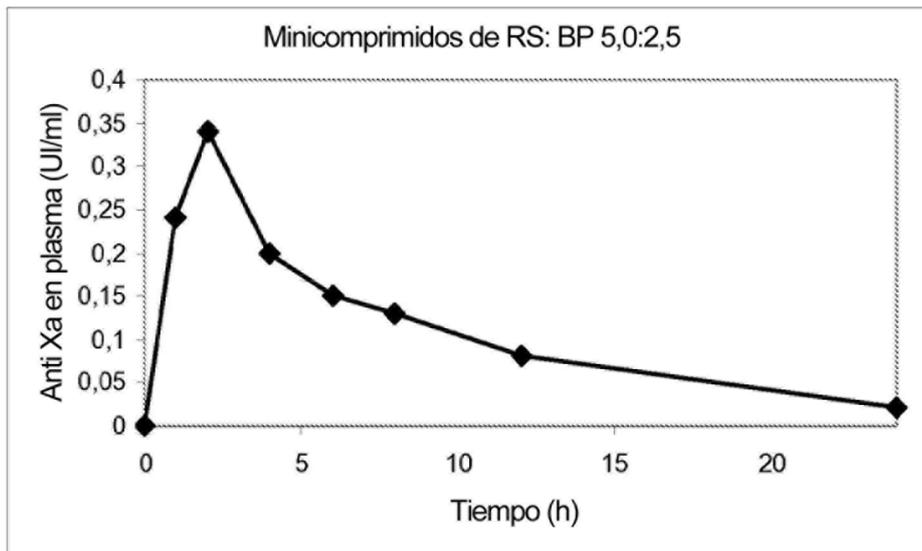


FIGURA 17

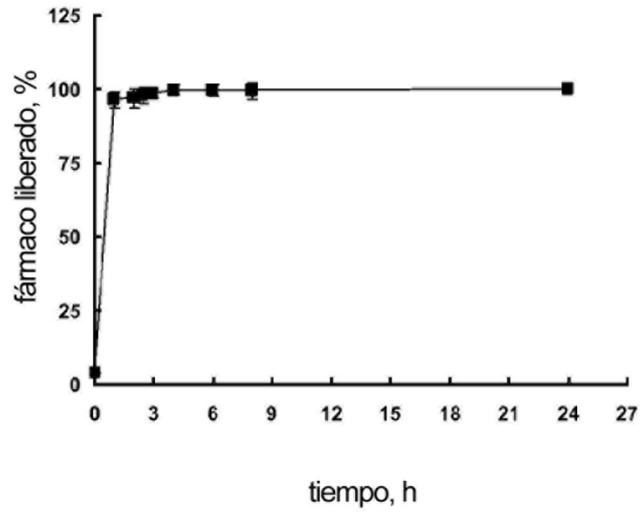


FIGURA 18

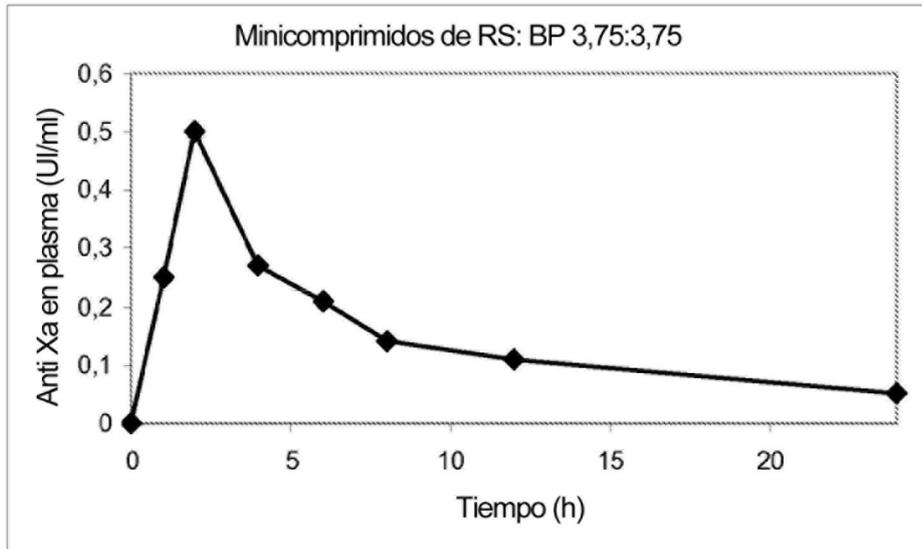


FIGURA 19

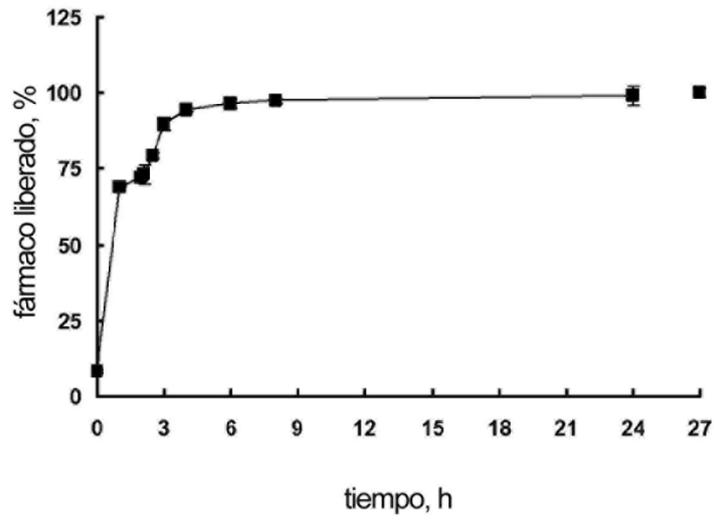


FIGURA 20

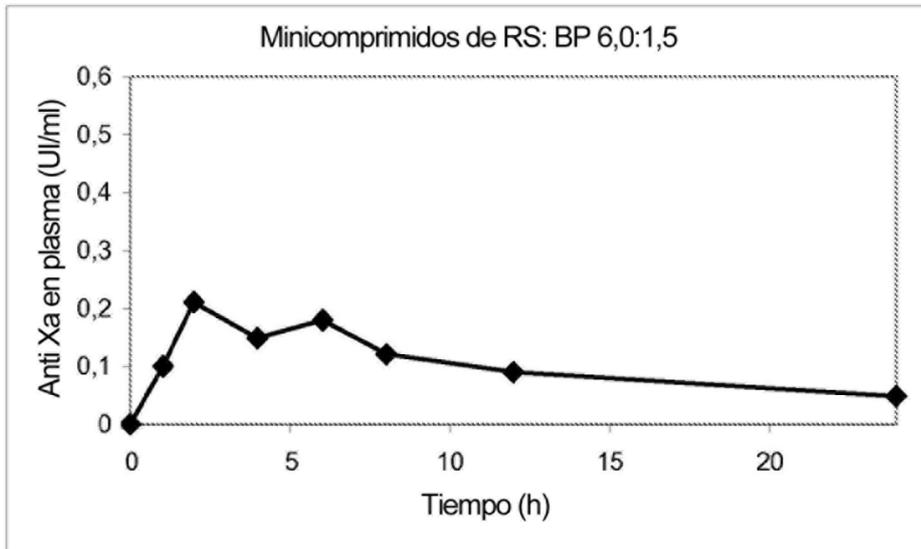


FIGURA 21

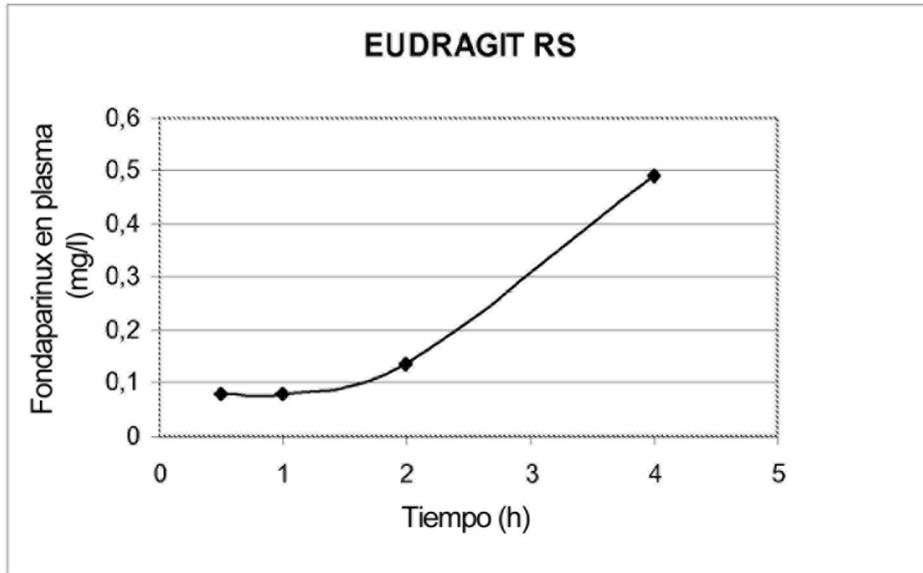


FIGURA 22

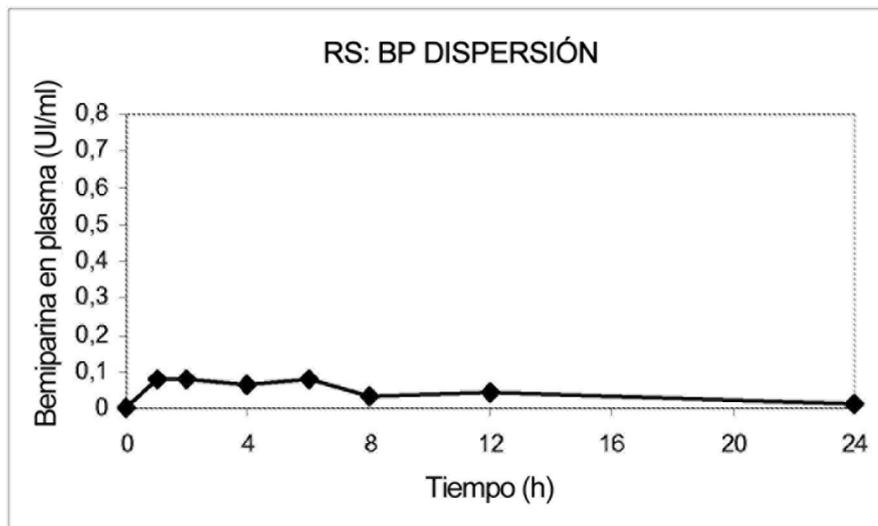


FIGURA 23

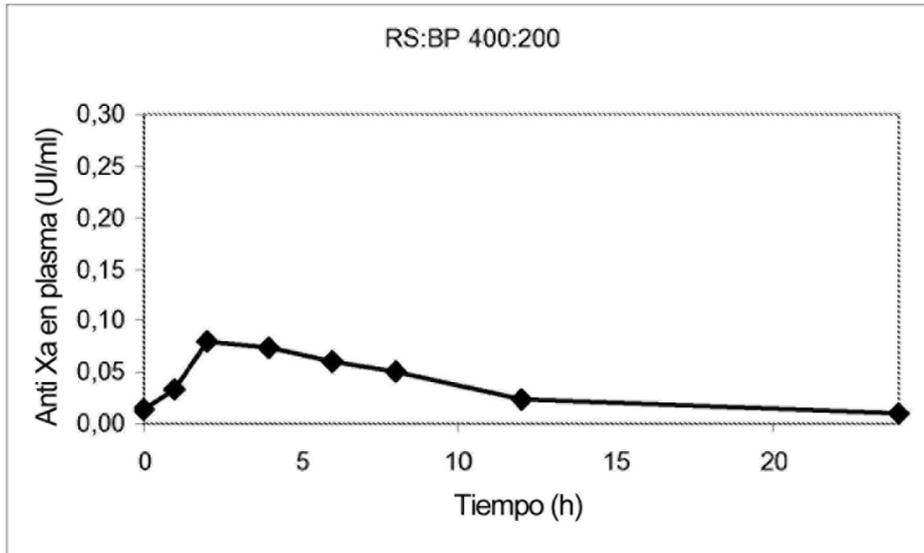


FIGURA 24

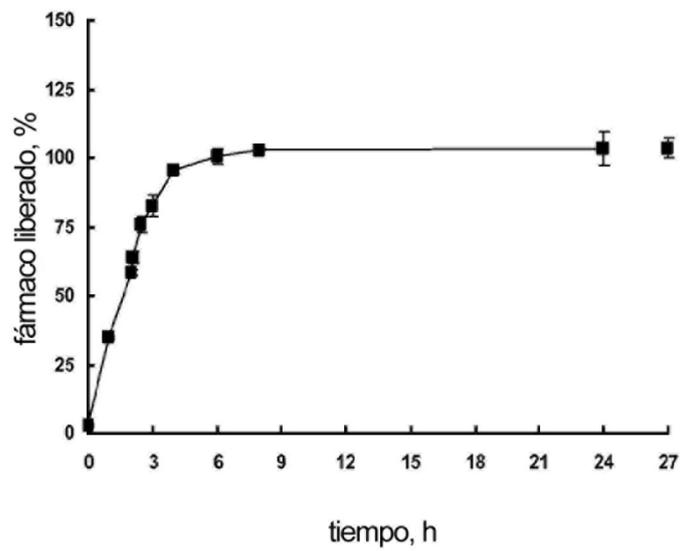


FIGURA 25

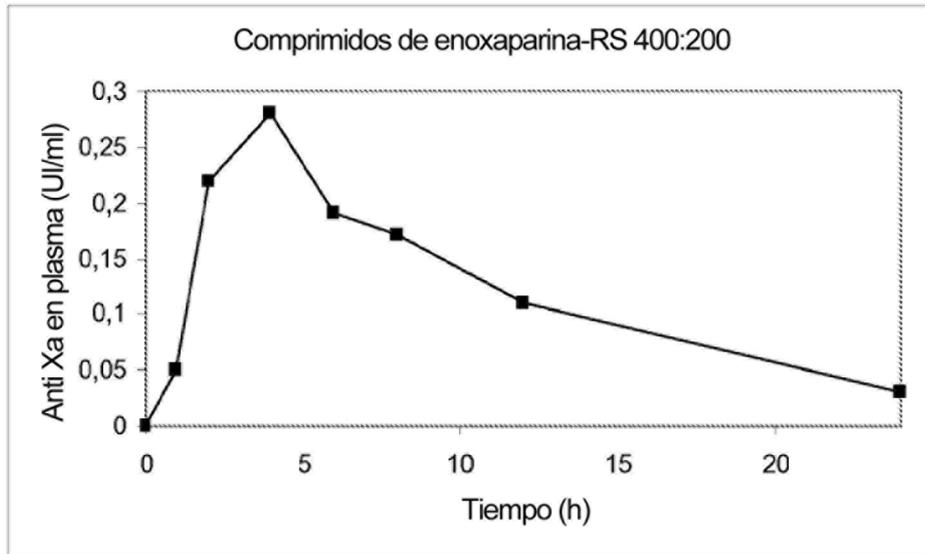


FIGURA 26

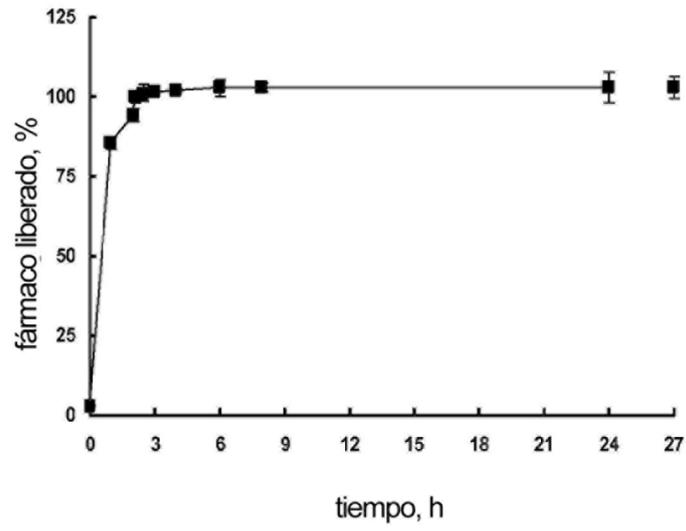


FIGURA 27

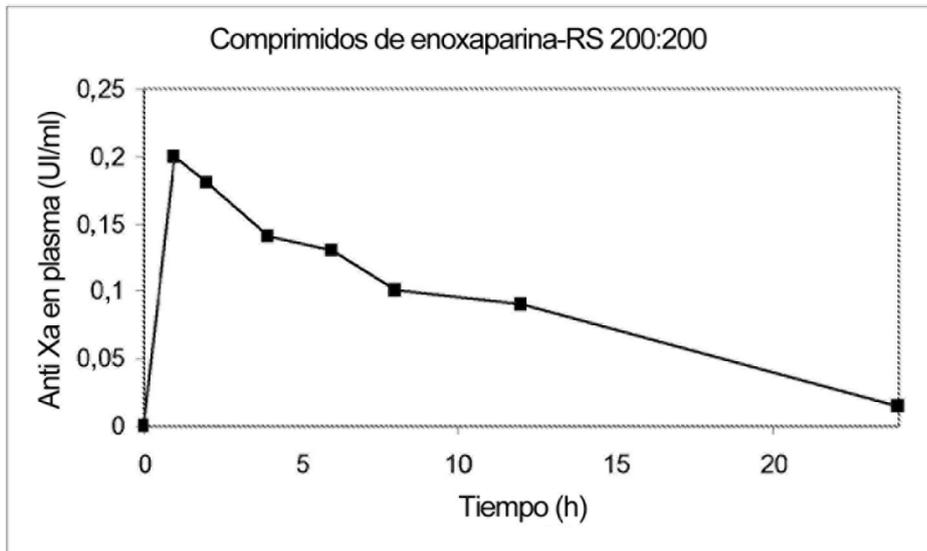


FIGURA 28

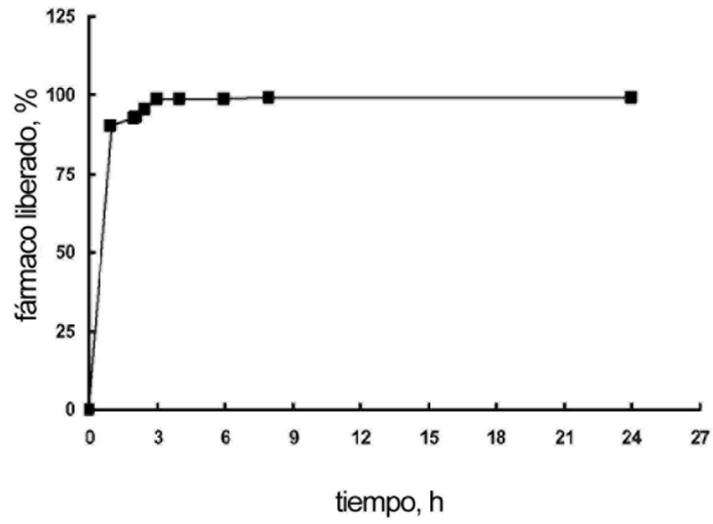


FIGURA 29

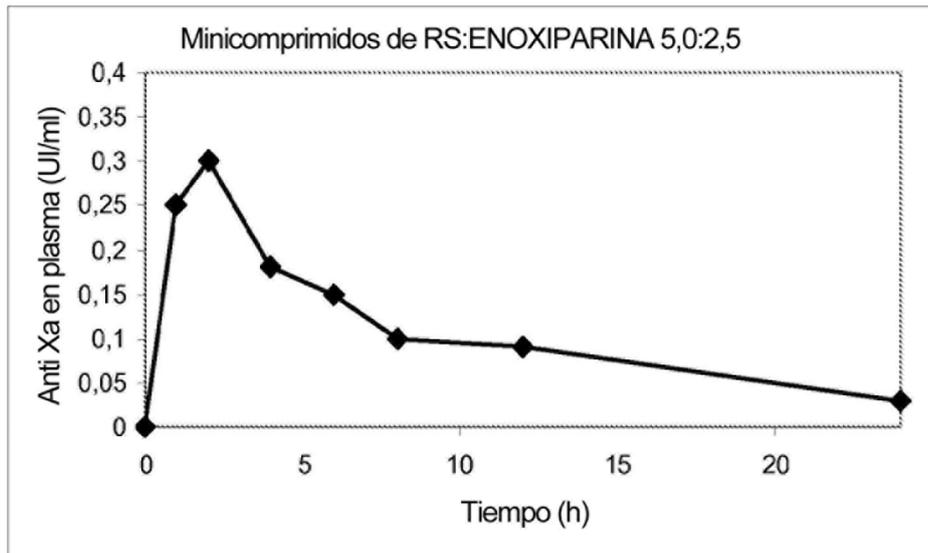


FIGURA 30

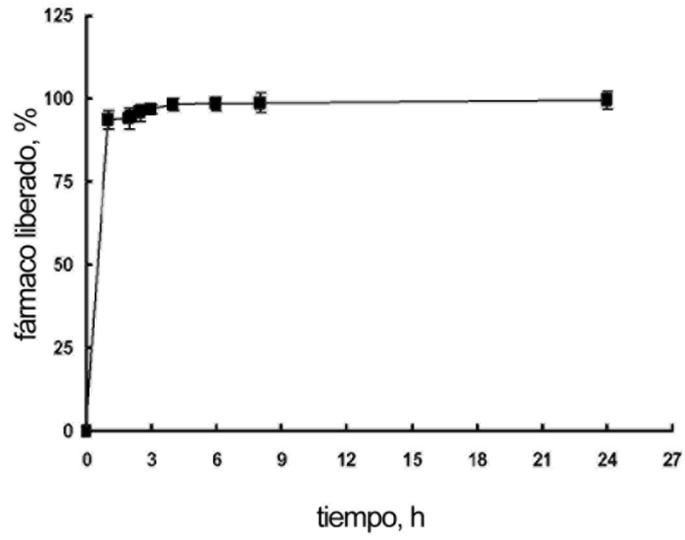


FIGURA 31

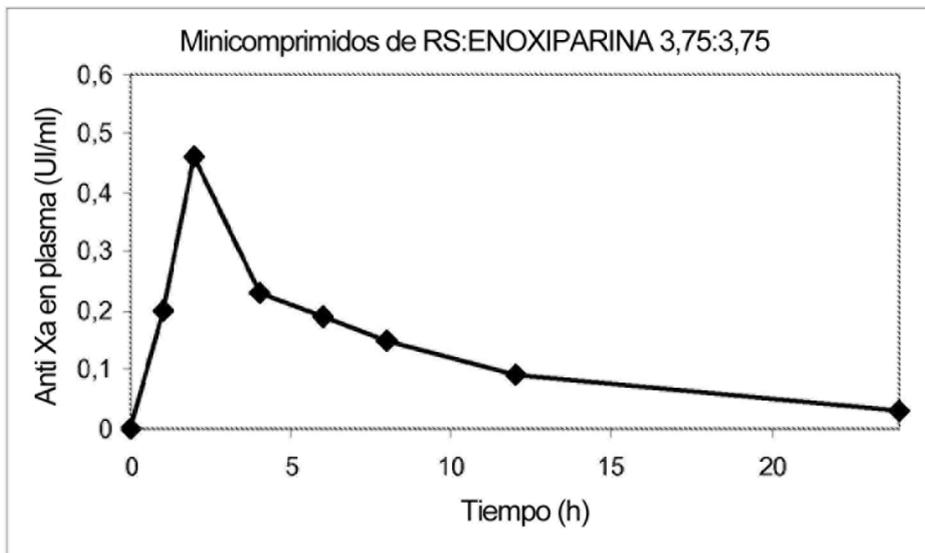


FIGURA 32

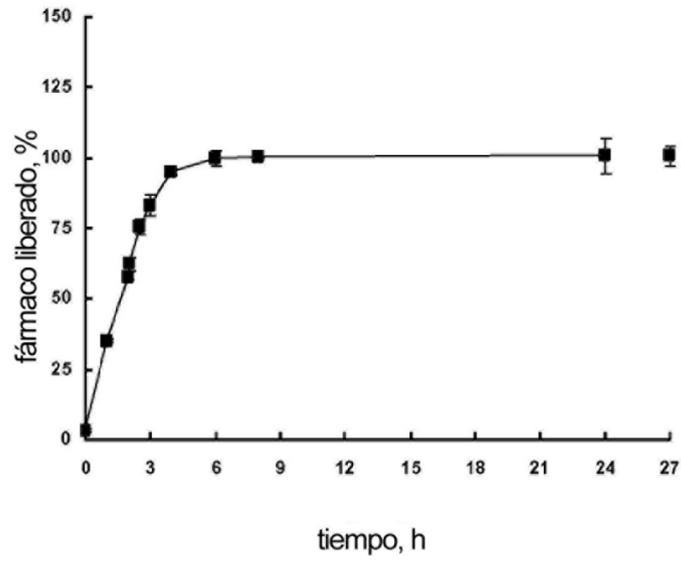


FIGURA 33

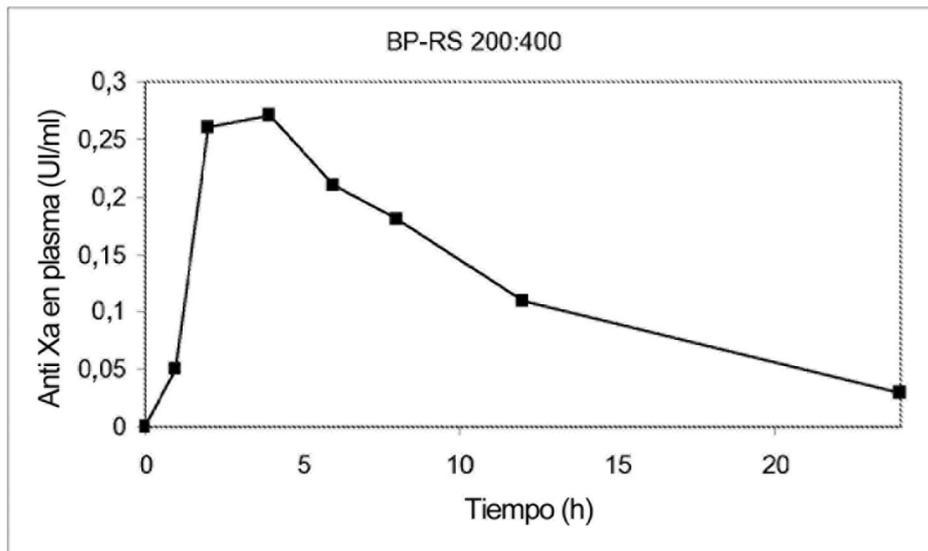


FIGURA 34

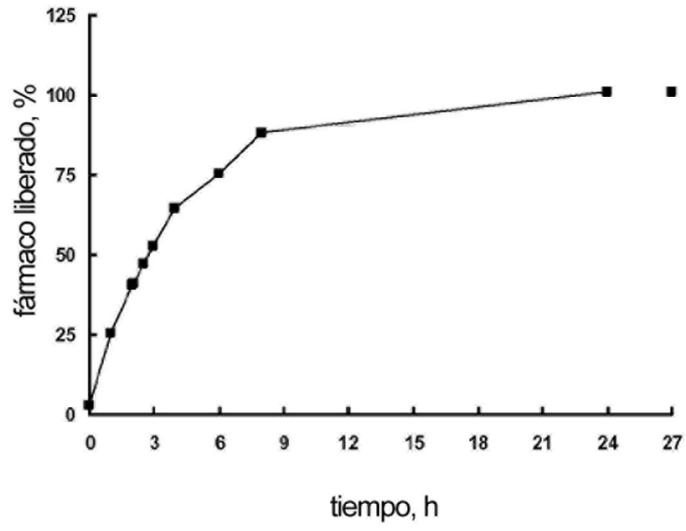


FIGURA 35

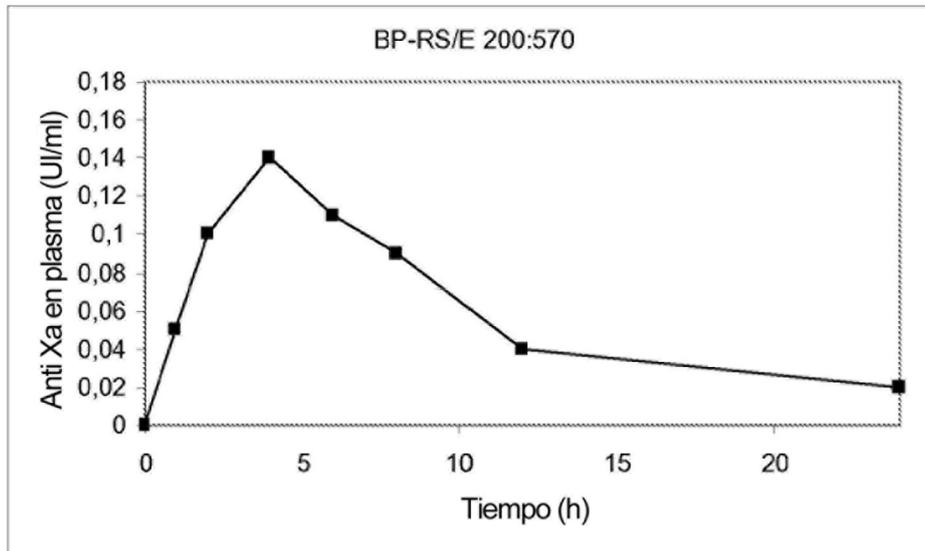


FIGURA 36