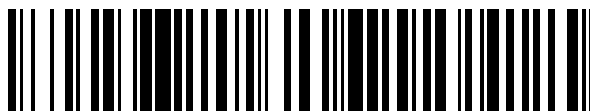


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 664 596**

51 Int. Cl.:

A61K 47/69 (2007.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 31/568 (2006.01)
A61K 31/57 (2006.01)
A61P 15/08 (2006.01)
A61P 5/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.11.2013 PCT/EP2013/003538**
87 Fecha y número de publicación internacional: **05.06.2014 WO14082724**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.11.2013 E 13811121 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2018 EP 2925369**

54 Título: **Soluciones orales acuosas de hormonas esteroideas e hidroxipropil-β-ciclodextrina con biodisponibilidad optimizada**

30 Prioridad:

28.11.2012 IT MI20122027

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

20.04.2018

73 Titular/es:

**ALTERGON S.A. (100.0%)
Via Dogana Vecchia 2
6900 Lugano, CH**

72 Inventor/es:

**BERNAREGGI, ALBERTO;
PUPPINI, NADIA y
NENCIONI, ALESSANDRO**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 664 596 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

Soluciones orales acuosas de hormonas esteroideas e hidroxipropil- β -ciclodextrina con biodisponibilidad optimizada

5

Campo técnico

La presente invención se refiere al campo de las formulaciones orales de hormonas esteroideas. Se describen soluciones acuosas, que han sido específicamente estudiadas para la administración por vía oral de progesterona o testosterona, que comprenden dichas hormonas complejadas con derivados de dextrina específicos con un alto grado de pureza.

10

Estado de la técnica

La progesterona es una hormona esteroidea producida por los ovarios (en el cuerpo lúteo después de la ovulación), por las glándulas suprarrenales y por la placenta durante el embarazo. En las mujeres, los niveles de progesterona son relativamente bajos en la primera mitad del ciclo menstrual (fase de pre-ovulación), aumentando después de la ovulación y se mantienen altos gracias al cuerpo lúteo durante la segunda fase del ciclo llamada fase lútea o de progesterona.

15

20

Altos niveles de progesterona hemática permiten la creación de condiciones adecuadas para la inseminación del óvulo y su anidamiento dentro del endometrio, señalando tales acontecimientos el comienzo del embarazo. Durante la gestación, parece que la progesterona disminuye la respuesta inmunitaria materna que permite que el cuerpo acepte el embarazo. La disminución normal de los niveles de progesterona después de la administración desencadena la producción de leche. Si no se produce un embarazo, los niveles de progesterona disminuyen conduciendo a la menstruación. Si la ovulación no se produce y no se desarrolla el cuerpo lúteo, los niveles de progesterona pueden ser bajos y conducir a metrorragia funcional. Las mujeres en menopausia tienen niveles de progesterona que son relativamente bajos, mientras que los hombres adultos tienen niveles de una hormona tal que son similares a los de las mujeres durante la fase folicular del ciclo menstrual.

25

30

Referente a la reproducción, durante la inseminación, la progesterona influye en la migración del esperma a través de los conductos genitales femeninos.

A un nivel terapéutico, la progesterona se usa para tratar diferentes patologías tales como, por ejemplo, hiperplasia endometrial, síndrome premenstrual, tratamiento de los síntomas de la menopausia y, en el caso de infertilidad femenina, puede administrarse en los protocolos de inseminación artificial cuando sea necesario para que sea un soporte de la fase lútea.

35

La testosterona es una hormona esteroidea androgénica que se produce principalmente por las células de Leydig del testículo y, en una menor porción, por la corteza suprarrenal. También está presente en las mujeres, como un producto intermedio de la síntesis del estrógeno. En los hombres tiene la función de desarrollar los órganos sexuales (diferenciación de los testículos y de todo el aparato genital) y las características sexuales secundarias, como la barba, la distribución del vello corporal, el tono de voz y la musculatura. La testosterona, durante la pubertad, también actúa en el desarrollo del esqueleto, limitando el estiramiento de los huesos largos y, de tal forma, previniendo un crecimiento excesivo de las extremidades.

40

45

En el hombre adulto, los niveles de testosterona tienen una función fundamental en la fertilidad, vitalidad y salud (especialmente prevista como protección de enfermedades metabólicas como hipertensión y diabetes mellitus). La testosterona contribuye a asegurar la fertilidad, ya que actúa en la maduración de los espermatozoides en los testículos. Influye en tanto la calidad como la cantidad de esperma producido, operando también en los conductos seminales y en la próstata. La testosterona también regula el deseo, erección y satisfacción sexual, sincronizando el deseo sexual con el acto sexual real, regulando el comienzo y el fin de la erección del pene. Un déficit de libido (deseo sexual) está frecuentemente asociado a una disfunción de testosterona. Esto también ha sido resaltado para el deseo sexual tras su disminución en el periodo posmenopáusico. La testosterona se usa farmacológicamente en tanto los hombres como las mujeres, si hay alteraciones en sus niveles.

50

55

En el campo terapéutico, la testosterona se usa para tratar diferentes patologías como, por ejemplo, tratar trastorno de deseo sexual hipoactivo y para tratar hipogonadismo masculino, tanto primario como secundario.

Ambas hormonas pertenecen a la clase II de la clasificación BCS que tienen baja solubilidad y alta permeabilidad. Su reducida biodisponibilidad oral se produce por los siguientes factores simultáneos: una solubilidad acuosa muy baja que condiciona la velocidad y la cantidad de absorción a través de la barrera intestinal, un significativo metabolismo presistémico en el tubo gastrointestinal, el efecto de primer paso hepático. La necesidad de alcanzar niveles en plasma adecuados hace preferible, para ambas hormonas, que se administren de una forma que excluye completamente o parcialmente el tubo gastrointestinal, es decir, parenteral, vaginal, rectal, sublingual y bucal. Es necesario subrayar, sin embargo, que la administración por vía oral es la opción que es preferida por el paciente con

60

65

respecto a las otras formas mencionadas, especialmente si el tratamiento es a largo plazo. La mejora de la biodisponibilidad oral de las hormonas esteroideas es, por tanto, actualmente el objeto de investigación de formulaciones avanzadas.

5 En las formulaciones orales que contienen progesterona a la venta, el problema de baja solubilidad acuosa de la hormona, junto con el metabolismo presistémico gastrointestinal y hepático, conduce a niveles en plasma reducidos con respecto a los otros métodos de administración como, por ejemplo, el método bucal/sublingual; por ejemplo, Martindale (trigésima segunda edición - 1999) "The complete drug reference", página 1460, indica que la progesterona tiene una corta semivida de eliminación y experimenta un amplio metabolismo de primer paso hepático
10 cuando se administra por la boca; cuya biodisponibilidad oral es muy baja aunque puede aumentarse algo por la administración en un vehículo aceitoso y por micronización; véase también Curr. Opin. Investig. Drugs. 2003 Oct;4(10):1213-9, que informa que la administración oral de testosterona no es posible debido al rápido metabolismo de primer paso y la corta semivida. El problema de la poca solubilidad en algunos casos se abordó dispersando el polvo micronizado de la hormona en la fase aceitosa (ejemplo: Prometrium). Sin embargo, estudios farmacocinéticos clínicos resaltan que la administración de una formulación tal, como debe describirse en mayor detalle en el resto de la descripción, garantiza niveles en plasma de progesterona que son sustancialmente más bajos que los obtenidos con la formulación objeto de la presente invención.

20 En el caso de la testosterona, por otra parte, está disponible a la venta una formulación oral en cápsulas blandas de undecanoato de testosterona. El éster, absorbido y transportado en la circulación sistémica a través del sistema linfático intestinal, garantiza una exposición sistémica modesta, mientras que evita el metabolismo de primer paso hepático. Esta formulación conduce además a la modificación química de la hormona y hace que circule la molécula esterificada, que requiere que sea hidrolizada de manera que sea capaz de restaurar la forma farmacológicamente activa de la hormona.

25 La complejación con ciclodextrinas se usa generalmente para mejorar la solubilidad de sustancias activas que no son muy solubles. Las ciclodextrinas (CD) se producen a partir de almidón y comprenden una familia de oligosacáridos cíclicos formados por 6, 7 u 8 monómeros de D-(+)glucopiranosos unidos entre sí con un enlace glucosídico α ,1-4 y se cierran en un anillo. Tridimensionalmente, las ciclodextrinas tienen una estructura en forma de cono truncado hueco y se basan en el número de monómeros: 6, 7 u 8 se llaman alfa (α CD), beta (β CD) o gamma CD (γ CD). Las tres clases de CD se diferencian entre sí por el tamaño del anillo y, por tanto, de la cavidad. Los grupos hidroxilo están dispuestos en los extremos externos, mientras que en la cavidad solo hay átomos de hidrógeno y puentes de oxígeno. Esto garantiza que la cavidad central tenga una naturaleza hidrófoba, mientras que la parte externa caracterizada por la presencia de grupos hidroxilo tiene alta hidrofiliia. Su estructura particular hace posible recibir moléculas hidrófobas dentro de la cavidad que las hace solubles en agua. La solubilidad de las CD ha sido además mejorada mediante modificaciones químicas en la posición 2, 3 y 6 de los grupos hidroxilo que dan alquil éteres o introduciendo nuevos grupos funcionales. Entre las ciclodextrinas químicamente modificadas está la hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) que se usa ampliamente en el campo farmacéutico.

40 La complejación con ciclodextrina también se ha usado para mejorar la solubilidad de las hormonas esteroideas. La patente US2006/0058262, al mismo solicitante, y Zoppetti et al, J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem., 2007, 57, p.283-288, proponen formulaciones inyectables de progesterona, a partir de la consideración de que no pueden lograrse niveles en plasma de progesterona adecuados por vía oral; las formulaciones inyectables altamente estables propuestas en estas referencias comprenden un complejo de progesterona (Prg) con hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) que contiene una cantidad de β -ciclodextrina sin sustituir inferior al 0,1 % p/p; la administración parenteral hace posible obtener niveles en plasma adecuados en un corto tiempo evitando el efecto de primer paso hepático. El artículo de revisión Szente et al., Advanced Drug Delivery Reviews, 36, 199, p. 17-28, menciona los retos de purificar HP β CD y establece que la cantidad de β CD no sustituida en HP β CD debe ser inferior al 0,1 %; se refiere además a dos productos de HP β CD comerciales (Encapsin® y Moleculsol®), también descritos en internet.

50 Las patentes 4.727.064 y US 4.596.795 a Pitha et al., la solicitud de patente US2010/0240631 A1 al mismo solicitante, la solicitud de patente US 2006/0008420, reivindican composiciones que comprenden complejos de inclusión entre hormonas esteroideas con ciclodextrina, mediante administración bucal, sublingual o nasal: estos métodos de administración, caracterizados por una rápida absorción en la circulación y sin el inconveniente del primer paso hepático, conducen a alcanzar concentraciones plasmáticas de hormona adecuadas: por ejemplo, basándose en el documento US 4.596.795, se estima que la ($C_{m\acute{a}x}$) para una dosis sublingual de 100 mg es de aproximadamente 50 ng/ml; el documento US 4.596.795 informa que las combinaciones de las mismas hormonas con hidroxipropil- β -ciclodextrina administradas por vía oral no son activas ya que este método de administración expone el fármaco a inactivación hepática rápida; también indica que la absorción eficaz de la cavidad bucal depende de una transferencia libre de barrera de la solución al tejido oral

60 La publicación Fini et al., Pharmaceutical Research, 25(9), 2008, p. 2030-2040, proporciona caracterización de ATR Raman y fractal de partículas sólidas de HP β CD/progesterona; la publicación Pitha et al., International Journal of Pharmaceutics, 80, 1992, p. 243-251, desvela el efecto del etanol sobre la formación de complejos de HP β CD/testosterona; en ambas de estas referencias se usó una relación 2/1 de HP β CD/hormona para obtener la solubilización del fármaco esteroideo.

Se sabe además que la formación de complejos con ciclodextrina, a pesar de mejorar la solubilidad de los fármacos que no son muy solubles, no garantiza en sí una alta absorción en la circulación; en realidad, a pesar de su solubilidad, estos complejos no son sustancialmente absorbidos por la mucosa gastrointestinal: por ejemplo la hidroxipropil- β -ciclodextrina administrada por vía oral solo es absorbida aproximadamente el 5 % (Gould et al., Food Chem. Toxicol. 43(2005) 1451-1459). La publicación de Habon et al., Pharmazie 39, (1984) H.12, pag. 830-834), desvela que la absorción transmucosa del fármaco complejoado con ciclodextrina requiere una etapa de descomplejación, a través de la que el fármaco está disponible para absorción; en particular, cuanto mayor sea la estabilidad del complejo con ciclodextrina (alta constante de formación del complejo), más baja será la velocidad de descomplejación y, por tanto, la velocidad a la que el fármaco está disponible para absorción. La cinética de complejación entre HP β CD y hormonas esteroideas se estudió en la publicación anteriormente citada de Zoppetti et al., 2007: la publicación, en particular, describe el complejo HP β CD:Prg 2:1 con alta constante de formación $K_{2:1}=111473,7 \text{ m}^{-1}$, es decir, muy estable, y el complejo HP β CD:Prg 1:1 con constante de formación más baja $K_{1:1}=3478,0 \text{ m}^{-1}$, por tanto, mucho más fácilmente disociado.

También la cantidad relativa de ciclodextrina con respecto a la hormona actúa de factor que limita la absorción, como se resalta en la publicación por Dahan A. et al. "The Solubility-Permeability Interplay in Using Cyclodextrins as Pharmaceutical Solubilizers: Mechanistic Modeling and Application to Progesterone", J. Pharm. Sci., 99, 6, (2010); la publicación se refiere a la tasa de la permeación intestinal *in vivo* de ratas y la simulación *in vitro* en 2 modelos, PAMPA y Caco-2, del complejo HP β CD y Prg a medida que aumenta la concentración de HP β CD. A partir de un estudio tal resulta que cuando la concentración de HP β CD aumenta hay una disminución en la permeación de progesterona.

En resumen, hasta ahora, los esfuerzos para potenciar la solubilidad de la progesterona/testosterona (en detrimento de la permeación) estuvieron limitados a las vías de administración que implican barreras altamente permeables (como la vía sublingual/bucal), ninguna barrera en absoluto (vía parenteral), y que evitan todas la inactivación de primer paso hepático; mientras que para las vías de administración caracterizadas por cuestiones de absorción más complejas y sometidas al metabolismo de primer paso hepático, en particular la vía oral, no se concibió solución eficiente.

La presente invención responde a la necesidad, hasta la fecha en gran medida sin satisfacer, de nuevas formulaciones de hormonas esteroideas que sean adecuadas para la administración por vía oral, populares por los pacientes, que estén altamente biodisponibles, en particular que tengan alta solubilidad, alta absorción a un nivel gastrointestinal y un reducido metabolismo presistémico de la hormona administrada.

35 Sumario de la invención

El objeto de la invención son composiciones farmacéuticas para su uso en la administración por vía oral de progesterona o testosterona, en las que dichas hormonas están complejadas, en intervalos particulares de relaciones molares, con una hidroxipropil- β -ciclodextrina que tiene un cierto grado de pureza. El solicitante ha encontrado de hecho sorprendentemente que las hormonas esteroideas anteriormente mencionadas, cuando se complejan dentro de las siguientes relaciones molares:

- a) (HP β CD:progesterona): comprendida entre 1,7:1 y 2,4:1, o
- b) (HP β CD:testosterona): comprendida entre 1,7:1 y 3,0:1,

y en las que dicha HP β CD contiene menos del 0,3 % de β -ciclodextrina sin sustituir, crean soluciones acuosas que son particularmente adecuadas para administración por vía oral de dichas hormonas esteroideas, caracterizadas por una excelente absorción en la circulación y una alta concentración hemática de la hormona en la forma activa. En particular, se encontró inesperadamente que los complejos de la invención, aunque son menos propensos a liberar las hormonas en forma libre para permeación (en comparación con los complejos con relación 1:1 de HPBCD:hormona, véase J Incl Phenom Macrocycl Chem. 2007 - 57:283-288), eran activos en promover la absorción transmembranaria de progesterona/testosterona. Además, ejercieron una protección inesperada frente al metabolismo hepático. La sinergia de estos efectos permite un tratamiento altamente eficaz por estas hormonas, administradas por vía oral. Estudios de biodisponibilidad oral realizados por los inventores muestran que las presentes formulaciones orales producen concentraciones plasmáticas de progesterona/testosterona comparables a aquellas obtenidas por la administración por vía oral y son notablemente más altas con respecto a aquellas alcanzadas después de la administración por vía oral de formulaciones de hormona (por ejemplo, formulación de progesterona Prometrium®) o profármacos de hormona (por ejemplo, undecanoato de testosterona Andriol®), que están actualmente a la venta. Además, las presentes formulaciones orales muestran una variabilidad interindividual reducida de las concentraciones plasmáticas observadas después de la administración en seres humanos. Finalmente, debido a su alta estabilidad durante el almacenamiento, las formulaciones de los presentes inventores pueden producirse y proporcionarse al usuario como soluciones listas para uso, son fácilmente administradas y menos caras con respecto a las formas sólidas, debido al hecho de que no se prevé liofilización.

Descripción de las figuras

- 5 Figura 1: Porcentaje de progesterona sin modificar (no metabolizada) con el tiempo después de la incubación en microsomas hepáticos humanos a 37 °C de soluciones con diferentes relaciones molares entre HPβCD y Prg.
- 10 Figura 2: Perfil de permeación de progesterona a través de membranas de silicona artificiales. Se han probado caracterizado diferentes soluciones por diferentes relaciones molares entre HPβCD y Prg a la concentración de progesterona de 32 mg/g.
- 15 Figura 3: Perfil de permeación de progesterona a través de membranas de silicona artificiales. Se han probado caracterizado diferentes soluciones por diferentes relaciones molares entre HPβCD y Prg a la concentración de progesterona de 20 mg/g.
- 20 Figura 4: Porcentaje de testosterona sin modificar (no metabolizada) con el tiempo después de la incubación en microsomas hepáticos humanos a 37 °C de soluciones con diferentes relaciones molares entre HPβCD y Tst.
- 25 Figura 5: Perfil de permeación de testosterona a través de membranas de silicona artificiales. Se han probado caracterizado diferentes soluciones por diferentes relaciones molares entre HPβCD y Tst a la concentración de testosterona de 20 mg/g.
- 30 Figura 6: Perfil de permeación de testosterona a través de membranas de silicona artificiales. Se han probado caracterizado diferentes soluciones por diferentes relaciones molares entre HPβCD y Tst a la concentración de testosterona de 35 mg/g.
- 35 Figura 7: Perfiles farmacocinéticos en plasma comparativos de progesterona en un paciente sano después de administración por vía oral de la solución de hidroxipropil-β-ciclodextrina con Prg en la relación molar 2:1 y de la formulación oral presente a la venta (Prometrium).
- 40 Figura 8: Perfiles farmacocinéticos en plasma comparativos de testosterona en un sujeto sano después de la administración por vía oral de la solución de hidroxipropil-β-ciclodextrina con testosterona en una relación molar 2:1 o 3:1, y de una formulación de éster de testosterona presente a la venta (Andriol).
- 45 Figura 9: Reproducción de los datos de la Figura 2, que muestran el caudal de permeación medio de progesterona a 32 mg/g formulada como soluciones acuosas de HPβCD:progesterona en función de la relación molar de crecimiento.
- 50 Figura 10: Reproducción de los datos de Figura 3, que muestran el caudal de permeación medio de progesterona a 20 mg/g formulada como soluciones acuosas de HPβCD:progesterona en función de la relación molar creciente.

40 Descripción detallada de la invención

Las hormonas esteroideas usadas en la presente invención son progesterona (Prg), testosterona (Tst), y derivados de las mismas.

- 45 La hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) usada contiene un residuo de β-ciclodextrina sin sustituir que es inferior al 0,3 % en peso, con respecto a HPβCD. Métodos de obtención de HPβCD con este bajo nivel de impureza se describen, por ejemplo, en el documento US 2006/0058262. Los complejos de la invención, obtenidos por medio del mismo, conducen a soluciones estables a temperatura ambiente durante al menos 24 meses.

- 50 En los complejos de la invención, la relación molar entre HPβCD y progesterona o testosterona, puede variar del siguiente modo:

- 55 a) (HPβCD:progesterona): comprendida entre 1,7:1 y 2,4:1, preferentemente entre 1,9:1 y 2,1:1, lo más preferentemente aproximadamente 2:1; o
 b) (HPβCD:testosterona): comprendida entre 1,7:1 y 3,0:1, preferentemente entre 1,9:1 y 2,1:1, lo más preferentemente aproximadamente 2:1.

- 60 (i) La invención, por tanto, se refiere a composiciones farmacéuticas para su uso en la administración por vía oral de hormonas esteroideas, que comprenden un complejo de hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) como se describe en los párrafos (a) o (b) anteriormente,

(ii) La invención se refiere además a composiciones farmacéuticas orales que comprenden un complejo de hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) como se describe en los párrafos (a) o (b) anteriormente, para su uso en el tratamiento de enfermedades que requieren tratamiento con progesterona o testosterona.

- 65 (iii) La invención se refiere además al uso de un complejo de hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) como se describe en los párrafos (a) o (b) anteriormente, para la fabricación de una composición farmacéutica oral para tratar enfermedades que requieren tratamiento con progesterona o testosterona.

(iv) La invención incluye además un método de mejora de la biodisponibilidad de una progesterona o testosterona administrable/administrada por vía oral, caracterizada por formular dicha progesterona o testosterona como un complejo de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) como se describe en los párrafos (a) o (b) anteriormente.

5 La invención incluye además las composiciones, usos y métodos enumerados en los párrafos (i)-(iv) anteriormente, caracterizada por que el complejo no se administra por vías distintas de la vía oral.

10 La invención incluye además las composiciones, usos y métodos enumerados en los párrafos (i)-(iv) anteriormente, caracterizada además por que dicha composición farmacéutica oral se formula en una o más unidades de dosificación, que contiene cada una menos de 100 mg de hormona (progesterona o testosterona) por gramo de solución, por ejemplo entre 5 y 100 mg/g, preferentemente entre 5 y 50 mg/g de, más preferentemente entre 15 y 40 mg/g, calculada como la forma no complejada.

15 El término "administración por vía oral" usado en el presente documento significa, como normalmente es entendido en la farmacología, la administración de una composición que es simplemente y directamente tragada a través del esófago en el estómago, sin permanencia en la cavidad de la boca, por lo que la absorción del fármaco tiene lugar naturalmente en el tubo digestivo, a diferencia de, por ejemplo, la vía bucal/sublingual, en la que la absorción gastrointestinal no es deseada, y la absorción tiene lugar a través de la cavidad de la boca.

20 Ejemplos de enfermedades que requieren tratamiento con progesterona son, sin limitación: hiperplasia endometrial, síndrome premenstrual, tratamiento de los síntomas de la menopausia, tratamiento de mujeres infértiles que necesitan soporte de la fase lútea como parte de un programa de tratamiento de técnicas de reproducción asistida (TRA), amenorrea secundaria, síntomas de deficiencia de progesterona, parto prematuro, mastopatía benigna, aborto repetido.

25 Ejemplos de enfermedades que requieren tratamiento con testosterona son, sin limitación: terapia sustitutiva de testosterona en trastornos hipogonadales masculinos, por ejemplo: eunucoidismo; hipopituitarismo; impotencia endocrina; síntomas climatéricos masculinos como disminución de la libido y disminución de la actividad mental y física; ciertos tipos de infertilidad debida a trastornos de la espermatogénesis, trastornos posteriores a la castración. La terapia con testosterona también puede indicarse en osteoporosis debida a deficiencia androgénica.

30 Como se observa en la parte experimental, las relaciones entre HP β CD y progesterona / testosterona son importantes con el fin de obtener un alto nivel de absorción de la hormona en el tubo digestivo y un grado limitado de inactivación metabólica. Se encontró que los complejos de progesterona o testosterona, normalmente aquellos con una relación molar de HP β CD:hormona de 2:1, se absorbían más fácilmente con respecto a aquellos con relación 1:1, usados como referencia. Esto es particularmente inesperado ya que, como se sabe de Zoppetti et al., J Incl Phenom. Macrocycl Chem, 2007, 57:283-288, el complejo 2:1 es mucho más estable con respecto al complejo 1:1 (constante de formación = 111473 m^{-1} y 3478 m^{-1} , respectivamente) y, por tanto, se considera menos propenso a hacer que la hormona esté disponible para absorción. Los datos son además inesperados, debido al hecho de que van en contra de otras publicaciones (véase Dahan et al., J Pharm Sci, 99(6), 2010), según las que el aumento de ciclodextrina conduce a una reducción correspondiente de la permeación del fármaco a través de la membrana. Por otra parte, se ha encontrado aquí que el grado de permeación de la hormona esteroidea a través de las membranas no es lineal cuando la concentración de HP β CD varía, pero, por el contrario, puede observarse una curva en forma de campana con un pico de permeación a una relación molar de HP β CD:hormona intermedia de 2:1. Las relaciones molares anteriormente mencionadas también identifican complejos que son suficientemente resistentes a la inactivación metabólica *in vitro*.

35 La formación de los complejos anteriormente mencionados se produce según modalidades en sí conocidas. En general, puede disolverse HP β CD a temperatura ambiente y con agitación en una cantidad adecuada de agua, por ejemplo en una relación de peso en agua comprendida entre 1:2 y 2:2; luego se añade la hormona esteroidea a la solución así obtenida, otra vez con agitación, en una relación molar con HP β CD comprendida en los intervalos definidos anteriormente; opcionalmente, es posible añadir agua adicional para obtener el volumen/concentración deseado de la solución final. En un modo no limitante, la solución final puede tener una concentración de hormonas presente que comprende entre 5 y 100 mg/g, preferentemente entre 5 y 50 mg/g, más preferentemente entre 15 y 40 mg/g de solución. Pueden seleccionarse otras concentraciones en función del uso final.

40 Las composiciones de la invención así obtenidas normalmente están en forma líquida, o más bien soluciones acuosas, que comprenden los complejos descritos anteriormente disueltos o sustancialmente disueltos en la fase acuosa. Las composiciones contienen, además de los componentes característicos anteriormente mencionados, aditivos adicionales en función del tipo de formulación deseada. Entre estos aditivos, merece la pena mencionar aromas, edulcorantes, co-disolventes, estabilizadores, conservantes, emulsionantes, etc., resaltando que tales aditivos son simplemente opcionales, o más bien, no son esenciales para asegurar la estabilidad y biodisponibilidad de los complejos en solución, que es típica de los complejos como tales.

65 Debido a su alta estabilidad, las soluciones de HP β CD/hormona pueden proporcionarse al usuario ya en la forma

líquida y lista para usar; sin embargo, también es posible preparar y guardar la formulación en una forma sólida o líquida concentrada adecuada, que va a añadirse con un volumen adecuado de agua en el momento de uso. Por ejemplo, puede preverse un kit que comprende una pre-formulación, por ejemplo en forma de polvo, gránulos, o una solución concentrada, que está asociada con un recipiente que contiene el volumen necesario de solución acuosa para una reconstitución extemporánea de la formulación. La solución objeto de la invención puede ser dispensada en recipientes normales de monodosis o multidosis hechos de vidrio o material de plástico y puede ser guardada con seguridad a temperatura ambiente durante al menos 24 meses.

Parte experimental

Ejemplo 1A - Preparación de soluciones acuosas de progesterona y HPβCD con diferentes relaciones molares a la concentración nominal de progesterona de 32 mg/g

Solución 1: solución con relación molar HPβ3CD:progesterona 1:1

Se disolvieron 2,3684 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 4,0070 g de agua con agitación magnética y, otra vez con agitación, se añadieron 0,5018 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 8,5028 g de agua. La concentración final de progesterona fue 0,0326 g/g.

Solución 2: solución con relación molar HPβCD:progesterona 2:1

Se disolvieron 4,7371 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 6,0048 g de agua con agitación magnética y, otra vez con agitación, se añadieron 0,5019 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 4,0082 g de agua. La concentración final de progesterona fue de 0,0329 g/g.

Solución 3: solución con relación molar HPβCD:progesterona 2,2 :1

Se disolvieron 5,2053 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 6,5008 g de agua con agitación magnética y, otra vez con agitación, se añadieron 0,5017 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 3,0014 g de agua. La concentración final de progesterona fue 0,0330 g/g.

Solución 4: solución con relación molar HPβCD:progesterona 2,5:1

Se disolvieron 5,9154 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 8,0026 g de agua con agitación magnética y, otra vez con agitación, se añadieron 0,5018 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 1,0081 g de agua. La concentración final de progesterona fue 0,0325 g/g.

Solución 5: solución con relación molar HPβCD:progesterona 3:1

Se disolvieron 7,1015 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 8,0082 g de agua con agitación magnética y, posteriormente con agitación, se añadieron 0,5020 g de progesterona.

La concentración de progesterona fue 0,0322 g/g.

Solución 6: solución de progesterona en agua

Se dispersaron con agitación magnética 0,5018 g de progesterona en 15,0016 g de agua.

La concentración final de progesterona fue 0,0324 g/g.

Ejemplo 1B: Pruebas de degradación microsómica

Se diluyeron las soluciones de progesterona (1, 2, 3, 4, 5, 6) mostradas anteriormente en el Ejemplo 1A con agua hasta que se obtuvo una concentración de trabajo de 397,5 μM.

Los microsomas usados en el estudio tienen una concentración inicial de proteína de 20 mg/ml en una solución de sacarosa con una concentración de 250 mM.

Se preparó la solución de muestra añadiendo, en un tubo de ensayo de plástico, en el siguiente orden: 2 μl de cloruro de magnesio 165 mM (MgCl₂), 10 μl de la solución objeto del estudio (1, 2, 3, 4, 5, 6) con una concentración teórica de progesterona de 397,5 μM, 73 μl de tampón fosfato a pH 7,4 y 10 μl de solución de NADPH 13 mM. La

concentración final de la progesterona fue de 39,75 μM , mientras que la del cofactor NADPH fue de 1,3 mM.

La reacción empezó en el momento en el que se añadieron 5 μl de microsomas preincubados (20 mg/ml), a la temperatura de 37 °C durante 3 minutos, a la solución de muestra en el tubo de ensayo. La concentración final de proteína fue de 1 mg/ml.

La reacción se mantuvo a una temperatura controlada de 37 °C y con agitación suave.

La reacción de degradación metabólica se detuvo después de 0, 10, 30, 60, 90 minutos añadiendo 300 μl de acetonitrilo a 100 μl de la solución de muestra. Las soluciones así obtenidas se centrifugaron a 14000 rpm durante 3 minutos y el sobrenadante se sometió a análisis cromatográfico.

El análisis cromatográfico por HPLC-UV se llevó a cabo en flujo isocrático a temperatura ambiente usando una columna RP 18 de 5 μm 3,9 x 150 mm con fase móvil de acetonitrilo y agua en la relación 55 y 45. La longitud de onda de operación fue 241 nm, el flujo 1 ml/min y el volumen de inyección 20 μl .

La Figura 1 muestra el porcentaje de progesterona sin modificar (no degradada) con el tiempo después de la incubación a 37 °C con microsomas de origen humano con la variación de las relaciones molares entre HP β CD y progesterona. La descripción detallada del experimento se muestra en el Ejemplo 1. A partir de tales resultados puede observarse que cuando aumenta la concentración de HP β CD, con la consecuente variación de la relación molar entre progesterona y HP β CD, la sustancia activa es menos degradada. Puede observarse que el aumento en la concentración de HP β CD protege a la progesterona de las actividades metabólicas. En un modo análogo, el experimento se llevó a cabo en las soluciones 1-6 del Ejemplo 4 con respecto a la testosterona que conduce al resultado mostrado en la Figura 4.

Ejemplo 2 - Preparación de soluciones acuosas de progesterona y HP β CD con diferentes relaciones molares a la concentración nominal de progesterona de 20 mg/g

Solución 1: solución con relación molar HP β CD:progesterona 1:1

Se disolvieron 1,4252 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 3,0053 g de agua con agitación magnética y, otra vez con agitación, se añadieron 0,3028 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 10,2039 g de agua. La concentración final de progesterona fue de 0,0203 g/g.

Solución 2: solución con relación molar HP β CD:progesterona 2:1

Se disolvieron 2,8445 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 4,2073 g de agua con agitación magnética y, otra vez con agitación, se añadieron 0,3026 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 7,6073 g de agua. La concentración final de progesterona fue de 0,0202 g/g.

Solución 3: solución con relación molar HP β CD:progesterona 2,2 :1

Se disolvieron 3,1255 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 5,0073 g de agua con agitación magnética y, otra vez con agitación, se añadieron 0,3049 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 6,5028 g de agua. La concentración final de progesterona fue de 0,0204 g/g.

Solución 4: solución con relación molar HP β CD:progesterona 2,5:1

Se disolvieron 3,5548 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 6,0029 g de agua con agitación magnética y, otra vez con agitación, se añadieron 0,3031 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 5,1053 g de agua. La concentración final de progesterona fue de 0,0203 g/g.

Solución 5: solución con relación molar HP β CD:progesterona 3:1

Se disolvieron 4,2670 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 7,0053 g de agua con agitación magnética y, posteriormente, se añadieron con agitación 0,3064 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 3,4019 g de agua.

La concentración de progesterona fue de 0,0205 g/g.

Solución 6: solución de progesterona en agua

Se dispersaron con agitación magnética 0,3013 g de progesterona en 14,6575 g de agua.

La concentración final de progesterona fue de 0,0201 g / g.

5 **Ejemplo 3 - Preparación de soluciones acuosas de testosterona y HPβCD con diferentes relaciones molares a la concentración nominal de testosterona de 20 mg/g**

Solución 1: solución con relación molar HPβCD:testosterona 1:1

10 Se disolvieron 1,5600 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 6,0062 g de agua con agitación magnética y, posteriormente con agitación, se añadieron 0,3021 g de testosterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 6,6003 g de agua.

15 La concentración de testosterona fue de 0,0209 g/g.

Solución 2: solución con relación molar HPβCD:testosterona 2:1

20 Se disolvieron 3,1395 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 6,0060 g de agua con agitación magnética y, posteriormente, se añadieron 0,3041 g de testosterona con agitación. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 5,0020 g de agua.

La concentración de testosterona fue de 0,0210 g/g.

25 ***Solución 3: solución con relación molar HPβCD:testosterona 2,2 :1***

Se disolvieron 3,4206 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 6,0077 g de agua con agitación magnética y, posteriormente, se añadieron 0,3012 g de testosterona con agitación. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 4,8045 g de agua.

30 La concentración de testosterona fue de 0,0207 g/g.

Solución 4: solución con relación molar HPβCD:testosterona 2,5:1

35 Se disolvieron 3,8857 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 6,0007 g de agua con agitación magnética y, posteriormente, se añadieron 0,3011 g de testosterona con agitación. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 4,2050 g de agua.

La concentración de testosterona fue de 0,0209 g/g.

40 ***Solución 5: solución con relación molar HPβCD:testosterona 3:1***

Se disolvieron 4,6613 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 6,0070 g de agua con agitación magnética y, posteriormente, se añadieron 0,3010 g de testosterona con agitación. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 3,2041 g de agua.

45 La concentración de testosterona fue de 0,0212 g/g.

Solución 6: solución de testosterona en agua

50 Se dispersaron con agitación magnética 0,3025 g de testosterona en 14,4962 g de agua.

La concentración final de testosterona fue de 0,0204 g/g.

55 **Ejemplo 4 - Preparación de soluciones acuosas de testosterona y HPβCD con diferentes relaciones molares a la concentración nominal de testosterona de 35 mg/g**

Solución 1: solución con relación molar HPβCD:testosterona 1:1

60 Se disolvieron 3,2091 g de HPβCD (contenido de β-ciclodextrina sin sustituir presente en HPβCD inferior al 0,3 %) en 7,0070 g de agua con agitación magnética y, posteriormente con agitación, se añadieron 0,6218 g de testosterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 6,9264 g de agua.

La concentración de testosterona fue de 0,0350 g/g.

65 ***Solución 2: solución con relación molar HPβCD:testosterona 2:1***

Se disolvieron 6,4156 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 7,0059 g de agua con agitación magnética y, posteriormente con agitación, se añadieron 0,6218 g de testosterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 3,7234 g de agua.

5 La concentración de testosterona fue de 0,0350 g/g.

Solución 3: solución con relación molar HP β CD:testosterona 2. 2 :1

10 Se disolvieron 7,0702 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 7,0010 g de agua con agitación magnética y, posteriormente con agitación, se añadieron 0,6226 g de testosterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 3,0966 g de agua.

La concentración de testosterona fue de 0,0350 g/g.

15 **Solución 4: solución con relación molar HP β CD:testosterona 2,5:1**

Se disolvieron 8,0255 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 9,0089 g de agua con agitación magnética y, posteriormente con agitación, se añadieron 0,6219 g de testosterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 0,1241 g de agua.

20

La concentración de testosterona fue de 0,0350 g/g.

Solución 5: solución con relación molar HP β CD:testosterona 3:1

25 Se disolvieron 9,6645 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 10,4679 g de agua con agitación magnética y, posteriormente con agitación, se añadieron 0,6325 g de testosterona. La concentración de testosterona fue de 0,0305 g/g.

Solución 6: solución de testosterona en agua

30

Se dispersaron con agitación magnética 0,6213 g de testosterona en 17,1358 g de agua.

La concentración final de testosterona fue de 0,0350 g/g.

35 **Ejemplo 5 - Estudio de permeación de las soluciones con diferentes relaciones molares entre HP β CD y progesterona y entre HP β CD y testosterona**

Se sometieron las soluciones (1, 2, 3, 4, 5, 6), cuya preparación se muestra en los Ejemplos 1A, 2, 3 y 4, a análisis de permeación a través de membranas adecuadas tal como para imitar la mucosa gastrointestinal.

40

El estudio se llevó a cabo usando el sistema de difusión de celdas de Franz.

El receptor tiene un volumen de 7 ml y se completó con una solución de 77 % de etanol y 23 % de agua. El área de permeación disponible de cada una de las 6 celdas del sistema fue de 1,767 cm². La velocidad de agitación del sistema fue de 400 rpm y la temperatura se mantuvo constante a 37 °C.

45

La preparación del sistema de celdas de Franz se completó disponiendo la membrana entre el receptor y el donante. En el donante de cada celda se introdujo 1 ml de las soluciones estudiadas, sacadas con agitación.

50

Durante el análisis de permeación, no solo se mantuvieron con agitación la solución del receptor, sino también las soluciones 1÷6 presentes encima de la membrana.

En los tiempos de extracción de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24 horas, se recogieron alícuotas de permeado de cada celda (volumen total extraído por el sistema de la solución de receptor 2,5 ml, cuyo volumen de muestreo es 1,0 ml) y se analizaron directamente con cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC) con un detector de UV. En el sistema de celdas de Franz usado, después del muestreo, la solución de receptor se restauró por la cantidad extraída.

55

Para cada alícuota recogida, la cantidad de hormona permeada se analizó con el método de HPLC-UV validado.

60

La cantidad de progesterona permeada se calculó a partir de una curva de calibración en el intervalo de concentración de 0,0378 ÷ 503,896 μ g/ml, mientras que para la curva de calibración de testosterona fue en el intervalo de concentración de 0,0223 ÷ 514,925 μ g/ml.

65

Las Figuras 2, 3, 4 y 5 muestran el rendimiento de la hormona permeada por unidad de área en función de los tiempos de extracción considerando la cantidad de hormona presente por unidad de peso de solución.

Los resultados, mostrados en la Figura 2 (también reproducidos en la Figura 9 en función de las relaciones crecientes entre HP β CD y Pgr), resaltan la obtención de los mejores valores de permeación dentro de un intervalo intermedio de relaciones molares entre HP β CD y Pgr, con los mejores valores entre 2:1 y 2,2:1. Por tanto, la permeabilidad no varía de un modo que es proporcional a la cantidad de HP β CD, pero se maximiza a los valores de los niveles de relación intermedios entre HP β CD y hormona, resaltados aquí.

Los mejores valores de permeación encontrados aquí se corresponden con relaciones molares entre HP β CD y hormona esteroidea a las que el metabolismo degradativo ya es considerablemente inhibido por la presencia de ciclodextrina (véanse los datos del Ejemplo 1B); por tanto, el efecto de permeación óptimo encontrado aquí a las relaciones molares entre HP β CD y hormona aproximadamente 2:1 se añade al de un metabolismo degradativo limitado al nivel de la mucosa gastrointestinal.

En la Figura 2, la concentración de progesterona usada en las 6 soluciones con diferentes relaciones molares entre HP β CD y Prg es de 32 mg de progesterona por gramo de solución. Además, las Figuras 9 resaltan que los complejos 1:1 comparativos (teóricamente más propensos a la permeación de hormona) permearon peor que los complejos según la invención. Un resultado análogo, mostrado en la Figura 3 (véase también la Figura 10), se obtuvo repitiendo un experimento tal con una concentración diferente de progesterona, 20 mg/g. Estos resultados confirman que la permeabilidad de progesterona está influida por la relación molar entre HP β CD y Prg y no por la concentración del complejo en solución.

Se encontraron resultados similares en el caso de testosterona: en particular, las Figuras 5 y 6 resaltan la obtención de valores de permeabilidad óptimos para relaciones molares HP β CD:testosterona de aproximadamente 2:1.

Ejemplo 6 Pruebas de estabilidad

Se obtuvo una solución con relación molar HP β CD:Prg = 2:1 disolviendo, en un equipo de disolución adecuado, 2720 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 5000 g de agua y luego añadiendo 272 g de progesterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 5000 g de agua. La concentración final de progesterona determinada a través del análisis de HPLC/UV fue de 20,61 mg/g. La solución así obtenida se somete a filtración en serie a través de filtros de 0,45 y 0,22 μ m y posteriormente se separa en viales llenos de un volumen tal como para garantizar una dosis de progesterona para los viales de 25 mg. La solución tiene una densidad de 1,0675 g/ml. Los viales se cerraron herméticamente y se sometieron a estudio de estabilidad en condiciones de ICH a la temperatura de 25 °C / 60 % de HR.

Como se ilustra en la Tabla 1, la solución fue estable durante al menos 24 meses sin experimentar variaciones considerables en la cantidad de progesterona.

Tabla 1

Datos de estabilidad de la solución acuosa de progesterona y HPβCD con una relación molar de complejación HPβCD:Prp 2:1		25 °C ± 2 °C / 60 % ± 5 % de HR						
		0	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m	24 m
Análisis de identificación de progesterona (HPLC)	Especificación	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Ensayo de progesterona	95,0 -105,0 % del valor teórico en la liberación	100,3 %	99,5 %	102,1 %	101,3 %	100,5 %	101,0 %	99,5 %
	90,0-105,0 % del valor teórico durante el estudio de estabilidad							
Cada impureza desconocida individual	≤ 0,5 %	< 0,1 %	< 0,1 %	< 0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %
Impurezas totales	≤ 0,8 %	< 0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,2 %
Endotox (prueba de LAL)	< 1,0 UE /mg	< 0,2 UE/mg	NA	< 0,2 UE/mg	NA	< 0,2 UE/mg	NA	< 0,2 UE/mg

Ejemplo 7 Pruebas farmacocinéticas comparativas

Se usó la solución descrita en el Ejemplo 6 en un estudio farmacocinético clínico comparativo (Figura 7, Tablas 2 y 3). Cuatro voluntarias en edad posmenopáusica, no fumadoras o ex-fumadoras, con una edad entre 18 y 75 años, recibieron, según un diseño de grupos cruzados, una dosis única de 100 mg de progesterona disuelta en la solución anteriormente mencionada o de 200 mg de progesterona en cápsulas blandas (formulación de referencia a la venta, Prometrium). Las Tablas 2 y 3 muestran los resultados de los parámetros farmacocinéticos obtenidos del estudio clínico: la Tabla 2 se refiere a la formulación objeto de la presente patente mientras que la Tabla 3 se refiere a la formulación de referencia comercial (Prometrium).

Los resultados en la Tabla 2 demuestran que la presente composición genera una exposición global por dosis unitaria (ABC/dosis) aproximadamente 9 veces superior a la obtenida con la formulación de referencia (Tabla 3) y una concentración pico promedio ($C_{m\acute{a}x}$) aproximadamente 30 veces más alta; además, el tiempo pico ($t_{m\acute{a}x}$) alcanzado con la solución de progesterona es sustancialmente más bajo.

Además, los niveles en plasma de progesterona observados para la formulación objeto de la presente invención ($C_{m\acute{a}x}$ promedio de 60 ng/ml aprox. para una dosis de 100 mg de progesterona) están en línea con aquellos que fueron informados en la patente ya mencionada de Pitha et al., en la que una dosis de 100 mg de progesterona administrada en forma de un complejo de HP β CD:Prg 1:1 por vía bucal - por tanto, sin efecto de primer paso hepático - dio una $C_{m\acute{a}x}$ de aproximadamente 50 ng/ml. Esto confirma que los complejos de la invención mantienen una biodisponibilidad sorprendente, a pesar de ser probablemente sometidos al metabolismo gastrointestinal y de primer paso hepático. Por tanto, se obtiene un tratamiento de dosis eficaz de complejos de progesterona/testosterona con HP β CD por vía oral (más respetuosa con el paciente, por ejemplo, la vía sublingual/bucal/nasal). Como ventaja adicional, la composición de la invención hace posible reducir significativamente la variabilidad interindividual de los niveles en plasma, expresados en la tabla por el valor de % de CV de ABC y $C_{m\acute{a}x}$, con respecto a la formulación comercial de la Tabla 3.

Tabla 2: Parámetros FC de progesterona administrada como una solución oral complejada con HP β CD, relación 2:1

Sujeto	$C_{m\acute{a}x}$ (pg/ml)	$t_{m\acute{a}x}$ (h)	ABC (pg·h/ml)	$t_{1/2,z}$ (h)	$C_{m\acute{a}x}$ /dosis	ABC/dosis
1	57325,1	0,5	77021,2	5,21	11465,02	15404,24
2	63841,2	0,5	91656,5	4,79	12768,24	18331,30
3	63192,8	0,5	62893,8	3,85	12638,56	12578,76
4	59081,4	0,5	56407,4	5,11	11816,28	11281,48
Media	60860,1	0,5	71994,7	4,7	12172,0	14398,9
mín	57325,1	0,5	56407,4	3,9	11465,0	11281,5
máx	63841,2	0,5	91656,5	5,2	12768,2	18331,3
DE	3161,7	0,0	15680,6	0,6	632,3	3136,1
% de CV	5,2	0,0	21,8	13,1	5,2	21,8

Tabla 3: Parámetros FC de progesterona, formulación de referencia (Prometrium)

Sujeto	$C_{m\acute{a}x}$ (pg/ml)	$t_{m\acute{a}x}$ (h)	ABC (pg·h/ml)	$t_{1/2,z}$ (h)	$C_{m\acute{a}x}$ /dosis	ABC/dosis
1	1912,6	0,75	6686,4	1,22	191,26	668,64
2	3925,4	1	13518,3	2,53	392,54	1351,83
3	8065,4	2	34464,2	1,83	806,54	3446,42
4	2323,5	1	9737,2	2,42	232,35	973,72
Media	4056,7	1,2	16101,5	2,0	405,7	1610,2
mín	1912,6	0,8	6686,4	1,2	191,3	668,6
máx	8065,4	2,0	34464,2	2,5	806,5	3446,4
DE	2810,0	0,6	12556,7	0,6	281,0	1255,7
% de CV	69,3	46,7	78,0	30,2	69,3	78,0

Por tanto, la formulación objeto de la presente patente, caracterizada por una excelente biodisponibilidad de las hormonas contenidas en ella, hace posible lograr concentraciones plasmáticas altas y eficaces después de la administración por vía oral de la dosis que son más bajas con respecto a las formulaciones orales actualmente a la venta (por ejemplo, Prometrium, Andriol), y con una mayor reproducibilidad de las curvas de plasma relativas, conduciendo así a una clara ventaja en términos de cumplimiento del paciente y de eficacia y seguridad del tratamiento.

Ejemplo 8 - Preparación de soluciones acuosas de testosterona y HP β CD con diferentes relaciones molares a la concentración nominal de testosterona de 26 mg/g**Solución 1: solución con relación molar HP β CD:testosterona 2:1**

En un equipo de disolución adecuado, se disolvieron 4,13 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 4,48 g de agua, posteriormente se añadieron 0,4 g de testosterona. Cuando

ES 2 664 596 T3

se obtuvo la solución, se añadieron 6,38 g de agua. La solución obtenida se filtró a través de un filtro de 0,45 µm y posteriormente se separó en viales llenos con un volumen tal como para garantizar una dosis de testosterona para los viales de 26 mg. La concentración final de testosterona en el vial determinada a través de análisis de HPLC/UV fue de 26,0 mg/g.

5 Los viales se cerraron herméticamente y se sometieron al estudio de estabilidad en condiciones de ICH a la temperatura de 25 °C / 60 % de HR.

10 Como se ilustra en la Tabla 4, la solución fue estable durante al menos 24 meses sin experimentar variaciones considerables en la cantidad de testosterona.

Tabla 4 Datos de estabilidad de la solución acuosa de testosterona y HPβCD con una relación molar de complejación HPβCD:Tst 2:1
25 °C ± 2 °C / 60 % de HR

Análisis	Especificación	25 °C ± 2 °C / 60 % de HR						
		0	3 m	6 m	9m	12 m	18 m	24 m
Identificación de testosterona (HPLC)	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Ensayo de testosterona	95,0 -105,0 % del valor teórico en la liberación	101,00	101,10	100,67	100,27	100,31	100,14	99,95
	90 -105 % del valor teórico durante el estudio de estabilidad							
Cada impureza desconocida individual	≤ 0,2 %	< 0,1 %	< 0,1 %	< 0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %
Impurezas totales	≤ 2,0 %	0,5 %	0,5 %	0,5 %	0,7 %	0,7 %	0,7 %	0,8 %
TAMC	≤ 100 UFC/g	<1 UFC/g	<1 UFC/g	<1 UFC/g	<1 UFC/g	<1 UFC/g	<1 UFC/g	<1 UFC/g
TYMC	≤ 100 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g
Escherichia coli	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g

Solución 2: solución con relación molar HP β CD:testosterona 3:1

- En un equipo de disolución adecuado, se disolvieron 6,195 g de HP β CD (contenido de β -ciclodextrina sin sustituir presente en HP β CD inferior al 0,3 %) en 6,75 g de agua, posteriormente se añadieron 0,4 g de testosterona. Cuando se obtuvo la solución, se añadieron 2,041 g de agua. La solución obtenida se filtró a través de un filtro de 0,45 μ m y posteriormente se separó en viales llenos con un volumen tal como para garantizar una dosis de testosterona para los viales de 26 mg. La concentración final de testosterona en el vial determinada a través de análisis de HPLC/UV fue de 26,0 mg/g.
- 5
- 10 Los viales se cerraron herméticamente y se sometieron al estudio de estabilidad en condiciones de ICH a la temperatura de 25 °C / 60 % de HR.

Como se ilustra en la Tabla 5, la solución fue estable durante al menos 24 meses sin experimentar variaciones considerables en la cantidad de testosterona.

Tabla 5

Análisis		Datos de estabilidad de la solución acuosa de testosterona y HPβCD con una relación molar de complejación HPβCD:Tst 3:1						
		25 °C ± 2 °C / 60 % de HR						
Especificación		0	3m	6 m	9 m	12 m	18 m	24 m
Identificación de testosterona (HPLC)	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
	95,0 -105,0 % del valor teórico en la liberación							
Ensayo de testosterona	90 - 105 % del valor teórico durante el estudio de estabilidad	100,43	100,89	100,28	99,89	99,95	100,02	100,12
Cada impureza desconocida individual	≤ 0,2 %	< 0,1 %	< 0,1 %	< 0,1 %	< 0,1 %	< 0,1 %	< 0,1 %	0,1 %
Impurezas totales	≤ 2,0 %	0,5 %	0,7 %	0,7 %	0,8 %	0,8 %	0,9 %	0,9 %
TAMC	≤ 100 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g
TYMC	≤ 100 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g	< 1 UFC/g
Escherichia coli	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g	Ausente/g

Ejemplo 9 - Pruebas farmacocinéticas comparativas (testosterona)

Se usaron las soluciones descritas en el Ejemplo 8 en un estudio clínico comparativo de farmacocinética (Figura 8 Tablas 6-8). Tres sujetos femeninos sanos, no fumadoras o ex-fumadoras, con una edad de entre 18 y 75 años, recibieron, según un diseño de grupos cruzados, una dosis única de 26 mg de testosterona disuelta en la solución anteriormente mencionada o 40 mg de undecanoato de testosterona correspondiente a 25,26 mg de testosterona, en cápsulas blandas (formulación de referencia a la venta, Andriol). Las Tablas 6-8 muestran los resultados de los parámetros farmacocinéticos obtenidos por el estudio clínico: la Tabla 6 y 7 se refieren a las formulaciones de testosterona, objeto de la presente patente, con respectivamente una relación molar entre HP β CD y testosterona de 2:1 y 3:1, mientras que la Tabla 8 se refiere a la formulación de referencia comercial (Andriol).

Tabla 6: Parámetros FC de testosterona administrada como una solución oral complejada con HP β CD, relación 2:1

Sujeto	C _{máx} (pg/ml)	t _{máx} (h)	ABC (pg * h/ml)	t _{1/2} (h)	C _{máx} /dosis	ABC/dosis
1	30655,7	0,3	35709,2	0,7	1179,1	1373,4
2	25301,7	0,3	23498,6	0,6	973,1	903,8
3	15939,8	0,3	22365,9	0,2	613,1	860,2
promedio	23965,8	0,3	27191,2	0,5	921,8	1045,8
mín	15939,8	0,3	22365,9	0,2	613,1	860,2
máx	30655,7	0,3	35709,2	0,7	1179,1	1373,4
DE	7448,4	0,0	7398,5	0,3	286,5	284,6
% de CV	31,1	0,0	27,2	54,7	31,1	27,2

Tabla 7: Parámetros FC de testosterona administrada como una solución oral complejada con HP β CD, relación 3:1

Sujeto	C _{máx} (pg/ml)	t _{máx} (h)	ABC (pg * h/ml)	t _{1/2} (h)	C _{máx} /dosis	ABC/dosis
1	14185,4	0,3	19142,9	0,9	545,6	736,3
2	10021,3	0,3	16948,4	0,8	385,4	651,9
3	9015,7	0,3	14753,8	0,6	346,8	567,5
promedio	11074,1	0,3	16948,4	0,7	425,9	651,9
mín	9015,7	0,3	14753,8	0,6	346,8	567,5
máx	14185,4	0,3	19142,9	0,9	545,6	736,3
DE	2741,0	0,0	2194,5	0,1	105,4	84,4
% de CV	24,8	0,0	12,9	18,1	24,8	12,9

Tabla 8: Parámetros FC de testosterona, formulación de referencia (Andriol)

Sujeto	C _{máx} (pg/ml)	t _{máx} (h)	ABC (pg * h/ml)	t _{1/2} (h)	C _{máx} /dosis	ABC/dosis
1	225,6	3,5	886,0	1,3	8,9	35,1
2	453,7	3,5	3297,7	3,4	18,0	130,6
3	329,1	3,5	1789,2	2,3	13,0	70,8
promedio	336,1	3,5	1991,0	2,3	13,3	78,8
mín	225,6	3,5	886,0	1,3	8,9	35,1
máx	453,7	3,5	3297,7	3,4	18,0	130,6
DE	114,2	0,0	1218,5	1,1	4,5	48,2
% de CV	34,0	0,0	61,2	45,5	34,0	61,2

Los resultados informados en las Tablas 6 y 7 muestran que la presente composición genera una exposición global por dosis unitaria (ABC/dosis) 13 veces aprox. superior a la obtenida con la formulación de referencia (Tabla 8) en el caso de un complejo con relación molar HPBCD:Tst 2:1 y de 8 veces superior a la obtenida con la formulación de referencia (Tabla 8) en el caso de un complejo con relación molar HPBCD:Tst 3:1. Similarmente, las concentraciones pico por dosis unitaria (C_{máx}/dosis) son, para ambas soluciones de complejo, superiores a las obtenidas con la formulación de referencia. Además, el tiempo pico (t_{máx}) alcanzado con las soluciones de HPBCD:Tst es sustancialmente más bajo en comparación con el de la formulación de referencia. Los resultados confirman aquellos obtenidos en el Experimento 5 (Figuras 5 y 6) y muestran que los complejos de HPBCD:Tst mantienen un biodisponibilidad sorprendente a pesar de ser probablemente sometidos al efecto de primer paso hepático. Por tanto, se obtiene un tratamiento de dosis eficaz de complejos de testosterona con HP β CD por vía oral (más respetuoso con los pacientes que, por ejemplo, los complejos con HP β CD por vía oral (más respetuoso con los pacientes que, por ejemplo, la vía sublingual/ bucal/ nasal). Como ventaja adicional, la composición de la invención hace posible reducir significativamente la variabilidad interindividual de los niveles en plasma, expresados en la tabla por el % de CV de ABC y C_{máx}, con respecto a la formulación comercial de la Tabla 8.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento, mediante administración por vía oral, de enfermedades que requieren la administración de progesterona o testosterona, comprendiendo dicha composición un complejo de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) con:
- progesterona (Prg), con relación molar HP β CD:Prg que oscila de 1,7:1 a 2,4:1, o
 - testosterona (Tst), con relación molar HP β CD:Tst que oscila de 1,7:1 a 3,0:1;
- 10 en la que dicha HP β CD contiene menos del 0,3 % en peso de β -ciclodextrina sin sustituir.
2. Composición para el uso según la reivindicación 1, en la que dicha relación molar entre HP β CD y Prg o Tst oscila de 2,0:1 a 2,2:1.
- 15 3. Composición para el uso según las reivindicaciones 1-2, en la que dicha relación molar entre HP β CD y Prg o Tst es 2:1.
4. Composición para el uso según las reivindicaciones 1-3, en forma de solución.
- 20 5. Composición para el uso según la reivindicación 4, en la que la concentración de dicha Prg o Tst oscila de 5 a 100 mg/g de solución.
6. Composición para el uso según las reivindicaciones 1-5, en forma de solución lista para uso, dispensada en recipientes de monodosis o multidoses hechos de vidrio o material de plástico.
- 25 7. Composición para el uso según las reivindicaciones 1-6, caracterizada por ser estable a temperatura ambiente durante al menos 24 meses.

Figura 1

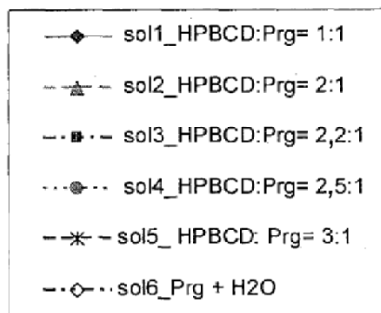
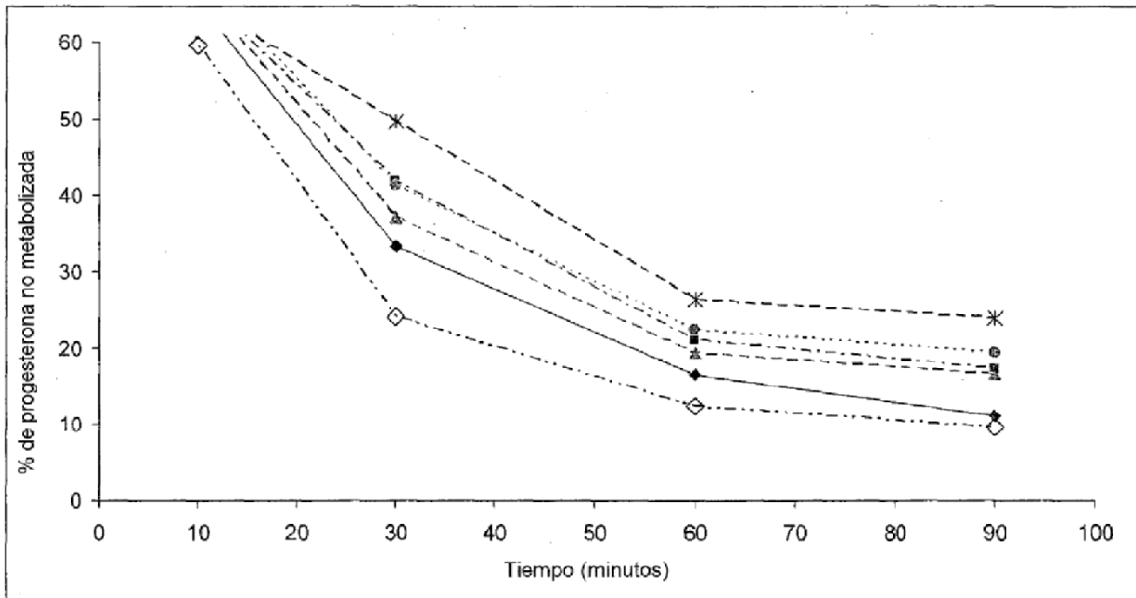


Figura 2

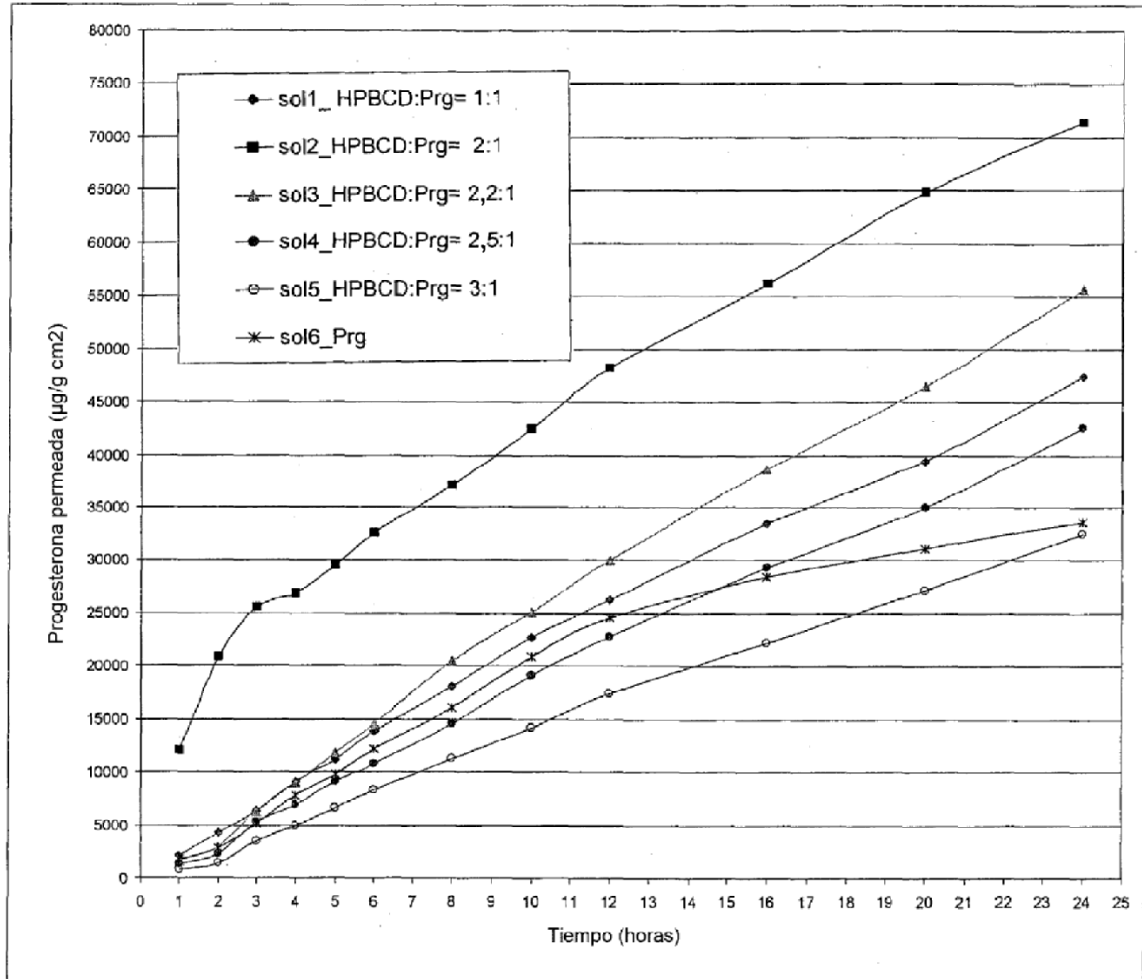


Figura 3

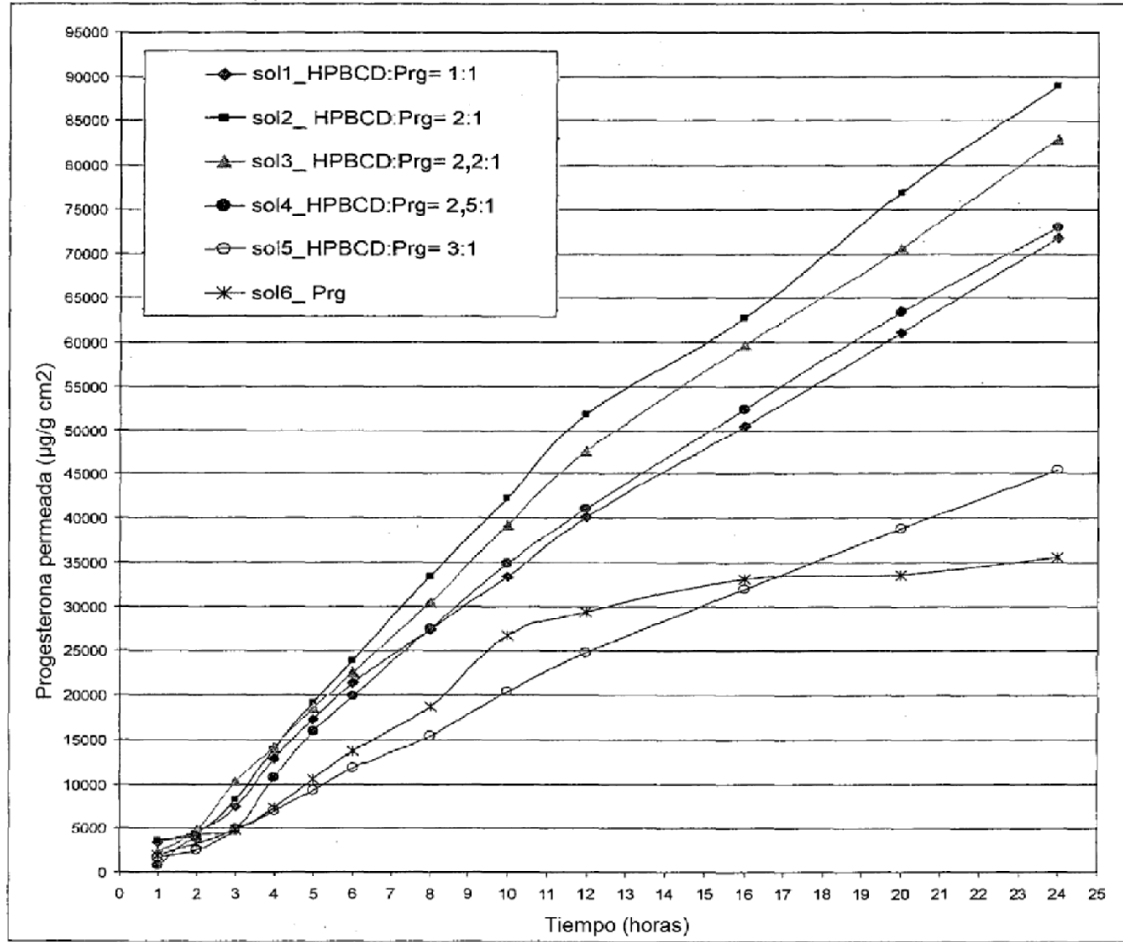


Figura 4

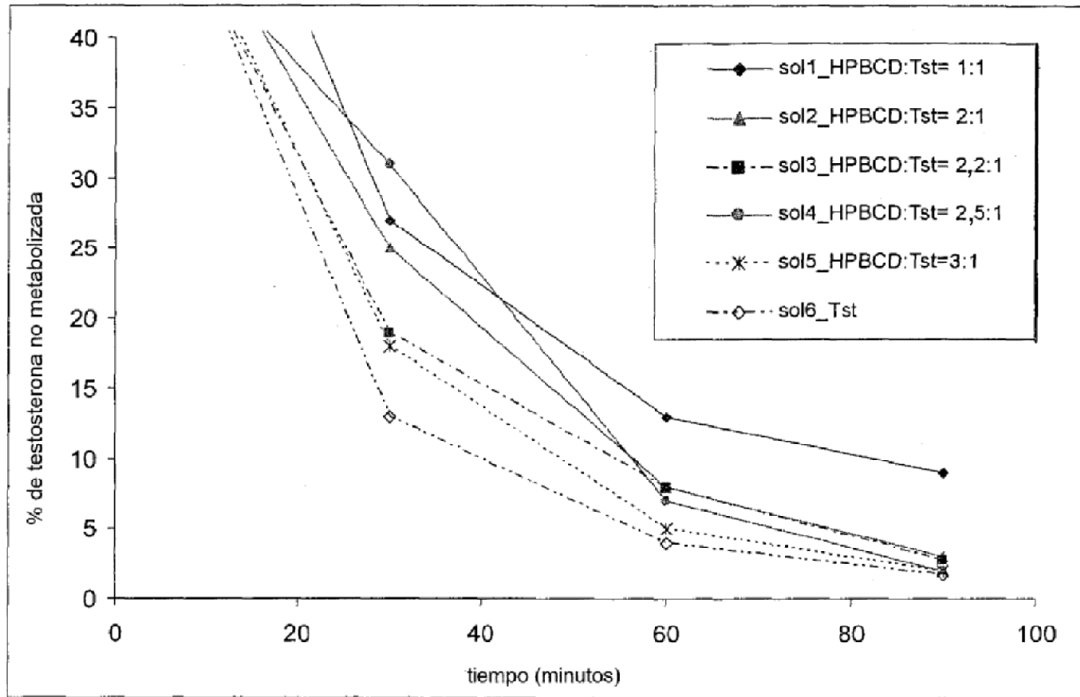


Figura 5

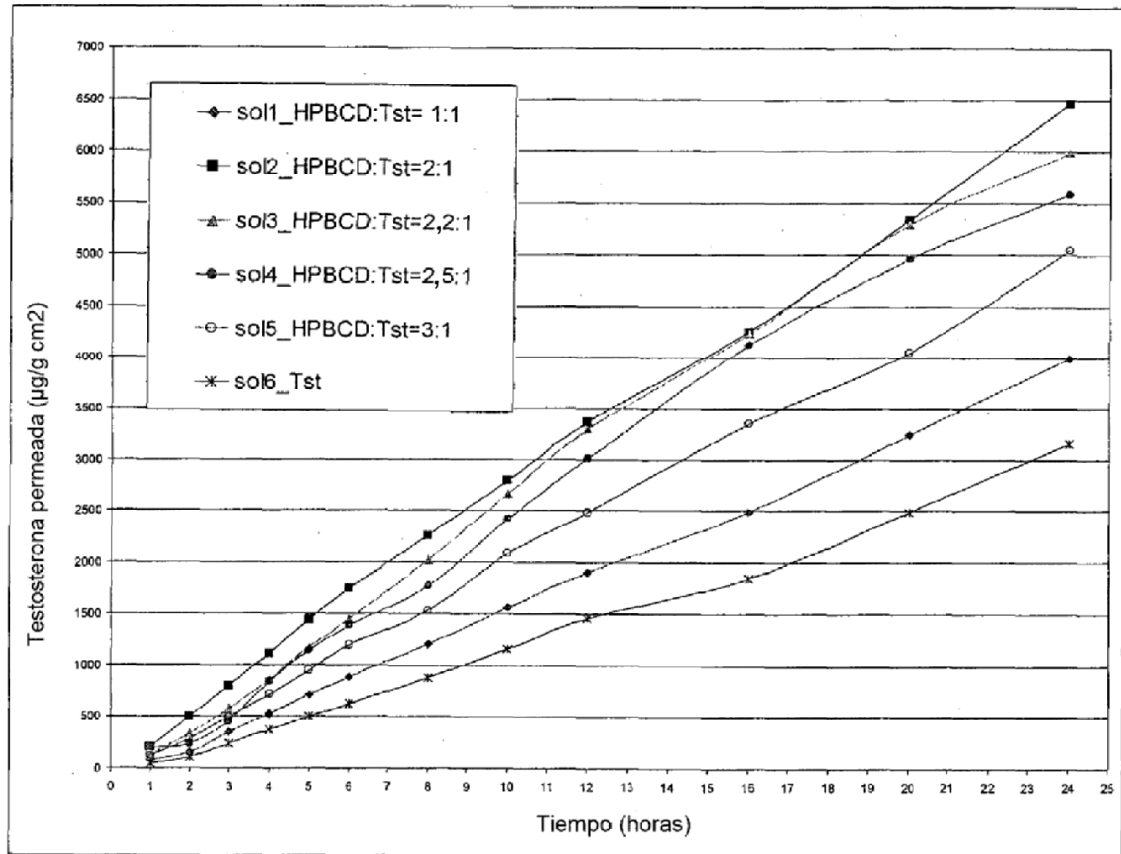


Figura 6

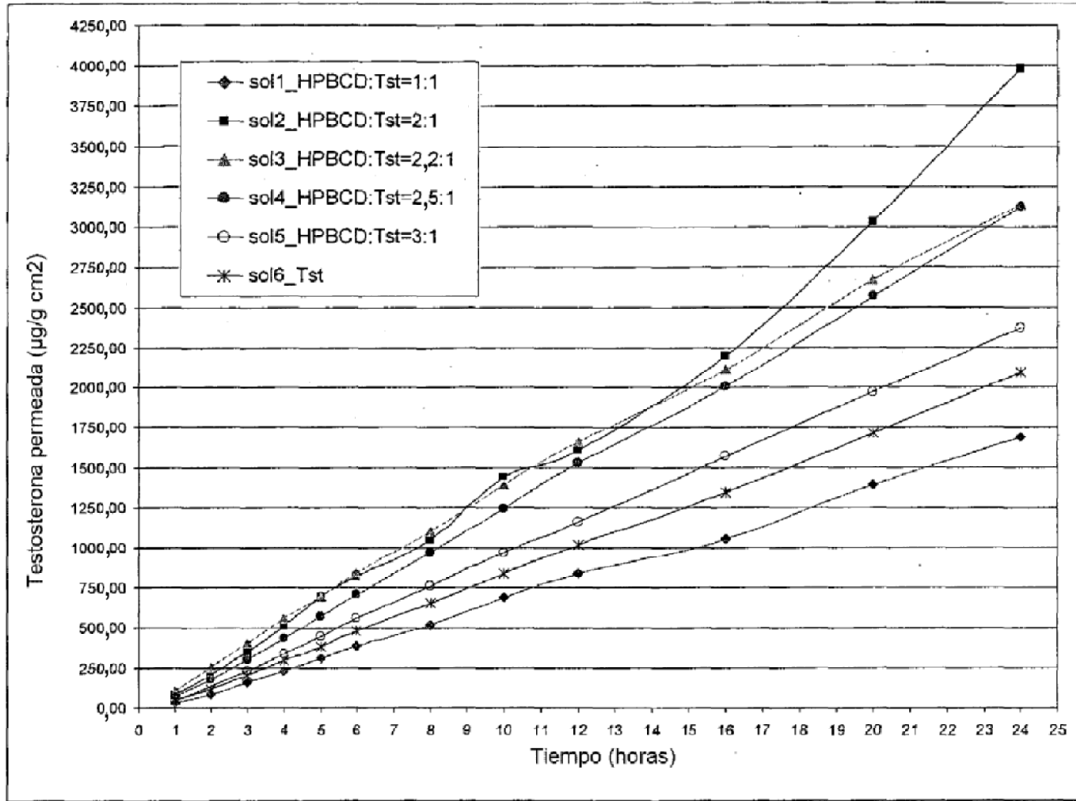
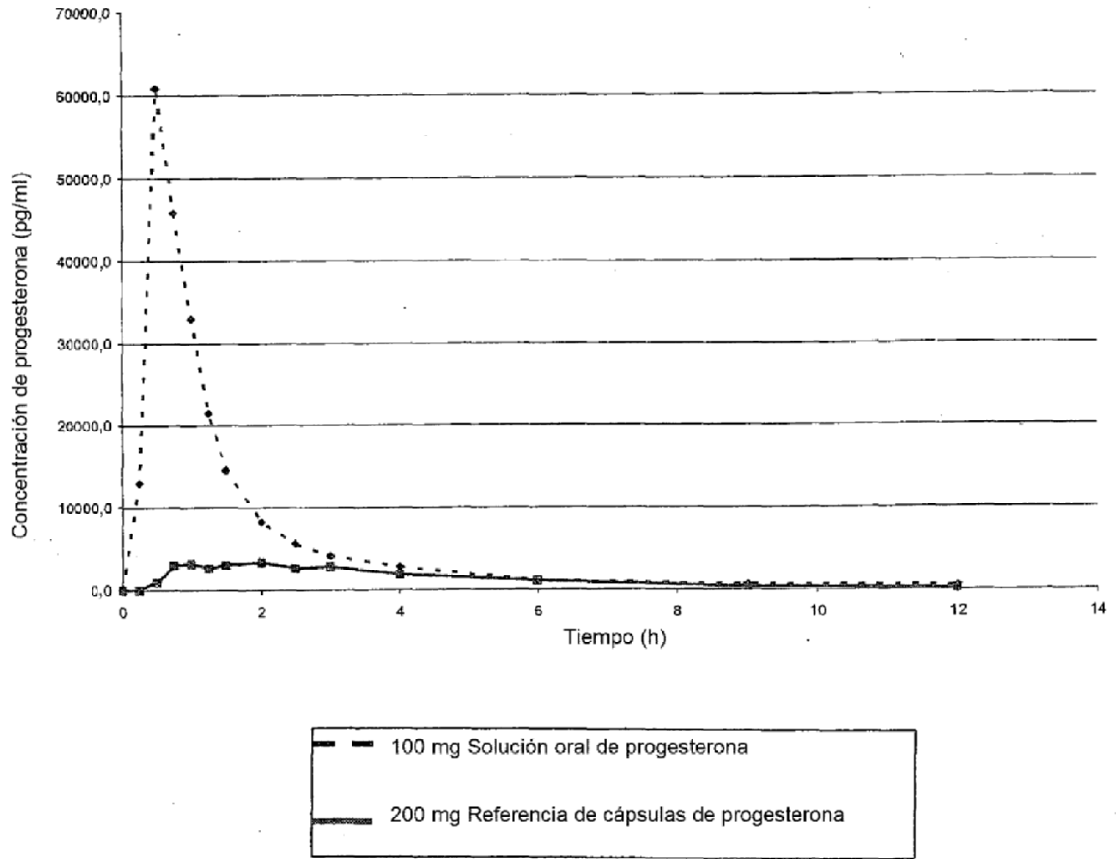


Figura 7



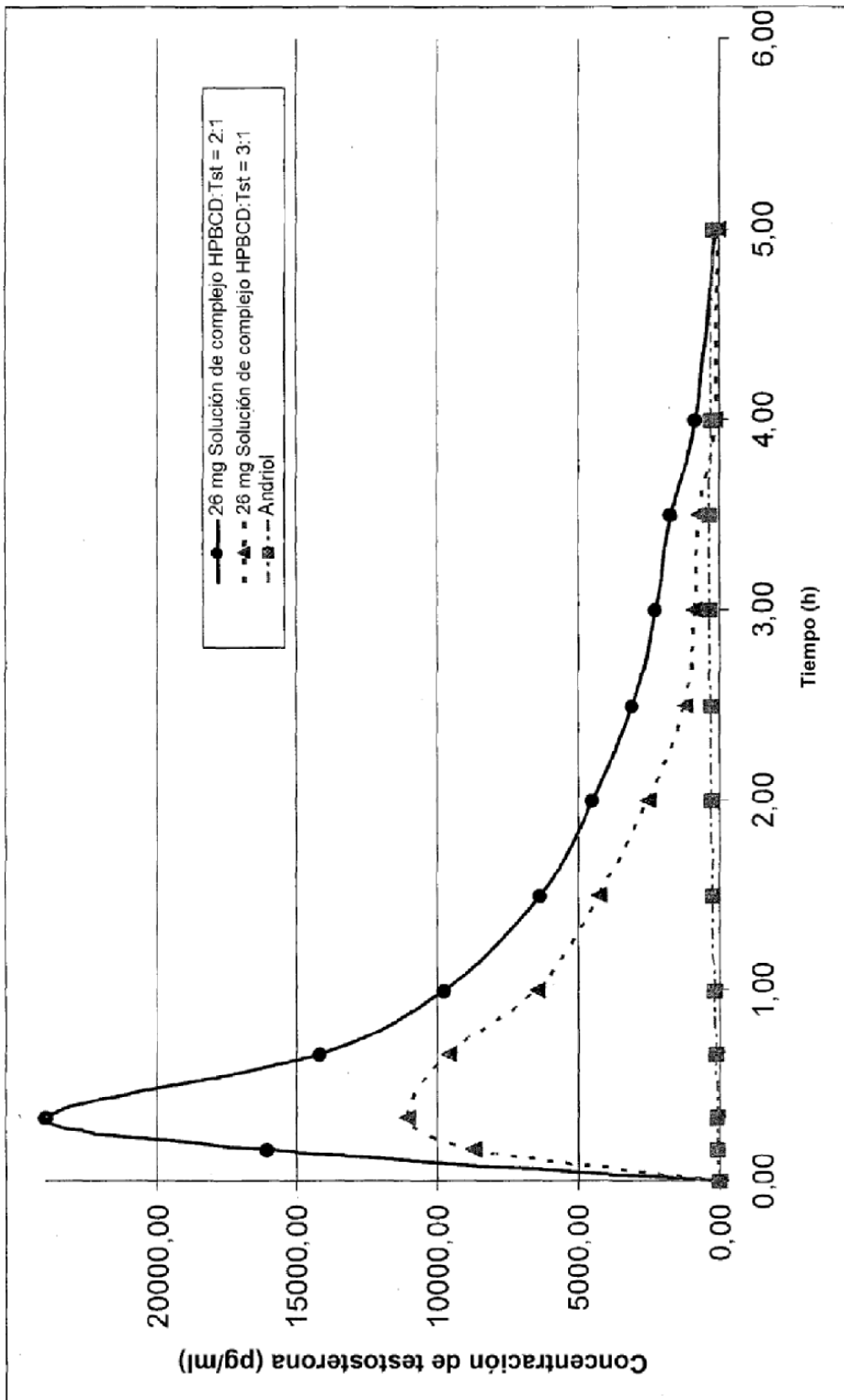


Figura 8

Figura 9.

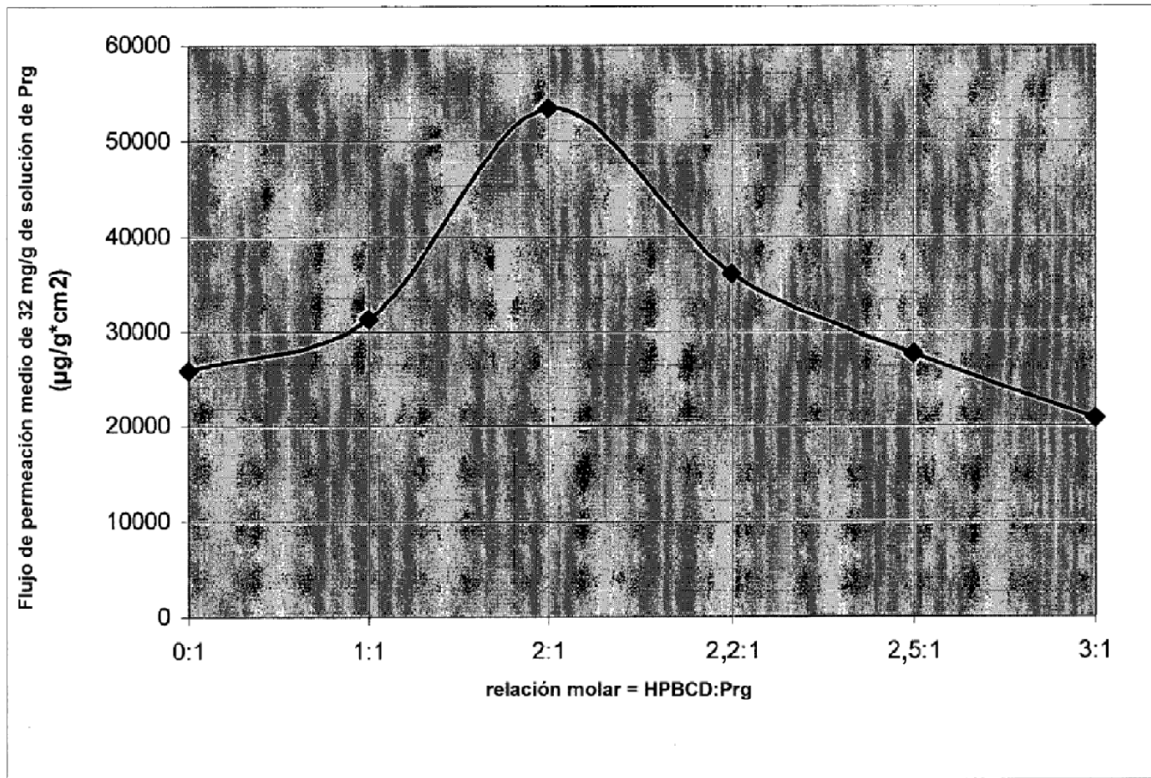


Figura 10.

