

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 01.02.93.

③0 Priorité : 27.06.91 GB 9113872.

④3 Date de la mise à disposition du public de la demande : 02.07.93 Bulletin 93/26.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de recherche : *Le rapport de recherche n'a pas été établi à la date de publication de la demande.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux apparentés : Division demandée le 1.2.93 bénéficiant de la date du dépôt du 24.6.92 de la demande initiale no 92 07856 (art. 24 de la loi du 2.1.68 modifiée)

⑦1 Demandeur(s) : SANDOZ (S.A.) — CH.

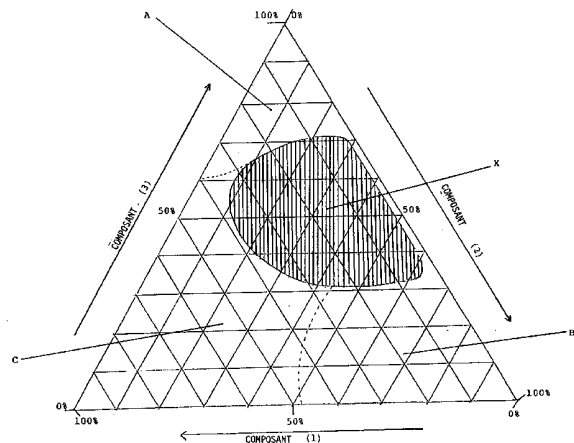
⑦2 Inventeur(s) : Hauer Birgit, Meinzer Armin, Posanski Ulrich et Vonderscher Jacky.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : Sandoz Huningue S.A.

⑤4 Produit de transestérification de l'huile de maïs avec le glycérol et sa préparation.

⑤7 L'invention a pour objet le produit de transestérification de l'huile de maïs avec le glycérol, comprenant de façon prédominante des mono-, di- et triglycérides de l'acide linoléique et de l'acide oléique, traité pour augmenter la teneur en acides gras insaturés des mono-, di- et triglycérides, de sorte que la teneur en mono-, di- et triglycérides de l'acide linoléique et oléique représente au total 85% en poids ou plus du poids total du produit.



La présente invention a pour objet de nouvelles compositions pharmaceutiques. En particulier, l'invention concerne des compositions pharmaceutiques dans lesquelles la substance active est un undeca-peptide cyclique poly-N-méthylé de la classe des cyclosporines (voir par exemple les demandes de brevet britannique 2 222 770 et 2 228 198).

Comme indiqué dans lesdites demandes de brevet britannique, les cyclosporines posent des problèmes très spécifiques en matière d'administration en général et de formulation galénique en particulier, notamment des problèmes de biodisponibilité et de variabilité de la réponse du patient aux doses administrées.

Afin de résoudre ces problèmes, la demande de brevet britannique 2 222 770 décrit des formulations galéniques comprenant une cyclosporine comme substance active, qui se présentent entre autres sous forme de micro-émulsions ou de pré-concentrés de micro-émulsions. De telles compositions comprennent 1) une phase hydrophile, 2) une phase lipophile et 3) un tensio-actif. Les composants de la phase hydrophile spécifiquement mentionnés dans cette demande sont les produits connus et commercialisés sous les marques Transcutol et Glycofurol ainsi que le 1,2-propylène-glycol. Les composants préférés de la phase lipophile sont les triglycérides d'acides gras à chaîne moyenne tels que ceux connus et commercialisés sous les marques Miglyol, Captex, Myritol, Capmul, Captex, Neobee et Mazol, le Miglyol 812 étant particulièrement préféré. Les tensio-actifs appropriés sont en particulier les produits de réaction de l'éthylèneglycol avec des huiles végétales naturelles ou hydrogénées tels que ceux connus et commercialisés sous les marques Cremophor et Nikkol, les produits Cremophor RH40 et

Nikkol HCO-40 étant indiqués comme spécialement préférés.

La demande de brevet britannique 2 228 198 propose d'autres moyens pour résoudre les difficultés relatives à l'administration des cyclosporines. Elle décrit en particulier des formulations à base d'huile dans lesquelles le composant huileux est constitué par une association de tri-glycérides et (i) d'esters partiels du glycérol ou (ii) d'esters totaux ou partiels du 1,2-propylèneglycol ou (iii) d'esters totaux ou partiels du sorbitol. Les produits connus et commercialisés sous la marque Maisine, sont proposés comme composants appropriés des triglycérides et des glycérides partiels. Les compositions décrites comprennent également un tensio-actif, par exemple le Cremophor RH40, mais sont de préférence exemptes de tout composant hydrophile tel que l'éthanol. Les compositions décrites dans les exemples sont exemptes d'un tel composant.

La Demanderesse a maintenant trouvé de façon surprenante qu'il est possible d'obtenir des compositions pharmaceutiques à base d'une cyclosporine, qui sont particulièrement stables et présentent des caractéristiques intéressantes de bio-disponibilité et une variabilité réduite des paramètres de bio-disponibilité chez un même patient et entre différents patients. De telles compositions sont nouvelles et l'invention a donc pour objet une composition pharmaceutique comprenant une cyclosporine comme substance active, dans un véhicule constitué par:

- 1) du 1,2-propylèneglycol,
- 2) un mélange de mono-, di- et tri-glycérides et
- 3) un tensio-actif hydrophile.

Par l'expression "composition pharmaceutique", on entend des compositions dans lesquelles les composants ou les ingrédients sont eux-mêmes

pharmaceutiquement acceptables, par exemple dans le cas d'une administration par voie orale, qu'ils sont appropriés ou acceptables pour une utilisation par voie orale.

Les cyclosporines auxquelles s'applique l'invention sont celles ayant une utilité thérapeutique, par exemple comme agents immunosuppresseurs, agents anti-parasitaires et agents pour lever le mécanisme de chimio-résistance (effet MDR), telles que celles connues et décrites dans la littérature, en particulier la Cyclosporine A (également connue et désignée ci-après Ciclosporine), la Cyclosporine G, la [0-(2-hydroxyéthyl)-(D)Ser]<sup>8</sup>-Ciclosporine et la [3'-déshydroxy-3'-céto-MeBmt]<sup>1</sup>-[Val]<sup>2</sup>-Ciclosporine.

Le composant (2) des compositions de l'invention comprend de préférence des mélanges de mono-, di- et triglycérides d'acides gras en C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>, spécialement de mono-, di- et triglycérides d'acides gras en C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub>. Le composant acide gras desdits mono-, di- et triglycérides peut comprendre des restes d'acides gras saturés et insaturés. Toutefois, il comprend de préférence des restes d'acides gras insaturés, en particulier des restes d'acides gras insaturés en C<sub>18</sub>, par exemple des restes d'acide linoléique, d'acide linoléique et d'acide oléique. Le composant (2) comprend avantageusement au moins 60%, de préférence au moins 75%, plus préférablement 85% ou plus en poids d'acides gras insaturés en C<sub>18</sub>, par exemple des mono-, di- et triglycérides de l'acide linoléique, de l'acide linoléique et de l'acide oléique. Avantageusement, le composant (2) comprend moins de 20%, par exemple entre environ 15% et 10% en poids ou moins d'acides gras saturés, par exemple des mono-, di- et triglycérides de l'acide stéarique et palmitique.

Le composant (2) des compositions de

l'invention est de préférence constitué de façon prédominante de mono- et diglycérides, par exemple au moins 50%, de préférence au moins 70%, par exemple 75%, 80% ou 85% en poids ou plus, de mono- et diglycérides par rapport au poids total du composant (2).

Le composant (2) des compositions de l'invention comprend avantageusement d'environ 25% à environ 50%, de préférence d'environ 30% à environ 40%, par exemple de 35% à 40%, de monoglycérides par rapport au poids total du composant (2).

Le composant (2) des compositions de l'invention comprend avantageusement d'environ 30 à environ 60%, de préférence d'environ 40 à environ 55%, par exemple d'environ 48 à 50%, de diglycérides par rapport au poids total du composant (2).

Le composant (2) des compositions de l'invention comprend avantageusement au moins 5%, par exemple d'environ 7,5 à environ 15%, par exemple de 9 à 12% en poids de triglycérides.

Le composant (2) des compositions de l'invention peut être préparé en mélangeant les mono-, di- ou triglycérides individuels dans les proportions relatives appropriées. Toutefois, le composant (2) comprend avantageusement le produit de transestérification d'huiles végétales, par exemple l'huile d'amandes, l'huile d'arachides, l'huile d'olive, l'huile de pêche, l'huile de palme, ou de préférence l'huile de maïs, l'huile de tournesol ou l'huile de carthame et spécialement l'huile de maïs, avec le glycérol.

De tels produits de transestérification sont obtenus en général par chauffage de l'huile végétale choisie avec du glycérol, à une température élevée en présence d'un catalyseur approprié, sous atmosphère inerte et sous agitation continue, par exemple dans un réacteur en inox, pour effectuer la transestérification ou la glycérolyse. Outre leurs composants mono-, di- ou

triglycérides, de tels produits de transestérification en général comprennent également de faibles quantités de glycérol libre. La quantité de glycérol libre présent dans le composant (2) utilisé dans les compositions de l'invention, est de préférence inférieure à 10%, en particulier inférieure à 5%, plus particulièrement d'environ 1 à 2% en poids par rapport au poids total du glycérol libre plus les mono-, di- et triglycérides.

De préférence, on élimine tout d'abord un peu de glycérol, par exemple par distillation (ce qui donne un "lot essentiellement exempt de glycérol"), lorsqu'on doit préparer des capsules de gélatine molles.

Les composants (2) particulièrement appropriés pour les compositions de l'invention comprennent les composants suivants dont les quantités en poids sont indiquées par rapport au poids total du composant (2):

monoglycérides: de 25 ou 30 à 50%, spécialement de 30 à 40%,

diglycérides: de 30 ou 40 à 60%, spécialement de 40 à 55%, par exemple de 45 à 55%,

mono- et diglycérides: >75%, spécialement > 80%, par exemple environ 85%,

triglycérides: au moins 5%,

glycérol libre: <5%, de préférence <2% ou <1%.

Les composants (2) particulièrement appropriés pour les compositions de l'invention sont les produits de transestérification de l'huile de maïs et du glycérol, par exemple ceux commercialisés sous la marque Maisine. De tels produits comprennent essentiellement des mono-, di- et triglycérides de l'acide linoléique et de l'acide oléique avec de faibles quantités de mono-, di- et triglycérides de l'acide palmitique et de l'acide stéarique (l'huile de maïs étant elle-même

constituée d'environ 56% en poids d'acide linoléique, de 30% d'acide oléique, d'environ 10% d'acide palmitique et d'environ 3% d'acide stéarique). Les caractéristiques de la Maisine [disponible auprès des Etablissements Gattefossé, 36 chemin de Genas, B.P. 603, 69804 Saint-Priest, Cedex France] sont les suivants:

Glycérol libre:	10% max. (typiquement 3,9-4,9% ou, "dans des lots essentiellement exempts de glycérol", environ 0,2%)
Monoglycérides:	environ 35% (typiquement 30-40% ou, "dans des lots essentiellement exempts de glycérol", par exemple 32-36%, par exemple environ 36%)
Diglycérides:	environ 50% (ou, "dans des lots essentiellement exempts de glycérol", environ 46-48%)
Triglycérides:	environ 10% (ou, "dans des lots essentiellement exempts de glycérol", environ 12-15%)
Acide oléique libre:	environ 1%

Les autres caractéristiques de la Maisine sont les suivantes: indice d'acide = au maximum environ 2; indice d'iode = environ 85-105; indice de saponification = environ 150-175 (voir Fiedler "Lexikon der Hilfsstoffe", 3ème édition revue et complétée (1989) vol. 2, page 768). La teneur en acides gras de la Maisine est la suivante: acide palmitique = environ 11%; acide stéarique = environ 2,5%; acide oléique = environ 29%; acide linoléique = environ 56%; autres = environ 1,5%.

Le composant (2), par exemple l'huile de maïs transestérifiée avec du glycérol, doit avantageu-

sement être limpide, par exemple après avoir conservé un échantillon dans un réfrigérateur pendant 24 heures, par exemple à une température comprise entre 2 et 8°C, l'échantillon doit rester limpide à la température ambiante une heure après avoir été sorti du réfrigérateur.

De préférence, les composants (2) ont une faible teneur en acides gras saturés. Les composants (2) répondant à ces critères peuvent par exemple être obtenus à partir de produits disponibles dans le commerce, tels que ceux obtenus par exemple selon des techniques connues de séparation, par exemple les procédés de congélation couplés à des techniques de séparation, par exemple la centrifugation, pour éliminer les composants acides gras saturés et augmenter la teneur en composants acides gras insaturés. En général, la teneur totale en composants acides gras saturés est <15%, par exemple <10% ou <5% en poids par rapport au poids total du composant (2). On peut observer une réduction de la teneur en composants acides gras saturés dans la fraction des monoglycérides du composant (2), après la technique de séparation.

Les composants (2) contiennent donc de préférence des quantités inférieures d'acides gras saturés (par exemple l'acide palmitique et l'acide stéarique) et des quantités relativement plus importantes d'acides gras insaturés (par exemple l'acide oléique et l'acide linoléique) que le produit de départ.

Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, les composants (2) préférés contiennent: 32-36% de monoglycérides, 45-55% de diglycérides et 12-20% de triglycérides en poids par rapport au poids total du composant (2).

Les autres caractéristiques préférées sont les suivantes:

Teneur en acides gras (sous forme d'esters méthyliques) déterminée par chromatographie

Linoléate de méthyle	53-63%
Oléate de méthyle	24-34%
Linoléate de méthyle	0-3%
Arachidate de méthyle	0-3%
Palmitate de méthyle	6-12%
Stéarate de méthyle	1-3%

Densité relative	0,94-0,96
Indice d'hydroxy	140-210
Indice d'iode	110-120
Indice de peroxyde	<4,0
Glycérol libre	<1,0
Indice d'acide max.	environ 2
Indice de saponification	environ 150-185

Les composants (2) possédant les caractéristiques indiquées ci-dessus sont désignés dans la présente demande "huiles de maïs transestérifiées avec du glycérol et raffinées". Les composants (2) fraîchement préparés selon le mode de réalisation préféré de l'invention sont limpides et le demeurent à une température de conservation comprise entre 20°C et 25°C pendant plus de 20 jours.

Les "huiles de maïs transestérifiées avec du glycérol et raffinées" sont particulièrement appropriées pour la préparation des compositions de l'invention. Elles peuvent également être utilisées pour la solubilisation d'autres substances actives et ont l'avantage de demeurer stables, par exemple limpides, pendant longtemps. Elles font également partie de la présente invention.

Selon un autre aspect, l'invention concerne donc un produit de transestérification de l'huile de

mais avec le glycérol comprenant de façon prédominante des mono-, di- et triglycérides de l'acide linoléique et de l'acide oléique, traité pour augmenter la teneur en acides gras insaturés des mono-, di- et triglycérides, de sorte que la teneur en mono-, di- et triglycérides de l'acide linoléique et oléique représente au total 85% en poids ou plus du poids total du produit.

Les composants (3) dans les compositions de l'invention ont de préférence une valeur HLB d'au moins 10.

Comme exemples de composants (3) appropriés pour les compositions de l'invention, on peut citer les suivants:

- 3.1 Les produits de réaction de l'huile de ricin naturelle ou hydrogénée avec l'oxyde d'éthylène. De tels produits peuvent être obtenus selon les méthodes habituelles, par exemple par réaction d'une huile de ricin naturelle ou hydrogénée avec de l'oxyde d'éthylène, par exemple dans un rapport molaire compris entre environ 1:35 et environ 1:60, avec élimination éventuelle du polyéthylèneglycol du produit, par exemple selon les procédés décrits dans les demandes de brevet allemands 1 182 388 et 1 518 819. Les divers tensio-actifs commercialisés sous la marque Cremophor sont particulièrement appropriés. Les produits spécialement appropriés sont le Cremophor RH 40 ayant un indice de saponification d'environ 50-60, un indice d'acide <1, un indice d'iode <1, une teneur en eau (Fischer) <2%, un  $n_D^{60}$  d'environ 1,453-1,457 et une valeur HLB d'environ 14-16; le Cremophor RH 60 ayant un indice de saponification d'environ 40-50, un indice d'acide <1, un indice d'iode <1, une teneur en eau (Fischer) de 4,5-5,5%, un  $n_D^{25}$

d'environ 1,453-1,457 et une valeur HLB d'environ 15-17; et le Cremophor EL ayant un poids moléculaire (par osmométrie en phase vapeur) d'environ 1630, un indice de saponification d'environ 65-70, un indice d'acide d'environ 2, un indice d'iode d'environ 28-32 et un  $n_D^{25}$  d'environ 1,471 (voir Fiedler, "Lexikon der Hilfsstoffe", 3ème édition révisée et complétée (1989), vol. 1, page 326). On peut également utiliser divers tensio-actifs commercialisés sous la marque Nikkol (par exemple Nikkol HCO-40 et HCO-60), Emulgine (par exemple Emulgine RO40), Mapeg (par exemple Mapeg CO-40h) et Incrocas (par exemple Incrocas 40) (voir Fiedler). Ledit produit Nikkol HCO-60 est un produit de réaction de l'huile de ricin hydrogénée avec l'oxyde d'éthylène, ayant les caractéristiques suivantes: indice d'acide: environ 0,3; indice de saponification: environ 47,4; valeur d'hydroxy: environ 42,5; pH (5%): environ 4,6; couleur APHA: environ 40; F = environ 36,0°C; point de congélation: environ 32,4°C; teneur en H<sub>2</sub>O (Fischer): 0,03%.

- 3.2 Les esters d'acides gras d'un polyoxyéthylène-sorbitane par exemple les mono- et tri-esters de l'acide laurique, palmitique, stéarique et oléique, par exemple ceux connus et commercialisés sous la marque Tween (voir Fiedler, pages 1300-1304), comprenant les produits Tween 20 monolaurate de polyoxyéthylène(20)sorbitane, 21 monolaurate de polyoxyéthylène(4)sorbitane, 40 monopalmitate de polyoxyéthylène(20)sorbitane, 60 monostéarate de polyoxyéthylène(20)sorbitane, 65 tristéarate de polyoxyéthylène(20)sorbitane, 80 monooléate de polyoxyéthylène(20)sorbitane, 81 monooléate de polyoxyéthylène(5)sorbitane, 85 trioléate de polyoxyéthylène(20)sorbitane.

Les produits spécialement préférés de cette classe pour une utilisation dans les compositions de l'invention sont les produits Tween 40 et Tween 80.

- 3.3 Les esters d'acides gras d'un polyoxyéthylène, par exemple les esters de l'acide stéarique avec un polyoxéthylène connus et commercialisés sous la marque Myrj (voir Fiedler, 2, pages 834-835); un produit spécialement préféré de cette classe pour une utilisation dans les compositions de l'invention est le produit Myrj 52 ayant une  $D^{25}$  d'environ 1,1; un point de fusion d'environ 40-44°C, une valeur HLB d'environ 16,9; un indice d'acide d'environ 0-1 et un indice de saponification d'environ 25-35.
- 3.4 Les copolymères du polyoxyéthylène et du polyoxypropylène et les copolymères séquencés, par exemple ceux commercialisés sous les marques Pluronic, Embalyx et Poloxamer (voir Fiedler, 2, page 959). Un produit particulièrement préféré de cette classe pour une utilisation dans les compositions de l'invention est le produit Pluronic F68, ayant un point de fusion d'environ 52°C et un poids moléculaire d'environ 6800-8975. Un autre produit préféré de cette classe pour une utilisation dans les compositions de l'invention est le produit Poloxamer 188.
- 3.5 Le sulfosuccinate de dioctyle ou le succinate de di-[2-éthylhexyle] (voir Fiedler, 1, pages 107-108).
- 3.6 Les phospholipides, en particulier les lécithines (voir Fiedler, 2, pages 943-944). Les lécithines appropriées pour une utilisation dans les compositions de l'invention comprennent en particulier les lécithines de soja.
- 3.7 Les mono- et diesters d'acides gras du propylène-

glycol tels que le dicaprylate de propylèneglycol (commercialisé sous la marque Miglyol 840), le dilaurate de propylèneglycol, l'hydroxystéarate de propylèneglycol, l'isostéarate de propylèneglycol, le laurate de propylèneglycol, le ricinoléate de propylèneglycol, le stéarate de propylèneglycol etc... (voir Fiedler, 2, pages 808-809).

### 3.8 Le laurylsulfate de sodium.

Les composants 3.1 décrits plus haut sont spécialement préférés pour une utilisation selon l'invention.

Dans les compositions de l'invention, les composants (1), (2) et (3) sont présents de préférence en proportions relatives telles que la composition soit un "pré-concentré de micro-émulsion", c'est-à-dire ayant les caractéristiques d'un système de pré-concentré de micro-émulsion tel que décrit dans la demande de brevet britannique n° 2 222 770 aux pages 11 à 12, dont le contenu est incorporé à la présente demande à titre de référence. Les compositions de l'invention sont donc de préférence "des pré-concentrés de micro-émulsions", en particulier du type micro-émulsion huile-dans-l'eau. La présente invention comprend donc également les compositions contenant les composants (1), (2) et (3) ensemble avec de l'eau (4) et qui sont des micro-émulsions.

Comme indiqué dans la demande de brevet britannique 2 222 770, la phase hydrophile d'un système de pré-concentré de micro-émulsion, c'est-à-dire le composant (1) dans les compositions de l'invention, peut inclure un ou plusieurs autres ingrédients comme composants de la phase hydrophile, par exemple des alcanols inférieure (par exemple en  $C_1-C_5$ ), en particulier de l'éthanol. De tels composants sont en général présents pour remplacer partiellement le

composant (1). Bien que l'utilisation d'éthanol dans les compositions de l'invention ne soit par essentiel, on a trouvé que cela représente un avantage particulier lorsque les compositions sont préparées sous forme de capsules de gélatine molles, par exemple pour améliorer les caractéristiques de conservation, en particulier pour réduire le risque de précipitation de la cyclosporine suite aux procédés d'encapsulation. La durée de péremption peut être prolongée en utilisant un alcanol inférieur comme ingrédient supplémentaire de la phase hydrophile.

Le composant de la phase hydrophile, c'est-à-dire le composant (1), à savoir le 1,2-propylène-glycol, ou le composant (1) plus le ou les co-composants de la phase hydrophile, par exemple l'éthanol, sont avantageusement présents dans les compositions de l'invention en une quantité comprise entre 1,0 ou 2,5 à 50%, de préférence entre 5 et 40%, plus spécialement entre 10 et 35%, par exemple au-dessus de 15%, par exemple d'environ 20 à environ 30% en poids par rapport au poids total du ou des composants de la phase hydrophile plus les composants (2) et (3).

Lorsqu'on utilise un co-composant de la phase hydrophile, par exemple l'éthanol, celui-ci est présent en une quantité pouvant aller jusqu'à environ 20%, de préférence jusqu'à environ 10 ou 15%, par exemple d'environ 5 à 10 ou 15% en poids par rapport au poids total de la composition. Un tel co-composant est avantageusement présent en une quantité comprise entre environ 25 et 75% en poids par rapport au poids total des composants de la phase hydrophile (par exemple le 1,2-propylène-glycol plus l'éthanol), de préférence en une quantité inférieure à 50%, par exemple comprise entre 25 et 50%, par exemple d'environ 30, 40 ou 50%.

Dans les compositions de l'invention, le composant (2) est avantageusement présent en une

quantité comprise entre 5 et 65%, de préférence entre 15 et 45%, plus spécialement entre 20 et 40%, par exemple d'environ 25 à environ 35% en poids par rapport au poids total du ou des composants de la phase hydrophile plus les composants (2) et (3).

Dans les compositions de l'invention, le composant (3) est avantageusement présent en une quantité comprise entre 25 et 75%, de préférence entre 30 et 60%, par exemple d'environ 55 ou 60% en poids par rapport au poids total du ou des composants de la phase hydrophile plus les composants (2) et (3).

Les compositions de l'invention comprennent avantageusement d'environ 1 ou 2 à 30%, de préférence de 5 à 20 ou 25%, plus spécialement d'environ 7,5 à 15%, par exemple environ 10% en poids de cyclosporine par rapport au poids total de la composition.

La figure I annexée représente un diagramme ternaire des concentrations relatives du composant de la phase hydrophile, c'est-à-dire le 1,2-propylène-glycol, du composant (2), par exemple "l'huile de maïs transestérifiée avec du glycérol et raffinée" et du composant (3), par exemple le Cremophor RH40, dans les compositions de l'invention comprenant 10% en poids de cyclosporine (par exemple la Ciclosporine). Les concentrations relatives des véhicules augmentent dans les directions indiquées par les flèches de 0 à 100%.

Pour les compositions de l'invention, la proportion relative du ou des composants de la phase hydrophile, du composant (2) et du composant (3) est située avantageusement à l'intérieur de la zone hachurée X. Les compositions ainsi définies sont des pré-concentrés de micro-émulsions à stabilité élevée, susceptibles par addition d'eau de fournir des micro-émulsions ayant une dimension moyenne des particules  $< 1.500 \text{ \AA}$  et qui sont stables pendant des périodes supérieures à 24 heures. Par contre, les compositions

des zones A, B et C donnent des systèmes aqueux soumis (A) à la décoloration, (B) à une séparation des phases et (C) à une opacité. Les compositions de l'invention comprenant un ou plusieurs des composants de la phase hydrophile et les composants (2) et (3) dans les proportions relatives telles que définies par la ligne entourant la zone hachurée X de la figure I, sont donc spécialement préférées.

Lorsque le 1,2-propylèneglycol est partiellement remplacé par de l'éthanol comme décrit plus haut, la zone X de la figure I est légèrement déplacée vers le haut, c'est-à-dire en direction de la concentration la plus élevée en composant (3). Ce déplacement cependant ne représente qu'un déplacement de quelques pourcents vers le haut et ne modifie pas de manière significative le diagramme obtenu.

Les compositions de l'invention présentent de bonnes caractéristiques de stabilité par exemple comme indiqué par des essais classiques de stabilité, par exemple une durée de péremption allant jusqu'à 3 ans et même plus.

Les compositions de l'invention peuvent comprendre également d'autres additifs ou ingrédients, par exemple des anti-oxydants tels que le palmitate d'ascorbyle, le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT) et des tocophérols, par exemple l' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E), et/ou des agents de conservation, par exemple en une quantité comprise entre environ 0,05 et 1% en poids par rapport au poids total de la composition, ou des édulcorants ou des aromatisants, par exemple en une quantité allant jusqu'à environ 2,5 ou 5% en poids par rapport au poids total de la composition.

Les compositions de l'invention se signalent par des propriétés particulièrement avantageuses lorsqu'elles sont administrées par voie orale, par

exemple en termes de consistance et de degré élevé de biodisponibilité comme mis en évidence dans des essais classiques de biodisponibilité, par exemple chez des patients sains en utilisant un kit d'anticorps monoclonaux spécifiques pour déterminer les taux de cyclosporine, comme décrit aux exemples ci-après. En particulier, les compositions de l'invention fournissent une forme améliorée pour l'administration par voie orale des cyclosporines (par exemple la Ciclosporine) comme il ressort de l'absence d'interaction avec des aliments, interaction que la demanderesse a observée avec la forme orale de la Ciclosporine disponible dans le commerce, spécialement avec les aliments riches en graisse. En outre, la variabilité chez un même patient et entre patients des paramètres de pharmacocinétique peut être fortement diminuée avec les compositions de l'invention par rapport à la forme par voie orale de la Ciclosporine disponible dans le commerce. En particulier, la différence entre les paramètres pharmacocinétiques avec ou sans prise de nourriture, ou même entre l'absorption de jour et l'absorption de nuit, peut être éliminée en administrant les compositions de l'invention. Ainsi, avec les nouvelles compositions de l'invention, les paramètres pharmacocinétiques, par exemple l'absorption et les taux sanguins, deviennent de façon surprenante plus prévisibles permettant ainsi d'éliminer les problèmes d'administration liés à l'absorption irrégulière de Ciclosporine. Les compositions de l'invention peuvent également améliorer la biodisponibilité chez les patients souffrant de malabsorption, par exemple les patients ayant subi une greffe du foie ou chez les jeunes enfants. On a trouvé notamment que de telles compositions sont compatibles avec des tensio-actifs, par exemple les sels biliaires présents dans le tractus gastro-intestinal. Elles sont ainsi totalement disper-

sables dans des systèmes aqueux comprenant de tels tensio-actifs naturels et sont donc capables de fournir des systèmes de micro-émulsions in situ qui sont stables et ne provoquent pas la précipitation de la cyclosporine ou tout autre rupture de la structure des fines particules. La fonction de tels systèmes lors d'une administration par voie orale demeure indépendante et/ou non modifiée par la présence relative ou l'absence de sels biliaires à n'importe quel moment et pour tout individu.

Les compositions de l'invention sont bien tolérées, par exemple comme il ressort des essais cliniques effectués sur des périodes de 4 semaines.

Les compositions de l'invention se présentent de préférence sous forme de doses unitaires, par exemple dans des capsules administrables par voie orale, par exemple sous forme de capsules de gélatine molles ou dures, mais peuvent, si nécessaire, se présenter sous forme de solutions buvables. Lorsque les compositions de l'invention se présentent sous forme de doses unitaires, chacune contient avantageusement entre 10 et 200 mg de cyclosporine, de préférence entre 10 et 150 mg, par exemple 15, 20, 25, 50 ou 100 mg de cyclosporine. De telles doses unitaires sont appropriées pour une administration 1, 2 ou 3 jusqu'à 5 fois par jour (par exemple en fonction du traitement particulier, de la phase du traitement etc...).

Les compositions de l'invention appropriées pour une administration par voie orale peuvent comprendre (4) de l'eau ou tout autre système aqueux, pour fournir des systèmes de micro-émulsions appropriés comme solutions buvables.

L'invention concerne également un procédé de préparation d'une composition pharmaceutique telle que définie plus haut, procédé selon lequel on mélange intimement les composants (1), (2) et (3) tels que définis plus haut et, si nécessaire, on les met sous

forme de doses unitaires, par exemple en remplissant des capsules de gélatine dures ou molles avec ladite composition.

Selon un mode de réalisation particulier, l'invention concerne un procédé de préparation d'une composition pharmaceutique telle que définie plus haut sous forme d'un "pré-concentré de micro-émulsion" ou de micro-émulsion, procédé selon lequel on mélange intimement les composants (1), (2) et (3), éventuellement ensemble avec d'autres composants ou additifs, en particulier avec un co-composant de phase hydrophile, par exemple de l'éthanol, dans des proportions telles qu'on obtient un pré-concentré de micro-émulsion, et, si nécessaire, on met la composition ainsi obtenue sous forme de doses unitaires ou on la combine avec suffisamment d'eau ou de solvant aqueux pour obtenir une micro-émulsion.

Les exemples suivants illustrent l'invention sans aucunement en limiter la portée. Dans ces exemples, les compositions sont données sous forme de doses unitaires appropriées pour l'utilisation dans la prévention des rejets de greffes ou pour le traitement de maladies autoimmunes, par administration de 1 à 5 doses unitaires par jour. Les exemples sont décrits en faisant référence à la Ciclosporine. Toutefois, des compositions équivalentes peuvent être obtenues en utilisant tout autre cyclosporine, en particulier la [O-(2-hydroxyéthyl)-(D)-Ser]<sup>8</sup>-Ciclosporine (désignée ci-après "composé Z").

**EXEMPLE 1:**

Préparation "d'huile de maïs transestérifiée avec du glycérol et raffinée"

On refroidit lentement à 20°C de l'huile de maïs transestérifiée avec du glycérol et essentiellement exempte de glycérol (chauffée, si nécessaire, pour obtenir un mélange limpide) et on la maintient à cette

température pendant une nuit. Dans une première étape de centrifugation, à une accélération de 12 000 g et un taux d'écoulement de 103 kg/h dans une centrifugeuse à écoulement continu, on obtient une phase liquide (62 kg/h) et une phase contenant un sédiment (41 kg/h). On refroidit lentement la phase liquide à 8°C et on la maintient à cette température pendant une nuit. Dans une seconde étape de centrifugation, à une accélération de 12 000 g et un taux d'écoulement de 112 kg/h, on obtient une phase liquide (76,2 kg/h) et une phase contenant un sédiment (35,8 kg/h). La phase liquide est de "l'huile de maïs transestérifiée avec du glycérol et raffinée". On peut également obtenir un produit amélioré en effectuant la centrifugation en trois étapes, par exemple à 20°C, 10°C et 5°C.

Le procédé se caractérise par une légère réduction des monoglycérides dans l'huile de maïs transestérifiée avec du glycérol et raffinée, par rapport au produit de départ (par exemple 35,6% par rapport à 38,3%).

Une comparaison analytique entre le sédiment et la solution limpide donne les résultats suivants:

Composés	Sédiment (%)	Solution limpide (%)
1. Mono-palmitate	19,1	3,4
2. Mono-linoléate + mono-oléate	23,4	27,0
3. Mono-stéarate	5,7	<2
4. Dilinoléate + dioléate	35,4	44,7
5. Autres diglycérides	7,7	10,4
6. Triglycérides	8,7	12,5

Les teneurs usuelles en constituants du

produit raffiné obtenu à partir de ces préparations, sont indiquées dans le tableau suivant:

Huile de maïs transestérifiée  
avec du glycérol et raffinée  
Composition (% , poids)

Glycérides: mono	33,3
di	52,1
tri	14,6
Acides gras:	
Acide palmitique (C16)	7,8
Acide stéarique (C18)	1,7
Acide oléique (C18:1)	31,6
Acide linoléique (C18:2)	57,7
Teneur en glycérol	<1%

**EXEMPLE 2:**

Préparation de doses unitaires pour l'administration par voie orale

Composants	Quantités (mg/capsule)
Cyclosporine, par ex.	
la Ciclosporine	100
1) 1,2-propylèneglycol	200
2) huile raffinée	320
3) Cremophor RH40	<u>380</u>
Total	1000

On dissout la cyclosporine sous agitation et à la température ambiante dans le composant (1) et sous agitation on ajoute les composants (2) et (3) à la solution obtenue. On verse le mélange obtenu dans des capsules de gélatine dures de dimension 1 et on les

scelle, par exemple selon la technique "Quali-Seal".

En procédant de manière analogue, on prépare des capsules de gélatine molles comprenant 50 et 100 mg de Ciclosporine, en utilisant les ingrédients suivants dans les quantités indiquées.

Dans cet exemple, huile raffinée = "huile de maïs transestérifiée avec du glycérol et raffinée" comme décrit à l'exemple 1 ou Maisine, par exemple Maisine essentiellement exempte de glycérol.

**Compositions comprenant 100 mg de cyclosporine, par exemple la Ciclosporine**

COMPOSITION	2	3	4	5	6
COMPOSANTS					
		QUANTITES			(mg/capsule)
1) 1,2-propylèneglycol	200	270	180	180	90
2) Huile raffinée	350	180	180	360	360
3) Cremophor RH40	350	450	540	360	450
COMPOSITION	7	8	9	10	
COMPOSANTS					
		QUANTITES			(mg/capsule)
1) 1,2-propylèneglycol	150	100	200	200	
1a) Ethanol	100	100	100	100	
2) Huile raffinée	345	320	320	290	
3) Cremophor RH40	405	380	380	360	

Compositions comprenant 50 mg de ciclosporine

COMPOSITION	A	B	C	D	E	F
COMPOSANTS	QUANTITES (mg/capsule)					
1) 1,2-propylèneglycol	100	135	45	90	100	50
1a) Ethanol						50
2) Huile raffinée	160	90	180	180	67	160
3) Cremophor RH40	190	225	225	180	167	190

Comme indiqué plus haut, on peut préparer des compositions équivalentes contenant le composé Z à la place de la Ciclosporine. Ainsi, on peut préparer la composition D contenant 50 mg de composé Z à la place de la Ciclosporine.

**EXEMPLE 3: BIODISPONIBILITE CHEZ LE CHIEN**

Les propriétés biopharmaceutiques des compositions de l'invention ont été comparées à celles des capsules de gélatine molles de Ciclosporine disponibles dans le commerce. Les compositions ont été comparées après administration par voie orale à 12 chiens Beagle mâles dans un essai croisé. On a déterminé le profil pharmacocinétique de la Ciclosporine dans le sang entier pendant 24 heures. On a déterminé également l'aire sous la courbe des concentrations sanguines en fonction du temps (AUC) et les valeurs  $C_{max}$  et  $T_{max}$ .

Formes: doses de 100 mg de Ciclosporine/chien

**Composition X:** (forme du commerce: capsule de gélatine molle)

Ciclosporine	100 mg
Labrafil	300 mg
Ethanol	100 mg
Huile de maïs	<u>426 mg</u>

Total 926 mg/dose

**Composition I de l'invention:** (capsule de gélatine molle)

Ciclosporine	100 mg
1) 1,2-propylèneglycol	75 mg
1a) Ethanol	150 mg
2) Huile de maïs trans-estérifiée avec le glycérol et raffinée	345 mg
3) Cremophor RH40	<u>405 mg</u>

Total 1075 mg/dose

**Administration du médicament:**

10 chiens Beagle mâles pesant environ 12 kg ont été soumis à l'essai. 20 heures avant l'administration du médicament, on retire toute nourriture, mais on laisse aux animaux un libre accès à de l'eau jusqu'au début de l'expérience. On administre les doses par gavage des animaux, tôt le matin (vers 8 heures) et ensuite 20 ml de NaCl en solution à 0,9%. 3 heures après l'administration, on laisse aux animaux l'accès libre à de l'eau et à de la nourriture. Une semaine de sevrage thérapeutique est nécessaire entre 2 administrations au même animal.

**Echantillons de sang:**

On prélève des échantillons de sang de 2 ml (ou de 5 ml pour l'échantillon témoin) à partir de la veine céphalique (patte antérieure) avec une aiguille aseptique (d'un diamètre d'environ 1,2 mm) et on les recueille dans des tubes en plastique de 5 ml contenant de l'EDTA à -15 min, 30 min, 1h, 1,5h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12h et 24 heures après l'administration par voie orale du médicament. On stocke les échantillons de sang à environ -18°C jusqu'à ce qu'on effectue l'analyse des échantillons selon la méthode de dosage radio-immunologique spécifique à la Ciclosporine. Les concentrations moyennes de Ciclosporine dans le sang chez les chiens sont indiquées sur la figure II annexée. Les surfaces sous les courbes de la concentration de médicament dans le sang en fonction du temps (AUC) sont calculées selon la règle des trapèzes. On effectue une analyse de variabilité (CV) et on compare statistiquement les valeurs moyennes des AUC,  $C_{max}$  et  $T_{max}$  selon l'essai de Tukey. On obtient les résultats suivants:

Composition	AUC <sub>0-24h</sub>		C <sub>max</sub>		T <sub>max</sub>	
	Moyenne	CV	Moyenne	CV	Moyenne	CV
	[ng.h/ml]	[%]	[ng/ml]	[%]	[h]	[%]
X	6695	27	1053	25	1,3	20
I	10064	24	1539	18	1,6	29

Pendant l'essai, on contrôle le comportement et le poids des animaux. Aucune perte de poids n'est décelée.

**Conclusion:** La composition de l'invention (composition I) a une biodisponibilité supérieure de façon significative (facteur 1,5) aux capsules de gélatine

molles de Ciclosporine disponibles dans le commerce.

La figure II montre les concentrations moyennes de Ciclosporine dans le sang entier déterminées par la méthode de dosage radioimmunologique monoclonale spécifique après une administration unique par voie orale de 100 mg de la composition X (cercles blancs) et de la composition I (cercles noirs). La concentration dans le sang (en ng/ml) est reportée en ordonnée et le temps en abscisse.

**EXEMPLE 4: BIODISPONIBILITE CHEZ L'HOMME**

On a comparé la biodisponibilité de la Ciclosporine disponible dans le commerce sous forme de capsules de gélatine molles à celle d'une composition de l'invention.

Forme administrée: 100 mg de Ciclosporine par capsule.

**Composition X:** (forme du commerce: capsules de gélatine molles)

Ciclosporine	100 mg
Labrafil	300 mg
Ethanol	100 mg
Huile de maïs	<u>426 mg</u>
Total	926 mg/gélule

**Composition n° 8:** (selon l'exemple 2, contenant de "l'huile de maïs transestérifiée avec du glycérol et raffinée") sous forme de capsules de gélatine molles.

**Méthode:**

48 hommes sains ont participé à l'essai. Chaque participant a reçu 4 des 8 administrations (2 doses de la composition 8 et les mêmes 2 doses de la composition X).

On répartit les participants au hasard en 2 sous-groupes parallèles comprenant chacun 24 personnes. Le groupe I a reçu des doses de 200 mg et 600 mg de

Ciclosporine et le groupe II a reçu 400 mg et 800 mg.

Dans chaque groupe, l'essai est effectué sur la base d'un bloc complet équilibré avec sevrage thérapeutique de 2 semaines entre chaque traitement.

On a déterminé la présence de Ciclosporine dans le sang en prélevant des échantillons de sang 1 minute avant la prise du médicament et ensuite 15 min, 30 min, 45 min, 1h, 1,5h, 2h, 2,5h, 3h, 3,5h, 4h, 4,5h, 5h, 6h, 8h, 10h, 12h, 16h, 20h, 24h, 28h, 32h, 36h, 40h et 48 h après la prise de médicament.

On a déterminé les concentrations individuelles de Ciclosporine dans le sang entier pour chaque échantillon de sang selon une méthode de dosage radio-immunologique spécifique.

La valeur limite est 12,5 ng/ml.

Les concentrations dans le sang et les valeurs AUC (0-48h) correspondantes de Ciclosporine sont supérieures de façon significative après administration de la composition 8 à celles obtenues après administration de la composition X, et ce à toutes les doses. Les concentrations maximales ( $C_{max}$ ) aux doses de 200 mg, 400 mg et 600 mg apparaissent quelque peu plus tôt après administration de la composition 8 (voir le tableau suivant).

#### Tableau 8: biodisponibilité de la Ciclosporine chez l'homme

Valeurs moyennes ( $\pm$  DS) de la AUC (0-48h),  $C_{max}$  et  $T_{max}$  après administration unique par voie orale de doses différentes de la composition X et de la composition 8

Forme	AUC <sub>(0-48h)</sub> [ng.h/ml]	C <sub>max</sub> [ng/ml]	T <sub>max</sub> [h]
200 mg de comp. X	2028 ± 608	558 ± 228	2,1 ± 0,7
200 mg de comp. 8	3468 ± 1000	1025 ± 218	1,5 ± 0,4
400 mg de comp. X	3326 ± 1115	785 ± 252	2,1 ± 0,9
400 mg de comp. 8	6944 ± 1468	1557 ± 286	1,4 ± 0,4
600 mg de comp. X	4501 ± 1217	917 ± 236	2,3 ± 1,0
600 mg de comp. 8	9689 ± 2282	1812 ± 400	1,7 ± 0,6
800 mg de comp. X	5209 ± 1554	1045 ± 264	2,4 ± 1,0
800 mg de comp. 8	12162 ± 3059	2143 ± 576	2,1 ± 0,8

Sur la base des rapports moyens des valeurs AUC<sub>(0-48h)</sub>, la biodisponibilité relative de la composition 8 par rapport à la composition X est estimée entre 170% et 233%, en fonction de la dose administrée (voir le tableau suivant).

**Tableau: biodisponibilité relative de la composition 8 par rapport à la composition X:**

Dose [mg]	Rapport moyen des AUC <sub>(0-48h)</sub> de la Comp. 8 par rapport à la Comp. X	Facteur de conversion: Comp. X par rapport à la Comp.8
200	1,70	0,59
400	2,09	0,48
600	2,15	0,47
800	2,33	0,43

**Conclusions:**

La composition de l'invention (composition 8) a une biodisponibilité nettement supérieure chez l'homme (d'un facteur d'au moins 1,7), comparée à la forme du commerce (composition X).

La figure III annexée représente les valeurs moyennes  $AUC_{(0-48h)}$  de la composition X (triangles blancs) et celles de la composition 8 (cercles noirs). Les valeurs AUC (en ng. h/ml) de Ciclosporine telles qu'obtenues à l'exemple 4 sont portées en ordonnée et les doses en abscisse.

Le degré d'absorption de la composition 8 (en termes de valeurs  $AUC_{(0-48h)}$ ) semble être indépendante de la dose, alors que le degré d'absorption de la composition X diminue avec l'augmentation des doses (voir figure III).

RENDICATIONS

1. Le produit de transestérification de l'huile de maïs avec le glycérol, comprenant de façon prédominante des mono-, di- et triglycérides de l'acide linoléique et de l'acide oléique, traité pour augmenter la teneur en acides gras insaturés des mono-, di- et triglycérides, de sorte que la teneur en mono-, di- et triglycérides de l'acide linoléique et oléique représente au total 85% en poids ou plus du poids total du produit.

2. Un produit selon la revendication 1, caractérisé en ce que la teneur en glycérol libre est inférieure à 5%.

3. Un produit selon la revendication 2, caractérisé en ce que la teneur en glycérol libre est d'environ 1%.

4. Un produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le traitement est effectué en éliminant les composants acides gras saturés des mono-, di- et triglycérides, par des procédés de congélation.

5. Un produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la teneur totale en acides gras saturés des mono-, di- et triglycérides est inférieure à 15%.

6. Un produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la teneur totale en acide palmitique et en acide stéarique des mono-, di- et triglycérides est inférieure à 15%.

7. Un produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'il contient d'environ 30% à environ 40% de monoglycérides, d'environ 45% à environ 55% de diglycérides et au moins 5% de triglycérides en poids par rapport au poids total du produit.

8. Un procédé de préparation d'huile de maïs transestérifiée avec du glycérol et raffinée, telle que spécifiée à l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'on chauffe l'huile de maïs avec du glycérol à une température élevée en présence d'un catalyseur approprié pour effectuer la transestérification avec le glycérol, et on raffine ledit produit selon des procédés de congélation couplés à des techniques de séparation.

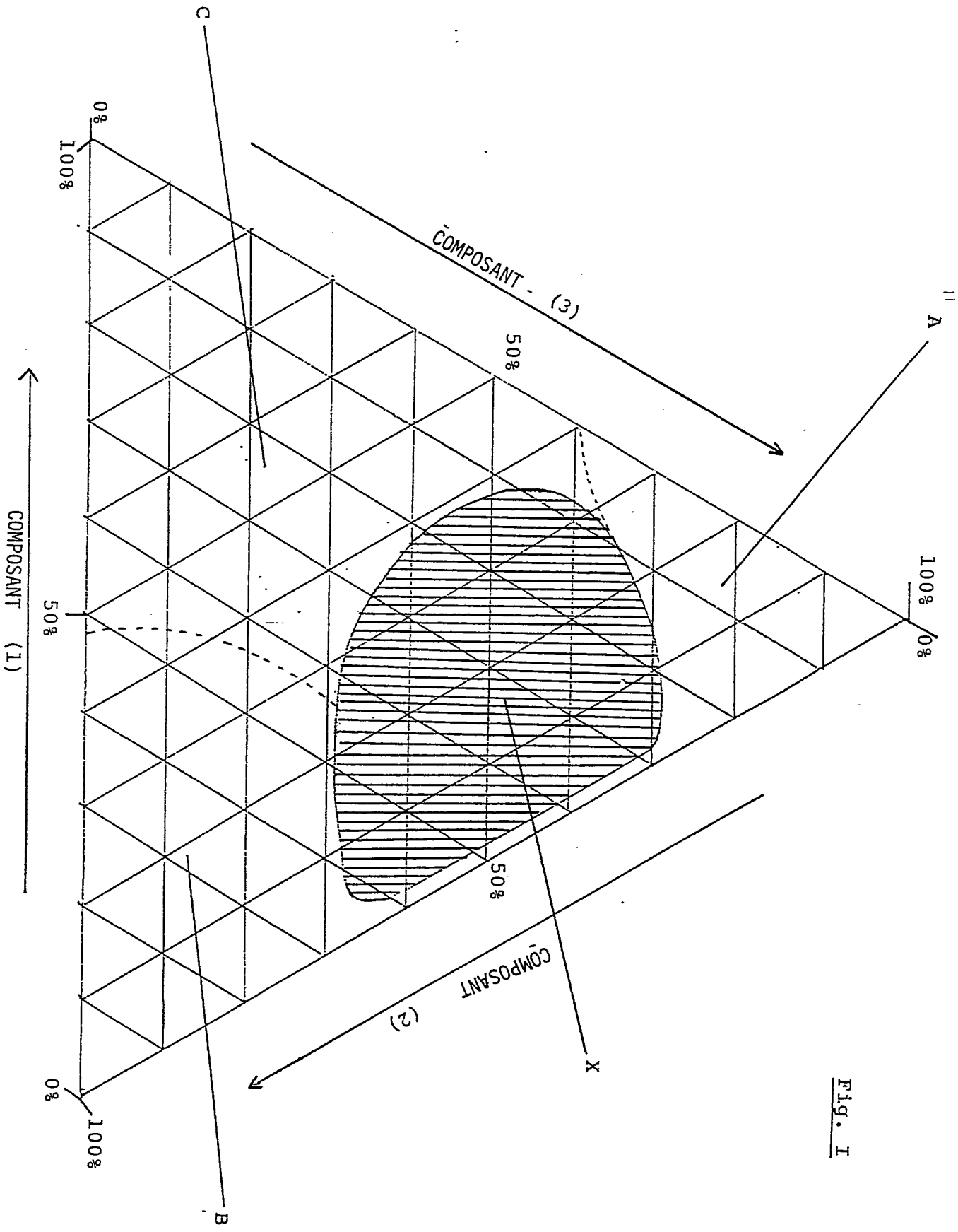
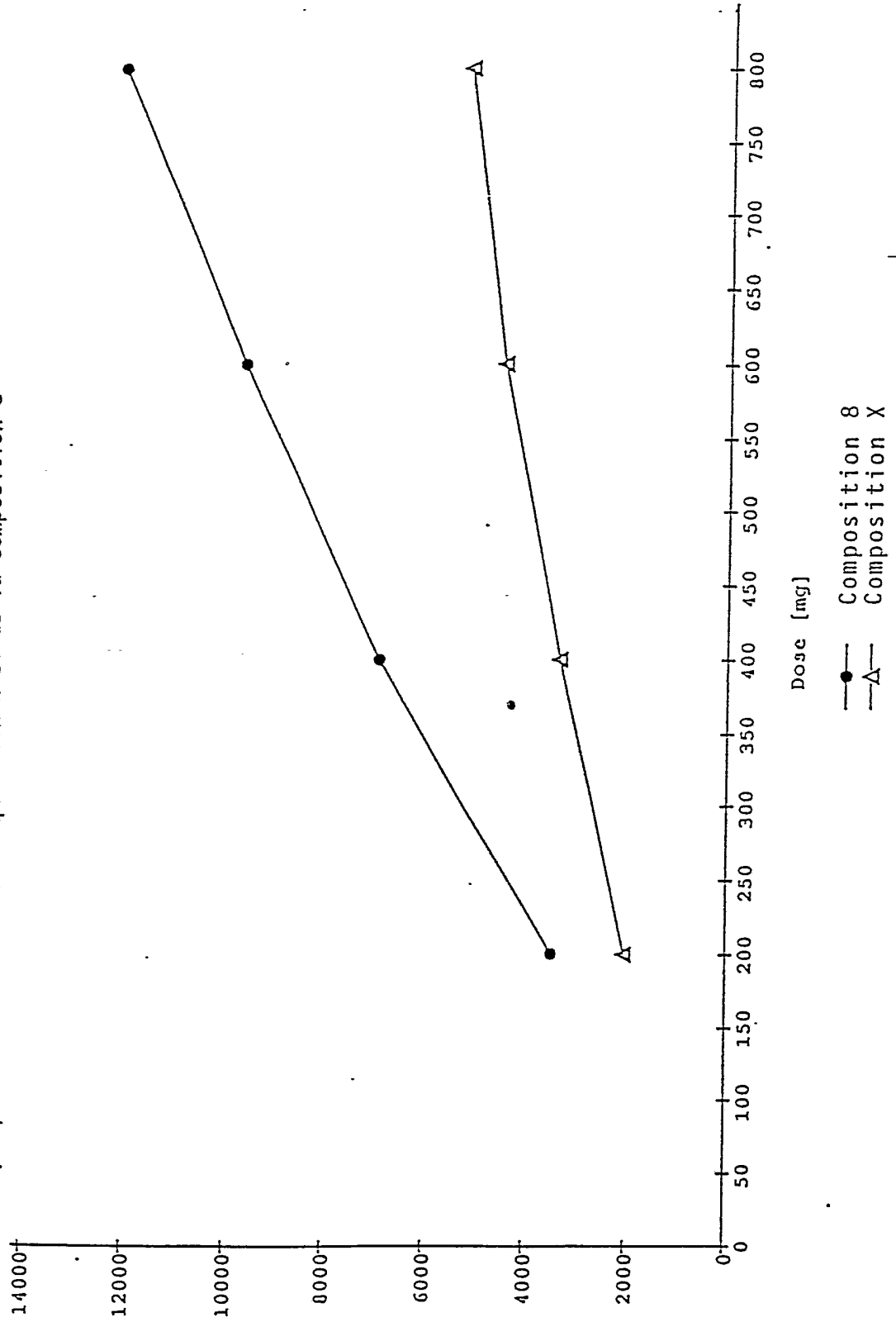


Fig. I

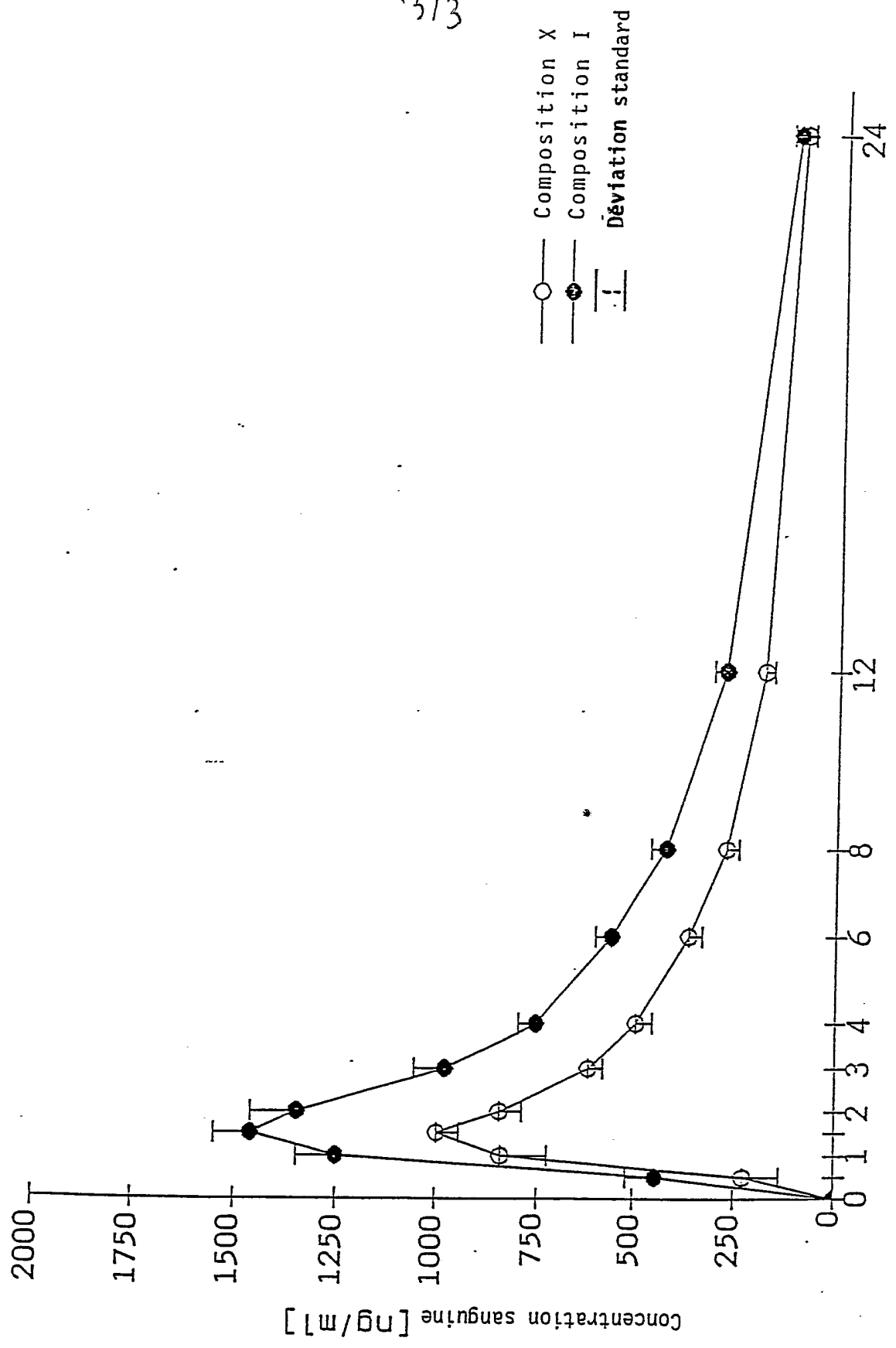
Fig. III

Valeurs AUC(0-48h) moyennes de Ciclosporine après administration unique par voie orale de la composition X et de la composition 8



313

Fig. II



Temps [h]

Concentration sanguine [ng/ml]