



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

19 ES	21	NUMERO 477.181	10 A1
22	FECHA DE PRESENTACION 26 ENE. 1979		

PATENTE DE INVENCION

20 PRIORIDADES:	22 FECHA	23 PAIS
21 NUMERO CI-1803	27 Enero 1978	Hungría

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07H/AG1K	52 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA - - -
------------------------	---	---

54 TITULO DE LA INVENCION

"Procedimiento para la preparación de complejos de inclusión de ciclodextrina"

71 SOLICITANTE (S)

CHINAIN GYÓGYSZER ÉS VEGYÉSZETI TERMÉKEK GYÁRA RT.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

1-5, Tó-utca, H-1045 Budapest IV, Hungría

72 INVENTOR (ES)

József Szejtli, Lajos Szente, Ágoston Dávid, Sándor Virág, Gyula Sebestyén y Attila Mándi

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

M. Curell Suñol

24636-77 KY/pj
EX-HU

P A T E N T E D E I N V E N C I O N

por VEINTE años

solicitada en España a favor de CHINOIN GYÓGYSZER ÉS
VEGYÉSZETI TERMÉKEK GYÁRA RT., de nacionalidad húngara, domi
5. ciliada en 1-5, Tó-utca, H-1045 Budapest IV, Hungría, por
"Procedimiento para la preparación de complejos de inclusión
de ciclodextrina", con prioridad de la solicitud húngara
CI-1803 de fecha 27 Enero 1978. - - - - -

MEMORIA DESCRIPTIVA

10. La invención se refiere a la producción de nuevos
complejos de inclusión de ciclodextrina, formados con indome
thacin. - - - - -

15. Se sabe que las ciclodextrinas forman complejos de
inclusión con otras moléculas de tamaño y polaridad adecua-
dos [J. Pharm. Sci. 64, 1585 (1975)]. Las ciclodextrinas (o
dextrinas de Schardinger) son cicloamilosas o cicloglucanos,
oligosacáridos cíclicos, cuyos representantes más significa-

tivos son la alfa-ciclodextrina compuesta por 6 unidades de anhidroglucopiranososa y la beta-ciclodextrina compuesta por 7 unidades de anhidroglucopiranososa. El ácido 1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-il-acético (Indomethacin^R) es una droga antiinflamatoria conocida, pero su desventaja es su efecto ulcerante (patente británica 997.638). Este compuesto presenta además un efecto protector durante la gestación. - - - - -

10. Los inventores han hallado ahora sorprendentemente que el complejo de inclusión de ciclodextrinas con indomethacin en una relación molar de unos 2:1 está libre del efecto secundario ulcerante y al mismo tiempo presenta totalmente la misma actividad antiinflamatoria y protectora durante la gestación que el Indomethacin. - - - - -

15. En su aspecto reivindicado aquí la invención proporciona un procedimiento para la preparación del complejo de inclusión de ciclodextrina con indomethacin en una relación molar de unos 2:1 que comprende hacer reaccionar unos 2 moles de alfa- o beta-ciclodextrina con 1 mol de ácido 1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-il-acético. - - - - -

20. La interacción de las ciclodextrinas y del indomethacin fue investigada por Hamada, Nambu y Nagai [Chem. Pharm. Bull., 23, 1205 (1975)]. Observaron que aumentando la concentración de ciclodextrina en una disolución acuosa se aumenta también la solubilidad del indomethacin. La solubi

lidad original podría aumentarse de $3,5 \times 10^{-4}$ moles/litro a 35°C a $9,8 \times 10^{-4}$ moles/litro, es decir que la solubilidad aumentó en 2,8 veces. - - - - -

5. Se ha indicado que el indomethacin en presencia de glucosa se hidroliza rápidamente en una disolución acuosa y lentamente en presencia de alfa-ciclodextrina y que la beta-ciclodextrina inhibe la hidrólisis. - - - - -

10. Kurozumi, Nambu y Nagai [Chem. Pharm. Bull., 23, 3062 (1975)] han tratado de preparar el complejo de ciclodextrina-indomethacin. Según un intento se agitaban 100 ml de una disolución 10^{-3} molar de ciclodextrina a temperatura ambiente con 20 ml de una disolución etérica 3×10^{-3} molar de indomethacin durante 24 horas y el producto se cristalizaba enfriando a 2°C . El producto precipitado, sin embargo, no contenía indomethacin alguno sino que incluía beta-ciclodextrina pura. Esto se ha explicado en el mencionado artículo diciendo que el diámetro del hueco de la beta-ciclodextrina es sólo de 7-8 Å, mientras que el diámetro de la molécula de indomethacin es de 8,5 Å, es decir demasiado grande para constituirse en el hueco de la beta-ciclodextrina. - - - - -

25. También ha habido un intento de preparar el complejo por liofilización. El indomethacin se convertía en una sal amónica con hidróxido amónico acuoso al 28%, ésta se disolvía en agua y se añadía una cantidad equimolar de beta-ciclodextrina en forma de una disolución acuosa, la mezcla se

- congelaba y liofilizaba. El producto obtenido contenía tanto el indomethacin como la ciclodextrina de partida en forma de una mezcla, es decir una relación molar de 1:1 (la relación molar de indomethacin : CD = 0,92:1, según el artículo).
5. Los autores se referían a los diagramas de difracción de rayos X en polvos para demostrar que la mezcla molar 1:1 es, de hecho, un complejo, pero no se mostraron los diagramas. Los diagramas de difracción de rayos X en polvos de un complejo obtenido a partir de ibufenac por cristalización y liofilización se han mostrado en el artículo y puede verse que el diagrama en polvos de la beta-ciclodextrina liofilizada y el diagrama en polvos del complejo liofilizado de ibufenac-beta-ciclodextrina son substancialmente idénticos, correspondiendo a un estado amorfo. Es generalmente conocido que los polvos amorfos que se obtienen por liofilización no presentan características significativas por técnicas de exposición de polvos a difracción de rayos X. Takeo y Kuge [Agric. Biol. Chem., 34, 1787 (1970)] indican que los complejos de inclusión de beta-ciclodextrina en un estado seco anhidro originan diagramas de difracción de rayos X en polvos idénticos independientemente del tipo de la molécula huésped que forma el complejo. El hecho es que la formación de complejos no puede determinarse por medio de datos de difracción de rayos X en el caso de materiales liofilizados. - - -
- 10.
- 15.
- 20.
25. Por consecuencia no era la preparación del complejo de indomethacin-ciclodextrina lo que se revelaba en el ar

título mencionado sino que se había obtenido como producto una mezcla física de la sal amónica de indomethacin y ciclodextrina. Según las observaciones de los inventores de la presente las sales de indomethacin no pueden cerrarse en un complejo de inclusión de ciclodextrina puesto que las sales demuestran ser demasiado iónicas, es decir hidrófilas. - - -

5.

Los autores japoneses mencionados anteriormente se fijaron como objetivo la preparación de un complejo molar 1:1 pero no tuvieron éxito. - - - - -

10.

La presente invención se refiere a la preparación de un complejo formado por aproximadamente dos moléculas de ciclodextrina y una molécula de indomethacin. - - - - -

15.

El indomethacin puede considerarse como un compuesto bifuncional desde el punto de vista de la formación de complejos de inclusión con ciclodextrina, puesto que parte de la molécula del grupo p-clorofenilo puede constituirse sola en el hueco de una ciclodextrina, otra parte de la molécula, constituyéndose la parte que contiene carboxi en otra molécula de ciclodextrina. La composición del complejo se ilustra según ello esquemáticamente en la Figura 1, simbolizando los discos huecos la ciclodextrina que se verá en la parte inferior de la Figura 1. - - - - -

20.

La relación molar de ciclodextrina y de indomethacin es de 2:1. Puede prepararse también un complejo de una

relación molar 1:1. La formación de un complejo de una relación molar 1:1 no sólo no disminuye sino que aumenta los efectos secundarios perjudiciales del indomethacin al mismo tiempo que la formación de un complejo de una relación molar 2:1 reduce considerablemente los efectos secundarios. Los datos fisicoquímicos apoyan también la diferencia entre los dos complejos, por ejemplo el valor de la constante de disociación de ácido (pK_a) aumenta considerablemente por incorporación de los dos anillos de ciclodextrina. - - - - -

10. El procedimiento de la invención se realiza haciendo reaccionar la disolución acuosa de ciclodextrina con una disolución de indomethacin en un disolvente inerte. Como disolvente orgánico inerte se emplean disolventes orgánicos que disuelven el indomethacin y que no forman complejos estables con la ciclodextrina. Se prefieren los alcoholes C_{1-3} (tales como metanol o etanol), las cetonas (tales como la acetona) o los éteres (tales como el tetrahidrofurano o el éter de dietilo). La reacción se realiza preferentemente a una temperatura de 50 a 100°C, preferentemente a 60-80°C. La
15. reacción sólo puede realizarse bajo calentamiento puesto que en el hueco interior de la ciclodextrina existen moléculas de agua fijadas con enlaces hidrógeno que sólo pueden escindirse por aumento de la temperatura. La reacción está acabada al cabo de unas pocas horas. El complejo se aísla preferentemente por enfriamiento, filtración o centrifugación de
20. la mezcla de reacción. - - - - -
- 25.

Según otra realización de la presente invención la ciclodextrina se forma a partir de un almidón prehidrolizado en la mezcla de reacción por medio de enzima ciclodextrinasa. Según el procedimiento, la suspensión de almidón se gela

5. a una elevada temperatura (100 a 200°C) y se prehidroliza parcialmente con alfa-amilasa. El hidrolizado se esteriliza y se añade enzima ciclodextrinasa, por ejemplo enzima ciclodextrina-trans-glicolasa de almidón. La conversión se prosigue durante 2-7 días a una temperatura de 40 a 50°C. La mezcla que contiene ciclodextrina, así obtenida, se calienta op-
10. cionalmente después de dilución con agua a fin de desactivar la enzima y se añade alcohol bajo calentamiento, se enfría la suspensión obtenida, se filtra y se añade al filtrado una disolución de indomethacin en un disolvente orgánico. La
15. reacción de formación del complejo de inclusión y el aislamiento del producto se realizan como se ha descrito anteriormente. La relación molar de unos 2:1 puede desviarse de la relación 2:1 en no más de $\pm 10\%$, es decir que la relación molar puede ser de 2:0,9-1,1. - - - - -

20. El nuevo complejo de inclusión de indomethacin en ciclodextrina, así preparado, puede formularse por adición de vehículos inertes sólidos o líquidos y, opcionalmente, de excipientes farmacéuticos, por métodos conocidos en sí para dar composiciones farmacéuticas farmacéuticamente aceptables.

25. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse preferentemente en forma adecuada para la administración oral,

por ejemplo en forma de tabletas o cápsulas. Debe tenerse en cuenta, durante la formulación, que el contenido de indometacin del complejo de inclusión es de unos 15 a 20%. Uno de los componentes del complejo de inclusión, la ciclodextrina, es un vehículo favorable. Según una realización ventajosa la masa de la tableta puede suplementarse mediante otra cantidad de ciclodextrina y por lo tanto el equilibrio de la formación del complejo en un medio biológico, en el estómago, es incluso más desplazado hacia la dirección deseada y por lo tanto se reduce adicionalmente la probabilidad de efecto ulcerante. - - - - -

Si el complejo se administra oralmente, la dosis diaria es de 25 a 200 mg/kg de peso corporal, calculada respecto al contenido de indometacin del complejo de inclusión y puede administrarse en una o varias porciones durante el día. - - - - -

Los nuevos complejos presentan varias ventajas fisicoquímicas y farmacéuticas considerables. El complejo presenta el efecto antiinflamatorio del indometacin pero presenta un efecto secundario considerablemente menos ulcerante y por lo tanto el complejo puede emplearse favorablemente como agente antiinflamatorio que tiene un efecto protector del embarazo con un efecto secundario perjudicial significativamente reducido. El complejo es mucho más soluble que el indometacin. Los ensayos de absorción demuestran que el indometacin administrado en forma de complejo asegura un mayor ni

vel sanguíneo que el indomethacin libre y que la absorción del indomethacin a partir del complejo es más eficaz que en el caso del indomethacin administrado en forma libre. - - -

Otros detalles de la invención se ilustran por medio de los siguientes Ejemplos. - - - - -

Ejemplo 1

Se disuelven 11,35 g (0,01 mol) de beta-ciclodextrina en 110 ml de agua y a esta disolución acuosa saturada se le añade una disolución de 1,78 g de indomethacin en 20 ml de acetona (calculado como 2 moles de beta-ciclodextrina por 1 mol de indomethacin) bajo agitación a 70°C. Las disoluciones se combinan y la mezcla de reacción se enfría durante 6 horas y 12 horas en una nevera. Bajo la refrigeración se separa un precipitado blanco y cristalino que se filtra, se lava con acetona o éter fríos y se seca sobre pentóxido de fósforo. El contenido de indomethacin del complejo se determina disolviendo la substancia cristalina en agua bajo suave calentamiento y con descomposición mediante alcohol. Entonces la substancia se somete a fotometría a 320 nm. El contenido de indomethacin del complejo es del 14%, relación molar: beta-ciclodextrina : indomethacin = 1:0,46. - - - - -

Los espectros de UV del indomethacin liberado del complejo y del indomethacin original son idénticos. - - - -

El hecho de la formación del complejo se demuestra

por medio de las siguientes observaciones: - - - - -

Ensayos de solubilidad

Tanto el indomethacin como su complejo en ciclodextrina a una relación molar = 2:1 son substancialmente insolubles a pH = 2. A un valor de pH de 4 la solubilidad del complejo es mayor en el 33%, a pH = 6 en 112%, a pH = 7 en 223% y a pH = 8 mayor de 1000% del valor del indomethacin.

Por cromatografía en capa delgada se demostró que bajo tales circunstancias el indomethacin no se descompone.

10. Aparece una diferencia significativa en los espectros de IR de indomethacin, beta-ciclodextrina y del complejo de inclusión de indomethacin y ciclodextrina a una relación molar de 2:1, puesto que desaparece en el complejo la banda de 1618 cm^{-1} característica del grupo p-cloroarilo. -

15. El Roentgenograma del diagrama de difracción de rayos X en polvos demuestra que la punta intensa característica de la ciclodextrina, que aparece normalmente a $2\theta = 10,0^\circ$ es desplazada a $2\theta = 10,5^\circ$ en el complejo. Según el artículo: Chem. Pharm. Bull. 23, 3062 (1975) el diagrama de difracción de Roentgen de la mezcla ciclodextrina-indomethacin preparada por liofilización no presentó características significativas algunas. - - - - -

20.

Ensayos de difusión

Los dos lados de una célula de difusión se separan por medio de una membrana semipermeable. En una mitad de la célula se dispone indomethacin con un tampón de pH = 7 y en la otra mitad se dispone un tampón puro. - - - - -

5.

Después de 4 horas a temperatura ambiente el indomethacin se ha distribuido entre los dos lados de la célula a una relación de 50:50% y el equilibrio es completo. Si la disolución de indomethacin-tampón se coloca de nuevo en uno de los lados pero se coloca en el otro lado la misma disolución tamponada de beta-ciclodextrina habrá más indomethacin en el lado de la beta-ciclodextrina después de 4 horas respecto al lado del indomethacin, la ciclodextrina "bombee" parte del indomethacin debido a la formación del complejo.

10.

Si se coloca una disolución del complejo de beta-ciclodextrina:indomethacin = 2:1 ya al principio en uno de los lados de la célula y una disolución pura de tampón en el otro lado entonces puede hallarse en el lado inicial más del 70% de indomethacin después de 4 horas y el equilibrio sólo puede lograrse en aproximadamente más de 10 horas. - - - - -

15.

20.

Ensayos ópticos de dispersión de rotación

La ciclodextrina no presenta absorción de UV pero presenta rotación óptica, mientras que el indomethacin presenta absorción de UV pero no presenta rotación óptica pues-

to que no contiene ningún átomo asimétrico de carbono. El complejo de la relación molar 2:1 tiene rotación óptica y también absorción de UV y por lo tanto aparecen los efectos Cotton provocados en la zona de las bandas de absorción original. - - - - -

5.

Los espectros circulares de dicroísmo demuestran que incluso a una dilución molar 10^{-4} aparecen de 10 a 20% de los componentes en un estado asociado, es decir que el complejo es más bien estable. - - - - -

10. Ensayo de cromatografía en capa delgada

La cromatografía se realiza sobre una capa de Silicagel G; como sistema revelador se emplea una mezcla al 98:1,5:0,5 de cloroformo, etanol y acetona y el cromatograma se rocía con 1 g de p-dimetilaminobenzaldehído + 50 ml de ácido clorhídrico al 36% + 50 ml de etanol y, después de calentar a 50°C, el valor R_f del indomethacin es de 0,92 y el valor R_f del complejo indomethacin-ciclodextrina de relación molar 2:1 es sólo de 0,10. - - - - -

15.

Determinación de los valores pK_a

20.

Se disolvieron, en una mezcla al 1:1 de agua y etanol, a 25°C, 0,1 mol/litro de cloruro potásico y 10^{-3} mol/litro de indomethacin y un complejo de ciclodextrina e indomethacin de una relación molar al 1:1 y un complejo de ciclo-

dextrina e indomethacin de una relación molar de 2:1. Las di-
soluciones se titularon con hidróxido sódico utilizando un
electrodo de vidrio y se determinaron los valores de pK. El
pK de indomethacin es igual a 5,39 y el pK del complejo mo-
5. lar 1:1 es igual a 5,43 (substancialmente igual que el pK
del indomethacin), siendo sin embargo el pK del complejo 2:1
de 5,54. - - - - -

Este resultado demuestra indirectamente que en el
complejo de relación molar 1:1 el anillo de ciclodextrina
10. puede hallarse relativamente en mayor cantidad que el grupo
carboxi, es decir en el grupo p-clorofenilo, mientras que en
el complejo de relación molar 2:1 ambas partes de la molécula
de indomethacin están incorporadas en un complejo por lo
que el valor de pK_a aumenta, es decir que se reduce el carác-
15. ter ácido. - - - - -

La actividad del complejo de ciclodextrina e indo-
methacin de una relación molar 2:1 y la ausencia de la acti-
vidad inhibidora de úlceras del complejo de relación molar
1:1 se demuestra por medio de los siguientes ensayos biológi-
20. cos. - - - - -

El complejo al 1:1 se preparó como se ha descrito
en el Ejemplo 1 pero se hizo reaccionar 1 mol de ciclodextri-
na con 1 mol de indomethacin. La toxicidad subaguda del pro-
ducto obtenido se ensayó de la misma forma que la toxicidad
25. del complejo al 2:1. Los resultados de ensayo se describen a

continuación. - - - - -

Ensayo de resorción

- Se dividieron 72 ratas ayunadas en 3 grupos. Se administraron 5 mg de indomethacin al primer grupo y complejo de ciclodextrina que contenía 5 mg de indomethacin al segundo grupo y el tercer grupo (control) recibió sólo agua. Después de cierto tiempo se decapitaron 3-3 animales y se sangraron hasta morir. El suero se separó de la sangre y se determinó el contenido de indomethacin por cromatografía de gases descrita en W.G. Perry: J. Chromatogr., 89, 110 (1974); Helleberg E.: J. Chromatogr., 117, 167 (1976). - - - - -
- 5.
 - 10.

- Los resultados se ilustran en la Figura 2 en los que el nivel de sangre (ordenadas) de las ratas, provocado por el indomethacin o por ciclodextrina-indomethacin de una relación molar 2:1 (siendo en ambos casos la cantidad de indomethacin de 5 mg) se puntea contra el tiempo (abscisas) pasado después de la administración. Como puede verse en la Figura el indomethacin administrado en forma de complejo asegura un nivel sanguíneo superior que el indomethacin libre durante todo el tiempo. - - - - -
- 15.
 - 20.

CD + IND = complejo preparado según el Ejemplo 1. - - - - -

IND = Indomethacin. - - - - -

Ensayo de la actividad protectora del embarazo del indomethacin y del complejo de indomethacin-beta-ciclodextrina en ra-

tas ovariectomizadas

Compuesto de ensayo: Complejo de beta-ciclodextrina:indomethacin a una relación molar de 2:1. - -

Substancia de referencia: indomethacin - - - - -

5. Animales de ensayo: ratas hembra de un peso medio de 308 g, derivadas de la cepa 18 CFY - - - - -

Tratamiento

10. El diecisieteavo día del embarazo se eliminó el ovario de los animales y los animales se colocaron individualmente en jaulas. Se dió a 6 de los animales, per os, 1,25 mg/kg de peso corporal de indomethacin suspendido en agua al dieciochoavo día del embarazo y se dio a 6 de los animales, per os, un complejo que contenía la misma cantidad de indomethacin, suspendido también en agua. - - - - -

15. Se utilizaron 6 animales como control. - - - - -

20. Por la mañana de los días diecinueveavo y veintea-vo del embarazo se repitió el tratamiento. Así, los animales recibieron en total 6,25 mg/kg de peso corporal de indomethacin y de un complejo que contenía una cantidad correspondiente de indomethacin. - - - - -

Resultados:

Los animales se disectaron por la mañana del veintinueve día después del embarazo. Se determinó el número de abortos a partir del número de implantaciones del útero y

- 5. del número de los fetos que quedaron en el útero. Los animales de control, con una media de 16,1% de todos sus fetos, se dejaron vivos. Dos de los seis animales tenían una cantidad de aborto del 100%. En los animales tratados con indometacin se dejaron vivos el 58,8% de todos los fetos y en los
- 10. animales tratados con el complejo se dejaron vivos el 66,7% de todos los fetos. En comparación con el control tanto el tratamiento con indomethacin como con el complejo aumentaron significativamente el porcentaje de la retención de los fetos pero cuando se comparó el indomethacin con el complejo
- 15. no se observó una diferencia considerable en su actividad. -

Ensayos farmacológicos

Ensayo farmacológico de la actividad antiinflamatoria

Compuesto de ensayo: complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin de una relación molar = 2,1. - - -

- 20. Compuesto de referencia: indomethacin. - - - - -

Animales utilizados: La actividad antiinflamatoria se ensayó en ratas hembra derivadas de la cepa CFY, utilizándose 10-10 animales para cada sustancia y cada dosis. - - - - -

Al principio de la serie de ensayos se utilizaron

animales de 4-5 semanas de un peso medio de 90-110 g. Se utilizó también un grupo de control de 10 animales en la serie del ensayo. - - - - -

Tratamiento: La actividad antiinflamatoria se investigó en

5. un ensayo agudo. Los animales recibieron el compuesto de ensayo y el indomethacin de referencia per os en forma de una suspensión preparada con 1% de metilcelulosa a través de una sonda esofágica. - - - - -

10. Una dosis de 0,1 ml/animal de una disolución al 0,5% de carrageno inductor de inflamación se administró subplantariamente tanto a los animales tratados como a los no tratados. - - - - -

Dosis:

15. Se administró complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin a dosis de: 8,06-16,12-24,18-32,24 y 40,3 mg/kg e indomethacin a dosis de 1-2-3-4- y 5 mg/kg. El complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin contenía 12,4%. Un mg de indomethacin es equivalente a 8,06 mg de complejo y las anteriores dosis se administraron para una mejor comparación. El
20. grupo de control recibió 1% de metilcelulosa per os. - - - - -

Investigación:

Se determinó la actividad antiinflamatoria en ratas ayunadas durante 16 horas. - - - - -

Tratamiento:

Las sustancias antiinflamatorias se administraron per os a los animales de ensayo, dándose el carrageneno inductor de inflamación subplantariamente y se administró a cada animal 1 ml de agua de grifo templada per os. Después de 3 horas del tratamiento los animales se sacrificaron y se midió el peso de las patas separadas de los animales no tratados y de los tratados con carrageneno. La separación se realizó por encima del metacarpo. - - - - -

10. Evaluación

Se calculó en el mismo animal la diferencia de pesos de las patas no tratadas y de las tratadas. El aumento de peso del grupo de control se consideró como 100% y los resultados del grupo tratado se compararon con los resultados de los animales de control. - - - - -

Se calculó en porcentajes la actividad antiinflamatoria en el caso de los animales tratados con dosis diferentes de complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin y de indomethacin. Los resultados obtenidos se ilustran en la Figura 3, cuyas ordenadas representan porcentaje de agente antiinflamatorio y cuyas abscisas representan dosis. - - - - -

Según los resultados de ensayo de los inventores sobre la actividad del beta-ciclodextrina-indomethacin y del

indomethacin en comparación con la inflamación aguda, no existe diferencia significativa entre las actividades anti-inflamatorias de las dos moléculas. - - - - -

5. La actividad antiinflamatoria aumentó en proporción al grado de aumento de la dosis y la actividad se desplaza hacia el complejo. Así, el indomethacin es mejor absorbido respecto al complejo que si el complejo no se da en forma de complejo. - - - - -

10. Investigación de la velocidad a la que actúa el compuesto y duración de la actividad

El compuesto de ensayo, la substancia de referencia, los animales, el tratamiento, las dosis y la investigación son todos como se ha descrito anteriormente. Las diferencias pueden hallarse a continuación: - - - - -

15. En esta serie se realizaron las siguientes investigaciones: - - - - -

1. Administración simultánea del agente antiinflamatorio con carrageneno, evaluación en momentos diferentes (3, 6, 24 y 28 horas después del tratamiento). - - - - -

20. 2. Se dio carrageneno 1, 2 y 3 horas después de la administración del agente antiinflamatorio y los resultados se evaluaron después de 3 horas. Los animales se sacrificaron con éter y se pesaron las patas separadas no tratadas y las patas separadas tratadas con carrageneno. Las

patas se separaron por encima del metacarpo. - - - - -

Evaluación

5. Se calculó la diferencia de peso de las patas no tratadas y de las tratadas del mismo animal. El aumento de peso del grupo de control se consideró como inflamación del 100% y los resultados de los grupos tratados se compararon con este control. La actividad antiinflamatoria se calculó en porcentajes y los resultados se puntuaron en las Figuras 4 y 5 (ordenadas = actividad, abscisas = tiempo). - - - - -

10. 1. Cuando se ensayó el agente antiinflamatorio jun to con carrageneno los resultados demostraron que la activi- dad antiinflamatoria podía observarse y valorarse aún 3 y 6 horas después de la administración de carrageneno pero que después de 24 y 48 horas la actividad de carrageneno disminu-
15. ye en tal grado que los resultados no pueden evaluarse de forma realista. Según los resultados de ensayo de los inven- tores el complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin disminu- yó la inflamación más eficazmente que el indomethacin y su actividad casi no disminuyó 6 horas después del tratamiento,
20. mientras que en el caso del indomethacin la inflamación au- menta después de 6 horas en vez de disminuir (Figura 5). - -

2. Después de 1, 2 y 3 horas de haber procedido a la administración del agente antiinflamatorio carrageneno y 3 horas después de la evaluación se observa que la actividad

antiinflamatoria del complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin es más alta que la del indomethacin y que la pendiente de las líneas (Figura 4) demuestra que el indomethacin en cerrado en un complejo actúa más rápidamente como agente antiinflamatorio que el indomethacin. - - - - -

5.

Puede resumirse que el complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin actúa más rápidamente y durante más tiempo que el indomethacin. - - - - -

10. Ensayo de toxicidad subaguda del complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin en ratas (ensayo de ulceración)

El compuesto de ensayo es complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin como el preparado según el Ejemplo 1 y el indomethacin es una sustancia de referencia. - - - - -

Animales:

15. Se realizó ensayo de toxicidad subaguda en animales macho y hembra derivados de la cepa CFY y se trataron 10-10 animales para cada sustancia y para ratas macho y hembra para cada una. - - - - -

20. Al principio de la investigación los animales tenían 7 semanas y pesaban 150-170 g. Los animales se mantuvieron a temperatura constante (22-24°C) y bajo humedad relativa constante (45-50%). Durante el tratamiento los animales se sometieron a una dieta normalizada y bebieron agua ad libitum.

Tratamiento:

Se ensayó la toxicidad subaguda durante 4 horas.

Los animales se trataron diariamente en el mismo momento del día, por la mañana. El compuesto de ensayo y la substancia

5. de referencia se administraron en forma de una suspensión preparada con metilcelulosa al 1% a través de una sonda esofágica. Los animales del grupo de control recibieron metilcelulosa al 1% per os. El aumento de peso de los animales y su estado clínico se registraron durante el tratamiento cada
10. semana. - - - - -

Dosis:

1. Control: suspensión de metilcelulosa al 1% 0,2 ml/100 g per os; - - - - -
15. 2. Suspensión de 40,3 mg/kg de beta-ciclodextrina-indometacin p.o.; - - - - -
3. Suspensión de 5,0 mg/kg de indometacin per os. - - - - -

Investigación: los animales se trataron durante 28 días. - -

1. Se observó erosión en el 10% de los animales macho del grupo tratado con metilcelulosa al 1%. - - - - -
20. 2. El 30% de los animales macho tratados con 40,3 mg/kg del complejo murieron como máximo el séptimo día y el 30% de

los animales hembra murieron como máximo el veinticincoavo día. - - - - -

3. El 80% de los animales macho tratados con 5 mg/kg de indomethacin murieron como máximo el catorceavo día y el 60% de los animales hembra murieron como máximo el veintiunoavo día. - - - - -
- 5.

El número de las úlceras y de las erosiones con relación a los animales tratados en los grupos individuales se halla en la siguiente tabla. - - - - -

	úlcera		erosión	
	machos	hembras	machos	hembras
control	0/10	0/10	1/10	0/10
40,3 mg/kg CD-Ind	2/10	1/10	4/10	4/10
5,0 mg/kg Ind.	7/10	6/10	9/10	7/10

10. El tamaño de la úlcera no excedió del tamaño de una cabeza de aguja. - - - - -

Aumento del peso corporal

- Los pesos corporales registrados cada semana se resumen en la siguiente tabla. Los resultados demuestran que el aumento de peso corporal de los animales macho y hembra tratados con el compuesto de ensayo y el compuesto de referencia no difiere significativamente del control. Los valores de peso corporal de los animales hembra y macho tratados con 5 mg/kg de indomethacin dan una cifra real sólo hasta la
- 15.
20. tercera semana del tratamiento debido al gran porcentaje de

muertes. - - - - -

	Aumento medio del peso corporal (g)				
	0	1	2	3	4 (semana)
<u>Machos</u>					
control	152,5	196,5	240,5	276,5	300,5
40,3 mg/kg CD-Ind	161,0	206,2	253,8	303,6	339,3
5,0 mg/kg Ind	164,5	210,7	212,5	287,5	320,0
<u>Hembras</u>					
control	154,5	183,0	209,0	222,0	241,0
40,3 mg/kg CD-Ind	164,5	190,5	212,0	212,0	228,5
5,0 mg/kg Ind	161,5	182,0	177,5	206,5	221,2

El siguiente ensayo demuestra que la formación de un complejo de una relación molar = 1:1 no disminuye los efectos secundarios perjudiciales del indomethacin

5. 16 mg del complejo de una relación molar 1:1 preparado como se ha descrito anteriormente equivalen a 5 mg de indomethacin. Como compuesto de referencia se utiliza indomethacin puro. - - - - -

10. Animales: Se realizó un ensayo de toxicidad subaguda en animales macho y hembra derivados de la cepa Long-Evans; se trataron 10-10 animales para cada compuesto de ensayo y tanto para animales hembra como macho. Al principio del ensayo los

animales tenían 7 semanas y eran de un peso corporal medio de 140-160 g. Los animales se mantuvieron a temperatura constante (22-24°C) y bajo humedad relativa constante (45-50%).

5. Durante el tratamiento los animales se sometieron a una dieta normal y bebieron agua ad libitum. - - - - -

Tratamiento: El ensayo de toxicidad subaguda corresponde a un período de tratamiento de 4 semanas. Los animales se tratan diariamente en el mismo momento de la mañana. El complejo de una relación molar 1:1 y la sustancia de referencia

10. se administraron en forma de una suspensión en metilcelulosa al 1% a través de una sonda esofágica. Los animales del grupo de control recibieron metilcelulosa al 1% per os. El aumento de peso y el estado clínico de los animales se registraron cada semana durante el tratamiento. - - - - -

15. Dosis:

1. Control: 1% metilcelulosa, 0,2 ml/100 g per os - - - - -

2. Suspensión de complejo al 1:1 16 mg/kg per os - - - - -

3. Suspensión de indomethacin 5 mg/kg per os. - - - - -

1 mg de indomethacin equivale a 3,2 mg de complejo

20. al 1:1. - - - - -

Investigación:

Los animales se trataron durante 28 días. El día

veintinueveavo los animales sobrevivientes se sacrificaron con éter y se prepararon el estómago y el duodeno. También se prepararon el estómago y el duodeno de los animales que habían perecido durante el tratamiento. - - - - -

5. En cada caso se examinaron macroscópicamente la membrana mucosa del estómago, la bilis y los intestinos y se determinó el número de eventuales úlceras y erosiones. - - -

Resultados de ensayo:

10. La muerte de los animales tratados y el número de úlceras hallado en cada grupo respecto al número de los animales tratados en cada grupo se dan en las siguientes tablas. - - - - -

Letalidad

	día 7 ^o		día 14 ^o		día 21 ^o		día 28 ^o	
	machos	hembras	machos	hembras	machos	hembras	machos	hembras
control	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
complejo al 1:1 16 mg/kg	5/10	1/10	7/10	2/10	7/10	3/10	9/10	9/10
indomethacin 5 mg/kg	4/10	1/10	4/10	2/10	5/10	3/10	6/10	6/10

Úlceras y erosiones

Grupo	Erosión		Úlcera	
	machos	hembras	machos	hembras
Control	3/10	2/10	0/10	0/10
Complejo al 1:1 16 mg/kg	10/10	10/10	9/10	9/10
Indomethacin 5 mg/kg	10/10	10/10	8/10	7/10

El tamaño de las úlceras no excedió del tamaño de una cabeza de aguja. - - - - -

Aumento del peso corporal: Se registró cada semana pero debido a la gran letalidad de los animales macho y hembra tratados con 16 mg/kg de complejo al 1:1 y 5 mg/kg de indomethacin la evaluación no es realista. - - - - -

Síntomas clínicos:

A partir del tercer día del tratamiento se observaron síntomas de bradinosia y de depresión en animales tratados con 5 mg/kg de indomethacin y 16 mg/kg de complejo al 1:1. Estos síntomas se observaron hasta la muerte de los animales o hasta el veintiochoavo día del tratamiento respectivamente. - - - - -

Resumen:

15. En el 90% de los animales macho y hembra tratados con 16 mg/kg de complejo de beta-CD-indomethacin (complejo

al 1:1) los inventores hallaron úlceras. - - - - -

En el 80% de los animales macho tratados con 5 mg/kg de indomethacin y en el 70% de los animales hembra los inventores hallaron úlceras. - - - - -

5. Según los resultados de ensayo de los inventores el efecto secundario perjudicial del indomethacin aumentó en el caso del complejo al 1:1. El deseado efecto de inhibición de úlceras es presentado sólo por el complejo 2:1. - - - - -

Ejemplo 2

10. Una suspensión al 30% de almidón se enfrió a 80°C después de gelación a 120°C y se añadió 0,2% en peso de alfa-amilasa y la mezcla se prehidrolizó parcialmente durante 20 minutos. El hidrolizado se esterilizó y se añadieron, bajo refrigeración a 50°C, 5 unidades/g de composición enzimática de ciclodextrina-trans-glucosilasa de almidón, después de lo cual se añadió 5% en volumen de tolueno, al cabo de 4 horas. La conversión se prosiguió durante 2-7 días y se logró así el rendimiento óptimo de ciclodextrina. El producto de conversión se diluyó con agua hasta un volumen del doble, se hirvió a fin de desactivar la enzima y se añadió a 70°C
15. 50% en volumen de 96% de etanol. La suspensión así obtenida se enfrió a 40°C y se separó por filtración. La disolución en acetona de indomethacin se añadió al filtrado teniendo en cuenta que unos 70% de la substancia seca está formada por
- 20.

- ciclodextrina. El complejo de beta-ciclodextrina-indomethacin se cristaliza bajo agitación y lenta refrigeración durante 6 horas y después de almacenar durante 24 horas a 0°C. El complejo es substancialmente idéntico al complejo descrito en el Ejemplo 1. La diferencia es que contiene 5-10% de sustancias diferentes de beta-ciclodextrina con respecto a la sustancia seca, parcialmente alfa-dextrina y parcialmente dextrinas lineales. Estos componentes no perturbam la capacidad de empleo del producto por lo que no es necesaria ulterior purificación; sólo debe eliminarse el eventual indomethacin no incorporado en el complejo por medio del lavado con un disolvente orgánico como se ha descrito en el Ejemplo 1. El producto final contiene también en este caso 14% de indomethacin. - - - - -

15. Ejemplo 3

Se preparan cápsulas de la siguiente composición:

	Complejo de inclusión según el Ejemplo 1	166 mg
	ácido silícico coloidal	9 mg
	talco	5 mg
20.	estearato magnésico	15 mg
	almidón de patata	20 mg
	azúcar de leche	20 mg
	celulosa cristalina	40 mg
	peso total	275 mg

Las cápsulas se preparan por tecnología de granulación en seco, conocida en sí. - - - - -

Ejemplo 4

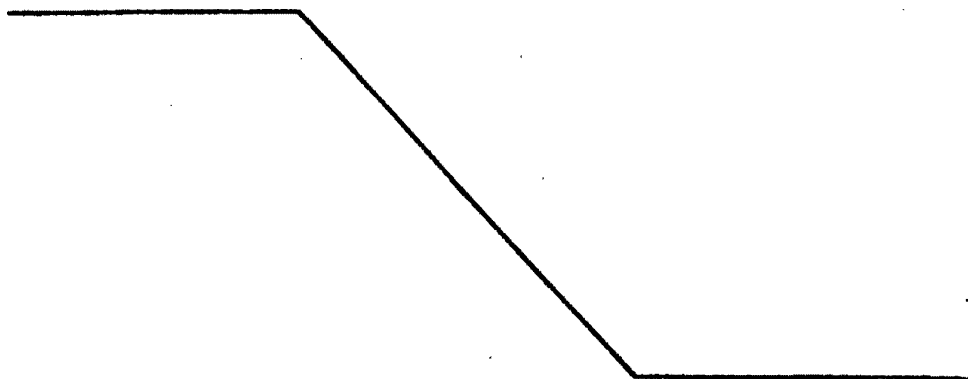
Se preparan tabletas de la siguiente composición:

5.	complejo de inclusión según el Ejemplo 1	330 mg
	amilopectina	10 mg
	celulosa cristalina	60 mg
	ácido esteárico	12 mg
	talco	13 mg
10.	peso total	<hr/> 425 mg

Las tabletas se preparan por tecnología de granulación en seco, conocida en sí. - - - - -

A los efectos consiguientes se declaran de novedad y propiedad para España, sus territorios y plazas de soberanía, las reivindicaciones que siguen. - - - - -

15.



REIVINDICACIONES

5. 1.- Procedimiento para la preparación de complejos de inclusión de ciclodextrina, particularmente de complejos de inclusión de una relación molar de unos 2:1 formados por ácido 1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-il-acético (indomethacin) y ciclodextrina, caracterizado porque comprende hacer reaccionar unos 2 moles de alfa- o beta-ciclodextrina con aproximadamente 1 mol de ácido 1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-il-acético bajo calentamiento en presencia de un disolvente orgánico que disuelve el indomethacin y que no forma complejos estables con la ciclodextrina, y aislar el complejo formado. - - - - -

15. 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende realizar la reacción a una temperatura de 50 a 100°C, preferentemente 60 a 80°C. - - - - -

3.- Procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque comprende utilizar alcohol C₁₋₃, cetona o éter como disolvente orgánico inerte. - - - - -

20. 4.- Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque comprende utilizar metanol, etanol, cetona, éter de dietilo o tetrahidrofurano como disolvente orgánico inerte. - - - - -

5.- Procedimiento según cualquiera de las reivindi

caciones 1 a 4, caracterizado porque comprende hacer reaccionar la disolución acuosa de ciclodextrina con la disolución de indomethacin en un disolvente orgánico. - - - - -

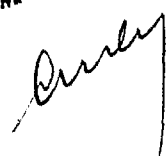
5. 6.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende añadir enzima ciclodextrinasa y una disolución de indomethacin en un disolvente orgánico a una disolución acuosa del almidón prehidrolizado. - - - - -

10. 7.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque comprende separar el complejo de ciclodextrina-indomethacin formado de una relación molar de 2:1 por enfriamiento de la mezcla de reacción.

8.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE COMPLEJOS DE INCLUSION DE CICLODEXTRINA". - - - - -

15. Todo ello conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de treinta y dos hojas, foliadas y mecanografiadas por una sola de sus caras, y de tres láminas de dibujos que la ilustra.

MADRID 26 ENE. 1979
A.A. M. CURELL SUROL



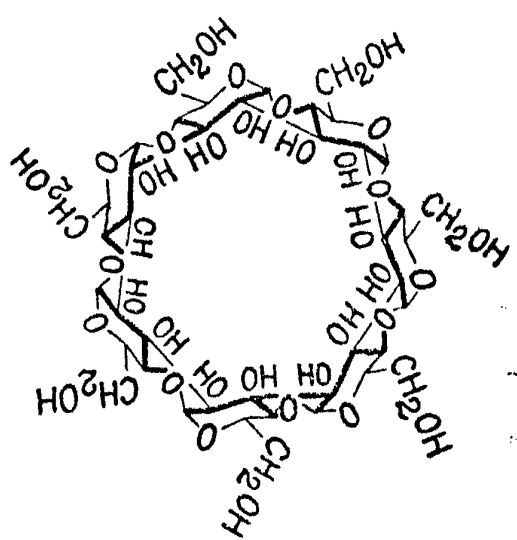
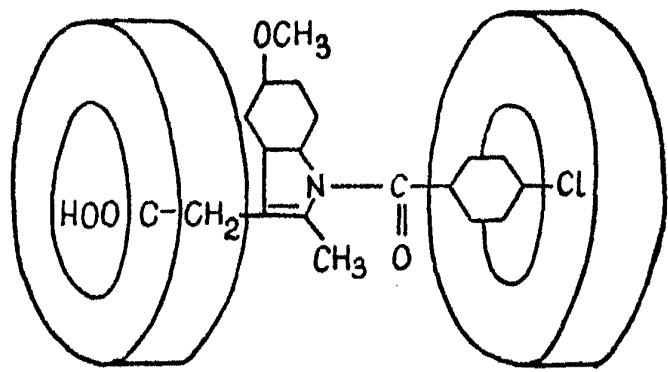


Fig. 1

MADRID 25 ENE. 1979

P. A. M. CURELL SUÑOL

Curell

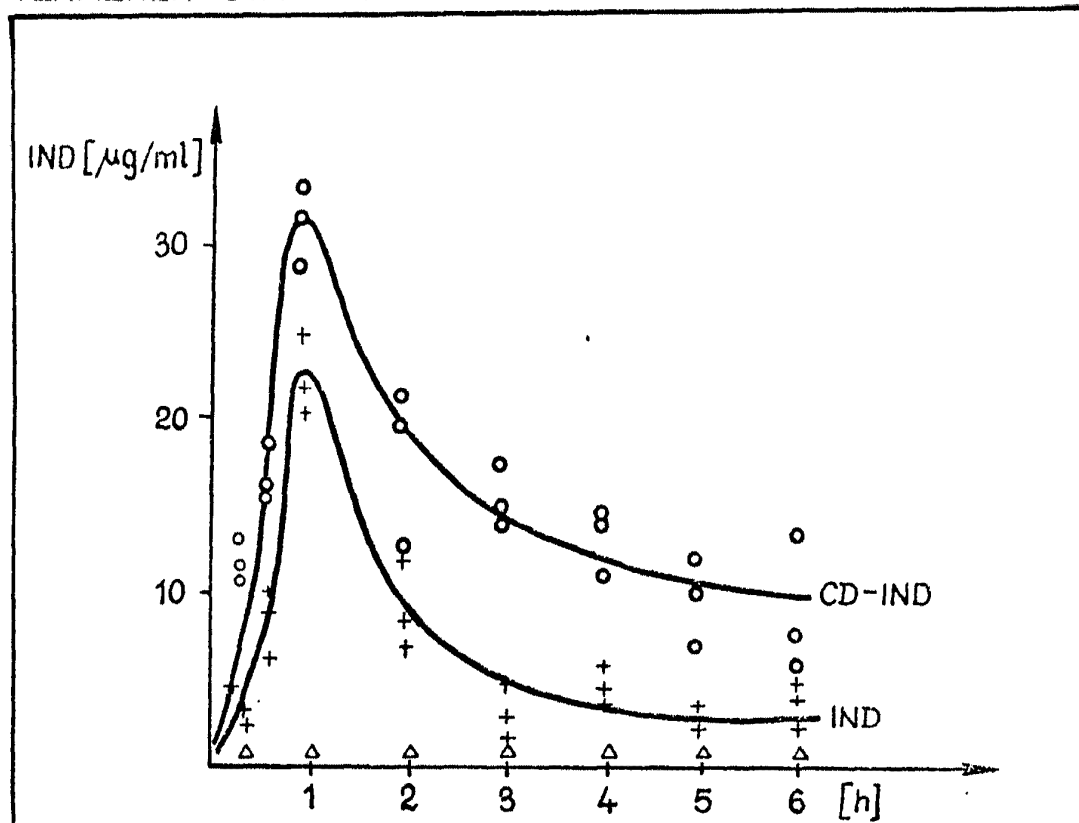


Fig. 2

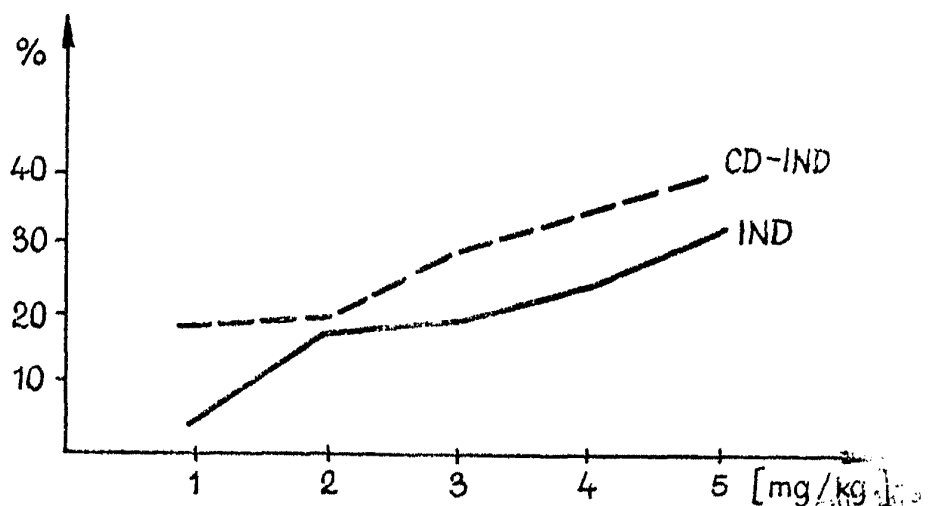


Fig. 3

MADRID 2
P.A. M. CURELL SUÑER

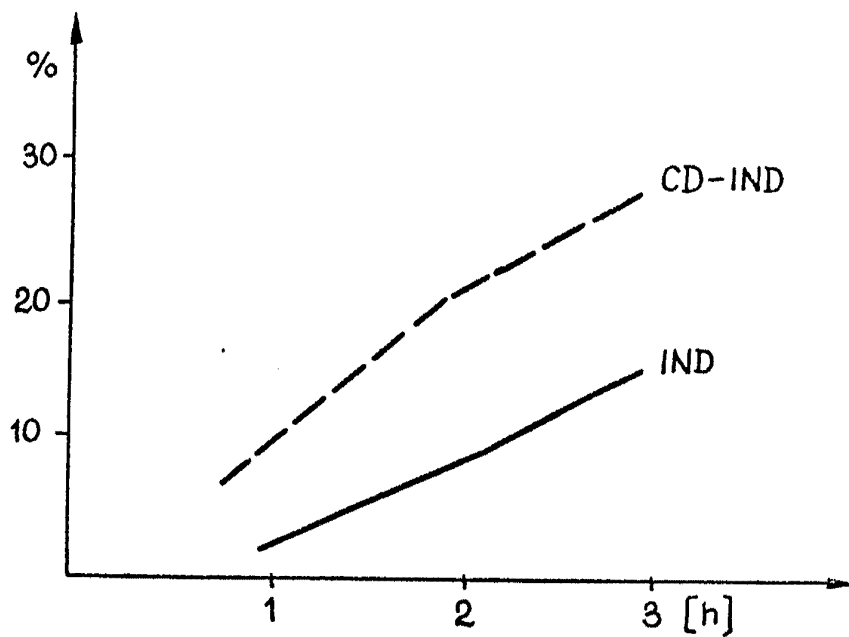


Fig. 4

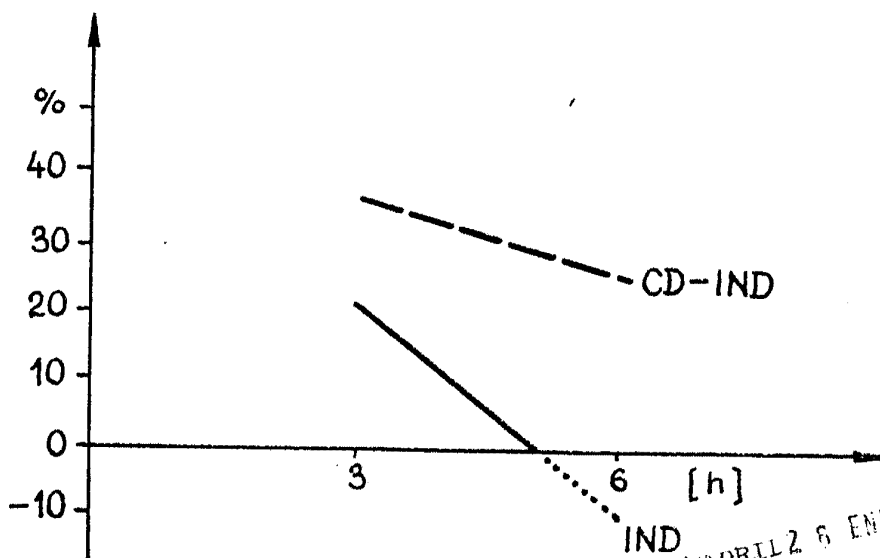


Fig. 5

MADRID 26. ENO. 1979
A.A. M. CURELL SURCO
Curell