



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 314 646**

⑯ Int. Cl.:

A61K 38/48 (2006.01)

A61K 31/745 (2006.01)

A61K 31/22 (2006.01)

A61P 1/18 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **05733481 .5**

⑯ Fecha de presentación : **21.03.2005**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1729797**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **13.12.2006**

④ Título: **Composiciones farmacéuticas por vía oral de productos que contienen lipasa, en particular de pancreatina, que contienen tensioactivos.**

⑩ Prioridad: **22.03.2004 US 554993 P**
22.03.2004 EP 04101164

⑬ Titular/es: **Solvay Pharmaceuticals GmbH**
Hans-Böckler-Allee 20
30173 Hannover, DE

⑤ Fecha de publicación de la mención BOP: **16.03.2009**

⑦ Inventor/es: **Shlieout, George;**
Boedecker, Bernd;
Schaefer, Siegfried;
Thumbeck, Bernd y
Gregory, Peter-Colin

⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente: **16.03.2009**

⑭ Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Composiciones farmacéuticas por vía oral de productos que contienen lipasa, en particular de pancreatina, que contienen tensioactivos.

5 La invención se refiere a nuevas composiciones farmacéuticas de productos que contienen lipasa para administración oral, en particular pancreatina y productos que contienen pancreatina, o de productos enzimas que contienen al menos una lipasa de origen no animal, especialmente de origen microbiano, en los que las composiciones farmacéuticas proporcionan actividad lipolítica mejorada, en particular una estabilización de la lipasa en el intervalo de pH ácido.

10 Estas nuevas composiciones farmacéuticas se caracterizan porque contienen un sistema que comprende al menos un tensioactivo y un co-tensioactivo, y porque son autoemulsionables en contacto con una fase hidrófila y una lipófila. Estas nuevas composiciones farmacéuticas están bien adaptadas para el tratamiento y/o profilaxis de mala digestión, en particular mala digestión basada en insuficiencia pancreática exocrina crónica, en mamíferos y seres humanos.

15 La mala digestión en mamíferos y seres humanos está basada habitualmente en una deficiencia de enzimas digestivas, en particular en una deficiencia de lipasa endógena, pero también de proteasa y/o amilasa. La causa de tal deficiencia de enzimas digestivas es frecuentemente una hipofunción del páncreas (= insuficiencia pancreática), el órgano que produce la mayoría, y las más importantes, enzimas digestivas endógenas. Si la insuficiencia pancreática es patológica, ésta puede ser congénita o adquirida. La insuficiencia pancreática crónica adquirida puede atribuirse por ejemplo al alcoholismo. La insuficiencia pancreática congénita puede atribuirse por ejemplo a la enfermedad congénita fibrosis cística. Las consecuencias de la deficiencia de enzimas digestivas pueden ser síntomas graves de desnutrición y mala nutrición, que pueden venir acompañadas por una susceptibilidad aumentada a enfermedades secundarias.

25 La sustitución con enzimas o digestivas o mezclas de enzimas digestivas exógenas que actúan de modo similar se ha demostrado un tratamiento eficaz para una deficiencia de enzimas digestivas endógenas. Con más frecuencia, se han usado hoy día con este fin preparaciones farmacéuticas (= preparaciones) que contienen pancreatina porcina (= pancreatina). Tales mezclas de enzimas digestivas obtenidas del páncreas del cerdo comprenden lipasas, amilasas y proteasas, y pueden usarse eficazmente para terapia de sustitución de enzimas en seres humanos debido a la gran similitud de las enzimas y sustancias acompañantes contenidas en ellas con el contenido de los jugos pancreáticos humanos. Por ejemplo, se describen procedimientos en las solicitudes de patente alemanas DE 25 12 746 y DE 42 03 30 315, mediante los que se obtiene pancreatina como una mezcla de enzimas naturales por extracción de páncreas porcino, y se convierte a continuación de manera conocida en la forma farmacéutica deseada. Las enzimas pancreáticas se administran usualmente oralmente en forma de preparaciones sólidas. La pancreatina está así disponible comercialmente por ejemplo con el nombre comercial Kreon® en forma de gránulos, glóbulos o cápsulas con microglóbulos revestidos entéricamente.

40 Con el fin de que, cuando se toman oralmente, las mezclas de enzimas administradas no se desnaturalicen irreversiblemente en el estómago por ácido gástrico y enzimas proteolíticas, tales como pepsina presente ahí, es necesario proporcionar las mezclas de enzimas con un revestimiento entérico. Tal revestimiento permite a las mezclas de enzimas intactas pasar a través del estómago hasta su punto de acción, el duodeno, en donde, debido a las condiciones de neutras a ligeramente alcalinas reinantes allí, se descompone la capa protectora y se liberan las enzimas. Como las enzimas pancreáticas endógenas de seres humanos sanos, las enzimas suministradas oralmente pueden ejercer su acción enzimática allí, en particular actividad amilolítica, lipolítica y proteolítica. Tales formulaciones de pancreatina sólidas que pueden revestirse con una película entérica se describen, por ejemplo, en el documento EP 0 021 129 A1.

45 El documento EP 0 583 726 A1 describe núcleos de microglóbulos de pancreatina que se pueden revestir con una película entérica que tienen un contenido de pancreatina del 65-85, en particular del 75-80% en peso, que tienen una densidad aparente de 0,6 g/ml a 0,85 g/ml, consistentes sustancialmente en pancreatina, polietilenglicol 4000 y parafina de baja viscosidad, que contienen por 100 partes en peso de pancreatina: 15-50, en particular 20-30, partes en peso de polietilenglicol 4000; y 1,5-5, en particular 2-3, partes en peso de parafina de baja viscosidad, y que tienen una forma de esférica a elipsoidal, estando el diámetro de esfera del eje menor en el intervalo de 0,7-1,4 mm, en particular 0,8-1,2 mm, y que tienen una distribución del tamaño de partículas en la que al menos el 80% de los núcleos de microglóbulos de pancreatina tienen una relación de eje menor a eje mayor en el intervalo de 1,1 a 1,2.

55 Además, el documento EP 0 826 375 A1 describe el uso de lecitina como agente estabilizante añadido a preparaciones farmacéuticas solubles en agua de mezclas de enzimas digestivas que contienen mezclas de proteasa/lipasa, en particular pancreatina, y que son adecuadas para la preparación de soluciones acuosas para introducción continua en el tracto gastrointestinal por medio de sondas. La lecitina se añade para estabilizar las mezclas de enzimas digestivas contra una disminución de la actividad lipolítica bajo la influencia de humedad.

60 En el caso de formulaciones de medicamentos no revestidas con películas entéricas, se sabe que en el punto de acción de las enzimas, en el duodeno, a menudo sólo una proporción muy pequeña de la lipasa contenida en la preparación farmacéutica y tomada con ella es activa. Así, en el documento DE 36 42 853 A1, tal desactivación de la enzima se atribuye a neutralización insuficiente del ácido gástrico en el duodeno. Mientras que en un ser humano sano el valor del pH intraduodenal postprandial es aproximadamente 6, los pacientes con insuficiencia pancreática tienen sólo un valor del pH de 4. Con este valor del pH, la lipasa contenida en la preparación farmacéutica tiene sólo un quinto de la actividad que tendría de otro modo con un valor del pH de 6.

Es por tanto un objeto de la invención posibilitar composiciones farmacéuticas que contengan enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica y tengan actividad lipolítica mejorada, y muestren en particular una estabilización de la actividad de la lipasa en el intervalo de pH ácido.

5 Según la invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas destinadas a administración oral que comprenden enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica y un sistema que comprende al menos un tensioactivo y al menos un co-tensioactivo, y se caracterizan porque pueden emulsionarse ellas mismas en contacto con una fase hidrófila y una fase lipófila. Preferiblemente, la fase hidrófila usada para formar la emulsión final tras ingestión de la composición farmacéutica es suministrada por el fluido fisiológico del medio digestivo. En una realización adicional 10 de la presente invención, la fase lipófila usada para formar la emulsión final en el tracto digestivo tras ingestión de la composición farmacéutica es suministrada al menos parcialmente por los lípidos presentes en el alimento ingerido. En particular, para conseguir este objeto la invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen sistemas que comprenden al menos un tensioactivo, un co-tensioactivo y una fase lipófila.

15 Sorprendentemente, una composición farmacéutica que contiene lipasa, que contiene tal sistema, tiene actividad lipolítica mejorada y una actividad lipolítica que es estabilizada en el intervalo de pH ácido. El uso de tal sistema en composiciones farmacéuticas de enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica tiene además la ventaja de que composiciones farmacéuticas que contengan tales enzimas o mezclas de enzimas pueden usarse también sin revestimientos entéricos, tal como se describen por ejemplo en el documento EP 0 583 726 A1. En las 20 composiciones farmacéuticas según la invención, la reducción de la actividad lipolítica durante el paso a través del estómago es muchísimo menor que con composiciones farmacéuticas preparadas sin el sistema antedicho. Mediante el sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y opcionalmente una fase lipófila, la actividad lipolítica de las composiciones farmacéuticas según la invención es estabilizada en el intervalo de pH ácido del estómago en comparación con formulaciones convencionales.

25 El hecho de que pueda prescindirse del uso de tales películas de polímero revestidas entéricamente y suavizantes que son por lo demás necesarias para revestir con película diversas formas de medicamentos (gránulos, glóbulos, minipastillas, pastillas, etc.) en la preparación de las composiciones que contienen lipasa según la invención produce ventajas adicionales. Así, se mejora el perfil de seguridad de la composición farmacéutica omitiendo las películas de polímero entéricas y suavizantes, porque se evita su absorción innecesaria. Además, las proporciones de la cantidad 30 de material de revestimiento de película en las formas de medicamento proporcionadas con una película entérica es aproximadamente 20-30% del peso total de la forma de medicamento. Prescindir de estos aditivos hace más pequeña la cantidad de forma de medicamento a tomar, lo que produce mejor aceptación por los pacientes.

35 La posibilidad de prescindir de revestimiento entérico de las enzimas o mezclas de enzimas tiene además la ventaja de que puede tener lugar un mezclado completo de la preparación farmacéutica con el quimo tan pronto como en el estómago. Por consiguiente, forma una emulsión o microemulsión con superficie aumentada, en la que la lipasa contenida en la composición farmacéutica se distribuye de tal modo que se dan posibilidades óptimas de ataque para descomponer los triglicéridos encontrados en el quimo. La formación de emulsión y microemulsión se intensifica adicionalmente por la descomposición lipolítica de los triglicéridos para formar di y monoglicéridos y ácidos 40 grasos libres. Así, las posibilidades mejoradas de ataque para la lipasa producen descomposición intensificada de los triglicéridos. La mayor concentración de ácidos grasos libres resultantes del alimento que se proporciona así produce mejor absorción de grasa en el duodeno. *In vitro*, se determinó para la composición farmacéutica según la invención un aumento de la actividad lipolítica de aproximadamente el 10% en comparación con preparaciones farmacéuticas 45 que contienen lipasa convencionales. Las composiciones farmacéuticas según la invención presentan así estabilización de la actividad lipolítica en el estómago, así como en el duodeno; adicionalmente, debido a la formación intensificada de una (micro)emulsión, aumenta la actividad lipolítica. La (micro)emulsión producida ya independientemente en el estómago produce mejor activación de la lipasa contenida en la composición farmacéutica.

50 Ya se conocen de la técnica anterior composiciones farmacéuticas autoemulsionantes en general. Así, por ejemplo, el documento EP 0 670 715 describe una composición administrada peroralmente que es adecuada para formar una microemulsión *in situ* con el líquido biológico del organismo y se dice así que mejora la disponibilidad biológica de una sustancia activa. Se conocen tales composiciones farmacéuticas con el término SMEDDS® (Self Microemulsifying Drug Delivery System) y consisten en principio en una mezcla de una o más sustancias activas con una fase lipófila definida, un tensioactivo definido y un co-tensioactivo definido, cuyas propiedades se especifican de tal modo que el producto final es capaz de formar una microemulsión en contacto con un volumen dado de líquido fisiológico.

55 Además, el documento EP 1 058 540 B1 describe lo que se denomina una formulación de SMEDDS® en una forma farmacéutica particular, a la que se hace referencia como un “glóbulo”. Estos glóbulos están compuestos por una sustancia activa, en particular indometacina, un agente de unión que sea adecuado para mejorar la disponibilidad biológica de la sustancia activa, por ejemplo Gelucire® 44/14, y un diluyente, por ejemplo lactosa, en forma micronizada.

60 El objeto de los sistemas conocidos hasta ahora de la técnica anterior que forman automáticamente una microemulsión fue siempre no obstante aumentar la biodisponibilidad de sustancias activas mayormente lipófilas porque la formulación de SMEDDS®, debido a la formación de micelas, permite una mejor absorción de la sustancia activa a través de la pared duodenal en la circulación sanguínea. Como contraste, el propósito de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que no contenga ninguna sustancia activa lipófila a absorber en la corriente sanguínea, pero proporciona como agente activo enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica que

desarrollan su acción en el tracto gastrointestinal. Las composiciones farmacéuticas autoemulsionables según la invención producen un aumento sorprendente de la actividad lipolítica contenida en ellas y una estabilidad mejorada de la lipasa en el intervalo de pH ácido. Tales composiciones farmacéuticas de productos enzimas que contienen lipasa, que son autoemulsionables en contacto con una fase hidrófila y que comprenden un sistema consistente en un tensioactivo, 5 un co-tensioactivo y opcionalmente una fase lipófila no se han descrito hasta ahora en la técnica anterior.

Subramanian y Wasan describen un ensayo en el que demuestran que la sustancia Gelucire® 44/14 *in vitro* tiene un efecto inhibidor en la actividad de la lipasa pancreática [Subramanian R. & Wasan K.M. (2003) "Effect of lipid excipients on *in vitro* pancreatic lipase activity" Drug. Dev. Ind. Pharm. 29(8): 885-90]. En este experimento, se mezclan 10 un tampón de ensayo que contiene un lípido particular con soluciones separadas de Gelicire® 44/14, lipasa pancreática y co-lipasa, y se mide la influencia de Gelucire® 44/14 en la actividad de lipasa. Puesto que disminuye la actividad de lipasa, los autores concluyen que Gelucire® y adiciones lipídicas similares a formulaciones farmacéuticas pueden tener un efecto adverso sobre la actividad *in vitro* de la lipasa pancreática. Como contraste, la presente invención muestra que composiciones farmacéuticas autoemulsionables consistentes en mezclas de enzimas que contienen lipasa y un sistema tal como por ejemplo Gelucire® 44/14 producen un aumento de la actividad lipolítica contenida en la formulación farmacéutica. 15

Algunas expresiones como se usan en el contexto de la presente invención se explican con más detalle a continuación.

20 El valor del "balance hidrófilo-lipófilo" (= HLB) es un parámetro empírico usado comúnmente para caracterizar la hidrofilicidad y lipofílicidad relativas de compuestos anfífilos no iónicos es el balance hidrófilo-lipófilo (el valor del "HLB"). Los tensioactivos o co-tensioactivos con valores del HLB más bajos son más lipófilos, y tienen mayor solubilidad en aceites, mientras que los tensioactivos o co-tensioactivos con valores del HLB más altos son más hidrófilos, y tienen mayor solubilidad en soluciones acuosas. Debe tenerse en cuenta que para compuestos aniónicos, 25 catiónicos o con carga positiva y negativa la escala del HLB no es aplicable generalmente.

Generalmente, el valor del HLB de un tensioactivo o co-tensioactivos es una guía práctica usada para permitir la formulación de emulsiones industriales, farmacéuticas y cosméticas. Sin embargo, para muchos tensioactivos importantes, 30 incluyendo varios tensioactivos polietoxilados, se ha informado de que los valores del HLB pueden diferir tanto como aproximadamente 8 unidades de HLB, dependiendo del método empírico escogido para determinar el valor del HLB [Schott, J. Pharm. Sciences, 79(1), 87-88 (1990)]. De igual modo, para ciertos copolímeros de bloques que contienen poli(óxido de propileno) (poloxámeros), los valores del HLB pueden no reflejar con precisión la verdadera naturaleza fisicoquímica de los compuestos. Finalmente, los productos tensioactivos y/o co-tensioactivos comerciales no son 35 generalmente compuestos puros, sino que son a menudo mezclas complejas de compuestos, y el valor del HLB indicado para un compuesto particular puede ser con más precisión característico del producto comercial del que el compuesto es un componente principal. Diferentes productos comerciales que tienen el mismo componente tensioactivo y/o co-tensioactivo principal pueden tener, y típicamente los tienen, diferentes valores del HLB. Además, se espera una cierta magnitud de variabilidad de lote a lote incluso para un producto tensioactivo y/o co-tensioactivo comercial simple.

40 Un *tensioactivo* en el contexto de la presente invención es un compuesto químico que comprende dos grupos, siendo el primero hidrófilo y/o polar o iónico y que tiene una alta afinidad por agua, y conteniendo el segundo una cadena alifática de mayor o menor longitud y que es hidrófobo (lipófilo); es decir, un compuesto tensioactivo debe ser anfífilo. Se pretende que estos compuestos químicos ocasionen la formación y estabilización de emulsiones de aceite en agua. Los tensioactivos con valores del HLB más bajos son más lipófilos, y tienen mayor solubilidad en aceites, mientras que los tensioactivos con valores del HLB más altos son más hidrófilos, y tienen mayor solubilidad 45 en soluciones acuosas. Los tensioactivos adecuados en el contexto de la presente invención tienen un valor del HLB por encima de 6 y por debajo de 18, preferiblemente superior a 8 e inferior a 16. Los tensioactivos pueden ser cualquier tensioactivo adecuado para su uso en composiciones farmacéuticas. Los tensioactivos adecuados pueden ser aniónicos, catiónicos, con carga positiva y negativa o no iónicos. Tales tensioactivos pueden agruparse en algunas clases químicas 50 generales como se explica después. Debe destacarse que la invención no está limitada a los tensioactivos indicados aquí, que muestran listas representativas, pero no exclusivas, de tensioactivos disponibles.

55 *Tensioactivos monoésteres de ácidos grasos-PEG*: Aunque el propio polietilenglicol (PEG) no funciona como tensioactivo, una variedad de ésteres de ácidos grasos-PEG tiene propiedades tensioactivas útiles. Son monoésteres de ácidos grasos-PEG particularmente preferidos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, por los que el polietilenglicol comprende de 6 a 60 unidades óxido de etileno por molécula. Son ejemplos de tensioactivos monoésteres de ácidos grasos polietoxilados disponibles comercialmente: laurato de PEG-4, oleato de PEG-4, estearato de PEG-4, estearato de PEG-5, oleato de PEG-5, oleato de PEG-6, oleato de PEG-7, laurato de PEG-6, laurato de PEG-7, estearato de PEG-6, laurato de PEG-8, oleato de PEG-8, estearato de PEG-8, oleato de PEG-9, estearato de PEG-9, laurato de PEG-10, oleato de PEG-10, estearato de PEG-10, laurato de PEG-12, oleato de PEG-12, ricinoleato de PEG-12, estearato de PEG-12, estearato de PEG-15, oleato de PEG-15, laurato de PEG-20, oleato de PEG-20, estearato de PEG-20, estearato de PEG-25, laurato de PEG-32, oleato de PEG-32, estearato de PEG-32, estearato de PEG-30, monolaurato de PEG 4-100, monooleato de PEG 4-100 y monoestearato de PEG 4-100.

65 *Tensioactivos diésteres de ácidos grasos-PEG*: También son adecuados para su uso como tensioactivos en las composiciones de la presente invención diésteres de ácidos grasos de polietilenglicol (PEG). Son particularmente preferidos diésteres de ácidos grasos-PEG con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, por los que el polietilenglicol

comprende de 6 a 60 unidades óxido de etileno por molécula. Son diésteres de ácidos grasos-PEG representativos disponibles comercialmente: dilaurato de PEG-4, dioleato de PEG-4, dilaurato de PEG-6, dioleato de PEG-6, diestearato de PEG-6, dilaurato de PEG-8, dioleato de PEG-8, diestearato de PEG-8, dipalmitato de PEG-10, dilaurato de PEG-12, diestearato de PEG-12, dioleato de PEG-12, dilaurato de PEG-20, dioleato de PEG-20, diestearato de PEG-20, dilaurato de PEG-32, dioleato de PEG-32 y diestearato de PEG-32.

Mezclas de mono y diésteres de ácidos grasos-PEG: En general, también son útiles en la presente invención mezclas de tensioactivos, incluyendo mezclas de dos o más productos tensioactivos comerciales. Son particularmente preferidas mezclas de mono y diésteres de ácidos grasos-PEG con ácidos carboxílicos alifáticos C_6-C_{22} , por los que el polietilenglicol comprende de 6 a 60 unidades óxido de etileno por molécula. Se comercializan varios ésteres de ácidos grasos-PEG como mezclas de mono y diésteres. Son mezclas de tensioactivos representativas disponibles comercialmente: mono, dilaurato de PEG 4-150, mono, dioleato de PEG 4-150 y mono, diestearato de PEG 4-150.

Ésteres de ácidos grasos polietilenglicol (PEG) glicerol: Además, ésteres de ácidos grasos de PEG glicerol son tensioactivos adecuados en el contexto de la presente invención, tales como laurato de PEG-20 glicerilo, laurato de PEG-15 glicerilo, laurato de PEG-40 glicerilo, estearato de PEG-20 glicerilo, oleato de PEG-20 glicerilo y oleato de PEG-30 glicerilo. Son particularmente preferidos ésteres de ácidos grasos de PEG glicerol con ácidos carboxílicos alifáticos C_6-C_{22} , por los que el polietilenglicol comprende de 6 a 60 unidades óxido de etileno.

Polietilenglicol (PEG) alquil éteres (mono y/o diéteres de polietilenglicol): Son tensioactivos adecuados para su uso en la presente invención éteres de polietilenglicol y alquil alcoholes. Son particularmente preferidos mono y/o diéteres de ácidos grasos-PEG con alcoholes alifáticos $C_{12}-C_{18}$, por los que el polietilenglicol comprende de 6 a 60 unidades óxido de etileno por molécula. Son algunos ejemplos de estos tensioactivos disponibles comercialmente: PEG-2 oleil éter (olet-2), PEG-3 oleil éter (olet-3), PEG-5 oleil éter (olet-5), PEG-10 oleil éter (olet-10), PEG-20 oleil éter (olet-20), PEG-4 lauril éter (lauret-4), PEG-9 lauril éter, PEG-23 lauril éter (lauret-23), PEG-2 cetil éter, PEG-10 cetil éter, PEG-20 cetil éter, PEG-2 estearil éter, PEG-10 estearil éter y PEG-20 estearil éter.

Polietilenglicol esterol éteres: Son tensioactivos adecuados para su uso en la presente invención derivados de PEG de esterolos. Son ejemplos de tensioactivos de esta clase: PEG-24 colesterol éter, PEG-30 colestanol, PEG-25 fitosterol, PEG-5 soja esterol, PEG-10 soja esterol, PEG-20 soja esterol y PEG-30 soja esterol.

Ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán: Está disponible una variedad de ésteres de ácidos grasos de PEG-sorbitán y son adecuados para su uso como tensioactivos en la presente invención. Son ejemplos de estos tensioactivos: laurato de PEG-10 sorbitán, monolaurato de PEG-20 sorbitán, monolaurato de PEG-4 sorbitán, monolaurato de PEG-80 sorbitán, monolaurato de PEG-6 sorbitán, monopalmitato de PEG-20 sorbitán, monoestearato de PEG-20 sorbitán, monoestearato de PEG-4 sorbitán, monoestearato de PEG-8 sorbitán, monoestearato de PEG-6 sorbitán, triestearato de PEG-20 sorbitán, tetraestearato de PEG-60 sorbitán, monooleato de PEG-5 sorbitán, monooleato de PEG-6 sorbitán, monooleato de PEG-20 sorbitán, oleato de PEG-40 sorbitán, trioleato de PEG-20 sorbitán, tetraoleato de PEG-6 sorbitán, tetraoleato de PEG-30 sorbitán, tetraoleato de PEG-40 sorbitán, monoisoestearato de PEG-20 sorbitán y hexaoleato de PEG sorbitol.

Ésteres de azúcares: Los ésteres de azúcares, en particular monoésteres, son tensioactivos adecuados para su uso en la presente invención. Son ejemplos de tales tensioactivos: diestearato/monoestearato de sucrosa, dipalmitato de sucrosa, monoestearato de sucrosa, monopalmitato de sucrosa, monolaurato de sucrosa y monolaurato de sacarosa.

Copolímeros de bloques de polioxietileno-polioxipropileno: Los copolímeros de bloques de POE-POP son una clase única de tensioactivos polímeros. La estructura única de los tensioactivos, con restos POE hidrófilo y POP lipófilo, en relaciones y posiciones bien definidas, proporciona una amplia variedad de tensioactivos adecuados para su uso en la presente invención. El término genérico para estos polímeros es “poloxámero” (CAS 9003-11-6). Estos polímeros tienen la fórmula: $HO(C_2H_4O)_a(C_3H_6O)_b(C_2H_4O)_aH$, en la que “a” y “b” indican el número de unidades polioxietileno y polioxipropileno, respectivamente.

Además, son tensioactivos adecuados *compuestos anfóteros* tales como ácido graso-amidoalquil betaínas con ácidos grasos C_2-C_{22} .

El tensioactivo puede ser también, o incluir como componente, un *tensioactivo iónico*, incluyendo tensioactivos catiónicos, aniónicos y con carga positiva y negativa. Los tensioactivos aniónicos preferidos incluyen sales de ácidos grasos y sales biliares. Los tensioactivos catiónicos preferidos incluyen carnitinas. Específicamente, los tensioactivos iónicos preferidos incluyen oleato sódico, lauril sulfato sódico, lauril sarcosinato sódico, dioctil sulfosuccinato sódico, colato sódico, taurocolato sódico; lauroil carnitina; palmitoil carnitina; miristoil carnitina, sales alginatos; alginato de propilenglicol; lecitinas y lecitinas hidrogenadas; lisolecitina y lisolecitinas hidrogenadas; lisofosfolípidos y derivados de ellos; fosfolípidos y derivados de ellos; sales de alquilsulfatos; docusato sódico; carnitinas; y mezclas de ellos.

Más específicamente, los tensioactivos iónicos preferidos son lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, lisofosfatidilinositol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina, PEG-fosfatidiletanolamina, PVP-fosfatidiletanolamina, 2-lactilato de estearoilo, lactilato de estearoilo, colato, taurocolato, glicocolato, desoxicolato, taurodeso-

xicolato, quenodesoxicolato, glicodesoxicolato, glicoquenodesoxicolato, tauroquenodesoxicolato, ursodesoxicolato, tauroursodesoxicolato, glicoursodesoxicolato, colilsarcosina, taurocolato de N-metilo, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, oleato, ricinoleato, linoleato, linolenato, estearato, lauril sulfato, teracecil sulfato, docu-
sato, lauroil carnitinas, palmitoil carnitinas, miristoil carnitinas y sales y mezclas de ellos.

5 Un *co-tensioactivo*, al que también se hace referencia a veces como un “co-emulsionante”, en el contexto de la presente invención es igualmente un compuesto químico que tiene porciones hidrófoba (lipófila) e hidrófila, pero predominando la naturaleza hidrófoba (lipófila). Se pretende hacer a las fases acuosa y aceitosa en una microemulsión mutuamente solubles. Los co-tensioactivos adecuados en el contexto de la presente invención tienen un valor del HLB 10 inferior a 10, preferiblemente por debajo de 8 y aún más preferiblemente inferior a 6. Los co-tensioactivos pueden ser cualesquiera ésteres parciales y/o éteres parciales de alcoholes polihídricos (polivalentes), tales como glicerol, propilenglicol (1,2-propanodiol; 1,2-dihidroxipropano), etil-diglicol o incluso poligliceroles (tales como diglicerol, triglicerol, tetraglicerol, etc.) con ácidos carboxílicos alifáticos (ácidos grasos) o alcoholes alifáticos (alcoholes grasos).

15 Se dan a continuación co-tensioactivos adicionales, que pueden agruparse en algunas clases químicas generales. Debe destacarse que la invención no está limitada a los co-tensioactivos indicados aquí, que muestran listas representativas, pero no exclusivas, de co-tensioactivos disponibles.

20 *Monoglicéridos*: Una clase particularmente importante de co-tensioactivos es la clase de monoglicéridos, que son generalmente lipófilos. Son particularmente preferidas mezclas de monoglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂. Son ejemplos de esta clase de co-tensioactivos: monopalmitoleína (C16:1), monoelaidina (C18:1), monocaproína (C6), monocaprílina, monocaprína, monolaurina, monomiristato de glicerilo (C14), monooleato de glicerilo (C18:1), monooleato de glicerilo, monolinoleato de glicerilo, ricinoleato de glicerilo, monolaurato de glicerilo, monopalmitato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, monopalmitato de glicerilo, monoestearato de glicerol, caprilato de glicerilo y caprato de glicerilo, así como mezclas de ellos.

25 *Ácidos grasos poliglicerados*: Son también co-tensioactivos adecuados para la presente invención ésteres de poligliceroles de ácidos grasos, en particular monoésteres de poligliceroles. Son particularmente preferidas mezclas de ésteres de poligliceroles con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂. Son ejemplos de ésteres de poligliceroles adecuados disponibles comercialmente: estearato de poligliceroilo-2, oleato de poligliceroilo-2, isoestearato de poligliceroilo-2, oleato de poligliceroilo-3, oleato de poligliceroilo-4, estearato de poligliceroilo-4, oleato de poligliceroilo-6, dioleato de poligliceroilo-2 y dioleato de poligliceroilo-6.

35 *Ésteres de ácidos grasos de propilenglicol*: Son co-tensioactivos adecuados para su uso en la presente invención ésteres parciales de propilenglicol y ácidos grasos, en particular monoésteres. Son particularmente preferidas mezclas de ésteres de propilenglicol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂. Son ejemplos de co-tensioactivos de esta clase: monocaprílato de propilenglicol, monolaurato de propilenglicol, oleato de propilenglicol, miristato de propilenglicol, monoestearato de propilenglicol, hidroxiestearato de propilenglicol, ricinoleato de propilenglicol, isoestearato de propilenglicol, monooleato de propilenglicol, dicaprilato/dicaprato de propilenglicol, dioctanoato de propilenglicol, caprilato/caprato de propilenglicol, dilaurato de propilenglicol, diestearato de propilenglicol, dicaprilato de propilenglicol y dicaprato de propilenglicol.

40 Una *fase lipófila* en el contexto de la presente invención se entiende que significa un líquido inmiscible con agua. También puede hacerse referencia a la fase lipófila como que es una *fase lipídica*. Para composiciones de la presente invención en las que el sistema incluye también un componente lipófilo, el componente lipófilo es preferiblemente un triglicérido o una mezcla de un triglicérido y un diglicérido. Las fases lipófilas adecuadas son preferiblemente di y triacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos (ácidos grasos) con 4 a 22 átomos de carbono, en particular con 6 a 22 átomos de carbono, y también mezclas de ellos.

45 *Diglicéridos* preferidos en el contexto de la presente invención son mezclas de diglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂. Son ejemplos: dioleato de glicerilo, dipalmitato de glicerilo, dilaurato de glicerilo, dilinoleato de glicerilo, dicaprilato de glicerilo, dicaprato de glicerilo, caprilato/caprato de glicerilo, diestearato de glicerilo, estearato/palmítato de glicerilo, oleato/linoleato de glicerilo y dimiristato de glicerilo.

50 Son *triglicéridos* preferidos aquellos que solidifican a temperatura ambiente, con o sin adición de aditivos apropiados, o aquellos que en combinación con tensioactivos y/o co-tensioactivos y/o ingredientes activos particulares solidifican a temperatura ambiente. Son ejemplos de triglicéridos adecuados para su uso en la presente invención: aceite de aceituno, aceite de almendras, aceite de araquí, aceite de babassu, cera de abejas, aceite de semilla de grosella, aceite de borraja, aceite de búfalo, aceite de nuez de candelilla, aceite de canola, aceite de ricino, aceite de sebo vegetal chino, manteca de cacao, aceite de nuez de coco, aceite de semilla de café, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de crambe, aceite de la especie cuphea, aceite de primula, aceite de semilla de uva, aceite de nuez subterránea, aceite de semilla de cáñamo, grasa de illipe, aceite de semilla de capoc, aceite de linaza, aceite de menhaden, manteca de mowrah, aceite de semilla de mostaza, aceite de oiticica, aceite de oliva, aceite de palma, aceite de almendra de palma, aceite de cacahuete, aceite de semilla de adormidera, aceite de colza, aceite de salvado de arroz, aceite de cártamo, grasa de sal (*Shorea robusta*), aceite de sésamo, aceite de hígado de tiburón, aceite de nuez de shea, aceite de soja, aceite de estilingia, aceite de girasol, aceite de tall, aceite de semilla de té, aceite de semilla de tabaco, aceite de tung (aceite de madera de China), ucuhuba, aceite de vernonia, aceite de germen de trigo, aceite de ricino hi-

drogenado, aceite de coco hidrogenado, aceite de semilla de algodón hidrogenado, aceite de palma hidrogenado, aceite de soja hidrogenado, aceite vegetal hidrogenado, aceite de semilla de algodón y de ricino hidrogenados, aceite de soja parcialmente hidrogenado, aceite de soja y semilla de algodón parcialmente hidrogenados, mono, di y tribehenato de glicerilo, tributirato de glicerol, tricaproato de glicerilo, tricaprilato de glicerilo, tricaprato de glicerilo, triundecanoato de glicerilo, trilaurato de glicerilo, trimiristato de glicerilo, tripalmitato de glicerilo, triestearato de glicerilo, triarquidato de glicerilo, trimiristoleato de glicerilo, tripalmitoleato de glicerilo, trioleato de glicerilo, trilinoleato de glicerilo, trilinenato de glicerilo, tricaprilato/caprato de glicerilo, tricaprilato/caprato/laurato de glicerilo, tricaprilato/caprato/linoleato de glicerilo, tricaprilato/caprato/estearato de glicerilo, tricaprilato/laurato/estearato de glicerilo, 1,2-caprilato-3-linoleato de glicerilo, 1,2-caprato-3-estearato de glicerilo, 1,2-laurato-3-miristato de glicerilo, 1,2-miristato-3-laurato de glicerilo, 1,3-palmitato-2-butirato de glicerilo, 1,3-estearato-2-caprato de glicerilo, 1,2-linoleato-3-caprilato de glicerilo.

También están dentro del alcance de la invención triglicéridos fraccionados, triglicéridos modificados, triglicéridos sintéticos y mezclas de triglicéridos. Los triglicéridos preferidos incluyen aceites vegetales, aceites de pescado, grasas de animales, aceites vegetales hidrogenados, aceites vegetales parcialmente hidrogenados, triglicéridos de cadena media y larga y triglicéridos estructurados.

Además, los siguientes compuestos pueden ser adecuados como *fase lipófila*: hidrocarburos alifáticos de baja viscosidad y alta viscosidad, y también en particular éster de oleilo de ácido oleico, estearato de isoctilo, éster de hexilo de ácido láurico, adipato de di-n-butilo, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo y estearato de isopropilo, alcohol oleílico, aceites etéreos, caprilato de isopropilo, caprinato de isopropilo y laurato de isopropilo.

Sistemas completos compuestos por tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila

Varias composiciones de tensioactivo y/o co-tensioactivo comerciales contienen cantidades de pequeñas a moderadas de di y triglicéridos, típicamente como resultado de una reacción incompleta de un material de partida de triglicérido en, por ejemplo, una reacción de transesterificación. Tales composiciones de tensioactivo y/o co-tensioactivo comerciales, aunque se hace referencia a ellas nominalmente como "tensioactivos" y/o "co-tensioactivo", pueden ser adecuadas para proporcionar, además de la parte de tensioactivo y/o co-tensioactivo del sistema, la totalidad o parte del componente lipófilo, es decir, el componente di y triglicérido, para las composiciones de la presente invención.

Son conocidas por los expertos en la técnica otras composiciones todavía de tensioactivo y/o co-tensioactivo comerciales que tienen un contenido significativo de diglicéridos y triglicéridos. Debe apreciarse que tales composiciones, que contienen di y triglicéridos así como tensioactivos y/o co-tensioactivos, pueden ser adecuadas para proporcionar el sistema completo compuesto por tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila, de las composiciones de la presente invención. Son ejemplos típicos de tal clase de sistemas los denominados macrogolglicéridos (o glicéridos polioxietilados) con diferentes clases de ácidos grasos. Los macrogolglicéridos son mezclas de monoésteres, diésteres y triésteres de glicerol y monoéster y diéster de PEG (= polietilenglicol, macrogol, polioxietileno, polí(óxido de etileno), poliglicol) con ácidos grasos, por lo que puede definirse la masa molecular del PEG así como la naturaleza de los ácidos grasos. Los macrogolglicéridos pueden obtenerse por una reacción de hidrólisis/esterificación parcial de triglicéridos usando el macrogol respectivo. Alternativamente, pueden obtenerse macrogolglicéridos por esterificación de glicerol y el macrogol y los correspondientes ácidos grasos libres. Como triglicéridos, puede usarse una variedad de aceites naturales y/o hidrogenados. Más comúnmente, los aceites usados son aceite de ricino o aceite de ricino hidrogenado o un aceite vegetal comestible tal como aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de almendra de palma, aceite de almendra de albaricoque o aceite de almendra, o el aceite vegetal hidrogenado correspondiente.

Típicamente, tales productos de transesterificación de aceites y polietilenglicol (u otros polialcoholes) se nombran por sus aductos: PEG-20 aceite de ricino, PEG-23 aceite de ricino, PEG-30 aceite de ricino, PEG-35 aceite de ricino, PEG-38 aceite de ricino, PEG-40 aceite de ricino, PEG-50 aceite de ricino, PEG-56 aceite de ricino, PEG-7 aceite de ricino hidrogenado, PEG-10 aceite de ricino hidrogenado, PEG-20 aceite de ricino hidrogenado, PEG-25 aceite de ricino hidrogenado, PEG-30 aceite de ricino hidrogenado, PEG-40 aceite de ricino hidrogenado, PEG-45 aceite de ricino hidrogenado, PEG-50 aceite de ricino hidrogenado, PEG-60 aceite de ricino hidrogenado, PEG-80 aceite de ricino hidrogenado, PEG-8 aceite de maíz, PEG-20 aceite de maíz, PEG-20 aceite de almendras, trioleato de PEG-25, PEG-40 aceite de almendra de palma, PEG-60 aceite de maíz, PEG-60 aceite de almendras, PEG-8 glicéridos caprílico/cáprico, laurooil macrogol-32 glicérido (= PEG-32 aceite de almendra de palma hidrogenado, por ejemplo, Gelucire® 44/14), estearoil macrogol glicérido (por ejemplo, Gelucire® 50/13).

Los ejemplos de composiciones de co-tensioactivo comerciales de monoglicéridos, que contienen además di y triglicéridos, incluyen algunos miembros de las familias de co-tensioactivos Maisines® (Gattefosse) e Imwitors® (Hüls). Estas composiciones comerciales pueden usarse para proporcionar el co-tensioactivo y la fase lipófila en una composición. Son ejemplos específicos de estas composiciones: Maisine® 35-I (glicéridos linoleicos) e Imwitor® 742 (glicéridos caprílico/cáprico).

Ácidos carboxílicos alifáticos con 6 a 22 átomos de carbono: En el contexto de la presente invención, se entienden ácidos carboxílicos alifáticos con 6 a 22 átomos de carbonos como ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂. Así, se usan preferiblemente ácidos carboxílicos seleccionados del grupo que contiene ácido caproico (C6), ácido caprílico (C8), ácido cáprico (C10), ácido láurico (C12), ácido mirístico (C14), ácido palmitíco (C16), ácido esteárico (C18), ácido

araquídico (C20) y ácido behénico (C22), así como los ácidos carboxílicos insaturados correspondientes, tales como ácido palmitoleico (C16), ácido oleico (C18), ácido linoleico (C18), ácido linolénico (C18), ácido eicosenoico (C20), individualmente o como una mezcla. De manera particularmente preferida, se seleccionan los ácidos carboxílicos saturados.

5 *Alcoholes alifáticos con 12 a 18 átomos de carbono:* En el contexto de la presente invención, se entienden alcoholes alifáticos con 12 a 18 átomos de carbonos como alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈. Así, se usan preferiblemente alcoholes seleccionados del grupo que contiene alcohol laurílico (C12), alcohol miristílico (C14), alcohol cetílico (C16), alcohol estearílico (C18), alcohol oleílico (C18), alcohol linoleílico (C18) y alcohol linolénílico (C18), individualmente o como una mezcla. De manera particularmente preferida, se seleccionan los alcoholes saturados.

10 *Alcoholes alifáticos con 12 a 22 átomos de carbono:* En el contexto de la presente invención, se entienden alcoholes alifáticos con 12 a 22 átomos de carbonos como alcoholes alifáticos C₁₂-C₂₂. Así, se usan preferiblemente alcoholes seleccionados del grupo que contiene alcohol laurílico (C12), alcohol miristílico (C14), alcohol cetílico (C16), alcohol estearílico (C18), alcohol araquidílico (C20), alcohol behénico (C22), alcohol oleílico (C18), alcohol linoleílico (C18) y alcohol linolénílico (C18), individualmente o como una mezcla. De manera particularmente preferida, se seleccionan los alcoholes saturados.

15 La *fase hidrófila* en el contexto de la presente invención se entiende en particular que significa una fase acuosa que es suministrada preferiblemente por el líquido fisiológico del medio de digestión y/o por un líquido acuoso ingerido en paralelo con el alimento y/o la preparación farmacéutica.

20 *Enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica* en el contexto de la presente invención se entiende que significa mezclas de enzimas aceptables fisiológicamente que contienen al menos una lipasa. Además, las enzimas 25 o mezclas de enzimas pueden tener también sin embargo actividad proteolítica además de la actividad lipolítica, es decir, contienen al menos una proteasa, y/o actividad amilolítica, es decir, contienen al menos una amilasa.

25 Pueden usarse enzimas o mezclas de enzimas que presenten actividad (i) puramente lipolítica; o (ii) lipolítica y proteolítica; o (iii) lipolítica y amilolítica; o (iv) lipolítica, proteolítica y amilolítica. Las enzimas o mezclas de enzimas adecuadas pueden ser de cualquier origen animal o microbiológico. Las mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica, y opcionalmente también proteolítica y/o amilolítica usadas en el contexto de la invención pueden ser por tanto de origen puramente microbiano o de origen puramente animal, o representan alternativamente una mezcla de enzimas de origen animal y microbiano.

30 35 En el caso de productos enzimas que contienen lipasa de origen no animal así como preparaciones de las mismas, éstas son mezclas de enzimas que comprenden al menos una lipasa y opcionalmente también al menos una proteasa y/o amilasa. Estas enzimas pueden ser derivadas de plantas o de origen fúngico o bacteriano. Estas lipasas, proteasas y/o amilasas pueden obtenerse, por ejemplo, por fermentación de opcionalmente bacterias u hongos recombinantes. Los productos enzimas que contienen lipasa pueden estar compuestos por preparaciones de enzimas derivadas puramente 40 de microbios (es decir, enzimas obtenidas de hongos o bacterias) o preparaciones de enzimas obtenidas de plantas, pero también de mezclas sintéticas de preparaciones de enzimas de plantas, bacterias y/u hongos, opcionalmente producidas recombinantemente en un sistema microbiano. Además, la enzima producida recombinantemente puede ser una variante de enzima o una enzima mutada que sea equivalente funcionalmente o que tenga aspectos estructurales similares a una enzima de origen natural.

45 50 Por “enzima microbiana producida recombinantemente”, en particular “lipasa, amilasa o proteasa producida recombinantemente”, se entiende una enzima producida mediante tecnología de ADN recombinante, siendo la enzima de origen microbiano, es decir, obtenida de hongos o bacterias. En el contexto de esta invención, lipasas adecuadas son lipasas microbianas producidas recombinantemente que poseen actividad lipolítica, preferiblemente a un pH relativamente bajo. En el contexto de esta invención, proteasas adecuadas son proteasas microbianas producidas recombinantemente que poseen actividad proteolítica, preferiblemente a un pH relativamente bajo. En el contexto de esta invención, amilasas adecuadas son amilasas microbianas producidas recombinantemente que poseen actividad amilolítica, preferiblemente a un pH relativamente bajo.

55 La enzima microbiana producida recombinantemente, es decir, la lipasa, amilasa o proteasa, puede ser una variante de enzima o una enzima mutada que sea equivalente funcionalmente o que tenga aspectos estructurales similares a una enzima de origen natural.

60 Las lipasas microbianas producidas recombinantemente preferidas son lipasas derivadas de hongos, por ejemplo, de especies *Humicola*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Geotrichum* o *Candida*, en particular *Humicola lanuginosa* (*Thermomyces lanuginosa*), *Rhizomucor miehei*, *Rhizopus javanicus*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus delamar*, *Candida cylindracea*, *Candida rugosa* o *Geotrichum candidum*; o pueden derivarse de bacterias, por ejemplo, de especies *Pseudomonas*, *Burkholderia* o *Bacillus*, en particular *Burkholderia cepacia*. Son más preferidas lipasas derivadas de una cepa de *Humicola lanuginosa* (*Thermomyces lanuginosa*) o *Rhizomucor miehei*.

65 Lipasas de origen microbiano que pueden usarse en el contexto de la presente invención y su producción mediante, por ejemplo, tecnología recombinante, se describen en, por ejemplo, las Publicaciones de EP N° 0600868, 0238023, 0305216, 0828509, 0550450, 1261368, 0973878 y 0592478, cuyas publicaciones se incluyen aquí como referencia.

Las amilasas microbianas producidas recombinantemente preferidas son amilasas derivadas de hongos, por ejemplo, de especies *Aspergillus* o *Rhizopus*, en particular *Aspergillus niger* o *Aspergillus oryzae*; o pueden derivarse de bacterias, por ejemplo, de especie *Bacillus*, en particular *Bacillus subtilis*. Son más preferidas amilasas derivadas de una cepa de *Aspergillus oryzae*.

5

Amilasas de origen microbiano que pueden usarse en el contexto de la presente invención y su producción mediante tecnología recombinante se describen en, por ejemplo, la Publicación de EP Nº 0828509, cuya publicación se incluye aquí como referencia.

10

Las proteasas microbianas producidas recombinantemente preferidas son proteasas derivadas de hongos, por ejemplo, de especies *Aspergillus* o *Rhizopus*, en particular *Aspergillus melleus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* o *Rhizopus oryzae*; o pueden derivarse de bacterias, por ejemplo, de especie *Bacillus*, en particular *Bacillus subtilis*. Son más preferidas proteasas derivadas de una cepa de *Aspergillus melleus*.

15

Se describen proteasas de origen microbiano que pueden usarse en el contexto de la presente invención en, por ejemplo, la Publicación EP 1 186 658 y Pariza & Johnson [Pariza MW & Johnson EA: "Evaluating the safety of microbial enzyme preparations used in food processing: update for a new century". Regul Toxicol Pharmacol. Abril de 2001; 33(2): 173-86. Review], cuyas publicaciones se incluyen aquí como referencia.

20

La enzima microbiana producida recombinantemente, es decir, lipasa, amilasa o proteasa, preferiblemente la lipasa producida recombinantemente, puede obtenerse por fermentación de una célula de hongo, por ejemplo, perteneciente al género *Aspergillus*, tal como *A. niger*, *A. oryzae* o *A. nidulans*; una célula de levadura, por ejemplo, perteneciente a una cepa de *Saccharomyces*, tal como *S. cerevisiae*, o una levadura metilotrófica de los géneros *Hansenula*, tal como *H. polymorpha*, o *Pichia*, tal como *P. pastoris*; o una célula bacteriana, por ejemplo, perteneciente a una cepa de *Bacillus*, tal como *B. subtilis* o *B. lentus*; transformándose la célula con el gen que codifica la lipasa microbiana. Los organismos hospedantes más preferidos son miembros de *Aspergillus oryzae*.

25

Una variante de enzima o enzima mutada es obtenible por alteración de la secuencia de ADN del gen progenitor o sus derivados. La variante de enzima o enzima mutada puede expresarse y producirse cuando la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica la enzima respectiva se inserta en un vector adecuado en un organismo hospedante adecuado. El organismo hospedante no tiene que ser necesariamente idéntico al organismo del que se origina el gen progenitor. Los métodos para introducir mutaciones en genes son muy conocidos en la técnica, véase por ejemplo la Solicitud de Patente EP 0 407 225.

30

Las variantes de lipasa o lipasas mutadas preferidas son obtenibles de lipasas microbianas madres. En una realización preferida, la lipasa madre se deriva de un hongo, por ejemplo, una cepa de *Humicola* o *Rhizomucor*, preferiblemente una cepa de *Humicola lanuginosa* o una cepa de *Rhizomucor miehei*. En otra realización preferida, la lipasa madre se deriva de levadura, por ejemplo, derivada de una cepa de *Candida*. En una realización preferida adicional, la lipasa madre se deriva de una bacteria, por ejemplo, derivada de una cepa de *Pseudomonas*. Las variantes de lipasa o lipasas mutadas más preferidas son variantes de lipasa de lipasas madres que comprenden una tríada catalítica de tipo tripsina que incluye un residuo de serina activo situado en una bolsa de unión alargada, principalmente hidrófoba, de la molécula de lipasa, en el que la carga electrostática y/o hidrofobicidad de una zona de contacto de lípido que comprende residuos situados en la proximidad de la estructura de lipasa que contiene el residuo de serina activo, cuyos residuos pueden participar en la interacción con el sustrato en o durante la hidrólisis, se ha cambiado suprimiendo o sustituyendo uno o más residuos de aminoácidos cargados negativamente por residuo(s) de aminoácido(s) neutro(s) o cargado(s) positivamente, y/o sustituyendo uno o más residuos de aminoácidos neutros por residuo(s) de aminoácido(s) cargado(s) positivamente, y/o suprimiendo o sustituyendo uno o más residuos de aminoácidos hidrófobos por residuo(s) de aminoácido(s) hidrófobo(s).

40

Se seleccionan preferiblemente productos auxiliares, vehículos y/o excipientes compatibles farmacéuticamente en el contexto de la presente invención del grupo constituido por polietilenglicoles libres que tienen un peso molecular medio de alrededor de 200 a aproximadamente 6.000, glicerol, alcoholes inferiores, en particular alcoholes C₁-C₄ de cadena recta o ramificada tales como 2-propanol, azúcares, tales como lactosa, sucrosa o dextrosa; polisacáridos, tales como maltodextrina o dextratos; almidones; productos celulósicos, tales como celulosa microcristalina o celulosa microcristalina/carboximetilcelulosa sódica; productos inorgánicos, tales como fosfato bícálcico, hidroxiapatita, fosfato trícálcico, talco o óxido de titanio; y polioles, tales como manitol, xilitol, sorbitol o ciclodextrina; y mezclas de las sustancias antedichas.

45

La presente invención describe composiciones farmacéuticas para administración oral, que son autoemulsionables en contacto con una fase hidrófila y una fase lipófila, comprendiendo dicha composición:

55

- (i) enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica, y
- (ii) un sistema que comprende
 - al menos un tensioactivo,
 - al menos un co-tensioactivo, y

ES 2 314 646 T3

- opcionalmente una fase lipófila,

según se define en las reivindicaciones.

5 Preferiblemente, la composición farmacéutica según la invención comprende enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica y un sistema que comprende

- como tensioactivo, al menos un agente que tiene un valor del HLB superior a 6 e inferior a 18,
- 10 • como co-tensioactivo, al menos un agente que tiene un valor del HLB inferior a 10, y
- como fase lipófila, una fase lipídica,

15 por lo que el sistema que comprende tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila tiene un valor del HLB de aproximadamente 4 a 16, y un punto de fusión mayor que o igual a 20°C, preferiblemente mayor que o igual a 25°C.

20 El tensioactivo del sistema se escoge preferiblemente del grupo constituido por ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol glicerol; éteres de polietilenglicol alquilo, éteres de polietilenglicol esterol, ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán, ésteres de azúcares, copolímeros de bloques de polioxietileno-polioxipropileno, tensioactivos iónicos y mezclas de ellos. Aún más preferido, el tensioactivo se escoge del grupo constituido por mono y/o diésteres de ácidos grasos de polietilenglicol (PEG) con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol (PEG) glicerol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂; mono y/o diésteres de polietilenglicol (PEG) alquilo con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, y mezclas de ellos. En particular, el tensioactivo usado está representado por una mezcla de mono y diésteres de polietilenglicol (PEG) con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂ y/o mono y diésteres de polietilenglicol (PEG) con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, por la que el polietilenglicol (PEG) comprende de 6 a 60 unidades óxido de etileno por molécula (PEG-6 a PEG-60, también denominados PEG 300 a PEG 3000), preferiblemente por una mezcla de mono y diésteres de polietilenglicol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, por la que el polietilenglicol comprende de 6 a 40 unidades óxido de etileno por molécula.

30 El co-tensioactivo del sistema se escoge preferiblemente del grupo constituido por monoacilglicéridos, monoéteres de glicerol, ésteres parciales de propilenglicol, ésteres parciales de poliglicerol, ésteres parciales de etildiglicol y mezclas de ellos. Aún más preferido, el co-tensioactivo se escoge del grupo constituido por monoacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, monoéteres de gliceroléteres con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, ésteres parciales de propilenglicol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, ésteres parciales de poliglicerol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, y mezclas de ellos. Son co-tensioactivos particularmente preferidos monoacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂ y/o monoéteres de glicerol con alcoholes alifáticos C₁₂-C₂₂, especialmente monoacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂.

40 La *fase lipófila* está representada preferiblemente por di y/o triacilglicéridos, preferiblemente di y/o triacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂.

Por tanto, el sistema que forma parte de la composición farmacéutica comprende

45 • como tensioactivo, una mezcla de mono y diésteres de polietilenglicol (PEG) con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂ y/o mono y diésteres de polietilenglicol (PEG) con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, por la que el polietilenglicol (PEG) comprende de 6 a 60 unidades óxido de etileno por molécula, preferiblemente una mezcla de mono y diésteres de polietilenglicol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, por la que el polietilenglicol comprende de 6 a 40 unidades óxido de etileno por molécula:

50 • como co-tensioactivo, monoacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂ y/o monoéteres de glicerol con alcoholes alifáticos C₁₂-C₂₂, preferiblemente monoacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, y

• como fase lipófila, di y triacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂.

55 La composición farmacéutica según la invención comprende

60 • del 2 al 90% en peso de tensioactivos como se ha definido antes,

• del 5 al 60% en peso de co-tensioactivos como se ha definido antes, y

• del 0 al 70% en peso de la fase lipófila como se ha definido antes,

65 por el que los componentes tensioactivo, co-tensioactivo y la fase lipófila forman hasta el 100% en peso del sistema y el sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y la fase lipófila forma del 10% al 95% en peso de la composición farmacéutica.

ES 2 314 646 T3

Preferiblemente, la composición farmacéutica se caracteriza porque el sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila forma del 10 al 70% en peso, preferiblemente del 20 al 50% en peso, más preferiblemente del 25 al 40% en peso, de la composición farmacéutica.

5 En una realización adicional, la composición farmacéutica según la invención se caracteriza porque el sistema comprende

- del 40 al 90% en peso, preferiblemente del 60 al 85% en peso, de tensioactivos,
- 10 • del 5 al 40% en peso, preferiblemente 15-30% en peso, de co-tensioactivos, y
- del 0 al 40% en peso, preferiblemente 15-30% en peso, de la fase lipófila,

15 por lo que el total de co-tensioactivos y la fase lipófila juntos es al menos 10% en peso, preferiblemente entre el 15 y el 40% en peso del sistema.

En el contexto de la presente invención, las composiciones farmacéuticas pueden contener adicionalmente productos auxiliares, vehículos y/o excipientes compatibles convencionales farmacéuticamente como se define a continuación.

20 En particular, los productos auxiliares, vehículos y/o excipientes compatibles farmacéuticamente se seleccionan del grupo constituido por polietilenglicoles libres que tienen un peso molecular medio de alrededor de 200 a aproximadamente 6.000, glicerol, alcoholes inferiores, en particular alcoholes C₁-C₄ de cadena recta o ramificados tales como 2-propanol, azúcares, tales como lactosa, sucrosa o dextrosa; productos celulósicos, tales como celulosa microcristalina o celulosa microcristalina/carboximetilcelulosa sódica, y mezclas de las sustancias antedichas.

25 En una realización preferida, la proporción de los productos auxiliares y/o excipientes compatibles farmacéuticamente contenidos además en ella es como mucho el 20% en peso de la composición farmacéutica.

30 En una realización preferida adicional, la composición farmacéutica según la invención comprende una mezcla de macrogolglicéridos que representa el sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila, por el que los macrogolglicéridos son una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol (PEG) de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, y también posiblemente pequeñas proporciones de glicerol y polietilenglicol libre.

35 El polietilenglicol (PEG) contenido en las mezclas de macrogolglicéridos es preferiblemente PEG que tiene como media de 6 a como mucho 40 unidades óxido de etileno por molécula o un peso molecular entre 200 y 2.000.

40 Un aspecto adicional de la invención prevé que la composición farmacéutica comprenda un sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila, teniendo el sistema un valor del HLB mayor que o igual a 10 y un punto de fusión mayor que o igual a 30°C. En una realización preferida, el sistema tiene un valor del HLB de 10 a 16, preferiblemente de 12 a 15, y tiene un punto de fusión entre 30 y 60°C, preferiblemente entre 40 y 50°C.

45 En particular, el sistema caracterizado por el valor del HLB y el punto de fusión es una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol (PEG) con ácidos carboxílicos alifáticos con 8 a 20 átomos de carbono, por el que el polietilenglicol tiene preferiblemente de alrededor de 6 a aproximadamente 32 unidades óxido de etileno por molécula, y el sistema contiene opcionalmente glicerina libre y/o polietilenglicol libre. El valor del HLB de tal sistema es regulado preferiblemente por la longitud de cadena del PEG. El punto de fusión de tal sistema es regulado por la longitud de cadena de los ácidos grasos, la longitud de cadena del PEG y el grado de saturación de las cadenas de ácidos grasos, y por ello el aceite de partida para la preparación de la mezcla de macrogolglicéridos.

50 55 “Ácidos carboxílicos alifáticos C₈-C₁₈” designa mezclas en las que están contenidos ácido caprílico (C8), ácido cáprico (C10), ácido láurico (C12), ácido mirístico (C14), ácido palmítico (C16) y ácido esteárico (C18) en una proporción significativa y variable, si estos ácidos son saturados, y los correspondientes ácidos carboxílicos C₈-C₁₈ insaturados. La proporción de estos ácidos grasos puede variar según los aceites de partida.

60 Tal mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol (PEG) con ácidos carboxílicos alifáticos con 8 a 18 átomos de carbono puede obtenerse, por ejemplo, por una reacción entre un polietilenglicol con un peso molecular entre 200 y 1.500 y un aceite de partida, consistiendo el aceite de partida en una mezcla de triglicéridos con ácidos grasos que se seleccionan del grupo que contiene ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico y ácido linolénico, individualmente o como una mezcla. Opcionalmente, el producto de tal reacción puede contener también pequeñas proporciones de glicerina y polietilenglicol libre.

65 Tal mezcla está disponible comercialmente por ejemplo bajo el nombre comercial Gelucire®. Una realización ventajosa de la invención estipula que, de los productos conocidos con el nombre comercial Gelucire®, en particular “Gelucire® 50/13” y/o “Gelucire® 44/14” representan mezclas adecuadas para su uso en las preparaciones farmacéuticas según la invención.

Gelucire® 50/13 es una mezcla con mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol, formando ácido palmítico (C16) y ácido esteárico (C18) del 40% al 50% y del 48% al 58%, respectivamente, la mayor proporción de ácidos grasos unidos. La proporción de ácido caprílico (C8) y ácido cáprico (C10) es menos del 3% en cada caso, y la proporción de ácido láurico (C12) y ácido mirístico (C14) es menos del 5% en cada caso.

Una realización preferida de la presente invención prevé una composición farmacéutica que comprende un sistema que contiene una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol de ácidos carboxílicos alifáticos C₈-C₁₈ y también posiblemente pequeñas proporciones de glicerina y polietilenglicol libre, teniendo el sistema un punto de fusión entre 46°C y 51°C y un valor del HLB de alrededor de 13.

Gelucire® 44/14 es una mezcla con mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol, siendo las proporciones respectivas de ácido palmítico (C16) 4 a 25%, ácido esteárico (C18) 5 a 35%, ácido caprílico (C8) menos del 15%, ácido cáprico (C10) menos del 12%, ácido láurico (C12) del 30 al 50% y ácido mirístico (C14) del 5 al 25%. Gelucire® 44/14 puede prepararse, por ejemplo, mediante una reacción de alcohólisis/esterificación usando aceite de almendra de palma y polietilenglicol 1500.

Una realización preferida de la presente invención prevé una composición farmacéutica que comprende un sistema que contiene una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol de ácidos carboxílicos alifáticos C₈-C₁₈ y también posiblemente pequeñas proporciones de glicerina y polietilenglicol libre, teniendo el sistema un punto de fusión entre 42°C y 48°C y un valor del HLB de alrededor de 14.

En una realización alternativa, la composición farmacéutica de la invención se caracteriza porque se usa como tensioactivo un tensioactivo iónico. Preferiblemente, el tensioactivo iónico se selecciona del grupo constituido por lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, lisofosfatidilinositol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina y mezclas de ellos, y es preferiblemente lisofosfatidilcolina.

En particular, una composición farmacéutica de la invención comprende un sistema que contiene

- como tensioactivo, lisofosfatidilcolina,
- como co-tensioactivo, una mezcla de monoacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₁₆-C₂₀ saturados y/o insaturados, preferiblemente con ácido oleico y/o linoleico, y
- una fase lipófila de di y/o triacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₁₆-C₂₀, preferiblemente con ácido oleico y/o linoleico.

Como mezcla de mono, di y triacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₁₆-C₂₀ saturados y/o insaturados disponible comercialmente puede usarse Maisine® (Gattefosse).

Preferiblemente, dicha composición farmacéutica se caracteriza porque el sistema comprende del 2 al 10%, preferiblemente el 5%, en peso de lisofosfatidilcolina, del 28 al 51% en peso de monoacilglicéridos, preferiblemente de ácido oleico y ácido linoleico, y del 36 al 54% en peso de diacilglicéridos y del 4 al 20% en peso de triacilglicéridos, preferiblemente de ácido oleico y ácido linoleico, por lo que el sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y la fase lipófila juntos forma del 10% al 30%, preferiblemente el 20%, en peso de la composición farmacéutica.

Para las preparaciones farmacéuticas según la invención pueden seleccionarse formas de dosificación preferiblemente sólidas administradas oralmente, por ejemplo, polvos, glóbulos, gránulos, pastillas o microesferas, con las que si se desea pueden llenarse cápsulas o bolsitas o pueden comprimirse para formar pastillas. Los gránulos se producen preferiblemente por granulación de masa fundida. Las pastillas se fabrican habitualmente a partir del polvo o los gránulos de masa fundida. Los glóbulos pueden producirse explotando las propiedades termoplásticas de los productos auxiliares en un mezclador de altas prestaciones (globulización de masa fundida) o por métodos tradicionales, por ejemplo, extrusión (por ejemplo, extrusión de masa fundida o extrusión en húmedo) y esferonización. Si están presentes tipos de enzimas individuales y se obtienen separadamente, tales como una lipasa, una proteasa o una amilasa de origen microbiano, éstas pueden estar presentes en este caso juntas o separadas espacialmente entre sí. Si las enzimas individuales no están separadas espacialmente entre sí, se prefiere la elaboración en seco y/o el almacenamiento.

Las composiciones farmacéuticas según la invención, que son autoemulsionables por contacto con una fase hidrofílica y opcionalmente una fase lipófila, contienen enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica como sustancia activa. En una variante preferida de la presente invención, las enzimas o mezclas de enzimas pueden tener también no obstante, además de la actividad lipolítica, actividad proteolítica, es decir, contener al menos una proteasa, y/o actividad amilolítica, es decir, contener al menos una amilasa.

En una variante preferida de la presente invención, la actividad lipolítica de las enzimas o mezclas de enzimas es proporcionada por una lipasa microbiana.

En otra realización, la composición farmacéutica contiene enzimas o mezclas de enzimas que son pancreatina y/o de tipo pancreatina, preferiblemente mezclas que contienen pancreatina de enzimas digestivas. Preferiblemente, las

ES 2 314 646 T3

mezclas de pancreatina y/o de tipo pancreatina de enzimas digestivas forman el 65-85%, en particular el 75-80% en peso, de la composición farmacéutica.

5 Alternativamente, la mezcla de enzimas usada es una mezcla de al menos una lipasa microbiana y se usa como mezcla de enzimas una o más enzimas microbianas del grupo de proteasas y amilasas.

10 En una variante de la invención, la mezcla de enzimas usada es puramente de origen microbiano. Ya se han descrito en la técnica anterior ejemplos de tales enzimas bacterianas y/o fúngicas aceptables fisiológicamente, junto con procedimientos para obtener estas enzimas y su uso para el tratamiento de mala digestión. Por ejemplo, tales mezclas 15 sintéticas de lipasa, proteasa y amilasa, cada una de las cuales se obtiene microbianamente, y también preparaciones farmacéuticas que contienen estas mezclas se describen en la solicitud de patente internacional WO 02/060474 y la solicitud de patente EP 0 828 509.

15 Preferiblemente, la composición farmacéutica contiene enzimas microbianas que forman el 5-80%, en particular el 20-60% en peso, de la composición farmacéutica.

20 En el contexto de la invención, son más preferidas las mezclas de enzimas digestivas con actividad lipolítica, proteolítica y amilolítica, cuyas propiedades son próximas a las de pancreatina. Las mezclas de enzimas digestivas que contienen pancreatina y también en particular la propia pancreatina son por tanto preferidas en el contexto de 25 la presente invención como se ha descrito antes. Sin embargo, es posible añadir si se desea a la pancreatina o a las mezclas de enzimas digestivas que contienen pancreatina una o más enzimas microbianas, es decir, lipasas, proteasas y/o amilasas, obtenidas de fuentes microbianas.

30 Son en particular enzimas microbianas adecuadas para el único uso como mezcla de enzimas o incluso como adición a pancreatina o las mezclas de enzimas digestivas que contienen pancreatina enzimas bacterianas o fúngicas, tales como de las especies *Bacillus* o *Pseudomonas*, o de cultivos fúngicos, tales como de las especies *Aspergillus*, *Humicola* o *Rhizomucor*. Preferiblemente, las enzimas microbianas, en particular la lipasa microbiana, se producen recombinantemente. En una variante preferida adicional de la presente invención, la lipasa microbiana es una variante de lipasa o una lipasa mutada.

35 La presente invención se refiere además al uso de un sistema según se reivindica, que comprende

- al menos un tensioactivo,
- al menos un co-tensioactivo, y
- opcionalmente una fase lipófila

40 para estabilizar la actividad lipolítica en el intervalo de pH ácido y/o para mejorar la actividad lipolítica de preparaciones farmacéuticas sólidas que contienen enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica, preferiblemente pancreatina o mezclas de tipo pancreatina de enzimas digestivas.

45 Las configuraciones adicionales posibles del sistema a usar, consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila, corresponden a las realizaciones ya mencionadas para la preparación farmacéutica autoemulsionable según la invención, que comprende tal sistema.

50 La invención se refiere también a un procedimiento para la preparación de preparaciones farmacéuticas sólidas según se reivindican que contienen enzimas o mezclas de enzimas con actividad al menos lipolítica y opcionalmente también proteolítica y/o amilolítica, preferiblemente pancreatina y/o mezclas de enzimas digestivas de tipo pancreatina. Según la invención, las enzimas o mezclas de enzimas se convierten después en una forma de medicamento adecuada para la administración por vía oral, con un sistema que comprende

55 • un tensioactivo escogido del grupo constituido por ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol glicerol; éteres de polietilenglicol alquilo, éteres de polietilenglicol esterol, ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán, ésteres de azúcares, copolímeros de bloques de polioxietileno-polioxipropileno, tensioactivos iónicos y mezclas de ellos;

60 • un co-tensioactivo escogido del grupo constituido por monoacilglicéridos, monoéteres de glicerol, ésteres parciales de propilenglicol, ésteres parciales de poliglicerol, ésteres parciales de etildiglicol y mezclas de ellos, y

- una fase lipófila, que está representada por di y/o triacilglicéridos.

y también opcionalmente productos auxiliares, vehículos y/o excipientes compatibles farmacéuticamente convencionales.

65 Las configuraciones posibles adicionales del sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila, y a usar en el procedimiento de preparación, corresponden a las realizaciones ya mencionadas para las preparaciones farmacéuticas autoemulsionables según la invención, que comprenden tal sistema.

ES 2 314 646 T3

Se pretende que los siguientes ejemplos expliquen la invención adicionalmente, pero sin limitar su alcance:

Ejemplo 1

5 *Preparación de composiciones que contienen pancreatina según la invención y comparación de la actividad lipolítica de una formulación de pancreatina usual y una formulación de pancreatina según la invención que comprende un sistema consistente en un tensioactivo, un co-tensioactivo y fase lipófila*

10 a) *Preparación usual (glóbulos) no según la invención*

La formulación usual se preparó según el procedimiento descrito en la memoria descriptiva de la patente EP 0 583 726. Se mezclaron en seco inicialmente 120 g de pancreatina y 30 g de PEG 4000 y se humedecieron después con 20 g de isopropanol. La mezcla húmeda se extruyó y se redondeó después en un redondeador adecuado con ayuda de aceite de parafina. Los glóbulos producidos se secaron después.

15 b) *Preparación según la invención (glóbulos) (Ejemplo 1A)*

20 Se fundieron 350 g de Gelucire® 50/13 en un vaso de boca ancha en un baño de agua a una temperatura de 52°C. La masa fundida se mezcló con 650 g de pancreatina en un mezclador de doble camisa durante 10 min. La mezcla homogénea se puso en un extrusor de masa fundida para extrusión. Se redondeó después el extruido en un redondeador o esferonizador adecuado. Los glóbulos obtenidos tenían un diámetro de 1,0-1,6 mm.

25 c) *Preparación según la invención (gránulos) (Ejemplo 1B)*

Se fundieron 300 g de Gelucire® 44/14 en un vaso de boca ancha en un baño de agua a una temperatura de 48°C. La masa fundida se mezcló con 700 g de pancreatina en un mezclador de doble camisa durante aproximadamente 15 min y se enfrió después. (granulación de masa fundida).

30 La determinación de la actividad de la lipasa en función del valor del pH y también el cambio de la actividad de lipasa dependiente del tiempo se realizó según el método de la “Fédération Internationale Pharmaceutique/European Pharmacopeia” (abreviadamente en adelante FIP/Ph.Eur.): Con este método de análisis estándar, se determina la actividad hidrolítica de la lipasa en la muestra a investigar con el sustrato aceite de oliva. Los ácidos grasos separados de los triglicéridos del aceite de oliva se titulan con solución de hidróxido sódico a un pH constante de 9,0. La actividad de lipasa de la muestra se determina por comparación de la proporción en la que la muestra hidroliza una emulsión de aceite de oliva con la proporción en la que una suspensión de un polvo de referencia de páncreas estándar hidroliza el mismo sustrato en las mismas condiciones.

40 La actividad lipolítica absoluta y relativa de la preparación usual y la preparación según la invención (glóbulos) determinadas en cada caso según FIP/Ph.Eur. se resumen en la Tabla 1. La actividad lipolítica absoluta y relativa de la preparación usual y la preparación según la invención (gránulos) determinadas en cada caso según FIP/Ph.Eur. se resumen en la Tabla 2:

45 TABLA 1

Actividad lipolítica absoluta y relativa de la preparación estándar y la preparación según la invención (glóbulos con Gelucire® 50/13)

50	Muestra	Actividad de lipasa partiendo de pancreatina [U/g]	Actividad de lipasa presente teóricamente en la formulación [U/g]	Actividad de lipasa absoluta medida [U/g]	Actividad de lipasa relativa [%]
55	Ejemplo 1A: Glóbulos	92620	60203	63173	104
60	Formulación usual	92620	74096	69650	94
65					

TABLA 2

Actividad lipolítica absoluta y relativa de la preparación estándar y la preparación según la invención (gránulos con Gelucire® 44/14)

5

Muestra	Actividad de lipasa partiendo de pancreatina [U/g]	Actividad de lipasa presente teóricamente en la formulación [U/g]	Actividad de lipasa absoluta determinada [U/g]	Actividad de lipasa relativa [%]
Ejemplo 1B: Gránulos	84787	59351	67653	114
Formulación usual	84132	67306	64950	97

25 Resulta claro de los datos que la adición de sistemas que comprenden al menos un tensioactivo, al menos un co-tensioactivo y una fase lipófila a preparaciones farmacéuticas de enzimas y mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica, preferiblemente pancreatina y/o mezclas de tipo pancreatina de enzimas digestivas, contribuye a la actividad lipolítica mejorada en comparación con formulaciones usuales de pancreatina conocidas en el estado actual de la técnica.

30

35 La actividad lipolítica absoluta de la preparación farmacéutica respectiva, determinada según FIP/Ph.Eur., se expresa con referencia a la actividad lipolítica total presente teóricamente en la muestra en forma de una actividad relativa, con el fin de tener en cuenta las diferentes concentraciones de pancreatina en las formulaciones. La comparación de las actividades relativas de lipasa determinadas muestra que la actividad de lipasa relativa de las preparaciones según la invención es aproximadamente 10% más alta que las de las formulaciones usuales. Por consiguiente, las preparaciones farmacéuticas según la invención tienen actividad lipolítica acrecentada en comparación con formulaciones usuales de pancreatina.

40 Además, con referencia al valor de la actividad de lipasa relativa de la preparación según la invención de más del 100%, resulta claro que hay un efecto de activación de la lipasa por el sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y opcionalmente fase lipófila añadido a las preparaciones según la invención.

45 Ejemplo 2

Comparación de la estabilidad de la actividad lipolítica de una formulación de pancreatina usual y una formulación de pancreatina según la invención que comprende un sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila a diferentes valores del pH

50

55 Con el fin de comparar la estabilidad de la actividad lipolítica de una formulación de pancreatina usual y una formulación farmacéutica según la invención que comprende una mezcla de enzimas con al menos actividad lipolítica y un sistema consistente en al menos un tensioactivo, al menos un co-tensioactivo y una fase lipófila, se comparó la actividad de tal formulación de pancreatina usual con la actividad de una mezcla de Gelucire® y pancreatina incubadas durante hasta 2 horas a diferentes valores del pH (pH 6, pH 5 y pH 4).

a) *Preparación estándar (glóbulos)*

60 La formulación usual se preparó según el procedimiento descrito en la memoria descriptiva de la patente EP 0 583 726. Se mezclaron en seco inicialmente 120 g de pancreatina y 30 g de PEG 4000 y se humedecieron después con 20 g de isopropanol. La mezcla húmeda se extruyó y se redondeó después en un redondeador adecuado con ayuda de aceite de parafina. Los globulos producidos se secaron después.

b) *Preparación según la invención (glóbulos) - Ejemplo 2*

65

66 Se fundieron 300 g de Gelucire® 44/14 en un vaso de boca ancha en un baño de agua a una temperatura de 48°C. La masa fundida se mezcló con 700 g de pancreatina en un mezclador de doble cubierta y alta velocidad (globulización de masa fundida).

ES 2 314 646 T3

La determinación de la actividad de la lipasa en función del valor del pH y también el cambio de la actividad de lipasa dependiente del tiempo tienen lugar según el método de la FIP/Ph.Eur. como se ha descrito antes.

Para determinar el comportamiento de liberación de la lipasa a diferentes valores del pH en la preparación usual y la preparación según la invención, se incubaron las muestras en un aparato de descomposición durante 2 horas a 37°C en solución de tampón fosfato (pH 6, pH 5, pH 4). A intervalos de 15 minutos, se tomaron muestras y se determinó la actividad lipolítica de las muestras según el método de FIP/Ph.Eur. descrito antes.

Se calentaron 600 ml de tampón (fosfato 67 mM, NaCl 34 mM, pH 6,0, pH 5,0, pH 4,0) a una temperatura constante de 37°C en un vaso de boca ancha de 1 l en un medidor de descomposición. Una vez alcanzada la temperatura constante, se añadieron 2 g de muestra al vaso de boca ancha y se puso en movimiento el medidor de descomposición. El valor del pH del tampón de fosfato se mantuvo constante durante el tiempo de ensayo. A intervalos de 15 minutos en cada caso, se tomaron muestras y se determinó la actividad lipolítica de las muestras según FIP/Ph.Eur.

La actividad lipolítica relativa determinada después de 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 minutos de la preparación usual y la preparación según la invención de acuerdo con FIP/Ph.Eur. se resumen en la siguiente Tabla 3; se dan detalles en % de la actividad de la muestra respectiva en comparación con un polvo de referencia de páncreas estándar según FIP/Ph.Eur.

20

TABLA 3

Dependencia del pH de la actividad lipolítica relativa de una formulación de pancreatina usual y una preparación de pancreatina según la invención

25

pH	6		5		4	
	Tiempo [min]	Formulación usual	Ejemplo 2	Formulación usual	Ejemplo 2	Formulación usual
15	93	98	89	100	30	55
30	90	101	82	99	19	39
45	84	97	77	95	13	31
60	81	89	72	95	11	27
75	79	82	71	94	8	23
90	76	76	68	92	7	19
105	72	71	65	89	6	18
120	69	66	61	86	5	17

50

Puede verse de estos datos que la adición de sistemas que comprenden al menos un tensioactivo, al menos un co-tensioactivo y una fase lipófila a preparaciones farmacéuticas de enzimas y mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica, preferiblemente pancreatina y/o mezclas de tipo pancreatina de enzimas digestivas, contribuye a estabilizar la actividad lipolítica en el intervalo de pH ácido. Con un valor del pH de 6, la comparación de la actividad lipolítica de una preparación de pancreatina usual y una preparación de pancreatina según la invención durante un tiempo de 120 minutos muestra que la actividad lipolítica en ambas formas de preparación durante el tiempo sólo disminuye de manera relativa ligeramente, observándose de nuevo dentro de la primera hora la actividad lipolítica de la preparación según la invención aumentada en aproximadamente el 10% en comparación con la forma usual. Sin embargo, se sabe que un valor del pH de 6 no tiene gran influencia en la actividad lipolítica. Por otra parte, con un valor del pH de 5, la actividad lipolítica de la preparación usual se reduce muchísimo más rápidamente en comparación con la preparación según la invención. Mientras que la preparación según la invención ha perdido menos del 10% de la actividad lipolítica después de 90 minutos, la preparación usual tiene sólo una actividad lipolítica restante menor del 70% en comparación con un polvo de referencia de páncreas según FIP/Ph.Eur. En particular, con un valor del pH de 4, la preparación según la invención tiene una actividad lipolítica (residual) destacadamente mayor que la preparación usual. Por consiguiente, las preparaciones farmacéuticas según la invención tienen una actividad lipolítica sustancialmente aumentada en el medio de pH ácido.

Ejemplo 3

5 *Dependencia de la dosificación de una formulación de pancreatina según la invención que comprende un sistema consistente en un tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila sobre la digeribilidad de una dieta alta en grasa en el cerdo pequeño insuficiente exocrino pancreático*

10 Se analizó en estos cerdos alimentados con una dieta alta en grasa (32%) la eficacia de una formulación farmacéutica globulizada según la invención que comprende una mezcla de enzimas con al menos actividad lipolítica y un sistema consistente en al menos un tensioactivo, al menos un co-tensioactivo y una fase lipófila para mejorar la digestión y absorción de grasa en cerdos pequeños, en los que se ha ligado el conducto pancreático para inducir una insuficiencia exocrina pancreática completa.

15 a) *Preparación según la invención (glóbulos)*

15 Se fundieron 250 g de Gelucire® 44/14 (Gattefossé) en un vaso de boca ancha en un baño de agua a una temperatura de 48°C. La masa fundida se mezcló con 750 g de pancreatina en un mezclador de doble cubierta y alta velocidad (globulización de masa fundida). El tamaño de glóbulo de esta formulación era similar al del producto de pancreatina comercializado.

20 *Determinación de la actividad de lipasa*

25 Se realizaron estudios en 6 cerdos pequeños (Ellegaard, cerdos pequeños Göttingen hembras) con insuficiencia exocrina pancreática inducida, que pesaban 20-30 kg en la cirugía. Los cerdos se prepararon como se ha descrito previamente [Tabelin R, Gregory P, Kamphues J. 1989: Studies on nutrient digestibilities (pre-caecal and total) in pancreatic duct-ligated pigs and the effects of enzyme substitution. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr. 82, 251-263] bajo anestesia con halotano; siguiendo una laparotomía por la línea media; se ligó el conducto pancreático, tras lo que fueron provistos crónicamente los cerdos con una fistula re-entrante ileo-cecal que se exteriorizó en el costado derecho.

30 El éxito de la ligación del conducto pancreático se confirmó (ensayo de quimotripsina fecal) antes de iniciar los estudios de digeribilidad, que comenzaron al menos 4 semanas después de recuperarse los cerdos de la cirugía.

35 Se alimentó a los cerdos con dos comidas de 250 g/día (08.00 y 20.00 h) de una dieta con alto contenido de grasa (que contenía: 180 g de Altromin 9021 molido doble [modificado], 70 g de aceite de soja [Roth]; los contenidos totales son 99% de materia seca, 4% de ceniza bruta, 32% de grasa bruta, 16% de proteína bruta, 28% de almidón, 3% de fibra bruta) más 0,625 g de Cr₂O₃ por comida, mezclado con 1 litro de agua. Las comidas más las enzimas se mezclaron entre sí cuidadosamente inmediatamente antes de darse a los cerdos. Las comidas se consumieron generalmente en 5 minutos.

40 Durante el estudio, los cerdos recibieron 0, 28.000 o 336.000 unidades de lipasa FIP por comida como una formulación según la invención durante 14 días, con una acumulación completa de heces durante los últimos 5 días. Las heces (y la alimentación) se congelaron a -20°C, se liofilizaron y se realizó un análisis de Weender [Naumann C, Bässler R. 1993: Die Chemische Untersuchung von Futtermittein. 3. Aufl. VDLUFA-Verlag, Darmstadt] para determinar el contenido de materia seca (secado a 103°C durante 8 h) y de grasa bruta (determinada gravimétricamente después de hervir durante 30 min con HCl concentrado, seguido por una extracción de 6 h con éter de petróleo), mientras que el Cr₂O₃ se oxidaba a cromato y se calculó el contenido de cromo mediante extinción a 365 nm [Petry H, Rapp W. 1970: Zur Problematik der Chromoxidbestimmung in Verdauungsversuchen. Z. Tierphysiol. Tierernährung und Futtermitelkunde 27, 181-189].

50 El contenido de grasa y cromo determinado por 100 g de materia seca alimentada y heces (véase antes) permitió el cálculo de la digeribilidad de grasa (CFA) según la fórmula:

$$55 \% \text{ digeribilidad de grasa} = 100 - \left(\frac{[\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ en alim.}]}{[\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ en heces}]} \times \frac{[\% \text{ grasa en heces}]}{[\% \text{ grasa en alim.}]} \right) \times 100$$

60

65 Se da para la preparación según la invención la eficacia para mejorar la digestión y la absorción de grasa en cerdos pequeños, en los que se ha ligado el conducto pancreático para inducir una insuficiencia exocrina pancreática completa, medida en % de digeribilidad de grasa, para diferentes cantidades de actividad de lipasa añadida (dado en unidades FIP/Ph.Eur.).

ES 2 314 646 T3

TABLA 4

% de digeribilidad de grasa en cerdos pequeños que reciben una preparación de pancreatina según la invención

Sustitución	0 unidades de lipasa	28.000 U de lipasa FIP/comida	336.000 U de lipasa FIP/comida
Sin enzimas añadidas	31,66 ± 13,78		
Formulación según la invención		61,98 ± 11,60 *	79,25 ± 7,00 **

*, ** Los resultados son media ± D.T.

La formulación según la invención causó una mejora muy fuerte y dependiente de la dosis de la digeribilidad de grasa, mostrando ya una mejora altamente eficaz con la dosis más baja ensayada.

Ejemplo 4

Comparación de la estabilidad de la actividad lipolítica de un polvo de pancreatina usual y una formulación de pancreatina según la invención que comprende un sistema consistente en un tensioactivo, un co-tensioactivo y una fase lipofíla a diferentes valores del pH

Se prepararon preparaciones adicionales según la invención y se analizaron con respecto a su actividad lipolítica en comparación con polvo de pancreatina a diferentes valores de pH ácido (pH 6, pH 5 y pH 4).

(a) Preparación para comparación no según la invención

Polvo de pancreatina.

(b) Preparación según la invención - Ejemplo 4A

700 g de polvo de pancreatina.

200 g de Gelucire® 44/14 (Gattefosse).

100 g de Labrasol® (Gattefosse).

El Gelucire® 44/14 y el Labrasol® se mezclaron y fundieron en un vaso de boca ancha en un baño de agua a una temperatura de 48°C. La masa fundida se mezcló con 700 g de pancreatina en un mezclador de doble cubierta y alta velocidad (granulación de masa fundida).

(c) Preparación según la invención - Ejemplo 4B

800 g de polvo de pancreatina.

190 g de Maisine® (Gattefosse).

10 g de LPC (lisofosfatidilcolina).

El Maisine® y la lisofosfatidilcolina se mezclaron y fundieron en un vaso de boca ancha en un baño de agua a una temperatura de 48°C. La masa fundida se mezcló con 800 g de pancreatina en un mezclador de doble cubierta y alta velocidad (granulación de masa fundida).

La determinación de la actividad de la lipasa en función del valor del pH y también el cambio dependiente del tiempo de la actividad de lipasa se realizaron como se ha descrito en el Ejemplo 2.

ES 2 314 646 T3

El comportamiento de liberación de la lipasa a diferentes valores del pH en el polvo de pancreatina y la preparación según la invención se realizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 2.

La actividad lipolítica relativa determinada después de 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 minutos del polvo de pancreatina y las preparaciones "Ejemplo 4A" y "Ejemplo 4B" según la invención de acuerdo con FIP/Ph.Eur. se resumen en las siguientes Tablas 5A y 5B; se dan detalles en % de la actividad de la muestra respectiva en comparación con un polvo de referencia de páncreas estándar según FIP/Ph.Eur.

TABLA 5A

Dependencia del pH de la actividad lipolítica relativa de un polvo de pancreatina estándar y la preparación de pancreatina "4A" según la invención

pH	6		5		4	
	Tiempo (min)	Polvo de pancreatina	Ejemplo 4A	Polvo de pancreatina	Ejemplo 4A	Polvo de pancreatina
15	55,7	90,4	61,5	93,8	19,3	49,0
30	54,9	105,1	53,3	99,0	12,5	32,4
45	48,3	102,9	51,8	95,8	8,4	25,5
60	43,1	97,6	48,1	92,7	6,5	23,1
75	39,0	91,7	41,4	93,2	5,6	19,9
90	35,4	87,2	39,9	91,2	4,3	18,8
105	33,0	82,3	44,8	88,1	3,9	17,8
120	30,4	79,2	39,1	85,6	3,6	16,5

TABLA 5B

Dependencia del pH de la actividad lipolítica relativa de un polvo de pancreatina estándar y la preparación de pancreatina "4B" según la invención

pH	6		5		4	
	Tiempo (min)	Polvo de pancreatina	Ejemplo 4B	Polvo de pancreatina	Ejemplo 4B	Polvo de pancreatina
15	55,7	91,9	61,5	83,2	19,3	27,1
30	54,9	87,4	53,3	88,0	12,5	16,4
45	48,3	81,2	51,8	86,3	8,4	13,0
60	43,1	73,7	48,1	83,5	6,5	9,9
75	39,0	69,8	41,4	83,8	5,6	8,9
90	35,4	63,8	39,9	80,0	4,3	7,8
105	33	57,1	44,8	78,4	3,9	6,5
120	30,4	53,0	39,1	74,0	3,6	4,9

Puede concluirse de estos datos que la adición de sistemas que comprenden al menos un tensioactivo, al menos un co-tensioactivo y una fase lipófila a preparaciones farmacéuticas de enzimas y mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica, preferiblemente pancreatina y/o mezclas de tipo pancreatina de enzimas digestivas, contribuye a estabilizar la actividad lipolítica en el intervalo de pH ácido.

5

Ejemplo 5

10 *Determinación de la actividad lipolítica de una formulación según la invención que comprende una lipasa de origen microbiano y un sistema consistente en un tensioactivo, un co-tensioactivo y una fase lipófila, y determinación de la estabilidad a diferentes valores del pH*

15 Con el fin de determinar la actividad lipolítica y mostrar la estabilidad mejorada a pH ácido de una formulación farmacéutica según la invención que comprende una mezcla de enzimas con al menos actividad lipolítica, por la que la actividad lipolítica es proporcionada por una lipasa microbiana, producida opcionalmente recombinantemente, y un sistema consistente en al menos un tensioactivo, al menos un co-tensioactivo y una fase lipófila, se determina a diferentes valores del pH (pH, pH 5, pH 4 y 3) la actividad de una formulación farmacéutica consistente en una mezcla de Gelucire® y una lipasa microbiana, y se compara con una preparación de lipasa no estabilizada.

20 a) *Preparación según la invención (granulado)*

25 Se fundieron 562,5 g de Gelucire® 44/14 en un vaso de boca ancha en un baño de agua a una temperatura de 48°C. Se proporcionaron 937,5 g de una preparación de lipasa microbiana (representando la proteína de lipasa activa aproximadamente del 50 al 60% (p/p) de la materia seca de la preparación) en un mezclador de doble camia a 46°C, se añadió después el Gelucire fundido y se mezclaron los compuestos en una primera etapa a baja velocidad durante 3 min, después durante aproximadamente 15 min a alta velocidad y se enfrió finalmente (granulación de masa fundida).

b) *Preparación para comparación (no según la invención)*

30 Se preparó una preparación de lipasa microbiana usando técnica de atomización común.

La determinación de la actividad de la lipasa se realizó según el método de la “Federation Internationale Pharmaceutique” (abreviadamente en adelante FIP) para lipasas microbianas, excepto que la concentración de sales biliares es 10 mM.

35 Con este método de análisis estándar, se determina la actividad hidrolítica de la lipasa en la muestra a investigar usando como sustrato aceite de oliva. Los ácidos grasos liberados se titulan con solución de hidróxido sódico a un pH constante de 7,0. La actividad de lipasa de la muestra se determina por comparación de la proporción en la que la muestra hidroliza una emulsión de aceite de oliva con la proporción en la que una suspensión de un polvo de referencia de lipasa microbiana hidroliza el mismo sustrato en las mismas condiciones.

40 Para determinar la estabilidad al pH de la lipasa a diferentes valores del pH en una preparación no estabilizada y en la preparación según la invención, se incubaron las muestras en un aparato de descomposición durante 2 horas a 37°C en solución tampón (pH 5, pH 4 y pH 3). A intervalos de 15 minutos, se tomaron muestras y se determinó la actividad lipolítica en las muestras según el método de la FIP.

45 Se incubaron 100 mg de lipasa en 100 ml de tampón (tampón de ácido malónico 0,1 M, cloruro cálcico 1 mM pH 3, 4 y 5) a 37°C. Se retiraron muestras cada 15 min durante una duración total de 2 horas y se determinó como sigue la actividad lipolítica de las muestras: se preparó una suspensión en aceite de oliva mezclando 175 de aceite de oliva con 630 ml de una solución de 700 g de goma arábiga y 94,4 g de cloruro cálcico dihidrato en 5.900 ml de agua durante 15 minutos en un mezclador de alimentos a velocidad máxima. La emulsión se enfrió a 37°C y se ajustó el pH en pH 6,8 con solución de hidróxido sódico. Se prepararon tres soluciones de referencia extrayendo una cantidad apropiada de lipasa microbiana FIP estándar con una solución enfriada con hielo del 1% (m/v) de cloruro sódico, de tal modo que se obtuvieron soluciones de referencia con 50 FIP-U/ml, 65 FIP-U/ml y 80 FIP-U/ml. Se prepararon soluciones de muestras extrayendo una cantidad de muestra correspondiente a aproximadamente 6.500 unidades de actividad durante 15 minutos con un total de 100 ml de una solución de cloruro sódico enfriada con hielo del 1% (m/v). Las muestras se diluyeron adicionalmente en solución de cloruro sódico enfriada con hielo del 1% (m/v), de tal modo que la proporción de titulación estuvo dentro del intervalo de las proporciones de titulación obtenidas con las soluciones de referencia.

60 Las proporciones de titulación de las soluciones de referencia y de muestras se determinaron combinando en un recipiente termostatado 19 ml de suspensión en aceite de oliva con 10 ml de una solución de 492 mg de mezcla activante de lipasa (FIP) en 500 ml de agua. Las soluciones combinadas se termostataron a 37°C y se ajustó el pH en pH 7,0. Se añadió un ml de solución de referencia o solución de muestras y se titularon los ácidos grasos liberados bajo condiciones de pH estable con una solución de hidróxido sódico 0,1 M durante una duración de 5 minutos. La proporción de titulación se calculó por regresión lineal desde al menos 9 puntos de medición entre el 60° y el 300° segundo de titulación.

ES 2 314 646 T3

De las proporciones de titulación de las soluciones de referencia se calculó por regresión lineal una función de calibración. La función de calibración tiene la forma $y = mx + b$, en la que y : proporción de titulación; m : pendiente; x : unidades FIP de la solución de referencia; y b : ordenada en el origen. Usando los valores determinados así para m y b , la actividad lipolítica x se calculó para cada solución de muestra usando la fórmula $x = (y-b)/m$.

5 Se determinan la actividad lipolítica relativa después de 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 minutos de una preparación de lipasa microbiana no estabilizada y la preparación según la invención de acuerdo con FIP. Una comparación de los resultados obtenidos puede mostrar la actividad lipolítica mejorada y la estabilidad aumentada dentro del intervalo de pH ácido de la formulación según la invención que comprende una preparación de lipasa microbiana sobre la 10 preparación de lipasa no estabilizada.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para administración oral, que es autoemulsionable en contacto con una fase hidrófila y una fase lipófila, comprendiendo dicha composición:

5 (i) enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica y

(ii) un sistema que comprende

- 10 • al menos un tensioactivo en una cantidad de 2 a 90% en peso, elegido del grupo que consiste en mono y/o diésteres de polietilenglicol-ácidos gramos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂; ésteres de polietilenglicol-ácidos gramos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂; polietilenglicol alquil mono y/o diésteres con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, y mezclas de los mismos; o un tensioactivo iónico seleccionado del grupo constituido por lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, lisofosfatidilinositol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina y mezclas de ellos,
- 15 • al menos un co-tensioactivo en una cantidad de 5 a 60% en peso, escogido del grupo constituido por monoacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, mono-éteres de éteres de glicerol con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, ésteres parciales de propilenglicol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, ésteres parciales de poliglicerol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂ y mezclas de ellos, y
- 20 • en una cantidad de 0 a 70% en peso, una fase lipófila representada por di y/o triacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂.
- 25

por el que los componentes tensioactivo, co-tensioactivo y la fase lipófila constituyen juntos hasta el 100% en peso del sistema y el sistema constituye del 10% al 95% en peso de la composición farmacéutica.

30 2. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, **caracterizada** porque la fase hidrófila usada para formar la emulsión final después de ingestión es suministrada por el fluido fisiológico del medio digestivo.

35 3. Una composición farmacéutica según las reivindicaciones 1 ó 2, **caracterizada** porque la fase lipófila usada para formar la emulsión final en el tracto digestivo después de ingestión es suministrada al menos parcialmente por los lípidos presentes en el alimento ingerido.

40 4. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque el sistema comprende una fase lipófila.

5. Una composición farmacéutica según la reivindicación 4, **caracterizada** porque el sistema comprende

- 45 • como tensioactivo, al menos un agente que tiene un valor del balance hidrófilo-lipófilo superior a 6 e inferior a 18,
- 50 • como co-tensioactivo, al menos un agente que tiene un valor del balance hidrófilo-lipófilo inferior a 10, y
- 55 • como fase lipófila, una fase lipídica,

por lo que el sistema que comprende tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila tiene un valor del balance hidrófilo-lipófilo de aproximadamente 4 a 16, y un punto de fusión mayor que o igual a 20°C, preferiblemente mayor que o igual a 25°C.

6. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el sistema comprende

- 55 • como tensioactivo, una mezcla de mono y/o diésteres de polietilenglicol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂ y/o polietilenglicol mono y/o diésteres con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, por lo que el polietilenglicol comprende 6 a 60 unidades de óxido de etileno por molécula,
- 60 • como co-tensioactivo, monoacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂ y/o monoéteres de glicerol con alcoholes alifáticos C₁₂-C₂₂, y
- 65 • como fase lipófila, di y/o triacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂.

7. Una composición farmacéutica según la reivindicación 6, **caracterizada** porque se usa como tensioactivo una mezcla de mono y diésteres de polietilenglicol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, por lo que el polietilenglicol comprende de 6 a 40 unidades óxido de etileno por molécula, y se usan, como co-tensioactivo, monoacilglicéridos de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂.

ES 2 314 646 T3

8. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila constituye del 10 al 70% en peso, preferiblemente del 20 al 50% en peso, más preferiblemente del 25 al 40% en peso, de la composición farmacéutica.

5 9. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 1 u 8, **caracterizada** porque el sistema comprende

- del 40 al 90% en peso, preferiblemente del 60 al 85% en peso, de tensioactivos,
- 10 • del 5 al 40% en peso, preferiblemente del 15-30% en peso, de co-tensioactivos y
- del 0 al 40% en peso, preferiblemente del 15-30% en peso, de la fase lipófila,

15 siendo juntos el total de co-tensioactivos y la fase lipófila al menos el 10% en peso, preferiblemente entre el 15 y el 40% en peso, del sistema.

10. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 4 a 9, **caracterizada** porque la composición contiene productos auxiliares, vehículos y/o excipientes compatibles farmacéuticamente adicionales.

20 11. Una composición farmacéutica según la reivindicación 10, **caracterizada** porque los productos auxiliares, vehículos y/o excipientes compatibles farmacéuticamente adicionales se seleccionan del grupo constituido por polietilenglicol, glicerol, alcoholes C₁-C₄, azúcares, productos celulósicos y mezclas de las sustancias antedichas.

25 12. Una composición farmacéutica según las reivindicaciones 10 u 11, **caracterizada** porque los productos auxiliares, vehículos y/o excipientes compatibles farmacéuticamente adicionales constituyen un máximo del 20% en peso de la composición farmacéutica.

30 13. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 4 a 12, **caracterizada** porque macrogolglicéridos representan el sistema que comprende tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila y también posiblemente pequeñas proporciones de glicerina y polietilenglicol libre, por el que los macrogolglicéridos son una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, comprendiendo el polietilenglicol de alrededor de 6 a aproximadamente 32 unidades de óxido de etileno por molécula.

35 14. Una composición farmacéutica según la reivindicación 13, **caracterizada** porque el sistema que comprende tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila tiene un valor del balance hidrófilo-lipófilo mayor que o igual a 10, y un punto de fusión mayor que o igual a 30°C.

40 15. Una composición farmacéutica según la reivindicación 14, **caracterizada** porque el sistema tiene una relación hidrófilo-lipófilo de 10 a 16, preferiblemente de 12 a 15, y un punto de fusión entre 30 y 60°C, preferiblemente entre 40 y 50°C.

45 16. Una composición farmacéutica según la reivindicación 15, **caracterizada** porque el sistema contiene una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol de ácidos carboxílicos alifáticos C₈-C₁₈, y opcionalmente pequeñas proporciones de glicerol y/o polietilenglicol libre, y tiene un punto de fusión entre 42°C y 48°C y un valor del HLB de alrededor de 14.

50 17. Una composición farmacéutica según la reivindicación 15, **caracterizada** porque el sistema contiene una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol de ácidos carboxílicos alifáticos C₈-C₁₈, y opcionalmente pequeñas proporciones de glicerol y polietilenglicol libre, teniendo el sistema un punto de fusión entre 46°C y 51°C y un valor del HLB de alrededor de 13.

55 18. Una composición farmacéutica según la reivindicación 13, **caracterizada** porque el sistema contiene una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol PEG-32 principalmente de ácidos carboxílicos alifáticos C₈-C₁₈, una mezcla de mono, di y triacilglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol PEG-8 principalmente de ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₁₀, y opcionalmente pequeñas proporciones de glicerol y polietilenglicol libre.

19. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el sistema comprende

- 60 • como tensioactivo, lisofosfatidilcolina,
- como co-tensioactivo, una mezcla de monoacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₁₆-C₂₀ saturados y/o insaturados, preferiblemente con ácido oleico y/o linoleico, y
- 65 • una fase lipófila representada por di y/o triacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₁₈-C₂₀, preferiblemente con ácido oleico y/o linoleico.

ES 2 314 646 T3

20. Una composición farmacéutica según la reivindicación 19, **caracterizada** porque el sistema comprende

- del 2 al 10%, preferiblemente el 5%, en peso de lisofosfatidilcolina,
- del 28 al 51% en peso de monoacilglicéridos principalmente de ácido oleico y linoleico, y
- del 36 al 54% en peso de diacilglicéridos y del 4 al 20% en peso de triacilglicéridos principalmente de ácido oleico y ácido linoleico,

10 por lo que el sistema consistente en tensioactivo, co-tensioactivo y la fase lipófila constituye juntos del 10% al 30%, preferiblemente el 20%, en peso de la composición farmacéutica.

15 21. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 1 a 20, **caracterizada** porque es una preparación farmacéutica sólida en forma de un polvo, gránulos, pastillas, glóbulos o similares.

15 22. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 1 a 21, **caracterizada** porque la actividad lipolítica de las enzimas o mezclas de enzimas es proporcionada por una lipasa microbiana, en particular bacteriana o fúngica.

20 23. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 1 a 21, **caracterizada** porque las enzimas o mezclas de enzimas tienen también, además, actividad proteolítica y/o amilolítica.

25 24. Una composición farmacéutica según la reivindicación 23, **caracterizada** porque las enzimas o mezclas de enzimas son pancreatina y/o de tipo pancreatina, preferiblemente mezclas que contienen pancreatina de enzimas digestivas.

30 25. Una composición farmacéutica según la reivindicación 24, **caracterizada** porque las mezclas de pancreatina y/o de tipo pancreatina de enzimas digestivas constituyen el 65-85%, en particular 75-80% en peso, de la composición farmacéutica.

30 26. Una composición farmacéutica según la reivindicación 23, **caracterizada** porque se usa como mezcla de enzimas una mezcla de al menos una lipasa microbiana y una o más enzimas microbianas del grupo de proteasas y amilasas.

35 27. Una composición farmacéutica según la reivindicación 26, **caracterizada** porque las enzimas microbianas constituyen el 5-80%, en particular el 20-60% en peso, de la composición farmacéutica.

40 28. Una composición farmacéutica según la reivindicación 23, **caracterizada** porque las enzimas o mezcla de enzimas son pancreatina o una mezcla que contiene pancreatina de enzimas digestivas, que contienen adicionalmente una o más enzimas microbianas seleccionadas del grupo de lipasas, proteasas y amilasas.

45 29. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 22, 26 ó 28, **caracterizada** porque la lipasa microbiana es de origen fúngico o bacteriano y se produce recombinantemente.

45 30. Una composición farmacéutica según la reivindicación 29, **caracterizada** porque dicha lipasa es una variante de lipasa o una lipasa mutada.

31. El uso de un sistema que comprende

- al menos un tensioactivo en una cantidad de 2 a 90% en peso, elegido del grupo que consiste en mono y/o diésteres de polietilenglicol-ácidos grasos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂; ésteres de polietilenglicol-ácidos grasos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂; polietilenglicol alquil mono y/o diésteres con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, y mezclas de los mismos; o un tensioactivo iónico seleccionado del grupo constituido por lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, lisofosfatidilinositol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina y mezclas de ellos,

- al menos un co-tensioactivo en una cantidad de 5 a 60% en peso, escogido del grupo constituido por monoacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, mono-éteres de éteres de glicerol con alcoholes alifáticos C₁₂-C₁₈, ésteres parciales de propilenglicol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂, ésteres parciales de poliglicerol con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂ y mezclas de ellos, y

- en una cantidad de 0 a 70% en peso, una fase lipófila representada por di y/o triacilglicéridos con ácidos carboxílicos alifáticos C₆-C₂₂.

65 por el que los componentes tensioactivo, co-tensioactivo y la fase lipófila constituyen juntos hasta el 100% en peso del sistema y el sistema constituye del 10% al 95% en peso de la composición farmacéutica;

ES 2 314 646 T3

para la fabricación de preparaciones farmacéuticas sólidas que contienen enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica, preferiblemente pancreatina o mezclas de tipo pancreatina de enzimas digestivas.

32. Un procedimiento para preparar preparaciones farmacéuticas sólidas para la administración por vía oral que 5 contienen enzimas o mezclas de enzimas con al menos actividad lipolítica, **caracterizado** porque las enzimas o mezclas de enzimas se convierten en una forma de medicamento adecuado con un sistema que comprende

- 10 • un tensioactivo escogido del grupo constituido por ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol glicerol; éteres de polietilenglicol alquilo, éteres de polietilenglicol esterol, ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán, ésteres de azúcares, copolímeros de bloques de polioxietileno-polioxipropileno, tensioactivos iónicos y mezclas de ellos;
- 15 • un co-tensioactivo escogido del grupo constituido por mono-acilglicéridos, mono-éteres de glicerol, ésteres parciales de propilenglicol, ésteres parciales de poliglicerol, ésteres parciales de etildiglicol y mezclas de ellos, y
- una fase lipófila representada por di y/o triacilglicéridos.

20 y también, opcionalmente, productos auxiliares, vehículos y/o excipientes compatibles farmacéuticamente convencionales, **caracterizado** porque el sistema de tensioactivo, co-tensioactivo y fase lipófila es un sistema como se ha definido en una de las reivindicaciones 5 a 9 y 13 a 20.

25

30

35

40

45

50

55

60

65