(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 727 324**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/06 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
C07K 5/08 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.10.2014** **PCT/EP2014/072957**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015** **WO15067493**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.10.2014** **E 14793825 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2019** **EP 3065756**

(54) Título: **Formulaciones de tripéptidos liofilizados estables en almacenamiento**

(30) Prioridad:

07.11.2013 EP 13191934

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.10.2019

(73) Titular/es:

DR. AUGUST WOLFF GMBH & CO. KG ARZNEIMITTEL (100.0%)
Sudbrackstrasse 56
33611 Bielefeld, DE

(72) Inventor/es:

ABELS, CHRISTOPH;
CHRISTIANS, THORSTEN y
KNIE, ULRICH

(74) Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

Observaciones:

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

ES 2 727 324 T3

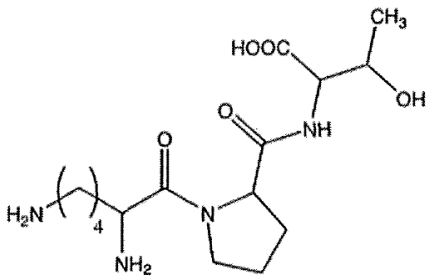
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Formulaciones de tripéptidos liofilizados estables en almacenamiento

La presente invención se refiere a formulaciones liofilizadas de lisil-prolil-treonina, en particular a formulaciones liofilizadas de L-lisil-D-prolil-L-Treonina, que son estables en el almacenamiento, y a un procedimiento para la preparación de las formulaciones liofilizadas. Además, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas y cosméticas que comprenden las formulaciones liofilizadas, que se utilizan en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico, diagnóstico y/o terapia de enfermedades relacionadas con el dolor, enfermedades relacionadas con prurito, enfermedades inflamatorias, y/u otras enfermedades en un mamífero.

El tripéptido lisil-prolil-treonina (KPT, KdPT) tiene una estructura química tal como se muestra en la siguiente fórmula:



Es conocido en la técnica por ser eficaz en el tratamiento de enfermedades inflamatorias (WO 02/064131). La preparación de lisil-prolil-treonina y sus sales se describe por ejemplo en el documento EP 0 335 662 A1. Además, la lisil-prolil-treonina está disponible comercialmente. WO 2013/041719 A1 describe el uso del tripéptido (1) Lys-(d) Pro-(1)Thr (KdPT) para el tratamiento antiapoptótico terapéutico o cosmético. Chien-Hua Niu et al., 1998 (Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 87, no. 11, 1331-1334) describen que los péptidos se formulan a menudo como un sólido mediante liofilización.

Sin embargo, la lisil-prolil-treonina es altamente higroscópica y se degrada fácilmente bajo formación de una lisina-prolina dicetopiperazina. Además, la lisil-prolil-treonina muestra una estabilidad reducida en solución, en particular en solución acuosa, en el que es suficientemente estable durante un máximo de una semana bajo condiciones ambientales. Estos hechos conducen a una estabilidad de almacenamiento reducida de manera significativa no sólo del compuesto *per se*, sino también de medicamentos que lo contienen. Finalmente, se crean preocupaciones significativas con respecto a la seguridad y eficacia de un medicamento que contiene lisil-prolil-treonina como ingrediente activo.

Por lo tanto, existe una necesidad de proporcionar lisil-prolil-treonina que tiene una mayor estabilidad de almacenamiento. En particular, existe una necesidad de proporcionar lisil-prolil-treonina en una forma adecuada para ser administrada como un medicamento que permanece seguro y eficaz durante un período de tiempo prolongado.

El objetivo subyacente de la invención por lo tanto es la provisión de lisil-prolil-treonina estable en almacenamiento y medicamentos que lo contienen que permanecen seguros y eficaces durante un período de tiempo prolongado.

Este objetivo se ha resuelto sorprendentemente de acuerdo con la presente invención, tal como se indica en las reivindicaciones independientes.

En particular, se ha encontrado sorprendentemente por los inventores que la lisil-prolil-treonina en formulaciones liofilizadas (es decir, como un liofilizado) muestra un aumento de la estabilidad de almacenamiento en comparación con lisil-prolil-treonina sola (es decir, forma no liofilizada o liofilizada). Este hallazgo es sorprendente, ya que el liofilizado, que contiene principalmente el ingrediente activo lisil-prolil-Treonina en forma no cristalina debido a la liofilización, es más estable que la lisil-prolil-treonina sola que existe al menos parcialmente en forma cristalina. Este aumento de la estabilidad de almacenamiento es incluso más sorprendente, ya que la lisil-prolil-treonina en formulaciones liofilizadas tiene un área superficial significativamente mayor, de manera que la persona experta en realidad habría esperado una estabilidad de almacenamiento reducida. En otras palabras, era totalmente inesperado en la técnica anterior que las formas no cristalinas de lisil-prolil-treonina que también tienen un área superficial mayor son menos susceptibles a la degradación en lisina-prolina dicetopiperazinas y, en consecuencia, son más estables en el almacenamiento que las formas cristalinas de lisil-prolil-treonina.

Por lo tanto, el objetivo de la presente invención es una formulación liofilizada que comprende lisil-prolil-treonina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, que comprende además uno o más agentes de carga y uno o más agentes tampón, en la que el agente de carga se selecciona del grupo que consiste en manitol, sacarosa y

trehalosa y en el que el agente tampón se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, dihidrogenofosfato de sodio, ácido acético, ácido succínico, glutamato, Tris e histidina.

Además, de acuerdo con la presente invención la formulación liofilizada es para su uso como medicamento, preferiblemente para su uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico, diagnóstico y/o terapia de enfermedades relacionadas con el dolor, enfermedades relacionadas con prurito, enfermedades inflamatorias y/u otras enfermedades.

Aún más, el objeto de la presente invención se refiere a un procedimiento para preparar la formulación liofilizada, y a la formulación liofilizada obtenida mediante dicho procedimiento, en el que el procedimiento comprende las etapas de:
(a) mezclar los siguientes componentes (en cualquier orden adecuado): lisil-prolil-treonina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; un portador acuoso; uno o más agentes de carga, en el que el agente de carga se selecciona del grupo que consiste en manitol, sacarosa y trehalosa; uno o más agentes tampón, en el que el agente tampón se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, dihidrogenofosfato de sodio, ácido acético, ácido succínico, glutamato, Tris e histidina; y opcionalmente uno o más agentes ajustadores del pH; para proporcionar una preparación acuosa que tiene un pH en el intervalo de 3,0-5,0, en el que la base libre de lisil-prolil-treonina tiene una concentración de 0,1 a 175 mg/g, basándose en la preparación acuosa;
(b) liofilizar la preparación acuosa para proporcionar la formulación liofilizada en forma sólida.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a un procedimiento para preparar la formulación liofilizada, y a la formulación liofilizada obtenida mediante dicho procedimiento, en el que el procedimiento comprende las etapas de (en este orden):
(a) mezclar un portador acuoso con uno o más agentes tampón;
(b) añadir lisil-prolil-treonina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma;
(c) añadir uno o más agentes de carga y;
(d) añadir opcionalmente uno o más agentes de ajuste de pH;
para proporcionar una preparación acuosa que tiene un pH en el intervalo de 3,0-5,0, en el que la base libre de lisil-prolil-treonina tiene una concentración de 0,1 a 175 mg/g, basándose en la preparación acuosa;
(e) liofilizar la preparación acuosa para proporcionar la formulación liofilizada en forma sólida.

La preparación acuosa puede ser una suspensión/dispersión o solución. Más preferiblemente, las etapas (a) a (d) de la realización preferida se realizan bajo la disolución de los componentes, de manera que la preparación acuosa final es una solución acuosa.

La etapa de liofilización (e) se puede llevar a cabo en viales, ampollas o en cualquier otro recipiente más grande, tales como bandejas de acero inoxidable o tanques, los llamados "liofilización en masa".

Además, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica o cosmética que comprende la formulación liofilizada y uno o más excipientes farmacéuticos o cosméticos.

Finalmente, la presente invención se refiere al uso no terapéutico de la formulación liofilizada como un cosmético, preferentemente para el tratamiento cosmético de la piel y/o mucosa de un mamífero.

En la presente invención el término "lisil-prolil-treonina" significa el tripéptido que consiste, en este orden, en los aminoácidos lisina (Lys), prolina (Pro) y treonina (Thr) también conocidos como KPT o KdPT (tal como del documento WO 02/064131 o EP 0 335 662). Comprende (L) Lys-(D) Pro-(L) Thr, (L) Lys-(L) Pro-(D) Thr, (L) Lys- (D) Pro-(D) Thr, (L) Lys-(L) Pro-(L) Thr, (D) Lys-(D) Pro-(L) Thr, (D) Lys-(D) Pro-(D) Thr, (D) Lys-(L) Pro-(L) Thr, (D) Lys-(L) Pro-(D) Thr, o cualquiera de sus mezclas. (L) Lys-(D) Pro- (L) Thr es preferente.

De acuerdo con la presente invención, la lisil-prolil-treonina puede estar presente como base libre o en forma de sus sales farmacéuticamente/cosméticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables y/o las sales cosméticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la invención se eligen, por ejemplo, del grupo que consiste en cloruros, bromuros, yoduros, clorhidratos, bromhidratos, sulfonatos, metanosulfonatos, sulfatos, hidrogenosulfatos, sulfitos, hidrogenosulfitos, fosfatos, nitratos, metanoatos, acetatos, propionatos, lactatos, citratos, glutaratos, maleatos, malonatos, malatos, succinatos, tartratos, oxalatos, fumaratos, benzoatos, p-toluenosulfonatos y/o sales de aminoácidos, preferentemente los aminoácidos proteinogénicos. Se prefieren las sales de succinato, tartrato, oxalato, fumarato y acetato. Las sales de acetato son particularmente preferidas. También son adecuados según la invención los solvatos y/o hidratos de los mismos.

La lisil-prolil-treonina o sus sales están presentes en la formulación liofilizada en una cantidad equivalente a 0,1-50 mg de base libre, en base a 100 mg de peso total de la formulación liofilizada. Se prefiere una cantidad equivalente a 0,4-45 mg de base libre, más preferente de 0,4-40 mg de base libre, más preferente de 1-30 mg de base libre, incluso más preferente de 1-25 mg de base libre, en base a 100 mg de peso total de de la formulación liofilizada.

El término "formulación liofilizada/liofilizado" como se usa de acuerdo con la invención generalmente significa una

formulación obtenida mediante cualquier proceso de liofilización y/o secado por congelación conocido en la técnica. Cubre una formulación que comprende lisil-prolil-treonina o sus sales y otros excipientes adecuados.

Como la formulación de acuerdo con la presente invención se liofiliza, la lisil-prolil-treonina o sus sales están presentes principalmente en forma no cristalina (amorfa). La cristalinidad puede determinarse de acuerdo con procedimiento conocidos en la técnica, tales como por difracción de rayos X o DSC.

La estabilidad de almacenamiento de lisil-prolil-treonina o sus sales de acuerdo con la invención se determina midiendo la cantidad de lisina-prolina dicetopiperazina (DKP), siendo el principal producto de degradación la lisil-prolil-treonina. En general, la tasa de aumento con el tiempo de la cantidad de lisina-prolina dicetopiperazina en la formulación liofilizada o en las composiciones farmacéuticas/cosméticas es indicativo de la estabilidad de almacenamiento de lisil-prolil-treonina. Cuanto mayor sea la cantidad de DKP, menos estable en almacenamiento es la lisil-prolil-treonina y/o la formulación que la contiene. La cantidad de lisina-prolina dicetopiperazina se puede determinar mediante procedimientos comunes, tales como por HPLC (en particular HPLC de fase inversa).

Preferiblemente, la formulación liofilizada de acuerdo con la presente invención comprende, como excipientes más adecuados, uno o más agentes de carga y/o uno o más agentes tamponantes y, opcionalmente, uno o más agentes de ajuste de pH. La presencia de un agente de carga y/o un agente tampón aumenta aún más la estabilidad de almacenamiento de lisil-prolil-treonina en la formulación liofilizada. El agente de ajuste de pH opcional, además, permite regular el valor del pH de la formulación dentro de un intervalo específico de pH, preferiblemente de pH 3-5. Esto conduce a un aumento adicional de la estabilidad de almacenamiento.

Los agentes de carga de acuerdo con la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en manitol, sacarosa y trehalosa, o mezclas de los mismos, en particular una mezcla de manitol y trehalosa. Lo más preferente es trehalosa (por ejemplo, en forma de su dihidrato). Las cantidades adecuadas de agente de carga son de 30-95 mg, preferiblemente 40-90 mg, y más preferiblemente 40-75 mg, basado en 100 mg de peso total de la formulación liofilizada.

Los agentes tamponantes de acuerdo con la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en ácido cítrico, dihidrogenofosfato de sodio, ácido acético, ácido succínico, glutamato, tris(hidroximetil)aminometano (Tris) e histidina, y mezclas de los mismos. Particularmente preferidos son ácido cítrico, dihidrogenofosfato de sodio e histidina, el más preferente es el ácido cítrico. Las cantidades adecuadas de agente tampón son 0,5-50 mg, preferiblemente 1-20 mg, más preferiblemente 2-18 mg, y aún más preferiblemente 5-15 mg, en base a 100 mg de peso total de la formulación liofilizada.

El agente de ajuste del pH de acuerdo con la presente invención se selecciona preferiblemente de hidróxido de sodio y ácido clorhídrico. Permite mantener el pH en un valor determinado. Desde un punto de vista de la estabilidad de almacenamiento, el valor de pH de la formulación liofilizada es preferiblemente de 3,0-5,0, más preferiblemente de 3,5 a 4,5. Fuera de estos intervalos la estabilidad de almacenamiento disminuye significativamente. Las cantidades adecuadas de agente de ajuste del pH para el ajuste de los valores de pH anteriores se pueden determinar fácilmente por la persona experta,

Una realización particularmente preferida de acuerdo con la presente invención es la combinación de (L) Lys-(D) Pro-(L) Thr (preferiblemente como acetato), trehalosa o una mezcla de trehalosa y manitol como agente de carga y ácido cítrico como agente tamponante. El liofilizado puede consistir en sólo estos componentes.

Los compuestos según la invención se pueden preparar mediante un procedimiento que comprende mezclar, en cualquier orden, lisil-prolil-treonina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, un portador acuoso, opcionalmente uno o más agentes de carga, opcionalmente uno o más agentes tampón, y opcionalmente uno o más agentes de ajuste de pH, para proporcionar una preparación acuosa, seguido por la liofilización de la preparación acuosa para proporcionar la formulación liofilizada en forma sólida. Preferiblemente, se mezcla primero un portador acuoso con uno o más agentes tampón; a continuación, se añade lisil-prolil-treonina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma a la mezcla, seguido por la adición de uno o más agentes de carga. La preparación acuosa obtenida en la etapa de mezcla por lo general tiene un pH en el intervalo de 3,0-5,0, preferiblemente en el intervalo de 3,5 a 4,5, más preferiblemente de 3,8 a 4,2. Si es necesario, se añaden uno o más agentes de ajuste de pH para ajustar el pH a los valores mencionados anteriormente. En la preparación acuosa, la concentración (calculada como la base libre) de lisil-prolil-treonina está dentro del intervalo de 0,1 a 175 mg/g, preferiblemente de 0,5 a 150 mg/g, más preferiblemente de 1 a 140 mg/g, más preferiblemente de 2 a 100 mg/g, más preferiblemente de 2 a 70 mg/g, incluso más preferiblemente de 4 a 20 mg/g, basado en la preparación acuosa. Además, si está presente, en la preparación acuosa, la concentración del agente de carga está dentro del intervalo de 50-175 mg/g, preferiblemente de 50-150 mg/g, más preferiblemente de 50-140 mg/g, más preferiblemente de 50-95 mg/g, más preferiblemente de 52-80 mg/g, incluso más preferiblemente de 55-75 mg/g, basado en la preparación acuosa. Además, si está presente, en la preparación acuosa, la concentración del agente tampón está dentro del intervalo de 1-100 mg/g, preferiblemente de 2-75 mg/g, más preferiblemente de 2,5-40 mg/g, más preferiblemente de 2,5-20 mg/g, más preferiblemente de 3-15 mg/g, incluso más preferiblemente de 3,5-9,5 mg/g, basado en la preparación acuosa.

Los portadores acuosos según la presente invención son los conocidos en la técnica anterior como adecuados en los procesos de liofilización. Los portadores acuosos preferidos son agua y mezclas de agua con disolventes orgánicos adecuados, tales como alcoholes (por ejemplo, etanol y/o n-propanol o isopropanol).

La liofilización de acuerdo con la presente invención puede llevarse a cabo en liofilizadores convencionales (tales como los de Hof Sonderanlagenbau, Lohra/Alemania) utilizando condiciones convencionales o en liofilizadores dinámicos (tales como los de Meridion Technologies, Müllheim/Alemania). Los liofilizados pueden ser analizados mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para evaluar su estructura, y se puede determinar el contenido total de agua de los liofilizados mediante valoración colorimétrica de Karl-Fischer. El análisis de pureza se puede realizar mediante RP HPLC.

La formulación liofilizada de acuerdo con la presente invención puede ser reconstituida con un portador acuoso para formar una preparación acuosa adecuada para ser administrada como medicamento o cosmético. La preparación acuosa obtenida puede ser una solución o una suspensión, preferiblemente una solución acuosa. La reconstitución preferiblemente se lleva a cabo mediante la mezcla de la formulación liofilizada sólida con el portador acuoso. Con especial preferencia, la reconstitución se realiza inmediatamente antes de la administración de la preparación acuosa resultante a un paciente en necesidad de la misma. El factor de reconstitución se define como la relación de la cantidad de la formulación liofilizada (liofilizado) y la cantidad de portador acuoso. Es preferiblemente entre 1:0,5 y 1:1.000, más preferiblemente de 1:5 a 1:100 y la más preferiblemente entre 1:10 y 1:60. Los portadores acuosos utilizados para la reconstitución pueden ser una solución acuosa que puede contener otros excipientes convencionales farmacéuticamente aceptables, tales como agentes aromatizantes, agentes de ajuste del pH y/o conservantes. El más preferente para la reconstitución del liofilizado es el agua. De acuerdo con la invención, la mejora de la estabilidad del liofilizado sólido (indicado por una menor cantidad de DKP, tal como se explica en el presente documento) también conduce a una estabilidad y calidad mejoradas de la preparación acuosa que contiene también la cantidad disminuida de DKP en comparación con soluciones de KdPT del estado de la técnica.

La reconstitución de la formulación liofilizada preferiblemente se realiza inmediatamente antes de la administración a un paciente, es decir, de 10 segundos a 20 minutos antes de la administración, preferiblemente de 1 a 10 minutos antes de la administración, más preferiblemente de 2 a 5 minutos antes de la administración.

En lugar de la reconstitución, la formulación liofilizada se puede utilizar alternativamente como tal o mezclarse con una o más sustancias portadoras (sólidas) o excipientes farmacéuticos/sustancias auxiliares adicionales para proporcionar una composición farmacéutica (sólido).

La formulación liofilizada según la presente invención pueden usarse como un medicamento, preferiblemente para el uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico, diagnóstico y/o terapia de enfermedades elegidas del grupo que comprende o que consiste en enfermedades relacionadas con el dolor, enfermedades relacionadas con prurito, enfermedades inflamatorias y/u otras enfermedades.

La presente invención también proporciona el uso de la formulación liofilizada de acuerdo con la invención para la preparación de un medicamento para tratamiento terapéutico y/o profiláctico, diagnóstico y/o terapia de enfermedades elegidas del grupo que comprende o que consiste en enfermedades relacionadas con el dolor o prurito, enfermedades inflamatorias y/o otras enfermedades.

La formulación liofilizada de acuerdo con la invención puede ser utilizada por sí misma o en combinación con sustancias conocidas para el tratamiento de enfermedades elegidas del grupo que comprende enfermedades relacionadas con el dolor o prurito, enfermedades inflamatorias y/u otras enfermedades.

Las enfermedades relacionadas con el dolor se seleccionan del grupo que comprende dolor de espalda, dolor facial, dolor de cabeza, migraña, dolor en las articulaciones, síndromes del dolor muscular, enfermedades inflamatorias relacionadas con el dolor, dolor neuropático, dolor periférico, daño nervioso periférico, dolor visceral, dolor abdominal, síntomas de menstruación, dolor de riñón y por cálculos biliares, prurito, dolor por cáncer y dolor tumoral, dolor simpático, dolor postoperatorio, dolor postraumático, hiperalgesia y/o dolor inflamatorio.

Las enfermedades inflamatorias se seleccionan del grupo que comprende enfermedades inflamatorias del tracto gastrointestinal, en particular, enfermedades inflamatorias intestinales, tales como la enfermedad de Crohn y/o colitis ulcerosa, cambios inflamatorios agudos o crónicos con inflamación de la vesícula biliar, pseudopólipos inflamatorios, colitis quística profunda, neumatosis cistoide intestinal, pancreatitis, apendicitis, inflamación cardiovascular debido a arteriosclerosis, isquemia, reestenosis y/o vasculitis, sepsis, septicemia, alergias, asma, síndrome de Sjogren, inflamación pulmonar, inflamación crónica de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), proliferación tumoral, metástasis tumoral, rechazo de trasplantes, enfermedades inflamatorias de las articulaciones, tales como artritis reumatoide, vulvovaginitis (todas las causas) y/o enfermedades inflamatorias del cerebro, piel, folículo piloso, tracto urogenital y de los ojos. Otras enfermedades inflamatorias comprenden sinusitis, tenosinovitis, bursitis, tendinitis, epicondilitis lateral, capsulitis adhesiva, osteomielitis, inflamación osteoartrítica, inflamación ocular, inflamación ótica e inflamación autoinmune.

El prurito (picazón) es un síntoma frecuente en terapia de la piel convencionalmente experimentado como un tipo de estímulo del dolor. La sensación de picor provoca el deseo de rascarse en el área afectada. La piel dañada por el rascado ofrece además a los patógenos infecciosos un buen medio de cultivo y las inflamaciones de las zonas abiertas rascadas de la piel no son infrecuentes. Enfermedades pruriginosas de la piel y del pelo se eligen del grupo que comprende prurito, psoriasis, artritis psoriática, dermatitis de contacto, eczema atópico, la esclerodermia y otras enfermedades fibróticas, lupus eritematoso sistémico, urticaria, liquen plano, linfoma y/o enfermedades alérgicas o caracterizadas por la implicación de mastocitos.

Las enfermedades en el sentido de la presente invención comprenden también otras enfermedades, tales como la hiponatremia, edema, íleo, tussis, glaucoma, EM (esclerosis múltiple), enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer.

Los órganos implicados en las enfermedades relacionadas con el dolor o el prurito y/o enfermedades inflamatorias son en particular los llamados órganos de barrera, es decir, el tracto gastrointestinal, piel, pulmón, tracto urogenital; el cerebro; el tracto nariz-oído-garganta; dientes; huesos; hígado; y cabello. Las realizaciones particularmente preferidas de la invención se refieren al tratamiento de las enfermedades de los órganos de barrera.

Las enfermedades del tracto gastrointestinal se eligen del grupo que comprende el síndrome del intestino irritable, lesiones gástricas, úlceras gastrointestinales, daño exógeno y endógeno a la mucosa gastrointestinal, el mal funcionamiento del tracto gastrointestinal, adenomas, en particular en el intestino, y/o pólipos juveniles.

Las enfermedades del pulmón (enfermedades respiratorias) incluyen enfermedad pulmonar inflamatoria, enfermedades pulmonares obstructivas, tales como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades pulmonares restrictivas, infecciones de las vías respiratorias, tales como infección del tracto respiratorio superior, infección del tracto respiratorio inferior, tumores malignos y tumores benignos, enfermedades de la cavidad pleural, enfermedades vasculares pulmonares y enfermedades neonatales.

Las enfermedades del tracto urogenital incluyen nefropatía analgésica, cáncer de vejiga, cistocele (vejiga caída), enfermedad renal en etapa terminal (ESRD), glomerulonefritis, glomeruloesclerosis, síndrome de Goodpasture, hematuria (sangre en la orina), síndrome urémico hemolítico, nefropatía por inmunoglobulina A (IgA), impotencia/disfunción eréctil, cistitis intersticial, cáncer de riñón, cálculos renales, trasplante de riñón, infertilidad de factor masculino, síndrome nefrótico, vejiga neurogénica, enfermedad de Peyronie y enfermedad renal poliquística.

Otras enfermedades que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención se describen en US 2011/0212882 A1 que se incorporan en este documento por referencia.

Preferiblemente, la formulación liofilizada y las composiciones farmacéutica o cosmética que contienen la formulación liofilizada se utilizan para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades inflamatorias de la piel, de enfermedades inflamatorias del tracto gastrointestinal, de enfermedades inflamatorias de los vasos (sanguíneos), de la inflamación autoinmune, reacciones alérgicas y/o rechazos de trasplantes.

La formulación liofilizada de acuerdo con la presente invención puede también ser utilizada como un cosmético, a saber para el tratamiento no terapéutico/cosmético de la piel y/o mucosa de un mamífero.

La formulación liofilizada, ya sea en forma sólida o en forma reconstituida, de acuerdo con la invención o las composiciones que contienen la formulación liofilizada se puede administrar por vía sistémica o tópica. Preferiblemente, la formulación liofilizada o composiciones de acuerdo con la invención se administran sistémicamente en sólido (ya sea como tales o mezcladas con una o más sustancias portadoras (sólidas) o excipientes/sustancias auxiliares farmacéuticas adicionales), o en forma reconstituida, en particular en forma de una solución o suspensión acuosa.

En el contexto de la presente invención, el término "tratamiento profiláctico" se entiende que significa, en particular, que la formulación liofilizada de acuerdo con la invención se puede administrar antes de que aparezcan los síntomas de una enfermedad o existe el riesgo de una enfermedad.

La formulación liofilizada, ya sea en forma sólida o como una formulación liofilizada reconstituida, preferiblemente en forma de una solución o suspensión acuosa, de acuerdo con la invención, se puede administrar de acuerdo con procedimientos convencionales, por ejemplo por vía oral, dérmica, intranasal, transmucosa, pulmonar, enteral, bucal, rectal, intrauretral, aural, mediante inhalación, por medio de inyección, por ejemplo, por vía intravenosa, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, subcutánea y/o intramuscular y/o local, por ejemplo, en zonas dolorosas del cuerpo. La administración oral y la administración por inyección son particularmente preferentes. La más preferente es la administración oral.

La formulación liofilizada de acuerdo con la invención se puede utilizar, en particular, para la preparación de medicamentos (composiciones farmacéuticas) creando una forma de dosificación adecuada junto con al menos una sustancia portadora o sustancia auxiliar. Como se mencionó anteriormente, una forma preferida de acuerdo con la

invención es la forma reconstituida con un portador acuoso. En general, las formas adecuadas son, por ejemplo, soluciones para inyección, gotas, jugos, jarabes, pulverizaciones, suspensiones, comprimidos, parches, cápsulas, emplastos, supositorios, pomadas, cremas, lociones, geles, emulsiones, aerosoles o en forma multiparticulada, por ejemplo en forma de pélets o gránulos. También se pueden usar como bolsas de tubo o bolsitas.

Las formas de dosificación farmacéuticas con liberación retardada (formulación de liberación sostenida) se prefieren, además, para la administración oral de los compuestos de acuerdo con la invención. Ejemplos de formulaciones con liberación retardada son los comprimidos de matriz de liberación retardada, comprimidos de capas múltiples, el recubrimiento de los cuales puede ser, por ejemplo, construido para ser resistente a los jugos gástricos, tales como recubrimientos a base de goma laca, cápsulas o formulaciones de liberación sostenida que utilizan polímeros biodegradables, por ejemplo, polímeros de poli(ácido láctico). Sustancias auxiliares farmacéuticas o cosméticas fisiológicamente aceptables convencionales elegidos preferentemente del grupo que comprende materiales portadores, materiales de relleno, disolventes, diluyentes, agentes humectantes, emulsionantes, colorantes, conservantes, agentes disgregantes, lubricantes, sales para influir en la presión osmótica, sustancias tampón, aromas y/o aglutinantes, se pueden añadir a la formulación liofilizada (ya sea a la forma sólida o a la preparación acuosa reconstituida) y por lo tanto, se pueden utilizar para la preparación de las composiciones farmacéuticas y cosméticas.

La formulación liofilizada (y las composiciones farmacéuticas que la contienen) de acuerdo con la invención pueden administrarse a los pacientes en necesidad de la misma, por ejemplo, una o más veces al día, dependiendo entre otras cosas de la forma real de dosificación farmacéutica, la forma de administración y la enfermedad a ser tratada.

A continuación, la presente invención se describe con más detalle haciendo referencia a ejemplos específicos.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra imágenes de Microscopía Electrónica de Barrido de liofilizados obtenidos mediante liofilización de preparaciones acuosas que contienen 4 mg/g, 10 mg/g y 20 mg/g de base KDTP, respectivamente. Las tres imágenes en la fila superior se obtuvieron con 100 aumentos; las tres imágenes en la fila inferior se obtuvieron con 500 aumentos. Las imágenes muestran la forma no cristalina (amorfa) de los liofilizados que tienen una estructura similar a una esponja.

La Figura 2 muestra imágenes de microscopía óptica de KdPT-acetato solo en forma cristalina.

EJEMPLOS

1. Preparación del liofilizado formulación de la invención

Aproximadamente el 60% del agua para inyección requerida (WFI; 18 – 22ºC) se transfirió a un vaso de precipitados de vidrio. La cantidad requerida de monohidrato de ácido cítrico se transfirió al vaso de precipitados y se disolvió agitando constantemente. La cantidad requerida del ingrediente activo KdPT-acetato se transfirió al vaso de precipitados y se disolvió agitando constantemente. La cantidad requerida de dihidrato de trehalosa se transfirió al vaso de precipitados y se disolvió agitando constantemente. El valor del pH se midió y se corrigió, si es necesario, con una solución de hidróxido de sodio 1 M hasta pH 3,8-4,2. Los valores por encima de 4,2 no se corrigieron. La formulación se llenó con WFI hasta el peso final. El valor del pH se comprobó y se corrigió, si era necesario, con solución de hidróxido de sodio 1 M hasta pH 3,8-4,2. Los valores por encima de 4,2 no se corrigieron. La filtración con un filtro de 0,2 micras de PTFE. Las composiciones detalladas de preparaciones acuosas formuladas son las siguientes:

Tabla 1

	20 mg/g
Base libre de KdPT	20,0 mg
Monohidrato de ácido cítrico	9,2 mg
Dihidrato de trehalosa	55,26 mg
Solución de hidróxido de sodio 1M	c.s.
Agua para la inyección	ad 1000,0 mg

Tabla 2

	10 mg/g
Base libre de KdPT	10,0 mg
Monohidrato de ácido cítrico	9,2 mg
Dihidrato de trehalosa	55,26 mg
Solución de hidróxido de sodio 1 M	c.s.

Agua para la inyección	ad 1000,0 mg

Tabla 3

	4 mg/g
Base libre de KdPT	4,0 mg
Monohidrato de ácido cítrico	9,2 mg
Dihidrato de trehalosa	55,26 mg
Solución de hidróxido de sodio 1 M	c.s.
Agua para la inyección	ad 1000,0 mg

Los viales se lavaron en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos en agua pura. Después, los viales se secaron y despirogenizaron a 300ºC durante 2 horas. Después de enfriarse, los viales se llenaron con la preparación acuosa que se indica en las Tablas 1-3 más arriba mediante pipeteo, y los tapones se fijaron en la posición de liofilización. Los viales llenos se transfirieron en el liofilizador (de Hof Sonderanlagenbau). Un escudo térmico de dos líneas de viales vacíos se introdujo para reducir al mínimo las influencias de temperatura externa sobre los viales llenos durante la liofilización. Se liofilizaron las soluciones en los viales. Posteriormente, la cámara de liofilización se ventiló a 500 mbar con nitrógeno y se cerraron los viales. Después de ventilar hasta presión atmosférica, los viales se taparon y se almacenaron a 5ºC.

Los datos del proceso de la liofilización, por ejemplo, presión y temperatura de la bandeja, se registraron mediante un ordenador de control y se visualizaron en un gráfico. El control con termopar dentro de los viales durante el proceso de liofilización ayudó a detectar el tiempo de secado necesario.

Los liofilizados se examinaron en los viales de vidrio. En los desarrollo, los liofilizados se extrajeron del vial y se rompieron en sección radial para inspeccionar el interior.

Los liofilizados se analizaron a través de SEM para evaluar su estructura. Con SEM es posible detectar defectos menores de liofilizados que no son visibles a simple vista. Los liofilizados se rompieron y la rotura vertical se pulverizó con una capa delgada de oro en una atmósfera de argón de 10^{-1} mbar a una corriente de pulverización catódica de 20 mA durante 30 segundos. La distancia entre la muestra y la fuente de oro era de aproximadamente 8 cm. El análisis mediante SEM se realizó con 50x, 100x, 250x y 500x aumentos. Algunos de los resultados se muestran en la Figura 1.

2. Medición de la estabilidad de formulación liofilizada de la invención

La estabilidad de los tres liofilizados de la invención obtenidos a partir de las preparaciones acuosas en las Tablas 1-3 (Ejemplo 1: 20 mg/g, Ejemplo 2: 10 mg/g y Ejemplo 3: 4 mg/g), tal como se ha descrito anteriormente en 1, se determina midiendo en los mismos la cantidad de lisina-prolina dicetopiperazina (DKP) mediante HPLC durante un período de almacenamiento de 24 meses a 25ºC. Los resultados se muestran en la Tabla 4. Para fines comparativos, la misma medición se realizó con el compuesto KdPT sólido solo. Los resultados se muestran en la Tabla 5. La cantidad de DKP en todos los ejemplos y los ejemplos comparativos se encuentra en correlación con la estabilidad de KdPT, es decir, cuanto mayor es la cantidad de DKP, menos estable es la KdPT.

La medición de HPLC se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones:

Columna: Synergi Hydro RP (4 µm) 80 Å 250 x 4,6 mm
Eluente: A: ácido perclórico en agua
B: ácido perclórico en agua/acetonitrilo

Gradiente:

Tiempo (min)	Eluente A (%)	Eluente B (%)
0	100	0
30	98	2
42	98	2
52	0	100
62	100	0
72	100	0

Volumen de inyección: 25 µl
Flujo: 1,0 ml/min
Temperatura del horno: 30ºC
Temperatura del tomador de muestras: 5°C

Detección: UV 220 nm

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 4: (ejemplos de la invención 1-3)

Ejemplo 1	**0 meses**	**3 meses**	**6 meses**	**9 meses**	**12 meses**	**18 meses**	**24 meses**
	0,4	**0,5**	**0,5**	**0,5**	**0,5**	**0,6**	**0,8**
Ejemplo 2	**0 meses**	**3 meses**	**6 meses**	**9 meses**	**12 meses**	**18 meses**	**24 meses**
	0,4	**0,4**	**0,4**	**0,5**	**0,6**	**0,6**	**0,6**
Ejemplo 3	**0 meses**	**3 meses**	**6 meses**	**9 meses**	**12 meses**	**18 meses**	**24 meses**
	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	0,4

Los datos obtenidos son valores de % de DKP en base a la cantidad de base libre de KdPT.

Es evidente a partir de la Tabla 4 que las cantidades de DKP medidas durante un periodo de tiempo de 24 meses permanecen casi constantes en todos los Ejemplos 1-3 (Ej 1: 0,4 a 0,8%; Ej 2: 0,4 a 0,6%; Ej. 3: 0,4 a 0,4%). Estos resultados muestran claramente la estabilidad de almacenamiento de KdPT en forma de liofilizados según la invención.

Tabla 5: (ejemplo comparativo 1)

Ej. Comparativo 1	**0 meses**	**3 meses**	**6 meses**	**9 meses**	**12 meses**	**18 meses**	**24 meses**
(%)	0,7	1,7	2,1	2,4	3,9	3,6	4,5

Los datos obtenidos son valores de % de DKP en base a la cantidad de base libre de KdPT.

Resulta evidente a partir de la Tabla 5 que las cantidades de DKP medidas durante un periodo de tiempo de 24 meses aumentaron significativamente en el ejemplo comparativo 1 (Ej. Comp 1: de 0,7 a 4,5%). Además, el polvo de color blanco después de 12 meses se volvió amarillento, lo que muestra el aumento de las cantidades de impurezas de DKP tras la degradación gradual de KdPT. Estos resultados muestran claramente una estabilidad de almacenamiento reducida del compuesto sólido KdPT de acuerdo con la técnica anterior.

3. Compresión directa (Ejemplo Comparativo 2)

3.1 Proceso

En lugar de la liofilización, se llevó a cabo una compresión directa de KdPT con excipientes adecuados. Para la compresión directa, se fabrica una mezcla final que contiene KdPT, excipientes para la compresión directa, disgregantes y agente deslizante/lubricantes (véase más adelante). A continuación, esta formulación se comprimió en una prensa excéntrica utilizando punzones de 9 mm de diámetro (convexos) al peso respectivo.

3.2 Formulaciones

Las pruebas de compresión directa (DC) se realizaron utilizando diferentes excipientes utilizados normalmente para la compresión directa. Se utilizaron los siguientes excipientes de DC:

MCC 101 (celulosa microcristalina)
Sorbitol DC
Galen IQ 720 (isomalt)
Trehalosa
Manitol 200 DC

Estos excipientes se utilizaron en aproximadamente la cantidad de 3 a 4 veces en comparación con KdPT. Además, se añadieron dióxido de silicio y estearato de magnesio a la mezcla final para la compresión en las cantidades habituales. Se añadió un disgregante (croscarmelosa) a la formulación para lograr un tiempo de disgregación satisfactorio. La masa de comprimido objetivo fue para todas las formulaciones de aproximadamente 250 - 270 mg.

Las formulaciones se recubrieron adicionalmente para aumentar la estabilidad de KdPT en el comprimido acabado. Como polímero de recubrimiento se utilizó PVA (alcohol de polivinilo). La calidad utilizada fue el blanco Opadry II de sistema listo para su uso de Colorcon. La cantidad de polímero aplicado fue de aproximadamente 4%, que es la cantidad habitual de recubrimiento aplicada para lograr una capa resistente al vapor de agua.

Los ensayos de recubrimiento se realizaron utilizando el recubridor de laboratorio Glatt GC 300 para un tamaño de lote de aproximadamente 1,2 a 1,4 kg.

El siguiente ejemplo de comprimido fue fabricado por compresión directa siguiendo el proceso como se describe anteriormente. Además, se aplicó un recubrimiento en la base de PVA (es decir, blanco Opadry II de sistema listo para su uso) como barrera del vapor de agua.

Tabla 6

Compuesto	Función	Cantidad mg/unidad
KdPT	API	63,61*
MCC 101	Carga	177,89
Syloid AL-1	Deslizante	12,5
Estarato de Mg	Lubricante	1,5
Croscarmelosa	Disgregante	13,0
Syloid 244 FP	Deslizante	1,5
Núcleo total		270,0
Recubrimiento		
Sistema de recubrimiento de blanco Opadry II		11,0
Total		281,0
*correspondiente a 50 mg de base libre de KdPT		

Las muestras se envasaron en una ampolla Alu/Alu bajo condiciones climáticas controladas.

3.3 Resultados

Las formulaciones que contienen MCC 101, sorbitol DC y Galen IQ 720 (isomalt) mostraron propiedades satisfactorias de compresión durante la compresión directa. La trehalosa no era compresible (sin conseguir una dureza satisfactoria del comprimido). Los comprimidos acabados a base de sorbitol, isomalt y MCC pueden ser comprimidos con una resistencia al aplastamiento en el intervalo de 50 - 80 N o incluso más. El tiempo de disgregación para todas las formulaciones no fue de más de 5 minutos. El comprimido con la estabilidad más elevada es el que utiliza MCC 101, tal como se indica en la Tabla 6 anterior.

Tabla 7:

Ej. Comparativo 2	0 meses	0,5 meses	1 mes	3 meses
(%)	0,35	0,49	0,62	1,19

Los datos obtenidos son valores de % de DKP en base a la cantidad de base libre de KdPT.

Resultante evidente a partir de la Tabla 7 que las cantidades de DKP medidas durante un período de tiempo de 3 meses aumentó significativamente en el Ejemplo Comparativo 2 (Ej Comp 2: 0,35 a 1,19% incluso después de 3 meses). Estos resultados muestran claramente la estabilidad de almacenamiento reducida de la formulación de KdPT no liofilizada, a pesar de un recubrimiento aplicado.

4. Preparación de una composición farmacéutica

Los liofilizados de los Ejemplos 1-3 obtenidos, tal como se describe bajo el punto 1 anterior, se reconstituyen mediante la adición de 5 ml de WFI para formar soluciones acuosas, respectivamente, por ejemplo, para la administración oral. Si se desea, otros excipientes convencionales farmacéuticamente aceptables, tales como agentes aromatizantes, agentes de ajuste del pH y/o conservantes, se pueden añadir a la solución acuosa o, alternativamente, a la WFI antes de la reconstitución.

REIVINDICACIONES

1. Formulación liofilizada que comprende lisil-prolil-treonina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, que comprende además uno o más agentes de carga y uno o más agentes tampón, en la que el agente de carga se selecciona del grupo que consiste en manitol, sacarosa y trehalosa y en la que el agente tampón se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, dihidrogenofosfato de sodio, ácido acético, ácido succínico, glutamato, Tris e histidina.

2. Formulación liofilizada, según la reivindicación 1, que comprende además uno o más agentes de ajuste de pH.

3. Formulación liofilizada, según la reivindicación 1 y/o la reivindicación 2, que se puede obtener mediante liofilización de una preparación acuosa que tiene un pH de 3,0-5,0, en la que la preparación acuosa comprende:
(i) lisil-prolil-treonina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que la base libre tiene una concentración de 0,1 a 175 mg/g, basado en la preparación acuosa,
(ii) portador acuoso,
(iii) uno o más agentes de carga, en la que el agente de carga se selecciona del grupo que consiste en manitol, sacarosa y trehalosa, y
(iv) uno o más agentes tampón, en la que el agente tampón se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, dihidrogenofosfato de sodio, ácido acético, ácido succínico, glutamato, Tris e histidina.

4. Formulación liofilizada, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la lisil-prolil-treonina es (L) Lys-(D) Pro-(L) Thr, (L) Lys-(L) Pro-(D) Thr, (L) Lys-(D) Pro- (D)Thr, (L) Lys-(L) Pro-(L) Thr, (D) Lys-(D) Pro-(L) Thr, (D) Lys-(D) Pro-(D) Thr, (D) Lys-(L) Pro-(L) Thr, (D) Lys-(L) Pro-(D) Thr, o mezclas de las mismas.

5. Formulación liofilizada, según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en la que el agente de ajuste de pH es un ácido o una base que mantiene un valor de pH a 3,0-5,0 seleccionado de hidróxido de sodio y ácido clorhídrico.

6. Formulación liofilizada, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para usar como medicamento.

7. Formulación liofilizada, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para usar en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de enfermedades elegidas del grupo que comprende enfermedades relacionadas con el dolor, enfermedades relacionadas con prurito, enfermedades inflamatorias y/u otras enfermedades seleccionadas de hiponatremia, edema, íleo, tussis, glaucoma, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer.

8. Formulación liofilizada para usar, según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, en la que la formulación liofilizada se administra a un paciente en forma sólida, o en la que la formulación liofilizada sólida se reconstituye con un portador acuoso para formar una preparación acuosa, siendo la preparación acuosa administrada posteriormente a un paciente.

9. Procedimiento para preparar la formulación liofilizada, tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende las etapas de:
(a) mezclar en cualquier orden los siguientes componentes:

(i) lisil-prolil-treonina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma,
(ii) un portador acuoso,
(iii) uno o más agentes de carga, seleccionados de entre manitol, sacarosa y trehalosa
(iv) uno o más agentes tampón seleccionados del grupo que consiste en ácido cítrico, dihidrogenofosfato de sodio, ácido acético, ácido succínico, glutamato, Tris e histidina, y
(v) si está presente, uno o más agentes de ajuste de pH;

para proporcionar una preparación acuosa que tiene un pH en el intervalo de 3,0-5,0, en el que la base libre de lisil-prolil-treonina tiene una concentración de 0,1 a 175 mg/g, basado en la preparación acuosa,
(b) liofilizar la preparación acuosa para proporcionar la formulación liofilizada en forma sólida.

10. Composición farmacéutica que comprende la formulación liofilizada, tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y uno o más excipientes farmacéuticos.

11. Composición cosmética que comprende la formulación liofilizada, tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y uno o más excipientes cosméticos.

12. Uso no terapéutico de la formulación liofilizada, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, como cosmético.

13. Uso no terapéutico de la formulación liofilizada, según la reivindicación 12, para el tratamiento cosmético de la piel y/o mucosa de un mamífero.

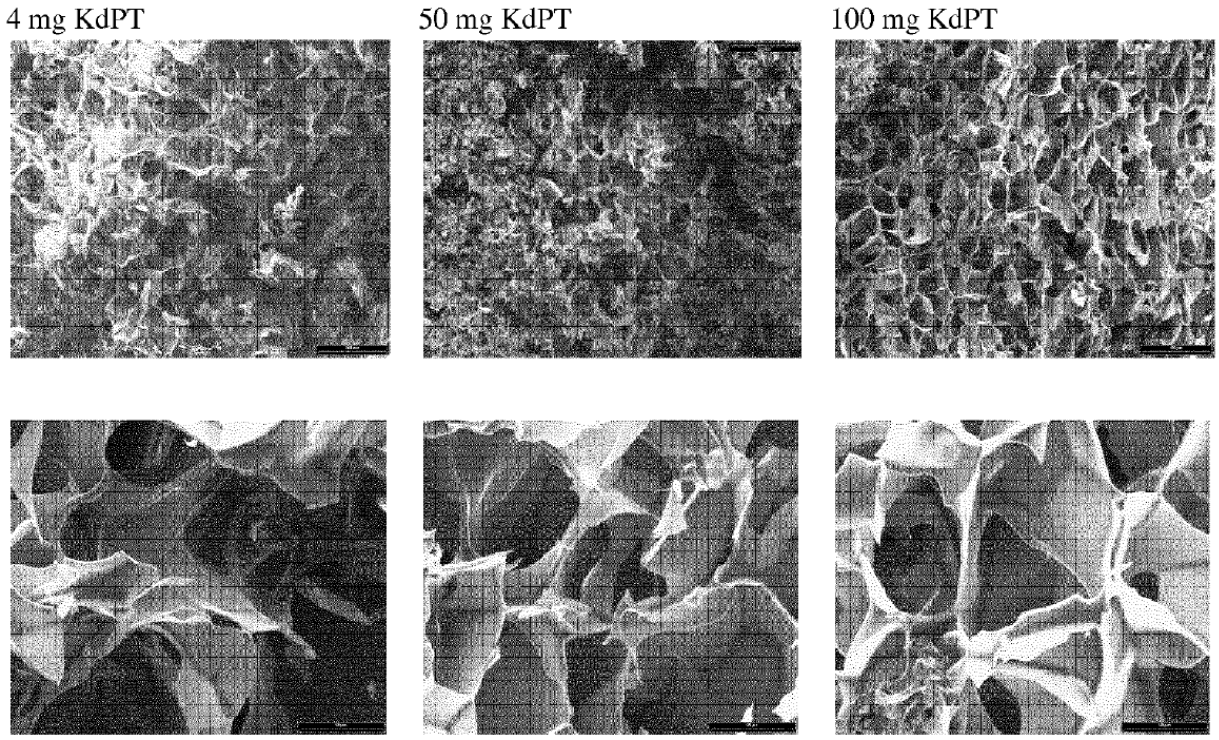


Figura 1

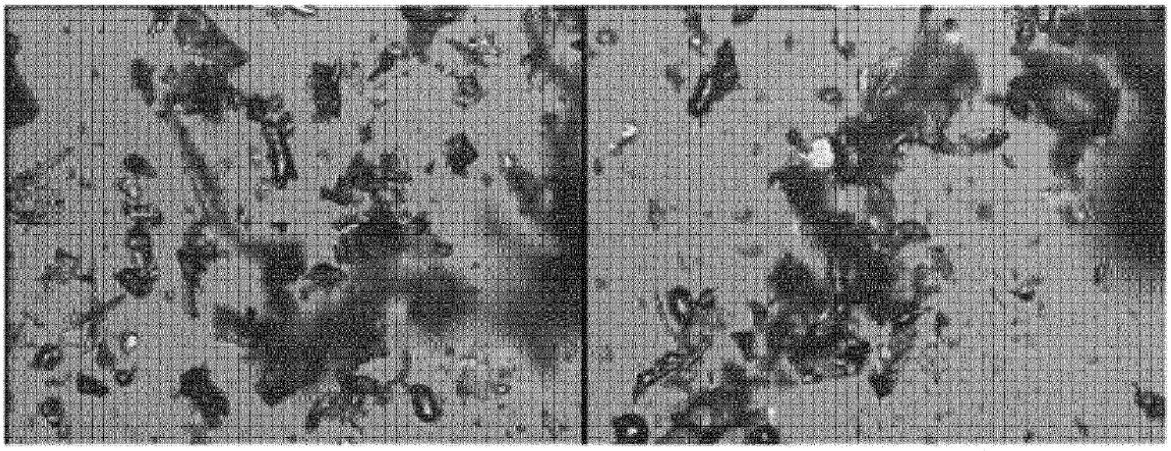


Figura 2