



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 285 839**

51 Int. Cl.:

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

A61K 31/52 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **99919217 .2**

86 Fecha de presentación : **08.04.1999**

87 Número de publicación de la solicitud: **1069914**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **24.01.2001**

54 Título: **Comprimido de acción retardada producido a partir de polisacáridos lineales insolubles en agua.**

30 Prioridad: **09.04.1998 DE 198 16 070**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2007

73 Titular/es: **Südzucker AG. Mannheim/Ochsenfurt
Maximilianstrasse 10
68165 Mannheim, DE**

72 Inventor/es: **Bengs, Holger;
Schuth, Silke;
Grande, Jürgen;
Böhm, Gitte y
Schneller, Arnold**

74 Agente: **Zuazo Araluze, Alexander**

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

Comprimido de acción retardada producido a partir de polisacáridos lineales insolubles en agua.

La presente invención se refiere a comprimidos de acción retardada a partir de polisacáridos lineales insolubles en agua así como a su uso, especialmente para la administración controlada de principios activos.

Las formulaciones de soportes de principios activos (excipientes) tienen significado en la tecnología farmacéutica moderna, cuyas formas de aplicación influyen de manera controlada sobre la biodistribución, biodisponibilidad, biocompatibilidad y resorción. Además, los soportes de principios activos deben presentar buenas propiedades mecánicas, tales como suficiente dureza y resistencia frente a la tracción y tensión. Aunque algunos compuestos ya por sí mismos pueden comprimirse para dar masas estables compactas (por ejemplo, sacarosa o lactosa), son necesarios componentes (también excipientes para comprimidos), tales como aglutinantes, agentes de relleno, lubricantes y agentes de adición. Agentes ligantes de secado típicos para el aumento de la estabilidad, que encuentran su aplicación en el presente documento, son: fosfato de calcio, celulosa microcristalina (por ejemplo Avicel®, PH 102®, Celsphere especial), polivinilpirrolidona (por ejemplo Kollidon®, Luviskol VA 64®, Plasdone®), almidón de maíz, de trigo o de patata, polisacáridos derivatizados, las denominadas gomas (por ejemplo goma xantana), derivados de celulosa (por ejemplo hidroxipropilmetilcelulosa: Klucel®) o etilcelulosa (Aqualon®). Además, los soportes de principios activos deben descomponerse en contacto con los líquidos corporales de manera óptima y controlada en el organismo. Por tanto, para el control de la descomposición se añaden a menudo los denominados disgregantes. Compuestos típicos para este fin son almidón de maíz, almidón gelatinizado y modificaciones de almidón. También pueden utilizarse sustancias que desarrollan una fuerza de adyuvancia de disolución mediante la absorción de agua e hinchamiento que la acompaña. A estas pertenecen polivinilpirrolidona reticulada (Kollidon CL®), carboximetilcelulosa y sus sales de calcio o galactomananos.

Con algunos compuestos (por ejemplo Avicel® y PH 102®) se consigue tanto obtener la estabilidad mecánica necesaria como controlar la descomposición del comprimido.

Los almidones especiales, inclusive la amilosa, se describen como soportes de principios activos ventajosos para la formulación de comprimidos (Journal of Pharmaceutical Sciences 55 (1966), 340). Sin embargo, demuestra ser desventajosa la Nepol-Amilosa usada (A. E. Stanley Manufacturing Co., USA), dado que los principios activos no se liberan de manera exhaustiva y el soporte de principios activos presenta un contenido en agua alto (10-12%), por lo que no pueden formularse principios activos hidrolíticamente lábiles. Especialmente, la amilosa reticulada (grado de reticulación del 15%) se describe como aglutinante superior (S.T.P. Pharma Sciences 4 (1994), 329-335 y Journal of Controlled Release 15, (1991) 39-46, Journal of Controlled Release 15, (1991) 39-46), que actúa como acelerador de la descomposición debido a su capacidad de absorción de agua. En el documento WO 94/21236 se usa amilosa reticulada (grado de reticulación del 25%) como aglutinante y agente disgregante. Un grado de reticulación elevado actúa sin embargo de manera desventajosa sobre la compatibilidad biológica. Como agente de reticulación se usa la epíclorhidrina incompatible hasta el 30 por ciento en peso. Incluso las reticulaciones reducidas en el intervalo de pocos por cientos conducen a una inercia de reacción que crece rápidamente, de modo que debe contarse con restos que quedan en el reticulador que no ha reaccionado. Todos los soportes de principios activos que contienen amilosa y almidón existentes hasta ahora en el mercado usan fuentes de procedencia vegetal. A este respecto es desventajoso que estos biopolímeros presenten como todas las sustancias que se producen de forma natural, variaciones relevantes en la construcción y estructura y por tanto no se garantiza la reproducibilidad necesaria y con esto la calidad del producto constante, también en vista de una administración del principio activo controlada. En el caso de almidón nativo, según la procedencia varía el contenido en amilosa y amilopectina considerablemente. Por ejemplo, el almidón de las patatas contiene aproximadamente el 20% en peso de amilosa y aproximadamente el 80% en peso de amilopectina, mientras que el almidón del maíz aproximadamente el 50% en peso de amilosa y aproximadamente el 50% en peso de amilopectina. La varianza adicional dentro de una colectividad vegetal se produce por el estado del suelo, la absorción de fertilizante, diferencias climáticas estacionales etc. Además pueden presentar amplias distribuciones del peso molecular la amilosa, un poliglucano de enlace 1,4, con un peso molecular de desde aproximadamente 50.000 hasta 150.000 Dalton, y la amilopectina, un poliglucano de enlace 1,4 y 1,6 altamente ramificado, con un peso molecular de desde aproximadamente 300.000 hasta 2.000.000 Dalton. Los pasos desde altamente ramificado hasta lineal son corrientes y varían en el material de origen vegetal, de modo que una delimitación aguda es casi imposible. Especialmente los soportes de principios activos, que además contienen amilopectina, producen hinchamientos irregulares debido a las ramificaciones, mediante lo cual se afecta la estabilidad del soporte. Por tanto, la amilopectina se separa de manera costosa la mayoría de las veces por medio de disociación enzimática (Journal of Controlled Release 45, (1997) 25-33 y documento EP 0499648 B1 = US 5.468.286).

Además de estas marcadas desventajas de la amplia distribución del peso molecular o mezclas de polímeros de distinta disposición espacial, los polímeros nativos contienen constituyentes adicionales tal como compuestos de bajo peso molecular, por ejemplo, grasas y aceite, que sólo pueden separarse difícilmente y actúan de manera desventajosa en los tratamientos y aplicaciones adicionales (por ejemplo, documento US 3.490.742). Especialmente deben realizarse etapas de trabajo que reducen el rendimiento, no pudiéndose eliminar completamente en parte las impurezas.

También se conocen ensayos para optimizar biopolímeros, así también almidón, modificándose mediante ingeniería genética el vegetal de origen. El documento WO 94/03049 describe la producción y el uso de almidones de alto

contenido en amilosa de maíz modificado mediante ingeniería genética. A pesar de esto permanecen las desventajas de las irregularidades e impurezas.

La reproducibilidad y calidad depende de manera decisiva para la uniformidad y pureza. Para garantizar productos de alta calidad, estas sustancias de partida deben poder caracterizarse y definirse claramente.

Las publicaciones de K. Masumoto *et al.* Sustained-Release Dosage Forms Containing Chlorpheniramine Maleate with Water-Insoluble Glucan Chem. Pharm. Bull. 1984, 32(3), 1055-1062, K. Masumoto *et al.* In Vitro Profile and in Vivo Absorption Study of Sustained-Release Tablets Containing Chlorpheniramine Maleate with Water-Insoluble Glucan Chem. Pharm. Bull. 1984, 32(9), 3720-3723 y K. Masumoto *et al.* Directly Compressed Tablets containing Water-insoluble Glucan and Microcrystalline Cellulose in Addition to Lactose Chem. Pharm. Bull. 1983, 31(1), 209-213 se dedican a la adecuación de un glucano muy ramificado, insoluble en agua como agente de acción retardada, que puede producirse mediante el organismo *Streptococcus mutans*.

El documento WO 94/01091 describe comprimidos de acción retardada de materiales solubles en agua, en los que no es posible una administración de principios activos sin la adición de sustancias de otros aditivos.

El documento WO 96/41617 da a conocer comprimidos de acción retardada, que pueden componerse de dos fracciones, conteniendo la primera fracción el principio activo en forma muy soluble en agua, mientras que la segunda fracción comprende el mismo principio activo en forma menos soluble.

La presente invención tiene el objetivo de proporcionar material de acción retardada evitando las desventajas anteriormente mencionadas, que puede usarse como comprimido de acción retardada en una composición farmacéutica para la administración controlada de principios activos, preferiblemente para la aplicación oral.

El objetivo se soluciona debido a que se usa como material de acción retardada polisacáridos lineales insolubles en agua, que representan productos de partida biocompatibles, químicamente inertes, estables a la presión, que permiten la administración controlada sin otros aditivos.

A este respecto se usa como producto de partida poli(1,4-alfa-D-glucano) insoluble en agua lineal, que se encuentra total o parcialmente en forma preferiblemente de micropartículas esféricas.

El "comprimido de acción retardada" en el sentido de la presente invención son especialmente comprimidos, grageas, píldoras, comprimidos subcutáneos, pastillas subcutáneas, pastillas, discos discóticos y similares, cuya formulación necesita compresión. También se incluyen cápsulas, que se rellenan con el material de acción retardada.

Como material de acción retardada se considera a continuación poli(1,4-alfa-D-glucano) insoluble en agua lineal.

Éste está enlazado siempre de la misma manera entre sí. Cada unidad básica así definida tiene justo dos enlaces, respectivamente uno con otro monómero. De aquí se excluyen las dos unidades básicas, que forman el principio y el final del polisacárido. Estas unidades básicas tienen sólo un enlace con otro monómero. En el caso de tres o más enlaces (enlaces covalentes) de un monómero con otro grupo, preferiblemente de otra unidad de sacárido, se habla de una ramificación. Entonces de cada elemento de estructura de sacárido en la cadena principal polimérica parten al menos tres enlaces glicosídicos. Según la invención no se producen ramificaciones o sólo en medida subordinada, de modo que en el caso de los porcentajes de ramificación muy pequeños que se encuentran en general ya no son accesibles los métodos analíticos habituales. Este es el caso por ejemplo, cuando con respecto a la totalidad de todos los grupos hidroxilo existentes en cien grupos hidroxilo, que no se necesitan para la formación de polisacáridos lineales, están ocupados como máximo cinco grupos hidroxilo mediante enlaces con otros elementos de estructura de sacárido.

A este respecto, el grado de ramificación es máximo (100%), cuando en cada unidad de sacárido los grupos hidroxilo libres (u otros grupos funcionales que aparecen) presentan enlaces glicosídicos (u otros) adicionales con otros sacáridos. El grado de ramificación es mínimo (0%), cuando en los sacáridos aparte de los grupos hidroxilo, que condicionan la linealidad del polímero, no se modifican otros grupos hidroxilo mediante reacción química.

Si una unidad básica tiene tres o más enlaces, se habla de ramificación. A este respecto se obtiene el denominado grado de ramificación a partir del número de grupos hidroxilo por 100 unidades básicas, que no forman parte de la formación de la cadena principal polimérica y que forman las ramificaciones.

Según la invención, los polisacáridos insolubles en agua lineales presentan un grado de ramificación inferior al 8%, es decir tienen menos de 8 ramificaciones en 100 unidades básicas. Preferiblemente el grado de ramificación es inferior al 4% y especialmente el 1,5% como máximo.

El grado de ramificación en la posición 6 es inferior al 4%, preferiblemente el 2% como máximo y especialmente el 0,5% como máximo y el grado de ramificación en las otras posiciones distintas de las que forman parte del enlace lineal, por ejemplo de la posición 2 ó 3, es preferiblemente el 2% como máximo y especialmente el 1% como máximo respectivamente. Especialmente preferibles son especialmente poli-alfa-D-glucanos, que no presentan ramificaciones, o cuyo grado de ramificación es tan mínimo que ya no puede determinarse con métodos habituales.

Según la invención, los prefijos “alfa”, “beta” o “D” por separado se refieren a los enlaces, que forma la cadena principal polimérica y no a las ramificaciones.

“Insolubilidad en agua” en el sentido de la presente invención significa que no existe ninguna solubilidad reconocible del compuesto en condiciones normales (temperatura ambiente de 25°C y una presión atmosférica de 101325 pascuales o que se basa en valores que difieren en un 20% como máximo).

En el caso del poli(1,4-alfa-D-glucano) usado según la invención, esto significa que al menos el 98% de la cantidad utilizada, preferiblemente una cantidad superior al 99,5% es insoluble en agua. A este respecto, el término insolubilidad también puede aclararse mediante la observación siguiente. Si se calienta 1 g del polisacárido lineal que ha de estudiarse en 1 l de agua desionizada hasta 130°C a una presión de 1 bar, entonces la disolución que se produce permanece sólo momentáneamente, durante unos cuantos minutos estable. Durante el enfriamiento en condiciones normales precipita la sustancia de nuevo. Tras el enfriamiento adicional y la separación con la centrifuga con un cálculo de pérdidas experimentales, puede recuperarse de esta manera al menos el 66% de la cantidad utilizada.

En el contexto de esta invención se usan preferiblemente polisacáridos lineales insolubles en agua, que pueden obtenerse con ayuda de métodos de ingeniería genética o biotécnicos de definición general. Una forma de realización especialmente ventajosa para la invención descrita en el presente documento es la producción en un procedimiento biotécnico, especialmente en un procedimiento biocatalítico.

El polisacárido lineal producido mediante biocatálisis (también: biotransformación) en el contexto de esta invención significa que el polisacárido lineal se produce mediante reacción catalítica de elementos de estructura básicos monoméricos tales como sacáridos oligoméricos, por ejemplo de mono y/o disacáridos, usándose un denominado biocatalizador, habitualmente una enzima, en condiciones adecuadas. Preferiblemente se produce poli(1,4-alfa-D-glucano) por medio de polisacárido sintetas y/o almidón sintetas y/o glucosiltransferasas y/o alfa-1,4-glucanotransferasas y/o glucógeno sintetas y/o sacarosa-1,4-alfa-glucano glucosiltransferasas y/o fosforilasas.

También son concebibles los polisacáridos lineales a partir de la fermentación. Éstos son en el contexto de esta invención polisacáridos lineales, que pueden obtenerse mediante procesos fermentativos usando organismos que se producen de forma natural, tales como hongos, algas, o microorganismos o usando organismos que no se producen de forma natural, que pueden obtenerse por medio de métodos de ingeniería genética de definición general, mediante la modificación de organismos naturales tales como hongos, algas o microorganismos.

Además, los polisacáridos lineales pueden obtenerse para la producción de los comprimidos de acción retardada descritos en la presente invención a partir de polisacáridos no lineales, que contienen ramificaciones, tratándose con una enzima y pudiéndose obtener de éstos polímeros lineales con división (por ejemplo por medio de enzimas, tales como amilasa, isoamilasa, gluconohidrolasa, pululanasa entre otras) y separación de las ramificaciones.

Los pesos moleculares M_w de los polisacáridos lineales usados según la invención pueden variar en un amplio intervalo de desde 10^3 g/mol hasta 10^7 g/mol, preferiblemente los pesos moleculares M_w se encuentran en el intervalo de desde 2×10^3 g/mol hasta 5×10^4 g/mol, especialmente de 3×10^3 g/mol a 2×10^4 g/mol. Para el polisacárido lineal usado preferiblemente, poli(1,4-alfa-D-glucano) se usan intervalos correspondientes.

La distribución del peso molecular o la polidispersividad M_w/M_n puede variar en amplios intervalos según el método de producción del polisacárido. Preferiblemente se utiliza una polidispersividad de desde 1,01 hasta 50, especialmente preferible desde 1,5 hasta 15. A este respecto la polidispersividad aumenta con una distribución bimodal de los pesos moleculares, no influyendo esto de manera negativa en las propiedades de la formulación del comprimido.

No se excluyen las mezclas de los polisacáridos lineales según la invención con polisacáridos no lineales. Por una “administración de principios activos controlada” se entiende que el principio activo se libera con la aceptación de una desviación estadística correspondiente a las circunstancias tras una duración y/o tiempo determinado en una dosis ventajosa para el organismo biológico.

Esta definición comprende también los extremos. Por un lado, la liberación espontánea de todos los principios activos que se encuentran en la formulación en el plazo de duración que se contempla en el valor cero. Por otro lado la dosis/cantidad necesaria mínima para conseguir un efecto terapéutico durante una duración larga, casi sin fin, de al menos una duración que es necesaria para liberar por completo los principios activos que se encuentran en la formulación.

Por tanto, se habla de una formulación de liberación controlada o formulación con liberación retardada como sinónimo de la formulación de acción retardada que se presenta en el presente documento. Como “principio activo” se considera cada sustancia y combinación de sustancias biológicamente activa en el sentido más amplio (explícitamente en el intervalo veterinario y humano), especialmente para la indicación médica. Especialmente: analgésicos, preparaciones antiangina, antialérgicos, antihistamínicos, antiinflamatorios, broncodilatadores, broncoespasmodolíticos, diuréticos, anticolinérgicos, moléculas antiadhesión, moduladores de la citocina, endonucleasas biológicamente activas, ADNasas humanas recombinantes, neurotransmisores, inhibidores de la leucotrina, péptidos intestinales vasoactivos, antagonistas de la endotelina, analépticos, analgésicos, anestésicos locales, narcóticos, antiepilépticos, anticonvulsivos,

antiparkinsonianos, antiémeticos, compuestos que estimulan o regulan el sistema hormonal, compuestos que estimulan o regulan el sistema cardiocirculatorio, compuestos que estimulan o regulan el sistema del aparato respiratorio, vitaminas, oligoelementos, antioxidantes, citostáticos, antimetabolitos, antiinfecciosos, inmunomoduladores, inmunosupresores; antibióticos, proteínas, péptidos, hormonas, hormonas del crecimiento, factores del crecimiento, xantinas, vacunas, esteroides, beta₂-miméticos.

El "efecto terapéutico" en el sentido de esta invención significa que una cantidad terapéuticamente eficaz de un principio activo llega al punto de destino que se tiene por objetivo, despliega allí su acción, y produce una reacción fisiológica. Se incluye el efecto paliativo y/o curativo.

"Biocompatible" en el sentido de esta invención significa que los polisacáridos utilizados se someten a una descomposición biológica por completo y no tiene lugar el enriquecimiento en el organismo. Por descomposición biológica se entiende a este respecto cualquier proceso que transcurre *in vivo*, que conduce a una descomposición o destrucción del polímero. Especialmente se encuentran también en este intervalo los procesos enzimáticos o hidrolíticos. Para la biocompatibilidad de los polisacáridos así como de sus productos de descomposición (metabolitos) no es por último de gran significado también el carácter idéntico natural de los polisacáridos utilizados. Por tanto, los polisacáridos usados según la invención son especialmente adecuados para la utilización terapéutica, diagnóstica o profiláctica. El término "farmacéuticamente aceptable" en el sentido de esta invención significa que un soporte para un principio activo, un agente auxiliar o también denominado excipiente, puede absorberse por un ser vivo sin que se produzcan efectos secundarios significativos para el organismo.

La producción de los comprimidos tiene lugar mediante el mezclado de los componentes de partida, mezclándose u homogeneizándose el polisacárido lineal junto con el principio activo según métodos conocidos, por ejemplo con ayuda de un molino de bolas. El principio activo puede adoptar una concentración de hasta el 50%, usándose preferiblemente una concentración de entre el 1 y el 20%, especialmente preferible entre el 5 y el 15%. Pueden utilizarse otros agentes auxiliares y de adición habituales. La suma de principio activo y polisacáridos según la invención en la composición total (incluyendo los agentes auxiliares y de adición eventuales) debe ascender al menos al 50%, sin embargo se prefiere del 70 al 100%, se prefiere especialmente del 85 al 98%. La composición de los excipientes puede variar en amplios intervalos, dependiendo las razones de la composición de las interacciones con el principio activo y el polisacárido insoluble en agua, lineal.

Como agente auxiliar en la producción de comprimidos así como del proceso de mezclado anterior pueden utilizarse disolventes, prefiriéndose disolventes muy volátiles.

El cuerpo básico del polisacárido según la invención para la producción de comprimidos puede representar una micropartícula, tal como se describe mediante la solicitud de patente (DPA, Az: 197 37 481.6). Se aplica preferiblemente el proceso de mezclado sencillo para la producción de la masa bruta o mezcla bruta del comprimido. Estos modos de producción de los comprimidos pueden afectar a las propiedades del comprimido. Es posible por ejemplo, acoplar el principio activo mediante técnicas de pulverización, por ejemplo en el procedimiento de lecho fluidizado o mediante recubrimiento en una suspensión del polisacárido usado según la invención, directamente en o sobre el cuerpo básico del polisacárido. A este respecto pueden utilizarse procesos de aspiración, en los que se aprovecha la configuración porosa de las micropartículas, para aspirar el principio activo en una disolución (carácter de esponja), o técnicas de secado por pulverización. En este sentido se seca una disolución, suspensión o emulsión de un polisacárido lineal y del principio activo por medio de tecnología de pulverización conocida. En el caso de las disoluciones se utilizan disolventes orgánicos correspondientes. A este respecto pueden ayudar temperaturas o presiones superiores, así como procedimientos supercríticos, para generar solubilidades necesarias durante espacios de tiempo cortos.

Las presiones aplicadas durante la producción de los comprimidos pueden variarse en amplios intervalos. Las variaciones de presión pueden utilizarse de manera controlada para conseguir con los polisacáridos descritos según la invención un efecto de acción retardada que tiene adicionalmente un efecto positivo. Las presiones pueden variar en amplios intervalos de desde 1 MPa hasta 10³ MPa. (10⁵ Pa = 1 bar). Preferiblemente se utilizan presiones en el intervalo de desde 10 MPa hasta 300 MPa, de manera especialmente ventajosa presiones en el intervalo de desde 100 MPa hasta 250 MPa.

Los ejemplos y figuras siguientes sirven para explicaciones más detalladas de la invención, sin limitar la misma a los productos y formas de realización descritas en los ejemplos.

Ejemplos

Los ejemplos siguientes se refieren especialmente a la producción de las micropartículas, tal como se describe en la solicitud de patente (DPA, AZ: 197 37 481.6), haciéndose referencia expresa a ésta. Por lo demás se describe un método especialmente ventajoso para la producción de poli(1,4-alfa-D-glucano) en el documento WO 95/31553.

ES 2 285 839 T3

Ejemplo 1

Producción in vitro de poli(1,4- α -D-glucano) en un proceso biocatalítico con ayuda de la enzima sacarosa 1,4- α -glucano glucosiltransferasa

En un recipiente de 15 l esterilizado (esterilización por vapor) se añaden 10 l de una disolución de sacarosa al 20%. El extracto enzimático que contiene sacarosa 1,4- α -glucano glucosiltransferasa obtenido por medio de una fermentación se añade en una porción a la disolución de sacarosa. La actividad enzimática asciende a 16 unidades (1 unidad corresponde a la reacción de 1 μ mol de sacarosa por minuto por mg de enzima). El dispositivo se dota con un agitador KPG esterilizado igualmente. Se cierra el recipiente y se mantiene a 40°C y se agita. Tras cierto tiempo se forma un precipitado blanco. Se finaliza la reacción tras una duración de 180 horas. Se filtra el precipitado y se lava varias veces para separar los azúcares de bajo peso molecular. Se seca el residuo que queda en el filtro a temperaturas de entre 30 y 40°C en la estufa aplicando vacío con ayuda de una bomba de membrana (empresa Vacuubrand GmbH & Co, CVC 2). La masa asciende a 685 g (rendimiento del 69%).

Ejemplo 2

Caracterización del poli(1,4- α -D-glucano) sintetizado con sacarosa 1,4- α -glucano glucosiltransferasa del ejemplo 1 por medio de cromatografía de permeación en gel

Se disuelven 2 mg del poli(1,4- α -D-glucano) del ejemplo 1 a temperatura ambiente en dimetilsulfóxido (DMSO, de pureza analítica de Riedel-de-Haen) y se filtra (filtro de 2 mm). Se inyecta una parte de la disolución en una columna de cromatografía de permeación en gel. Como eluyente se usa DMSO. Se mide la intensidad de señal por medio de un detector IR y se valora frente al patrón de pululano (empresa Polymer Standard Systems). La tasa de flujo asciende a 1,0 ml por minuto.

La medición da como resultado un promedio en número del peso molecular (M_n) de 2,700 g/mol y un promedio en peso del peso molecular (M_w) de 11,700 g/mol. Esto corresponde a una dispersividad de 4,3.

Ejemplo 3

Producción de micropartículas a partir de poli(1,4- α -D-glucano)

Se disuelven 400 g de poli(1,4- α -D-glucano) en 2 l de dimetilsulfóxido (DMSO, de pureza analítica de Riedel-de-Haen) a 60°C en el plazo de 1,5 h. Entonces se agita una hora a temperatura ambiente. Se añade la disolución a 20 l de agua bidestilada con agitación a través de un embudo de goteo durante un espacio de tiempo de 2 h. Se almacena la mezcla básica durante 40 h a 6°C. Se forma una suspensión fina. Se separan las partículas, decantándose en primer lugar el resto. Se suspende el poso y se centrifuga en pequeñas porciones (ultracentrífuga RC5C: cada 5 minutos a 5000 revoluciones por minuto). Se suspende el residuo sólido en total tres veces con agua bidestilada y se centrifuga de nuevo. Se reúnen los sólidos y se liofiliza la suspensión de aproximadamente 1000 ml (Christ Delta 1-24 KD). Se aíslan 283 g de sólido blanco (Ejemplo 3a: rendimiento del 71%). Se guardan los restos reunidos a una temperatura de 18°C durante la noche. El tratamiento tiene lugar tal como se describió. Se aíslan otros 55 g del sólido blanco (Ejemplo 3b: rendimiento del 14%). El rendimiento total asciende al 85%.

Ejemplo 4

Desulfuración de las micropartículas del ejemplo 3

Para la separación del dimetilsulfóxido que queda en las partículas se procede tal como sigue. Se añaden 100 g de las partículas de amilosa del ejemplo 9 en 1000 ml de agua desionizada. Se deja reposar la mezcla básica durante 24 h con ligera oscilación. La separación de las partículas tiene lugar tal como se describe en el ejemplo 9 (ultracentrífuga RC5C: cada 15 minutos, 3000 rev/min. Tras la liofilización se obtiene como resultado una pesada de 98,3 g (rendimiento del 98%). La determinación de azufre mediante análisis elemental da como resultado los valores siguientes (método de comprobación combustión y detección IR):

Contenido en azufre de las partículas del ejemplo 2:	6% +/- 0,1%
Contenido en azufre de las partículas del ejemplo 3:	< 0,01%

Ejemplo 5

Estudios de las micropartículas del ejemplo 3 por medio de microscopía electrónica

Para la caracterización de las partículas se realizan tomas de microscopio electrónico de barrido (REM) (Camscan S-4). Las figuras 1 y 2 muestran tomas de las partículas, que aclaran, que se trata de partículas esféricas, muy uniformes con respecto a la forma, el tamaño y la rugosidad superficial.

ES 2 285 839 T3

Ejemplo 6

Estudios de las distribuciones de tamaño de las partículas del ejemplo 3

- 5 Para la caracterización de las distribuciones de tamaño de las partículas de los ejemplos 1 y 9 se realizaron estudios con un Mastersizer (empresa Malvern Instruments). El estudio tuvo lugar en el modo Fraunhofer (valoración: multimodal, número) con una densidad de 1,080 g/cm³ y concentración volumétrica en el intervalo de desde el 0,012% hasta el 0,014%.

10

TABLA 1

Caracterización del diámetro de partícula de las micropartículas del ejemplo 3

15	Ejemplo N°	Diámetro		Distribución de partículas			
		Dn ^{*1} (mm)	Dw ^{*2} (mm)	dw / dn ^{*3}	d(10%) ^{*4} (mm)	d(50%) ^{*5} (mm)	d(90%) ^{*6} (mm)
20	3a	1,664	4,184	2,541	0,873	1,504	2,624
	3b	0,945	2,345	2,481	0,587	0,871	1,399

25

*₁ dn: valor promedio en número del diámetro

*₂ dw: valor promedio en peso del diámetro

30

*₃ dw/dn: dispersividad del diámetro de partícula

*₄ d(10%): el 10% de todas las partículas tiene un diámetro inferior al valor indicado

35

*₅ d(50%): el 50% de todas las partículas tiene un diámetro inferior al valor indicado

40

*₆ d(90%): el 90% de todas las partículas tiene un diámetro inferior al valor indicado

45

Ejemplo 7

Procedimiento de producción general de comprimidos a partir de micropartículas que contienen poli(1,4- α -D-glucano)

50

Se muelen 270 mg de excipiente para comprimidos (poli(1,4- α -D-glucano)) y 30 mg de principio activo en un molino de bolas (empresa: Retsch MM2000) durante 10 minutos a una amplitud de 100 (indicación del fabricante). Se extraen 250 mg de la cantidad homogeneizada y se traspasan a una herramienta de prensa (Perkin Elmer; diámetro del troquel 13 mm). Se coloca la herramienta de prensa bajo una prensa (empresa: Perkin Elmer, prensa hidráulica). Posteriormente se prensa la masa a una presión de 2 t durante 10 minutos. Tras reducir la presión del dispositivo, se extrae cuidadosamente el comprimido acabado y se conserva para la caracterización adicional, por ejemplo mediciones de estabilidad o ensayos de liberación.

55

A continuación se proporcionan con fines de comparación comprimidos de los materiales de formulación de comprimidos conocidos (ejemplos comparativos), tales como: celulosa microcristalina (AvicelTM), almidón de patata (ToffenaTM-Südstärke), así como poliacrilato (EudragiteTM-Rhöm).

60

Ejemplo 8

Determinación de la liberación de principio activo en función del tiempo

65

La liberación de los comprimidos producidos según el ejemplo 7 se determina tal como sigue. Se añade un comprimido a 25 ml de agua (agua desionizada) en un matraz Erlenmeyer de 50 ml. Se cubre la abertura con parafilm.

ES 2 285 839 T3

Se fija el matraz sobre un agitador (empresa: IKA Labortechnik; KS 125 basic). Se hace funcionar el agitador a un ajuste de aproximadamente 150 por minuto. Tras determinados tiempos se extraen muestras (aproximadamente 1,5 ml) del resto de la disolución generada. De este volumen se traspasa una cantidad suficiente a una cubeta de un solo uso (empresa: Sarstedt n° 67.741) y se mide en el espectrómetro (empresa: Kontrom Instruments, Uvikon 860). Son válidos los máximos de absorción que aparecen para las sustancias modelo o principios activos individuales.

Ejemplo 9

Máximos de absorción de otros principios activos

Se determinaron los máximos de absorción de otros principios activos tal como en el ejemplo 10. Todos los principios activos mencionados llevan a resultados comparables en la observación de un efecto de acción retardada, mediante lo cual pueden obtenerse conclusiones sobre el gran número de aplicaciones posibles.

TABLA 2

Máximos de absorción de diferentes principios activos estudiados

Principio activo	Máximo de absorción
Vitamina B ₁₂	549 nm ^{*2}
Teofilina	271 nm ^{*3}
Ramorexil TM	276 nm ^{*3}
Cafeína	272 nm ^{*3}
Iloperidona	274 nm ^{*3}
Buserelina ^{*1}	278 nm ^{*3}
Clorhidrato de monociclina	278 nm ^{*3}
Tetraciclina hidratada	269 nm ^{*3}
Fenilefrina	272 nm ^{*3}

^{*1} Estructura: 5-oxo-L-prolil-L-histidi-L-triptofil-L-seril-L-tirosil-O-terc-butil-D-seril-L-leucil-L-arginil-N-etil-L-prolinamida

^{*2} Cubeta de un solo uso (empresa: Sarstedt n° 67.741)

^{*3} Cubeta de cuarzo (empresa: Hellma, Suprasil®)

Ejemplo 10

Toma de una curva de calibración para un principio activo en el ejemplo del compuesto modelo vitamina B₁₂

Se produce una disolución madre al 1% mediante la pesada de 100 mg de vitamina B₁₂ en un matraz aforado de 10 ml y el relleno con agua D hasta la marca de calibración. A partir de esto se produce mediante una serie de dilución concentraciones del 0,005%, 0,01% y 0,02% y se miden en el espectrómetro (empresa: Kontrom Instruments, Uvikon 860). Se leen las extinciones en el máximo de absorción de $\lambda = 549$ nm. Sólo son necesarios entonces otros puntos de medición cuando pueden reconocerse desviaciones de una recta. Esta recta de calibración sirve como punto de partida para la determinación de la concentración en el resto del ensayo de liberación del principio activo. En la toma de rectas de calibración de otros principios activos y sustancias modelo se procede de manera análoga en la recogida de datos.

La representación gráfica de la calibración para la vitamina B₁₂ (extinción en agua en función de la concentración) se muestra en la figura 3.

Ejemplo 11

Ensayos para la liberación de la vitamina B₁₂ de comprimidos producidos con poli(1,4- α -D-glucano), así como micropartículas del mismo

Se miden las extinciones del resto de los ensayos de liberación *in vitro*, tal como se describe en el ejemplo 10, tras determinados tiempos. Para conseguir a través de la extinción medida de la curva de calibración los valores de concentración correspondientes, puede ser necesario, diluir los restos en la razón 1:10. Se tiene en cuenta de manera correspondiente este factor.

En la tabla 3 se representan los valores a modo de resumen. En la figura 4 correspondiente se comparan los valores en la gráfica. La concentración máxima posible (según el ejemplo 8 ésta es del 0,1%) se igualó para una representación más clara con el valor del cien por cien, de modo que mediante esto también es posible antes una estimación de qué grado de totalidad se ha alcanzado ya tras qué tiempo.

TABLA 3

Valores de concentración del resto acuoso en función del tiempo para los materiales auxiliares para comprimidos descritos según la invención, poli(1,4- α -D-glucano) y micropartículas del mismo

Agente auxiliar para comprimidos	Liberación (horas)										
	0	0,5	1	2	3,5	6	8	10	24	32	48
Poli(1,4- α -D-glucano)	0	5,44	6,74	11,45	24,45	35,26	41,14	43,28	60,90	63,83	75,27
Poli(1,4- α -D-glucano)	0	2,23	4,87	7,57	15,32	26,11	27,20	34,78	55,02	61,21	64,30
Poli(1,4- α -D-glucano)	0	4,91	5,94	8,18	19,57	30,36	36,38	36,38	67,08	74,96	87,17
Micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano)	0	3,97	4,03	6,52	14,22	20,37	23,71	26,12	33,23	35,70	38,18
Micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano)	0	3,52	3,74	5,72	9,43	17,23	17,77	21,90	31,07	28,13	33,38
Micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano)	0	3,14	3,89	5,63	11,19	18,92	22,94	22,94	39,92	46,83	53,17

Se muestra la liberación de la vitamina B₁₂ de comprimidos con diferentes excipientes: a) poli(1,4- α -D-glucano) y b) micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano).

Ejemplo 12

Ensayos para la liberación de la vitamina B₁₂ de comprimidos producidos con celulosa microcristalina (AvicelTM) y almidón de patata (ToffenaTM) (ejemplos comparativos)

Los resultados representados en la tabla 4 se midieron y se calcularon tal como se describió en el ejemplo 11. La figura 8 representa a modo de comparación los resultados de los excipientes para comprimidos descritos según la invención poli(1,4- α -D-glucano) y micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano) con respecto a las sustancias de comparación celulosa microcristalina (AvicelTM) y almidón de patata (ToffenaTM). El efecto de acción retardada puede reconocerse en este caso claramente.

ES 2 285 839 T3

TABLA 4

Valores de concentración del resto acuoso en función del tiempo para las sustancias de comparación celulosa microcristalina (AvicelTM) y almidón de patata (ToffenaTM)

5				Liberación (horas)									
	Agente auxiliar para comprimidos		0	0,5	1	2	3,5	6	8	10	24	32	48
10	Celulosa microcristalina (Avicel™)		0	6,99	13,38	34,31	52,40	65,53	75,12	77,13	78,36	72,80	79,75
15	Celulosa microcristalina (Avicel™)		0	6,51	14,84	22,30	31,53	43,89	52,40	67,23	84,70	81,92	84,39
20	Celulosa microcristalina (Avicel™)		0	4,81	17,58	26,12	37,51	50,54	57,50	57,50	95,05	100	100
25	Almidón de patata (Toffena™)	de	0	7,99	74,65	77,28	76,51	78,98	78,98	78,98	83,15	80,53	84,08
	Almidón de patata (Toffena™)	de	0	12,18	33,54	39,57	65,07	69,86	77,43	84,08	87,48	85,32	82,07
30	Almidón de patata (Toffena™)	de	0	93,97	74,34	77,28	81,14	84,70	80,53	80,53	87,79	87,48	87,48

En la figura 5 se muestra la liberación de la vitamina B₁₂ de comprimidos con diferentes excipientes: a) poli(1,4- α -D-glucano), b) micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano), c) celulosa microcristalina (AvicelTM) (ejemplo comparativo) y d) almidón de patata (ToffenaTM) - ejemplo comparativo (para una representación más clara se calcularon los valores promedio de los valores indicados en las tablas 3 y 4).

Ejemplo 13

Ensayos para la liberación de comprimidos con teofilina compuestos de poli(1,4- α -D-glucano) y micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano)

Los ensayos de liberación de teofilina de comprimidos compuestos de diferentes excipientes para comprimidos se realizan de manera análoga al ejemplo 12. Como excipiente para comprimidos se usa poli(1,4- α -D-glucano), que se obtuvo directamente de la biocatálisis tras procesos de tratamiento correspondientes (véase el ejemplo 1), así como micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano). Se representan los resultados en la figura 6. Se realizó en cada caso una determinación doble, que somete a prueba de nuevo la elevada reproducibilidad de los resultados.

Ejemplo 14

Ensayos para la liberación de comprimidos con teofilina compuestos de c) celulosa microcristalina (AvicelTM) d) Eudragit RSTM y e) Eudragit RLTM (ejemplos comparativos)

Los ensayos de liberación de teofilina de comprimidos compuestos de los excipientes para comprimidos de sustancias de comparación se realizan de manera análoga al ejemplo 14. Como excipiente para comprimidos se utilizan celulosa microcristalina (AvicelTM), Eudragit RSTM y Eudragit RLTM. Se representan los resultados en la figura 6. Se realizó en cada caso una determinación doble.

En la figura 6 se comparan los perfiles de liberación del ejemplo 13 a modo de comparación.

La figura 6 muestra la liberación de teofilina de comprimidos de diferentes excipientes: a) poli(1,4- α -D-glucano), b) micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano), c) celulosa microcristalina (AvicelTM), d) Eudragit RSTM y e) Eudragit RLTM.

Ejemplo 15

Ensayos para la liberación de comprimidos con teofilina compuestos de poli(1,4- α -D-glucano), así como micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano) y celulosa microcristalina (Avicel™) (ejemplo comparativo) en jugo gástrico artificial

Los ensayos de liberación de teofilina de comprimidos con los excipientes para comprimidos poli(1,4- α -D-glucano) (incluyendo micropartículas) y celulosa microcristalina (Avicel™) en jugo gástrico artificial se realizó de manera análoga al ejemplo 8 (jugo gástrico artificial: 2 g de cloruro de sodio, 3,2 g de pepsina, 7 ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl_{ac}), llenar hasta un litro de volumen total con agua desionizada). También en el caso del uso de un medio, que reproduce el entorno natural pueden observarse de manera reproducible los efectos de acción retardada en la liberación.

La figura 7 muestra la liberación de teofilina de comprimidos con diferentes excipientes: a) poli(1,4- α -D-glucano), b) micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano) y c) celulosa microcristalina (Avicel™) (ejemplo comparativo).

Ejemplo 16

Ensayos para la liberación de comprimidos con Ramorelix™ compuestos de poli(1,4- α -D-glucano) y micropartículas producidas a partir del mismo

Los ensayos de liberación de Ramorelix™ se realizaron de manera correspondiente a los ejemplos descritos hasta el momento. En el caso de Ramorelix™ se trata de un antagonista de LHRH con la secuencia de aminoácidos siguiente (estructura): acetato de 1-(N-acetil-3-(2-naftil)-D-alanil-p-cloro-D-fenilalanil-D-triptofil-L-seril-L-tirosil-0-(6-desoxi-alfa-L-manopiranosil)-D-seril-L-leucil-L-arginil-L-prolil)semicarbazida. Sin embargo como medio de liberación se utilizó jugo gástrico artificial en lugar de agua desionizada (agua D). La formulación para el jugo gástrico artificial es: 2 g de cloruro de sodio, 3,2 g de pepsina, 7 ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl_{ac}) llenado hasta un litro de volumen total con agua desionizada. El valor de pH de la disolución asciende a 1,2.

Ejemplo 17

Ensayo para la liberación de comprimidos con Ramorelix™ compuestos de celulosa microcristalina (Avicel™) (ejemplo comparativo)

Los ensayos de liberación se realizan tal como se indica en el ejemplo 8. Como medio de liberación sirve el jugo gástrico artificial.

La figura 8 muestra la liberación de Ramorelix™ de comprimidos con distintos excipientes: a) poli(1,4- α -D-glucano), b) micropartículas de poli(1,4- α -D-glucano) y c) celulosa microcristalina (Avicel™) (ejemplo comparativo).

Ejemplo 18

Determinación de la solubilidad de polisacáridos

Se añaden 100 mg de poli(1,4- α -D-glucano) a 5 ml de agua bidestilada. Se calienta lentamente el recipiente de reacción con agitación (agitador magnético). Se calienta con un programa por etapas con intervalos de veinte grados y se observa a simple vista. A temperaturas de 40°C, 60°C, 80°C y 100°C no se observa ninguna modificación. Según estas observaciones se le asigna al compuesto la propiedad “insoluble en agua”.

Ejemplo 19

Determinación de la solubilidad de polisacáridos y clasificación según la farmacopea alemana (DAB, Deutsches Arzneimittelbuch)

Se calientan 564 mg de poli(1,4- α -D-glucano) en aproximadamente 0,5 l de agua bidestilada a 1,3 bar y 130°C durante 1,5 horas en un autoclave (aparato Certoclav). Del recipiente de reacción se ha medido previamente el peso. Después se reduce la presión del dispositivo y se enfría a temperatura ambiente. Se pesa el contenido. Corresponde a 501,74 g. Tras otras 24 horas se centrifuga y se decanta. Se seca el residuo sólido y se pesa: 468 mg. A partir de esto se calcula una parte disuelta de 96 mg. Con respecto al disolvente utilizado se calcula a partir de esto que para 1 mg de poli(1,4- α -D-glucano) son necesarios 5226 mg de agua. Según la clasificación según la farmacopea alemana se obtiene como resultado a partir de esto la clasificación de que esta sustancia es “muy difícilmente soluble”, dado que son necesarias entre 1.000 y 10.000 partes de disolvente, para disolver 1 parte de la sustancia. Esto es de las 7 clases para la clasificación de la solubilidad (de “muy fácilmente soluble” (clase 1) a “prácticamente insoluble” (clase 7) la clase número 6.

ES 2 285 839 T3

Ejemplo 20

Determinación de la solubilidad de polisacáridos y clasificación según la farmacopea alemana (DAB)

5 El ensayo se realiza tal como en el ejemplo 19. La única diferencia la configura un proceso de enfriamiento, que se dispone a continuación tras el tratamiento con autoclave y el enfriamiento hasta temperatura ambiente. Se conserva la mezcla de sustancias durante 3 horas a 5°C.

10 Se pesan 526 mg de poli(1,4- α -D-glucano) en aproximadamente 480 ml de agua bidestilada. Tras el tratamiento térmico se obtiene como resultado una pesada de 468,09 g. El sedimento secado asciende a 488 mg. Según esto se han disuelto 38 mg del poli(1,4- α -D-glucano). Esto corresponde a una razón de 1 mg de sustancia con respecto a 12.318 partes de disolvente. Según esto debe clasificarse la sustancia tras este método de tratamiento como clase número 7 según la DAB y después como prácticamente insoluble, porque se necesitan más de 10.000 partes de disolvente para una parte de sustancia.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Comprimido de acción retardada, que contiene al menos un poli(1,4-alfa-D-glucano) lineal, insoluble en agua y uno o varios principios activos, encontrándose el poli(1,4-alfa-D-glucano) total o parcialmente en forma de micropartículas.

2. Comprimido de acción retardada según la reivindicación 1, que contiene al menos un poli(1,4-alfa-D-glucano) lineal insoluble en agua, que se produjo en un procedimiento biotécnico.

10 3. Comprimido de acción retardada según la reivindicación 1, que contiene al menos un poli(1,4-alfa-D-glucano) lineal insoluble en agua, que se produjo en un proceso biocatalítico.

15 4. Comprimido de acción retardada según la reivindicación 1, que contiene al menos un poli(1,4-alfa-D-glucano) lineal insoluble en agua, que se produjo en un proceso fermentativo.

5. Comprimido de acción retardada según una o varias de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque éste es farmacéuticamente aceptable y/o biocompatible.

20 6. Comprimido de acción retardada según una o varias de las reivindicaciones 1 a 5, que contiene excipientes y aditivos adicionales.

25 7. Uso del comprimido de acción retardada según una o varias de las reivindicaciones 1 a 6 para la producción de un medicamento para la administración de principios activos controlada.

Fig. 1

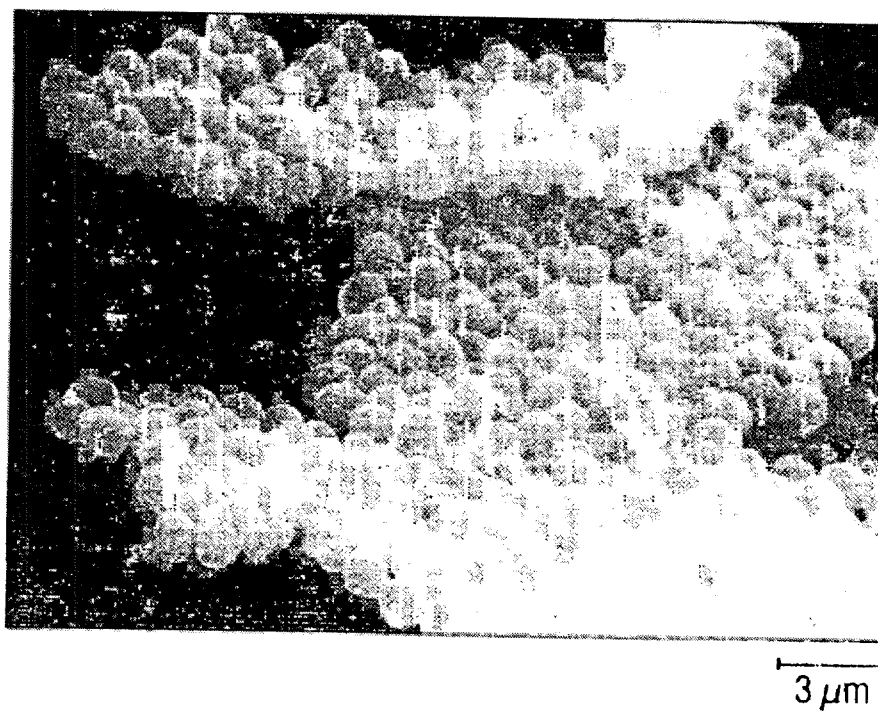


Fig. 2

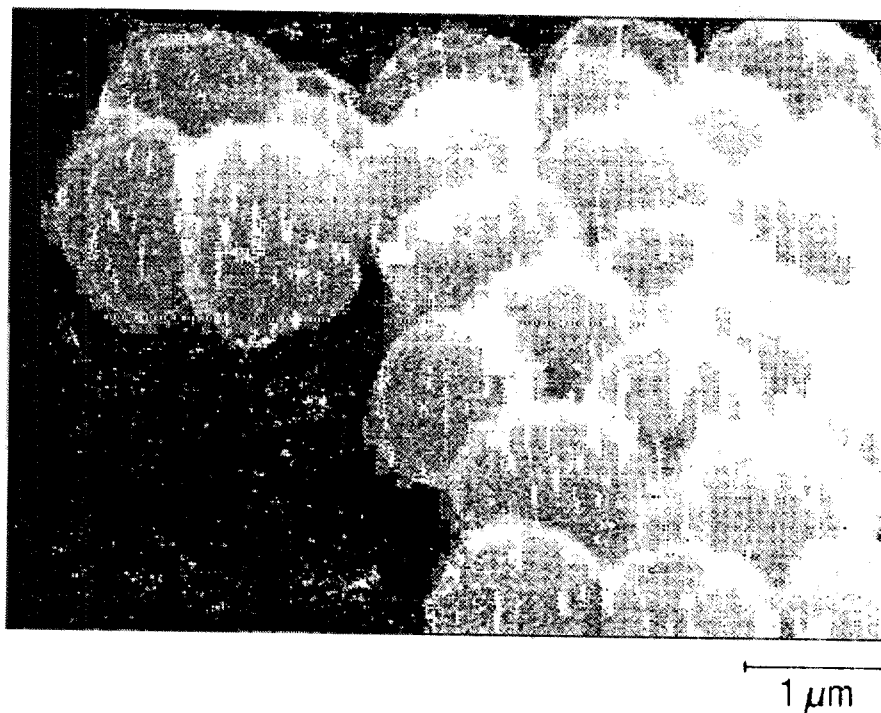


Fig. 3

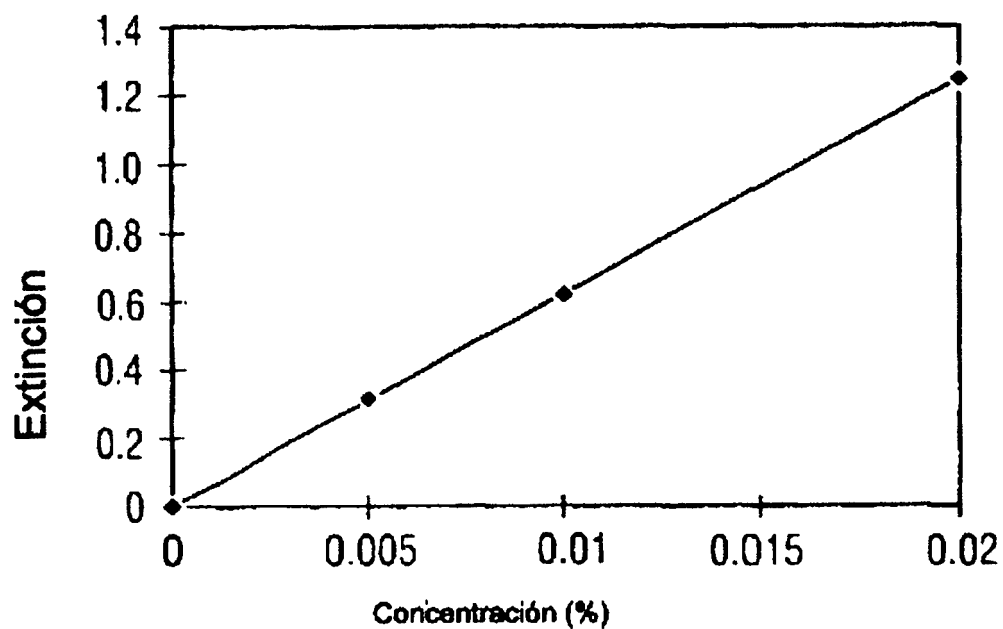


Fig. 4

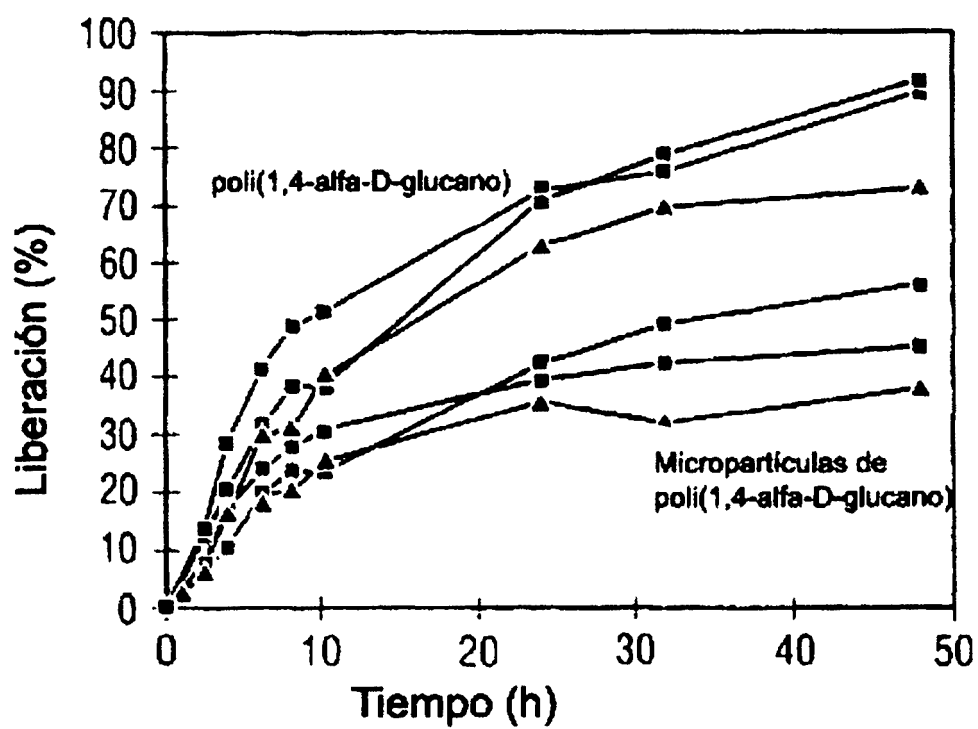


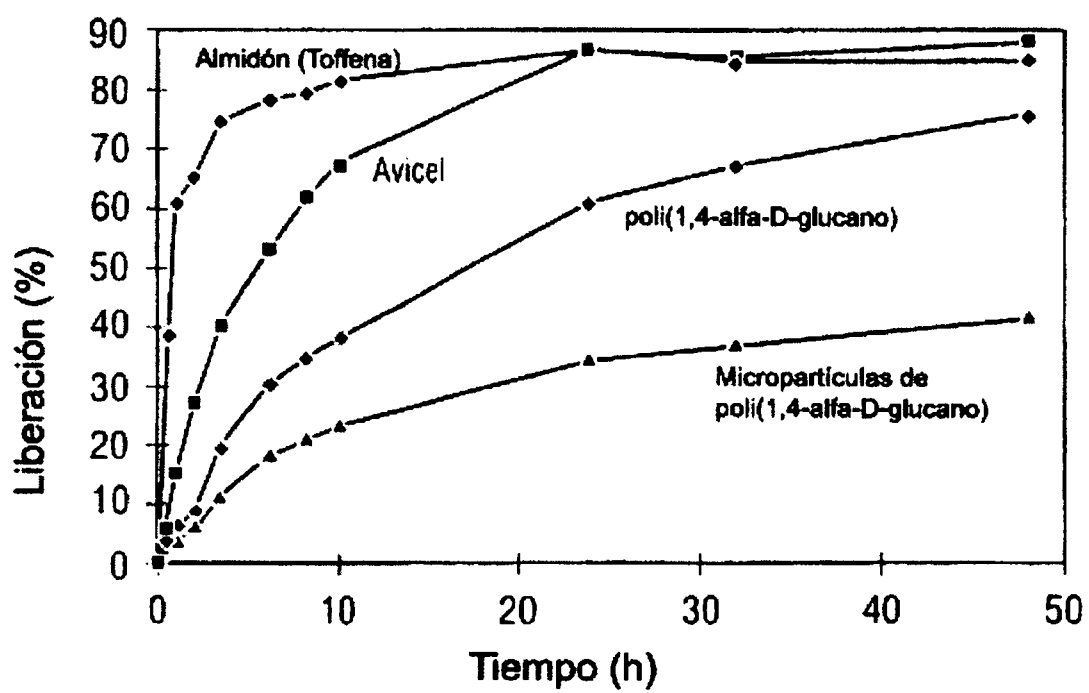
Fig. 5

Fig. 6

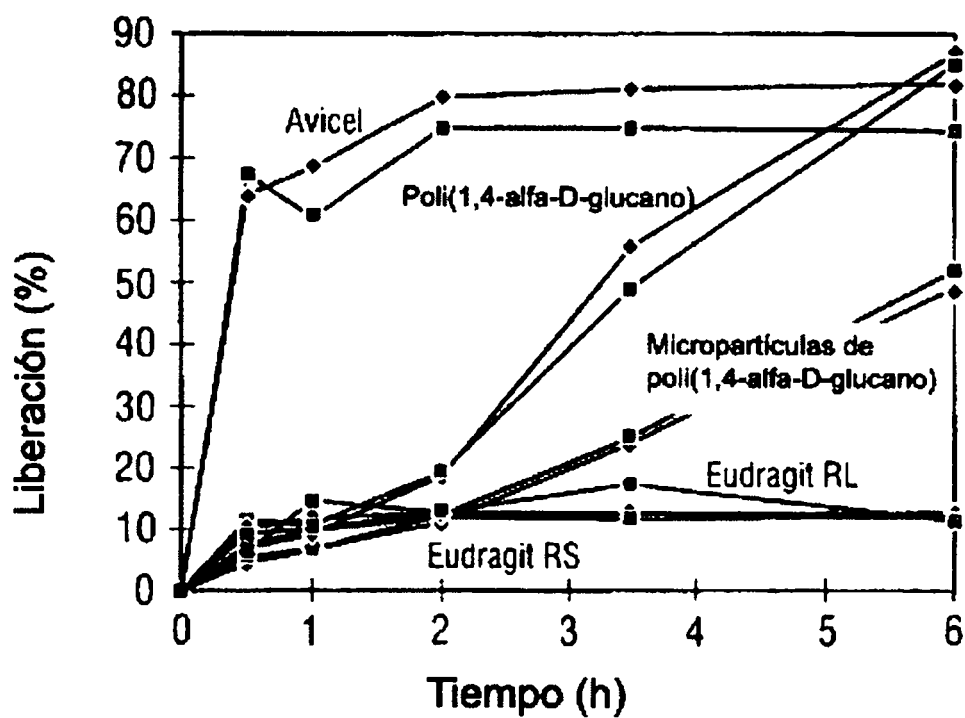


Fig. 7

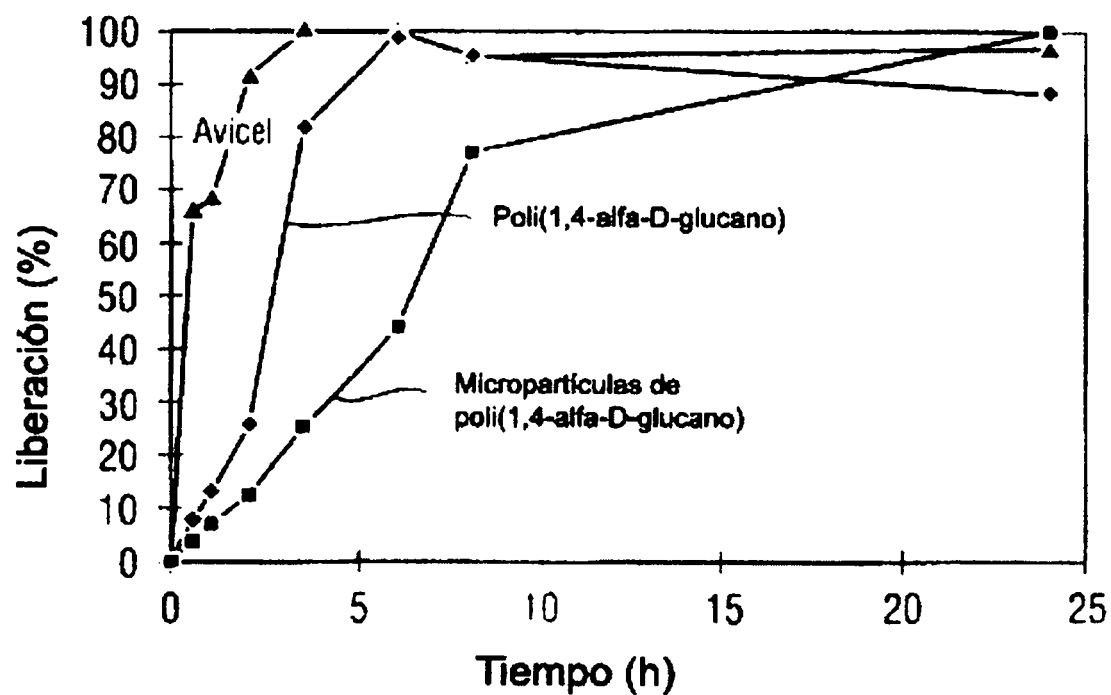


Fig. 8

