

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 389**

51 Int. Cl.:

A61K 9/72 (2006.01)

A61K 38/28 (2006.01)

A61K 31/137 (2006.01)

A61K 31/573 (2006.01)

A61K 47/08 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07824878 .8**

96 Fecha de presentación: **31.10.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2089008**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.08.2009**

54 Título: **FORMULACIONES PARA ADMINISTRACIÓN POR INHALADORES PRESURIZADOS DE DOSIS PRECISAS QUE COMPRENEN UN ACEITE ESENCIAL COMO ESTABILIZADOR DE LA SUSPENSIÓN.**

30 Prioridad:
31.10.2006 GB 0621707

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.02.2012

73 Titular/es:
**SCHOOL OF PHARMACY, UNIVERSITY OF LONDON
29-39 BRUNSWICK SQUARE
LONDON WC1N 1AX, GB**

72 Inventor/es:
**KELLAWAY, Ian Walter;
TAYLOR, Kevin y
NYAMBURA, Bildad Kimani**

74 Agente: **de Elizaburu Márquez, Alberto**

ES 2 373 389 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Formulaciones para administración por inhaladores presurizados de dosis precisas que comprenden un aceite esencial como estabilizador de la suspensión.

5 La presente invención se refiere a composiciones que son adecuadas para administrar a seres humanos o animales por inhaladores presurizados de dosis precisas. Las composiciones incluyen un propulsor en el cual está en suspensión un agente activo que incluye además un estabilizador de suspensión.

10 Los inhaladores presurizados de dosis precisas (abreviadamente PMDI por la expresión inglesa *Pressurized metered dosis inhalers*) permiten la administración de una dosis predeterminada de una composición a partir de dispositivo similar a un aerosol. En el interior del recipiente presurizado está un propulsor, bajo presión en forma de un líquido. El propulsor pone en suspensión el agente activo durante la administración desde el dispositivo, y lo evapora en cierta extensión antes de que el agente activo llegue a la garganta. El agente activo es generalmente insoluble en el líquido propulsor y como tal está en forma de partículas en suspensión en el líquido.

15 Para que una dosis expulsada del PMDI contenga una dosis apropiada del ingrediente activo, es crucial para el agente activo que esté establemente suspendido en el líquido. Se ha sugerido que las partículas pueden estar revestidas con tensioactivo de modo que estabilicen la suspensión. Sin embargo muchos de los tensioactivos tradicional y farmacéuticamente aceptables que se usan actualmente son insolubles en los líquidos usados como propulsores en los PMDI. Ha sido necesario usar un co-disolvente que es miscible con el propulsor y disuelve el tensioactivo. Sería deseable evitar la necesidad de co-disolventes y evitar la presencia de dichos tensioactivos.

20 El documento WO-A-9640089 describe una composición farmacéutica para administración de aerosol que comprende un medicamento, un propulsor de alcano halogenado y un aceite vegetal insaturado de C16+ biocompatible en un método para preparar dichas composiciones. Se impide la aglomeración no deseada del medicamento sin el uso de tensioactivos, coloides protectores o co-disolventes por la incorporación del aceite vegetal.

25 El documento EP-A-1166774 describe el uso de un aceite aromatizante en una formulación farmacéutica de aerosol. El aceite aromatizante, así como los sabores desagradables enmascarantes de las composiciones sublinguales, actúa como lubricante de la válvula del dispositivo dispersante usado para administrar dicha formulación. Preferiblemente el aceite aromatizante es un aceite volátil y también actúa como potenciador de la penetración. Un ejemplo es el aceite de hierbabuena que se usa junto con etanol, el vehículo de un agente activo especificado.

30 El documento EP-A-0372777 describe una composición farmacéutica para administración de aerosol por ejemplo, por inhalación, que comprende un medicamento, 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134a), un agente tensioactivo y al menos un compuesto que tiene una polaridad superior a la del 1,1,1,2-tetrafluoroetano, tal como un alcohol, un hidrocarburo u otro propulsor. Los ejemplos usan etanol y n-pentano como el aditivo y los ejemplos de trabajo incluyen también tensioactivo.

35 EP-A-1219293 describe una composición farmacéutica para administración de aerosol que comprende un medicamento, un hidrofluoroalcano, un co-disolvente y un componente de baja volatilidad. El componente de baja volatilidad aumenta el diámetro aerodinámico medio y mediano, de las partículas de aerosol por activación del inhalador. El co-disolvente es generalmente etanol o un glicol. El componente de baja volatilidad puede ser un aceite vegetal, un ácido graso, un polietilenglicol o glicerol.

40 El documento US5502076 describe el uso de acetato de vitamina E, triésteres enlazados al C3, glicerina, t-butanol, y glicoles de aceite/polietileno transesterificados como agentes dispersantes eficaces para uso con hidrofluoroalcanos, para uso en inhaladores de dosis precisas.

45 El documento US-A-6123924 describe una composición para inhalación en aerosol presurizada que comprende un hidrofluoroalcano licuado, un medicamento en polvo dispersable para formar una suspensión en el hidrofluoroalcano y polivinilpirrolidona como estabilizador. Las composiciones comprenden adicionalmente lubricantes politetoxilados para la válvula y excipientes aromatizantes, tales como aceite de menta y mentol y generalmente también etanol y/o propanol que aumentan la solubilidad del polímero.

El documento WO-A-9111173 describe una composición para aerosol presurizada que comprende un propulsor hidrofluorocarbonado que sustancialmente no contiene disolvente hidrofluorocarbonado, teniendo dispersado en ella un medicamento y un tensioactivo fluorado.

50 El documento WO-A-9104011 describe un aerosol para dispensación de polvo que comprende un medicamento revestido con un agente dispersante tensioactivo no perfluorado puesto en suspensión en un propulsor de aerosol en el cual es sustancialmente insoluble el agente dispersante tensioactivo no perfluorado. El agente dispersante puede ser un aceite vegetal, tal como aceite de maíz, de oliva, de semilla de algodón o de semilla de girasol.

Los propulsores farmacéuticamente aceptables usados en PMDI son los hidrofluoroalcanos 227 y 134a.

Muchos aceites esenciales son útiles como excipientes farmacéuticamente aceptables para una gama de composiciones farmacéuticas. Los aceites esenciales por si mismos pueden tener propiedades terapéuticas útiles. Los aceites esenciales pueden tener utilidad en composiciones que son inhaladas ya sea a través de la nariz o ya sea a través de la boca. Sin embargo, que sepan los inventores no ha sido descrito el uso de aceites esenciales como un estabilizador de suspensión para un fármaco en un inhalador presurizado de dosis precisas.

De acuerdo con un aspecto de la invención se proporciona un nuevo inhalador de dosis precisas que contiene una composición que comprende un propulsor líquido de hidrofluoroalcano farmacéuticamente aceptable, un fármaco que ha de ser administrado a los pulmones, el cual es insoluble en el propulsor y que está en forma de partículas suspendida en el propulsor y una cantidad eficaz como agente de suspensión del fármaco de un aceite esencial farmacéuticamente aceptable que es miscible con el propulsor.

En otro aspecto de la invención se proporciona un nuevo uso de un aceite esencial farmacéuticamente aceptable para estabilizar en un PMDI una suspensión de un fármaco en partículas en un líquido farmacéuticamente aceptable en el cual el fármaco es insoluble y en el cual es miscible el aceite esencial.

En otro aspecto de la invención se proporciona un nuevo uso de una combinación de un líquido de hidrofluoroalcano farmacéuticamente aceptable, un fármaco y un aceite esencial farmacéuticamente aceptable en la fabricación de una composición para administración a los pulmones de un sujeto animal vía inhalación, en donde el fármaco está en forma de partículas en la composición, las partículas del fármaco están suspendidas en el líquido de hidrofluoroalcano, el aceite esencial es miscible con el hidrofluoroalcano y la suspensión está estabilizada por el aceite esencial.

El líquido de hidrofluoroalcano de la composición se selecciona preferiblemente de hidrofluoroalcano 227 y 134a.

El aceite esencial no tóxico usado en la composición de la invención se puede definir generalmente como un líquido que es sustancialmente inmisible con el agua a temperatura ambiente, y es un líquido a temperatura ambiente. Los aceites esenciales son aceites volátiles constituidos principalmente de hidrocarburos mono- y sesquiterpénicos y sus derivados oxigenados. Son productos de destilación, extracción por exprimido o con disolvente de plantas, incluyendo flores, hojas, madera e hierbas, o pueden ser producidos sintéticamente. Dichos aceites esenciales cumplen con la Monografía Europea para Aceites Esenciales. El aceite puede estar constituido por un solo compuesto o ser una mezcla de compuestos. La expresión "aceites esenciales" se destina a incluir los siguientes ejemplos, aunque la invención no está limitada a estos ejemplos: aceites esenciales de baya de pimiento de Jamaica, esencia de ámbar, semilla de anís, árnica, bálsamo del Perú, albahaca, laurel, hoja de laurel, bergamota, palo de rosa (*rosewood*), cayeputi, caléndula (*marigold pot*), alcanfor blanco, carvi, cardamono, semilla de zanahoria, madera de cedro, apio, manzanilla, canela, cidronela o toronjil, salvia, brote de clavo, cilandro, comino, ciprés, eucalipto, hinojo, aguja de abeto siberiano, incienso (aceite de olíbano), ajo, geranio rosa, jengibre, pomelo, hisopo, jazmín, jojoba, baya de enebro, lavanda, limón, limoncillo, lima, mejorana, mentol, artemisa, flor de gordolobo, goma de mirra, neroli bigarade, nuez moscada, naranja amarga, naranja dulce, orégano, palma rosa, pachulí, poleo, pimienta negra, hierbabuena, *petite grain*, aguja de pino, raíz de fitolaca, rosa absoluta, semilla de escaramujo, romero, salvia, salvia de Dalmacia, sándalo, sasafrás, menta verde, nardo, naranja clementina, árbol del té, tuya (hoja de cedro), tomillo, extracto de vainilla, vetiver, gaulteria, extracto de hamamelis (*hamamelia*) y extracto de cananga y los componentes aislados o sintetizados de los mismos, tales como 2,6-dimetil-2,4,6-octatrieno; 4-propenilanisol; ácido bencil-3-fenilpropenoico; 1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol; 2,2-dimetil-3-metilenbiciclo[2.2.1]heptano; 1,7,7-trimetil-biciclo[2.2.1]heptano; trans-8-metil-n-vanillil-6-nonenamida; 2,2,5-trimetilbiciclo[4.1.0]hept-5-eno; 5-isopropil-2-metil-fenol; p-menta-6,8-dien-2-ol; p-menta-6,8-dien-2-ona; beta-cariofileno; 3-fenilpropenaldehído; geranial y neral mezclados; 3,7-dimetil-6-octenal; 3,7-dimetil-6-octen-1-ol; 4-alilanisol; ácido etil-3-fenilpropenoico; 3-etoxi-4-hidroxi-benzaldehído; 1,8-cineol; 4-alil-2-metoxifenol; 3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol; 1,3,3-trimetilbi-ciclo[2.2.1]heptan-2-ol; 1,3,3-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ona; trans-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol; acetato de trans-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ilo; 3-metil-2-(2-pentenil)-2-ciclopenten-1-ona; p-menta-1,8-dieno; 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol; acetato de 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ilo; p-mentan-3-ol; p-mentan-3-ona; 2-aminobenzoato de metilo; acetato de 3-oxo-2-(2-pentenil)-ciclopentano-metilo; 2-hidroxi-benzoato de metilo; 7-metil-3-metilen-1,6-octadieno; cis-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol; 2,6,6-trimetilbiciclo[3.1.1]hept-2-eno; 6,6-dimetil-2-metilenbiciclo[3.1.1]heptano; p-ment-4-(8)-en-3-ona; p-ment-1-en-4-ol; p-menta-1,3-dieno; p-ment-1-en-8-ol; 2-isopropil-5-metilfenol; citral; cinamaldehído y cineol.

De estos aceites esenciales, son particularmente preferidos los que están etiquetados como "Generalmente considerados como seguros" (abreviadamente GRAS por la expresión inglesa *Generally Regarded As Safe*) para ciertos modos de aplicación.

Aunque el aceite usado en la invención debe ser sustancialmente inmisible con el agua, generalmente se encuentra que es útil para el aceite tener algunas propiedades anfífilas. El aceite puede comprender una porción sustancialmente hidrófoba y una porción relativamente hidrófila. La porción hidrófoba comprende generalmente uno

o más grupos alquilo de C_{24} , preferiblemente un solo grupo alquilo, más preferiblemente un grupo alquilo de C_{6-16} . Una porción relativamente hidrófila puede comprender, por ejemplo, un grupo cetónico o aldehídico. Los aceites que tienen cierto carácter anfífilo se cree que tienden a localizarse en la superficie de las partículas de compuesto farmacéuticamente activo y actúan estabilizando su suspensión en el hidrofluoroalcano.

- 5 En una realización preferida de la invención el aceite se selecciona de citral, mentol, aceite de eucalipto, cinamaldehído y cineol. Se pueden usar mezclas.

Los aceites esenciales actúan como agentes de puesta en suspensión. Su efecto es inhibir la aglomeración de las partículas del fármaco en la suspensión en HFA licuado. El efecto puede ser observado, por ejemplo, determinando el tamaño partículas en suspensión formadas en ausencia y en presencia del aceite esencial. Puede ser posible evitar la presencia de otros aditivos que podrían afectar a la suspensión, tales como líquidos como alcoholes, glicoles y ésteres o tensioactivos o co-propulsores.

Preferiblemente el nivel de otros líquidos es menor de 20% en volumen de la composición preferiblemente menos que 5% o menos de 1% en volumen.

15 En la composición preferida de la invención la relación en volumen de aceite esencial a hidrofluoroalcano está en el intervalo de 1 a 10.000 a 10.000 a 1, preferiblemente en el intervalo de 1 a 100 a 1 a 2. La cantidad de aceite esencial puede depender del tamaño de partículas y la concentración de sólidos de las partículas del agente activo, así como de la naturaleza del aceite, el HFA y el agente activo. Puede ser determinada por una persona experta en la técnica.

20 La invención tiene dos campos de actividad para dos clases diferentes de productos farmacéuticos activos. La invención es de utilidad para formular compuestos activos que son solubles en agua, es decir que tienen una solubilidad en agua de al menos 0,1 mg/ml a temperatura ambiente. Por ejemplo, es de un beneficio particular para compuestos que son sensibles a su ambiente y se formulan con agente protectores sólidos, por ejemplo, lioprotectores, tales como un azúcar. Los azúcares usados como lioprotectores se seleccionan generalmente de lactosa y trehalosa, pero se pueden usar también otros azúcares. Las partículas que están en suspensión en el líquido comprenden tanto agente protectores como agente activo. Las partículas por sí mismas pueden ser conformadas usando el proceso de liofilización (secado por congelación) de emulsiones de agua en aceite que contienen el agente farmacéutico activo y el agente protector en solución acuosa en la fase dispersada seguido por lavado. Alternativamente, pueden emplearse más tecnologías para producir partículas con las características deseadas (por ejemplo, molienda, precipitación, cristalización, polimerización, secado por pulverización, procesamiento de fluido supercrítico, difusión/evaporación de disolvente, etc).

25 En este aspecto de la invención un agente activo soluble en agua es, por ejemplo, un péptido o una proteína, por ejemplo una enzima o una hormona o un ácido nucleico, por ejemplo siRNA y DNA, tales como vectores de terapia génica y vacunas de genes. La invención se ha encontrado de particular utilidad para formular insulina. Es de particular utilidad para formular proteínas, en donde las partículas de agente activo comprenden un agente protector, y preferiblemente lactosa.

35 En este aspecto de la invención las partículas en suspensión en la composición tienen un tamaño de partícula medio en el intervalo de 0,01 a 20 μm preferiblemente en el intervalo de 0,2 a 10 μm . Las partículas que son demasiado grandes se depositan en la garganta en lugar de alcanzar los pulmones. Las partículas que son demasiado pequeñas pueden ser exhaladas.

40 El otro tipo de agente activo para el cual la invención tiene una utilidad particular es para formular compuestos relativamente insolubles en agua. Dichos compuestos se pueden definir como los que tienen una solubilidad en agua de menos de 0,1 mg/ml a temperatura ambiente. Dichos compuestos deben preferiblemente tener una solubilidad en el estabilizador de al menos 0,5 mg/ml a temperatura ambiente. Generalmente dichos compuestos tienen una solubilidad en el hidrofluoroalcano de menos de 0,1 mg/ml. Cuando el agente activo tiene una solubilidad superior a este máximo en el hidrofluoroalcano, generalmente no se necesita estabilizador adicional y por tanto la invención tiene poca utilidad.

50 Los agentes activos relativamente insolubles en agua se seleccionan frecuentemente de esteroides, corticosteroides, broncodilatadores, agonistas beta-2, antibióticos, anti-microbianos, antivirales, antagonistas muscarínicos, inhibidores de fosfodiesterasa y antihistamínicos. La invención es de utilidad para formular un agente activo seleccionado de, por ejemplo, salmeterol, terbutalina, cromolinas, beclometasona, budesónido, mometasona, ciclesónido, triamcinolona, fluticasona, rofleponida, salbutamol, formeterol, oxitropium, roflumilast y las sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de cualquiera de dichos fármacos.

55 La composición debe tener una concentración de agente activo seleccionada de acuerdo con su actividad terapéutica y con la dosis en volumen de la composición provechosamente administrada por el PMDI. Una dosis unitaria adecuada administrada vía un PMDI contiene 30 a 100 μl de composición líquida. Un contenido adecuado

de agente farmacéutico activo para dicha dosis está en el intervalo de 0,001 a 10 mg/100 µl, dependiendo de la actividad del agente farmacéutico, la edad y peso del paciente etc. Los expertos en la técnica serán capaces por lo general de seleccionar concentraciones adecuadas para la invención. La invención permite que sean creadas composiciones estables que tienen concentraciones de hasta 10 mg/100 µl de agente activo, permitiendo que sean administradas dosis cuidadosamente controladas. Por ejemplo, una dosis de composición administrada por activación de un PMDI contiene en el intervalo de 30 a 600 µg de agente farmacéutico activo por activación.

El aceite esencial se puede usar como el único agente de puesta en suspensión de la composición. Sus propiedades estabilizantes pueden permitir que sean omitidos de las composiciones otros componentes convencionales, tales como aceites fijos (aceites vegetales), alcoholes, glicoles, tensioactivos y polímeros. El aceite esencial frecuentemente impide la aglomeración de las partículas del fármaco en un grado suficiente para ser usado solo. Preferiblemente la composición está sustancialmente exenta de aceites fijos aunque pueden estar presentes pequeñas cantidades, por ejemplo, como diluyentes para el aceite esencial o como residuo de un agente activo tal como se suministra.

Preferiblemente el nivel de aceites fijos es menor que 5% en volumen, más preferiblemente menos que 1% en volumen.

Cuando se usa un polímero, tal como PVP, un agente de puesta en suspensión adicional está generalmente presente en una cantidad en el intervalo de 0,01 a 5% p/v, preferiblemente 0,1 a 2% p/v.

Se prefiere evitar la administración de alcoholes y glicoles de modo que las composiciones estén preferible y sustancialmente exentas de alcoholes inferiores y glicoles (C₂₋₆), conteniendo por ejemplo menos de 10% en volumen, preferiblemente menos de 5% en volumen, por ejemplo menos de 1% en volumen.

También es posible, por el uso de los aceites esenciales de la invención, evitar la inclusión de tensioactivos. Sin embargo, para algunos agentes activos, el uso de tensioactivos farmacéuticamente aceptables puede proporcionar un control adicional sobre el tamaño de partículas del fármaco. Por ejemplo, puede haber el tensioactivo usado en la composición en una cantidad de 0,01 a 5% p/v, preferiblemente menos de 1% p/v. Más preferiblemente, la composición está sustancialmente exenta de tensioactivo, es decir menos de 0,01% p/v de tensioactivo presente.

También se proporciona en la invención un método de producir el inhalador cargado en el cual el agente farmacéutico activo está dispersado en el estabilizador de suspensión para formar una dispersión del estabilizador, y la dispersión del estabilizador se mezcla con hidrofluoroalcano, usualmente en el dispositivo y bajo presión.

Cuando el método se usa para un agente farmacéutico activo que es soluble en el estabilizador de suspensión, el agente activo se disuelve en el estabilizador de suspensión para formar una solución y la solución se añade al hidrofluoroalcano. Por adición al no disolvente para el agente terapéutico activo (es decir, el hidrofluoroalcano) se forma el precipitado de fármaco. La presencia del estabilizador de suspensión mantiene las partículas del precipitado en suspensión.

Cuando el agente farmacéutico activo es insoluble en el estabilizador de suspensión, las partículas del tamaño deseado para el producto final se dispersan en el estabilizador líquido de suspensión, para formar una suspensión estable, y la suspensión se añade luego al hidrofluoroalcano para formar la composición estable final. En esta realización las partículas en suspensión pueden contener agente protectores que son generalmente azúcares, tales como lactosa y trehalosa, y otros excipientes apropiados, así como el agente activo.

La presente invención abarca también nuevas composiciones: a) una composición presurizada para inhalación que comprende un propulsor líquido de hidrofluoroalcano farmacéuticamente aceptable, insulina en forma de partículas en suspensión y cineol y b) una composición presurizada para inhalación que comprende un propulsor líquido hidrofluoroalcano farmacéuticamente aceptable, un esteroide o corticosteroide para administrar a los pulmones y citral.

La invención se ilustra por ejemplos de trabajo. Los resultados de algunos de los ejemplos se ilustran en las Figuras de los dibujos como sigue:

La Figura 1 muestra los resultados de la determinación del tamaño de partículas en los productos del Ejemplo 1.

La Figura 2 muestra el efecto de los resultados de la aerosolización por aumento de la concentración de aceite para los productos de la invención como se describe en el Ejemplo 1;

La Figura 3 muestra la variación de los resultados de la aerosolización por cambio de la concentración de agente activo en el proceso que se describe en el Ejemplo 1;

La Figuras 4 y 5 muestran el resultado del Ejemplo 2.

Ejemplos

Ejemplo 1

COMPOSICIONES BASADAS EN INSULINA CON CINEOL COMO ESTABILIZADOR

5 Se prepararon nanopartículas de insulina usando un método de molde de emulsión. 80 mg de insulina y 20 mg de lactosa se disolvieron en 1 ml de HCl 0,1 M. Se pesaron separadamente 2 g de lecitina (tensioactivo de fosfatidilcolina) y se disolvieron en 7 ml de cloroformo para formar la fase oleosa. La fase acuosa se añadió gota a gota a la fase oleosa mientras que se homogeneizaba a baja velocidad (10.000 rpm) seguido por homogenización a alta velocidad (24.000 rpm) durante 5 minutos. La emulsión formada se congeló de modo brusco inmediatamente usando nitrógeno líquido para inmovilizar la fase dispersa. Las emulsiones congeladas se transfirieron a un jarro de vidrio a prueba de vacío (Girovac Ltd., North Walsham, Norfolk, Reino Unido) y se conectaron a un liofilizador (Drywinner 110, Heto-Holten A/S, Gydevang, Dinamarca) ajustado a -110°C. La liofilización se realizó durante un mínimo de 12 horas para eliminar el agua de las gotitas acuosas microscópicas congeladas.

15 Después de la etapa de liofilización se obtuvieron las nanopartículas que contenían materia seca cubiertas con tensioactivo (lecitina). Estas se lavaron para eliminar la lecitina por las etapas siguientes. La materia seca se puso en suspensión en 0,5% v/v de trietilamina (TEA) en diclorometano en el cual la insulina y la lactosa eran insolubles, mientras que la lecitina era libremente soluble, conservando por tanto la estructura de las nanopartículas. Estas nanopartículas se separaron del tensioactivo por centrifugación (centrífuga 3K30 refrigerada, Sigma Laborzentrifuges GmbH, Osterode am Harz, Alemania). Las condiciones de sedimentación fueron 17.000 rpm a 25°C. Para la centrifugación se seleccionaron tubos de centrífuga de 50 ml de Oakridge Teflon (Marca comercial) (Nalge-Nunc Inc., Rochester, NY, EE.UU.) debido a su excelente compatibilidad con el disolvente y facilidad de recogida de las nanopartículas de la superficie no pegajosa. Se decantaron el disolvente más los tensioactivos y se recogieron las nanopartículas del sedimento. El proceso de lavado se repitió dos veces.

25 El sedimento de nanopartículas se puso en suspensión en 5 ml de diclorometano y se añadieron 0,25 ml de cineol. La suspensión formada se sometió a agitación con vórtice para asegurar la homogeneidad. Se eliminó el diclorometano por evaporación bajo vacío usando un Rotavapor® (Büchi, Suiza) ajustado a 35°C durante 5 minutos. Se obtuvo una pasta de nanopartículas humedecida por cineol que se llenó subsiguientemente en viales fríos colocados en el aceite y se enfrió a una temperatura por debajo del punto de ebullición del HFA 134a, luego se añadió el HFA 134a enfriado bruscamente (condensado) y se cerraron los viales. La concentración de sólidos (es decir, insulina más lactosa) de los viales llenos fue 1% p/p.

30 Se investigó la aplicación de un agente anti-espumante a la emulsión (monooleato de glicerilo) con el fin de reducir el tamaño de las nanopartículas. Esto se consiguió disolviendo 1 g de monooleato de glicerilo y 2 g de lecitina en 7 ml de cloroformo para formar la fase oleosa. Sin embargo, todas las otras condiciones de proceso se mantuvieron como se ha descrito antes.

35 La formulación se valoró subsiguientemente a los dos días de su fabricación para determinar el tamaño de partículas usando espectroscopía por correlación de fotones (abreviadamente PCS por la expresión inglesa *Photon Correlation Spectroscopy*), y se examinó la morfología de las partículas usando un microscopio electrónico de barrido (abreviadamente SEM por la expresión inglesa *Scanning Electron Microscopy*).

40 Las formulaciones se examinaron también para determinar la integridad de la insulina usando cromatografía por permeación por gel (GPC), cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), dicroísmo circular y espectroscopía de fluorescencia.

45 Además, la caracterización de la aerosolización de las nanopartículas se llevó a cabo usando un dispositivo de impacto para líquidos de multietapa (abreviadamente MSLI por la expresión inglesa *MultiStage Liquid Impinger*) ajustado a 60 litros/min (diámetros límite eficaces: etapa 1 = 13 µm, etapa 2 = 6,8 µm, etapa 3 = 3,1 µm y etapa 4 = 1,7 µm). El MSLI separa las partículas de aerosol en una corriente de aire en movimiento sobre la base de sus diámetros aerodinámicos y permite una estimación de la fracción de partículas finas (abreviadamente FPF por la expresión inglesa *Fine Particle Fraction*) del aerosol emitidas por un PMDI. En este trabajo, FPF se refiere a la fracción de la salida del inhalador que tiene un diámetro aerodinámico menor que aproximadamente 1,7 µm. Esto representa la fracción de la dosis del fármaco que puede alcanzar la región alveolar de los pulmones en donde ocurre la absorción sistémica del fármaco.

50 Los resultados de la PCS para el producto producido sin monooleato de glicerilo (Figura 1) indican que las nanopartículas tienen un diámetro medio z de alrededor de 550 nm con una estrecha distribución del tamaño de partículas (índice de polidispersidad = 0,084 determinado por el dispositivo PCS). Las microfotografías del SEM mostraron que las nanopartículas tenían una forma sustancialmente esférica. Los cromatogramas de las GPC y HPLC, comparados a los de la insulina estándar, muestran que los productos son muy similares a la insulina estándar, lo que sugiere que la insulina no se degrada químicamente durante el proceso de formulación.

55

Los espectros de dicroísmo circular en el UV lejano indican que se mantienen después del procesamiento las estructuras secundarias de la insulina. No hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre espectros, y eran comparables la composición de la estructura secundaria de material no procesado (material de control) y procesado (de las nanopartículas después de la administración desde el PMDI).

- 5 La insulina de control, la insulina de las nanopartículas después de la liofilización y la insulina revestida después de la activación de la formulación del PMDI produjeron espectros similares de dicroísmo circular y en el UV cercano, con un pico de alrededor de 275 nm. Esto indica retención de las estructuras terciarias de la insulina después del procesamiento. Esto se confirma a partir de los espectros de fluorescencia de muestras de insulina después de la administración desde el PMDI, y antes y después de la maduración con hidrocloreto de guanidina 6M, en
10 comparación con la insulina estándar en las mismas condiciones. Los ensayos de las características de aerosolización de las composiciones muestran que hubo un nivel óptimo de estabilizador. A concentraciones de estabilizador que son demasiado altas, hubo un efecto de reducción de la evaporación del HFA desde el penacho de pulverización, que conduce a gotitas más grandes con elevada masa y en consecuencia a niveles superiores de deposición en la garganta. Con concentraciones muy bajas de estabilizador, las nanopartículas se dispersan
15 inadecuadamente, conduciendo posiblemente a la agregación y, de nuevo, a niveles superiores de deposición en la garganta. Con un nivel de 0,25 ml de estabilizador por lote mejora la FPF. Los resultados de tres niveles diferentes de estabilizador se muestran en la Figura 2 que muestra el efecto de la concentración de cineol (ml/lote; un lote es equivalente a 100 mg de nanopartículas (insulina más lactosa) formulación en 10 g de HFA 134a) sobre la FPF y la deposición en la garganta de las nanopartículas.
- 20 La Figura 3 muestra la FPF y la deposición en la garganta de formulaciones para PMDI que contienen concentraciones de 1%, 2,5% y 5% de nanopartículas de insulina en HFA 134a cada una con cineol a un nivel de 0,25 ml/ lote de 10 g de HFA).

Se encontró también que la deposición disminuyó a medida que disminuyó la concentración de sólido, mientras que la FPF aumentó con la disminución de la concentración de sólidos (Figura 3).

- 25 El tamaño de las nanopartículas se redujo a un diámetro medio z de alrededor de 347 nm cuando se añadió monooleato de glicerilo a la fase oleosa durante la producción de formulaciones al 1% de nanopartículas. Estas nanopartículas se usaron para formular la formulación optimizada para PMDI.

- 30 Se realizaron otros estudios investigando la aerosolización de la formulación optimizada. La dosis emitida por activación era aproximadamente 0,55 mg de sólidos totales que proporcionan 0,44 \pm 0,04 mg/de insulina por activación, basado en que el contenido de insulina de las nanopartículas es 80%. La formulación tuvo alrededor de 45% de insulina en peso de la dosis emitida (ex-accionador) administrada como FPF.

Ejemplo 2

COMPOSICIONES BASADAS EN XINAFOATO DE SALMETEROL (SX) CON CITRAL COMO AGENTE DE PUESTA EN SUSPENSIÓN

- 35 Se pesó y disolvió xinafoato de salmeterol (abreviadamente SX por la expresión inglesa *Salmeterol Xinafoate*) en una cantidad conocida de citral enfriado bruscamente. El SX tiene una solubilidad en agua de 66-81 $\mu\text{g/ml}$ (Tong, HY, *et al. Pharm. Res.* (2001) 18, 852-858); es decir, no es "soluble en agua" en términos de la presente memoria. La solución (véase más adelante para cantidad/concentración) se añadió gota a gota a 10 ml de HFA 134a enfriado
40 bruscamente mientras se homogeneizaba a baja velocidad (10.000 rpm). Inmediatamente se colocó, usando un dispositivo de rebordear, una válvula dosificadora de activación de 63 μl (Valois DF60 MK42; Valois, Francia) sobre el bote del PMDI (usando un dispositivo manual de rebordear frascos 3000, Aero-Tech Laboratory Equipment Company, EE.UU.). La cantidad de citral usada se hizo variar desde 2 a 33% v/v, mientras que la concentración de SX en la formulación se hizo variar desde 0,05 a 0,9% p/v basada en la formulación completa. Los viales PMDI se sometieron a ultrasonidos (XB6 Grant Instruments Ltd., Reino Unido) durante aproximadamente 1 minuto y se
45 determinó visualmente la estabilidad de la suspensión. A las formulaciones que contenían 0,05, 0,1, 0,2 y 0,9% p/v de SX y 2, 9 y 23% v/v de citral se les determinó sus características de aerosolización usando un dispositivo de impacto de dos etapas (doble) ajustado a 60 litros/minuto (diámetro límite eficaz entre las etapas = 6,4 μm). La cantidad de SX en la etapa superior e inferior del dispositivo de impacto se determinó usando cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) ajustada a las condiciones expuestas en la Tabla 1.

50

Tabla 1: Ajustes de la HPLC

Componente	Ajuste
Volumen de inyección	20 µl
Caudal	1 ml/min
Tiempo de retención	~ 2,2 min
Temperatura	40°C
Detector de UV	228 nm
Columna	Kromasil C18, ODS – 2 (5 m, 250 mm x 4,6 diámetro interno)
Fase móvil	Metanol:acetonitrilo:agua desionizada (30:30:40 v/v) que contiene 0,6% p/v de acetato de amonio y 0,2% p/v de tetrabutilamonio

5 Se formaron instantáneamente partículas de SX en suspensión en HFA134a cuando la solución de SX en citral se introdujo en HFA 134a en todas las concentraciones investigadas, como se apreció observando la suspensión en los viales herméticamente cerrados.

10 Se llevaron a cabo estudios de aerosolización para mostrar el efecto de cambiar la concentración de fármaco depositado en las etapas superior e inferior con citral en una cantidad de 9% v/v. Los resultados mostraron que el % p/p de fármaco depositado en las etapas superior e inferior del dispositivo de impacto doble no eran significativamente diferentes ($p < 0,05$) cuando se evaluaron diferentes formulaciones con diferentes concentraciones de SX (Figura 4). Sin embargo, la cantidad de dosis emitidas aumentó a medida que aumentaba la concentración de fármaco en la formulación.

15 El efecto de cambiar la concentración de citral sobre la aerosolización de las formulaciones se muestra en la Figura 5 (usando la composición de SX al 0,1%). Un aumento en la concentración de citral en la formulación condujo a una disminución de la cantidad de SX (% p/p) depositada en la etapa inferior (FPF) del dispositivo de impacto doble, mientras que la cantidad de fármaco depositada en la etapa superior del dispositivo de impacto aumento a medida que aumentaba el citral en la formulación (Figura 5). El diámetro límite eficaz entre las etapas para el dispositivo de impacto doble es 6,4 µm, por tanto se demostraron FPF_{6,4 µm} de hasta 30% usando esta técnica de dispersión (Figuras 4 y 5) con 2% v/v de citral.

20

REIVINDICACIONES

1. Un inhalador presurizado de dosis precisas que comprende una composición que contiene un propulsor líquido de hidrofluoroalcano farmacéuticamente aceptable, un fármaco que ha de ser administrado e los pulmones que es insoluble en el hidrofluoroalcano líquido, en forma de partículas, y un estabilizador de suspensión que es un aceite esencial farmacéuticamente aceptable que es miscible con el líquido de hidrofluoroalcano a temperatura ambiente;
- 5 en donde el fármaco es un compuesto que es soluble en agua, que tiene una solubilidad en agua de más de 0,1 mg/ml;
- 10 en donde el fármaco es un péptido, una proteína o un ácido nucleico;
- en donde las partículas tienen un diámetro medio en el intervalo de 0,2 a 20 μm ; y en donde la relación en volumen de estabilizador a hidrofluoroalcano está en el intervalo de 1:100 a 1:2.
2. Un inhalador de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual las partículas que contienen fármaco comprenden también un agente protector sólido, preferiblemente un lioprotector, más preferiblemente un azúcar, más preferiblemente seleccionado de lactosa y trehalosa.
- 15 3. Un inhalador de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el cual el fármaco es una enzima, una hormona, siRNA o DNA, más preferiblemente insulina.
4. Un inhalador de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el hidrofluoroalcano es HFA134a o HFA227.
- 20 5. Un inhalador de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el aceite se selecciona de citral, mentol, aceite de eucalipto, cinamaldehído y cineol.
6. Un inhalador de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que tiene una concentración de fármaco en el intervalo de 0,001 a 10 % p/p basado en la composición total.
- 25 7. Un método de producir un inhalador de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual fármaco está dispersado en el estabilizador de suspensión para formar una dispersión, y la dispersión se añade al hidrofluoroalcano para formar una suspensión, la suspensión se coloca en un recipiente y el recipiente se cierra de tal modo que su contenido está presurizado a temperatura ambiente.
- 30 8. Un método de acuerdo con la reivindicación 7, en el cual el fármaco es soluble en el estabilizador de suspensión en una extensión de no más de 0,1 mg/ml y se dispersa en la forma de partículas en el estabilizador de suspensión para formar una suspensión de las partículas en el estabilizador de suspensión, y la suspensión se combina con el hidrofluoroalcano.
9. Un método de acuerdo con la reivindicación 8, en el cual las partículas contienen un agente protector como el definido en la reivindicación 2.
- 35 10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9, que comprende las etapas preliminares de: formar una solución acuosa de fármaco y agente protector; formar una emulsión de agua en aceite de la solución acuosa de fármaco y agente protector en una fase oleosa continua; y secar la emulsión para formar partículas, preferiblemente por un proceso de secado por pulverización o liofilización.
- 40 11. Un método de acuerdo con la reivindicación 7, en el cual el fármaco es soluble en el estabilizador de suspensión a un nivel de al menos 0,5 mg/ml, en donde el fármaco se disuelve el estabilizador de suspensión para formar una solución y la solución se combina con el hidrofluoroalcano, con lo cual se forma un precipitado de fármaco.
12. Un método de acuerdo con la reivindicación 7, en el cual la dispersión y el hidrofluoroalcano se mezclan bajo presión en un recipiente que se cierra subsiguientemente para formar un inhalador presurizado de dosis precisas.
- 45 13. Un uso de un aceite esencial farmacéuticamente aceptable para estabilizar en un PMDI una suspensión de un fármaco en partículas en un líquido de hidrofluoroalcano farmacéuticamente aceptable en el cual el fármaco es insoluble y con el cual el aceite esencial es miscible y en donde las partículas tienen un diámetro medio en el intervalo de 0,2 a 20 μm .
- 50 14. El uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el fármaco es un compuesto que es soluble en agua, que tiene una solubilidad en agua de más de 0,1 mg/ml; en donde el fármaco es un péptido, una proteína o un ácido nucleico; y en donde la relación en volumen de estabilizador a hidrofluoroalcano está en el intervalo de 1:100 a 1:2.
15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, o el uso de la reivindicación 13 o 14, que comprende además el(los) aspecto(s) de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6.

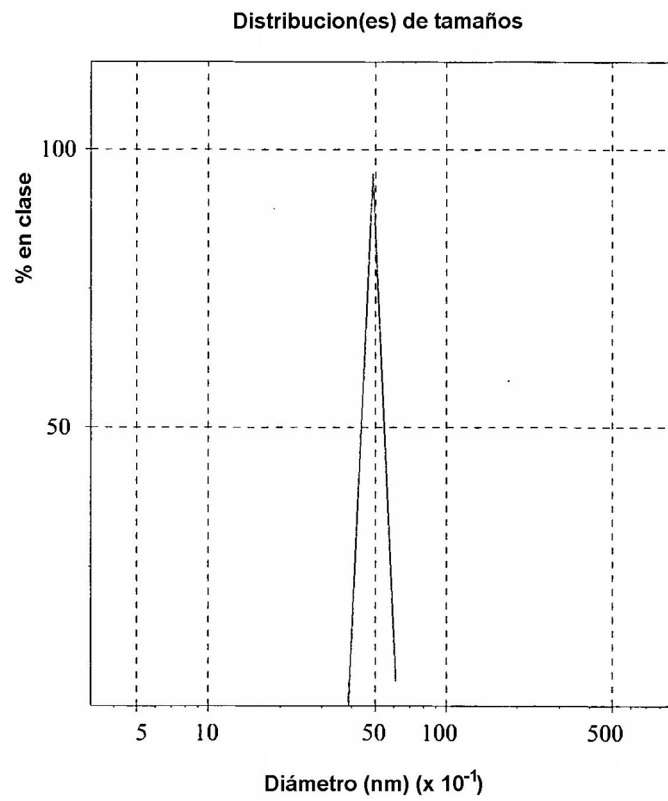


Figura 1

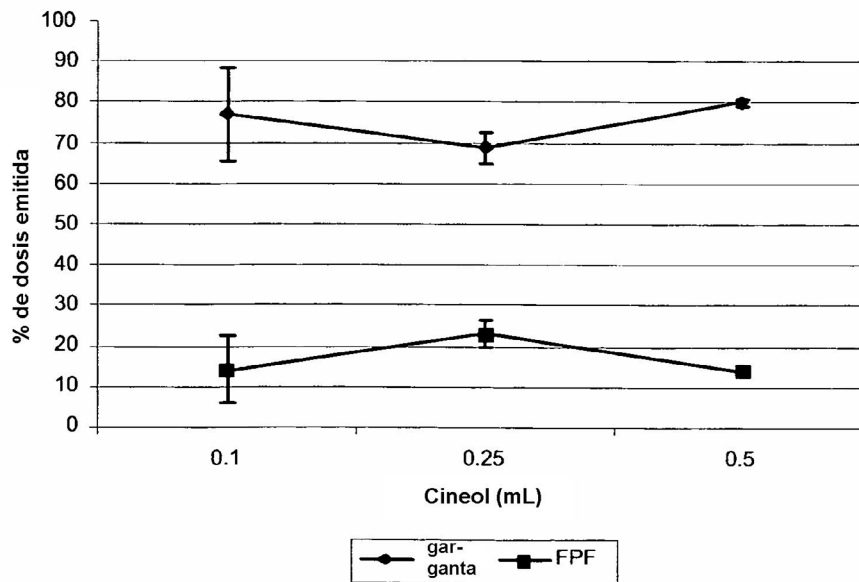


Figura 2

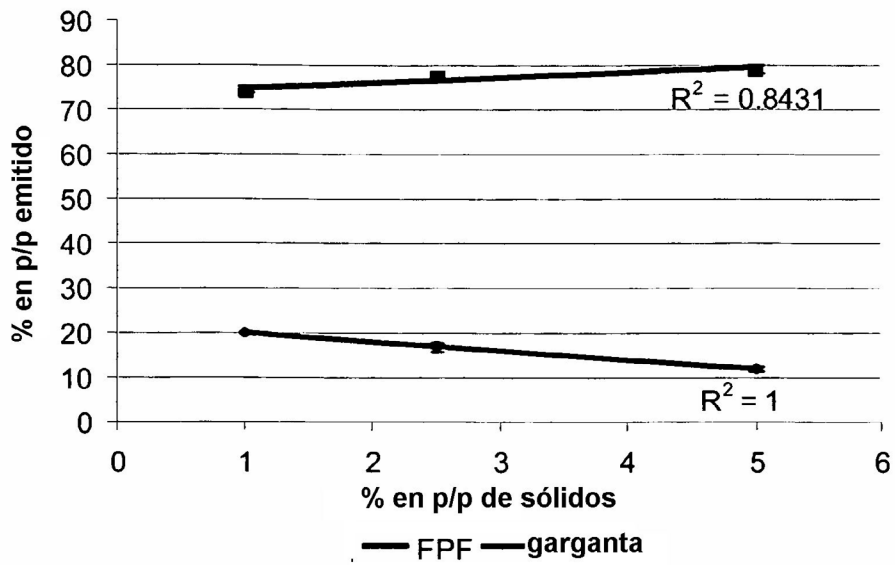


Figura 3

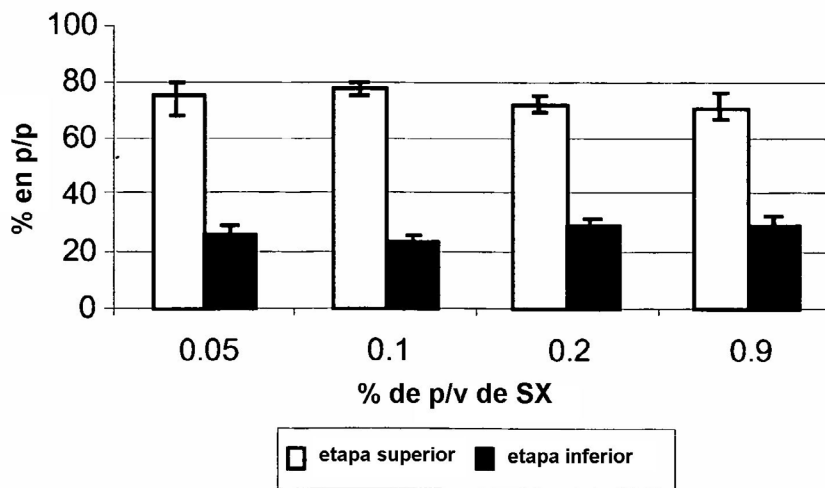


Figura 4

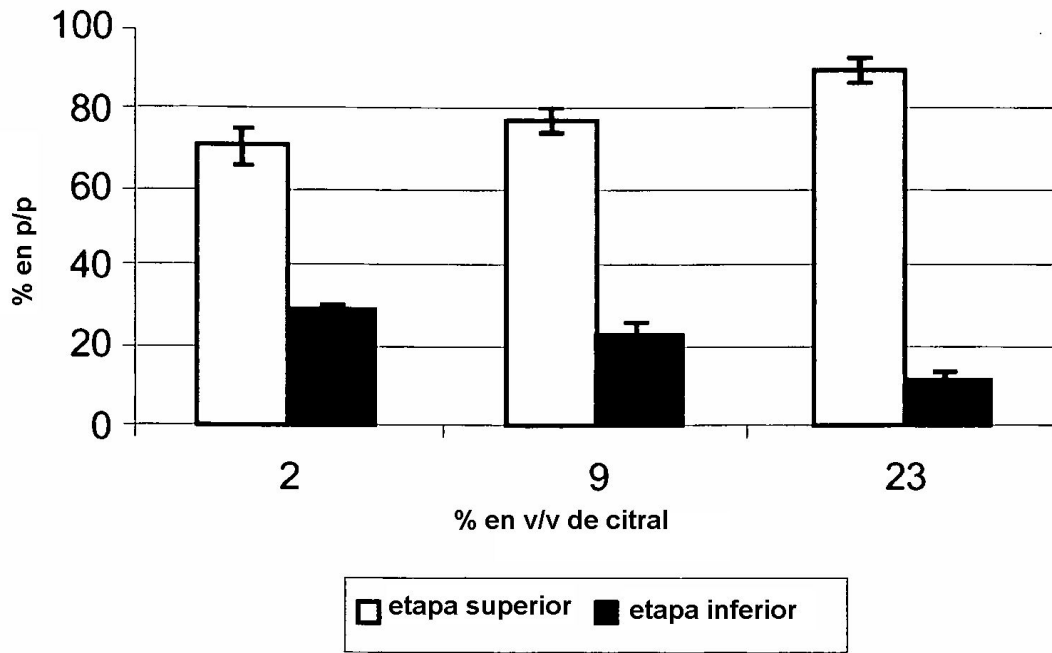


Figura 5