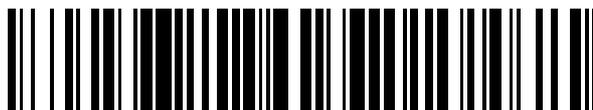


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 579**

51 Int. Cl.:

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 31/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02767609 .7**

96 Fecha de presentación: **23.08.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1418892**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.05.2004**

54 Título: **Sistemas sinérgicos de mezclas de poloxámeros para la solubilización de fármacos**

30 Prioridad:

24.08.2001 GB 0120701

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

12.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

12.12.2012

73 Titular/es:

**IS PHARMACEUTICALS LIMITED (100.0%)
OFFICE VILLAGE CHESTER BUSINESS PARK
CHESTER CH4 9QZ, GB**

72 Inventor/es:

**MEADOWS, JOHN y
DWYER, COLUM, MARTIN**

74 Agente/Representante:

BALLESTER CAÑIZARES, Rosalía

ES 2 392 579 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**Sistemas sinérgicos de mezclas de poloxámeros para la solubilización de fármacos****Descripción**

5 [0001] La presente invención hace referencia a formulaciones farmacéuticas novedosas, a su uso y a sus métodos de fabricación.

[0002] En general, las tecnologías de solubilización micelar rara vez son capaces de lograr los niveles de materiales activos en las preparaciones para administración que se pueden alcanzar mediante la disolución en los sistemas de solvente directos, sean aceites, mezclas de solvente miscibles o la fase de oleosa de una emulsión. Incluso
10 los sistemas de solubilización micelar que usan la clase de tensoactivos poloxámeros eficaces rara vez son capaces de lograr niveles suficientemente altos de activos para los fines de administración. Por lo tanto, los activos que son poco solubles en agua deben formularse en solventes orgánicos, sistemas de cosolventes miscibles o como emulsiones, si van a administrarse mediante inyección.

15 [0003] Son aplicables consideraciones similares a las formulaciones tópicas, puesto que generalmente no es deseable usar solventes orgánicos, como etanol o propilenglicol, puesto que pueden asociarse a efectos secundarios y otros problemas. Por ejemplo, el propilenglicol se ha asociado a efectos médicos no deseables como tromboflebitis superficial y reacciones hemolíticas intravasculares, detectados tras la
20 administración de formulaciones parenterales. En administraciones tópicas, el etanol se asocia generalmente a la reseca de la piel, especialmente en concentraciones más altas, como aquellas que podrían requerirse para solubilizar activos con poca solubilidad en agua.

[0004] Las emulsiones son inherentemente inestables, caras de producir, y a menudo
25 difíciles de esterilizar. Estos problemas se agravan muy a menudo por el dolor en la inyección en caso de inyectables, a menudo asociados a pequeñas cantidades del activo presente en la fase acuosa. Por esta razón, el uso de cosolventes miscibles con agua tampoco es deseable, puesto que aumenta la solubilidad del fármaco libre en la fase acuosa continua, incrementando así cualquier dolor en la inyección
30 asociado al mismo.

[0005] En inyectables, el dolor en la inyección es un tema significativo cuando el activo está disuelto en un solvente adecuado, como mezclas de cosolventes miscibles de glicol acuoso o alcohol acuoso, puesto que entonces habrá un 100% del activo en el estado "libre" en el momento de la inyección. Cualquier medio de reducir este nivel de
35 fármaco "libre" es, por lo tanto, deseable como medio potencial para reducir el dolor en la inyección. Por ejemplo, la formulación de diazepam en una forma de emulsión

redujo la incidencia de dolor en la inyección a un 0%, comparado con la formulación en una mezcla de propilenglicol y agua, que se asoció a una incidencia de dolor del 37%.

5 **[0006]** Los poloxámeros, que también se venden por BASF como Plurónicos (EE.UU.) y Lutroles (Europa), y por ICI como Synperonics, han sido utilizados para la solubilización de fármacos en el pasado. Los fármacos en los que se probaron los poloxámeros bien eran difíciles de administrar por medios normales, debido a su insolubilidad en agua, o bien se creyó que era probable que se beneficiarían de la dirección, debido a su toxicidad, por ejemplo.

10 **[0007]** Los poloxámeros son tensoactivos poliméricos generalmente adecuados para su uso como vehículos terapéuticos, y son copolímeros en bloque que constan de bloques de óxido de propileno (PO) y óxido de etileno (EO) - específicamente, son copolímeros tribloque de poli(a-oxietileno-b-oxipropileno-a-oxietileno). Su solubilidad en el agua es buena, generalmente, pero las propiedades de los poloxámeros
15 individuales varían sustancialmente. La aceptabilidad farmacéutica de diversos poloxámeros está claramente establecida, con la aprobación de P407 y P188, específicamente, para la administración parenteral.

[0008] La nomenclatura utilizada para los poloxámeros "P", y aquí generalmente, es tal que las dos primeras cifras, al multiplicarlas por 100 representan el peso molecular
20 medio del bloque de PO, mientras que la última cifra, al multiplicarla por 10 representa el contenido de óxido de etileno (% p/p) del poloxámero. Por lo tanto, para P407, el peso molecular medio del bloque de PO es 4000 daltones con un 70% p/p de contenido de óxido de etileno.

[0009] El uso de poloxámeros para solubilizar fármacos resulta conocido. En US-A-
25 6.153.193 (Supratek Pharma), por ejemplo, se revela el uso de poloxámeros, junto con una molécula dirigida, para la liberación de fármacos seleccionados, incluyendo benzodiazepinas. Se revelan las combinaciones de poloxámeros, con el propósito de manipular las propiedades de las micelas entre la temperatura ambiente y temperatura corporal. No son aparentes ni se revelan propiedades sinérgicas para estas
30 combinaciones.

[0010] Ha habido problemas dirigiendo y dispensado fármacos que usan poloxámeros. Munshi, et al. [Cancer Letters, 118 (1997), 13-19], descubrió que no era posible que el fármaco actuara de manera normal, a menos que se usara el ultrasonido para alterar las micelas. El uso de ultrasonido en técnicas quirúrgicas
35 resulta no solo caro, sino también no deseable.

[0011] Kabanov, et al. [Journal of Controlled Release, 22 (1992), 141-158], revela un

complejo supramacromolecular autoensamblante que comprende el fármaco, poloxámero y anticuerpos para intentar dirigir el fármaco contenido en el complejo así formado.

5 **[0012]** Rapoport, N. [Colloids and Surfaces B-Biointerfaces (1999) vol. 16, nº 1-4, 93-111], trata micelas Plurónicas como portadoras de fármaco. En concreto, observó que las micelas Plurónicas deben estabilizarse, y excluye la posibilidad de un reticulado radical directo de núcleos de micelas, puesto que esto compromete la capacidad de carga de fármaco. Una segunda vía implica añadir una pequeña concentración de aceite vegetal en soluciones de Plurónico diluido que, aparentemente, disminuye la
10 degradación de micelas en dilución. La vía preferida fue polimerizar un hidrogel LCST sensible a la temperatura en el núcleo de las micelas Plurónicas.

[0013] En la solicitud copendiente nº WO 01/64187 revelamos preparaciones de poloxámero micelares y acuosas que comprenden Propofol que es estable en concentraciones bajas, y que no exige la adición de cosolventes.

15 **[0014]** WO 97/38675 revela un anestésico local que comprende uno o más anestésicos locales en forma de aceite, uno o más tensoactivos, agua y un agente para enmascarar el sabor opcional para su uso en la cavidad oral.

[0015] US-A-5.817.321 revela una composición farmacéutica que comprende un agente biológico y un copolímero en bloque de poliéter. Las composiciones pueden
20 comprender agentes quimioterapéuticos, fármacos citotóxicos, agentes antimicrobianos, y un segundo agente biológico.

[0016] WO 96/40056 revela sistemas de liberación de fármaco para tejidos diana, que comprenden composiciones micelares de copolímeros en bloque de poliéter que contienen agentes biológicos.

25 **[0017]** Scherlund M, et al [International Journal of Pharmaceuticals (2000), vol. 194, nº 1, 103-116] descubrió que los ingredientes activos solubilizan preferentemente en micelas antes que en unímeros y que estos sistemas son más estables, más fáciles de preparar, tienen índices de liberación de fármaco aumentados y mejor manejo con respecto a las formulaciones basadas en emulsión.

30 **[0018]** Ruchatz F et al. [Proceedings of the Controlled Release Society (US), vol.25 (1998) páginas 896-897] investigó las propiedades reológicas de formulaciones termogelificantes.

[0019] Chen-Chow, P y Frank, S. G. [International Journal of Pharmaceuticals, 8 (1981) 89-99] trata geles Plurónicos como sistemas de liberación de fármaco y evaluó
35 la liberación de fármaco in vitro desde estos sistemas.

[0020] Por tanto, aún existe una necesidad de formulaciones de fármacos que sean

escasamente solubles en agua.

[0021] Por consiguiente, en un primer aspecto, se proporciona una preparación anestésica acuosa caracterizada porque la lidocaína es escasamente soluble en agua y se solubiliza en la preparación mediante una mezcla sinérgica de poloxámeros.

5 **[0022]** Según su uso aquí, una mezcla sinérgica de poloxámeros es una combinación de dos o más poloxámeros que, junto con el agua, son capaces de solubilizar más lidocaína que una cantidad equivalente de cualquiera de los poloxámeros de la combinación en las mismas condiciones.

[0023] Con escasamente soluble en agua se hace referencia a que la lidocaína no es lo suficientemente soluble en agua para ser terapéuticamente efectiva en lo que se consideran tamaños de dosis convenientes en la técnica. Muchos fármacos adecuados para su uso en la presente invención no pueden solubilizarse lo suficiente en agua para resultar efectivos, y solo son capaces de presentarse en cantidades adecuadas mediante la solubilización en solventes orgánicos.

10 **[0024]** Con preparaciones acuosas se hace referencia a preparaciones que comprenden al menos un 50% p/v de agua.

[0025] Las preparaciones preferidas son líquidas, y preferiblemente son adecuadas para la inyección. En un modo de realización alternativo, se prefieren geles o cremas móviles (fluidos), como aquellos adecuados para la administración tópica.

20 **[0026]** Los poloxámeros en las preparaciones de la presente invención se encuentran preferiblemente en forma micelar.

[0027] Las soluciones de combinaciones sinérgicas de poloxámeros, según se describen aquí, presentan ventajas significativas sobre las soluciones de poloxámeros individuales puesto que ahora es posible lograr concentraciones de activos objetivo, no siendo esto posible previamente, o siendo posible solo mediante el uso de concentraciones inaceptablemente altas de poloxámero. Aunque los altos niveles de poloxámero no son un problema necesariamente, per se, por lo general se prefiere limitar las cantidades de componentes no acuosos en los inyectables. Sin embargo, reducir la cantidad de poloxámero es especialmente deseable desde el punto de vista de las consideraciones de formulación. Los poloxámeros pueden tener un efecto espesante sustancial en los fluidos, incluso a, o especialmente a, la temperatura corporal, por lo que reducir las concentraciones de poloxámero puede resultar deseable en el caso de inyectables en los que se desea permitir el uso de agujas hipodérmicas convencionales, por ejemplo. Además, los altos niveles de poloxámeros pueden ser un problema significativo en las operaciones de procesamiento, como filtrado o llenado, y reducir los niveles es útil también para reducir la formación de

espuma, que puede producirse en cualquier etapa de producción, así como durante el mezclado.

[0028] Los sistemas de poloxámero mixtos sinérgicos son capaces de solubilizar más fármaco, a menudo sustancialmente más, que los sistemas de poloxámero único y, como tales, resultan en coeficientes de partición mayores del activo del agua en la micela de poloxámero mixto, en comparación con la micela de un solo poloxámero. Por lo tanto, para una carga de poloxámero dada, las mezclas sinérgicas pueden lograr una carga sustancialmente más alta de activo que los sistemas simples. El mayor coeficiente de partición también significa que habrá una cantidad reducida de fármaco libre presente en la fase acuosa, que puede ser importante cuando el dolor se asocia al fármaco libre en la fase acuosa. En esos casos, el uso de mezclas sinérgicas de poloxámeros para solubilizar dichos fármacos para la administración por inyección es una ventaja específica de la presente invención.

[0029] Es una ventaja concreta de la presente invención que, para los inyectables asociados al dolor en la inyección, el dolor puede reducirse o eliminarse cuando el fármaco es soluble en una mezcla sinérgica de poloxámeros.

[0030] Los ejemplos de fármacos que presentan dolor en la inyección, o que son difíciles de formular como inyectables, o en formulaciones acuosas en general, incluyen: sedantes, como el diazepam; agentes anestésicos, como el etomidato; agentes antiesquizofrénicos, como decanoato de flufenazina; y agentes antifúngicos, como miconazol.

[0031] También se apreciará que una ventaja de la presente invención reside en la ausencia de solventes no acuosos, aunque no es necesario excluir su uso totalmente, especialmente para aplicaciones tópicas. En general, se prefiere el uso de una mayoría de agua, especialmente agua estéril o desionizada, en cualquier formulación, preferiblemente una mayoría sustancial, como un 85% o más, preferiblemente un 90% o más del componente del fármaco/no poloxámero.

[0032] Es una ventaja concreta de la presente invención que se puedan usar pequeñas cantidades de compuestos farmacéuticamente aceptables para solubilizar el fármaco problemático en cantidades mayores a las que eran factibles previamente. Por consiguiente, en modos de realización preferidos, el agua forma la mayor parte de la formulación, con diferencia.

[0033] Se apreciará que el término "fármaco", según su uso aquí, hace referencia a cualquier sustancia o compuesto terapéutico, y especialmente aquellos adecuados para la administración por inyección. En especial, un fármaco utilizado aquí es soluble en mayor medida en una combinación de poloxámeros que en cualquiera de los

poloxámeros tomados por separado. La combinación de poloxámeros es preferiblemente de dos o tres poloxámeros, y preferiblemente formando cada poloxámero un mínimo del 10% de poloxámero total. Una combinación preferida es la de dos poloxámeros, especialmente cuando uno es P407 y el otro P188.

5 **[0034]** Según su uso aquí, el término "fármaco problemático" hace referencia a fármacos adecuados para su uso en la presente invención, y son generalmente fármacos que se asocian al dolor en la inyección, o que no se preparan fácilmente en formulaciones convencionales, especialmente formulaciones acuosas, o cuando las formulaciones convencionales de dichos fármacos no son ideales para su inyección, o
10 que son difíciles de preparar, o por el contrario, que se beneficiarían de prepararse como una formulación acuosa pero no existe un ejemplo adecuado en la técnica, aunque la presente invención no queda así limitada, siendo estos ejemplos preferidos.

[0035] Los poloxámeros son tensoactivos, y los tensoactivos son sustancias anfifílicas. En otras palabras, comprenden tanto regiones hidrofílicas como hidrofóbicas, y se
15 utilizan comúnmente para solubilizar sustancias grasas en agua. Por encima de determinadas concentraciones en agua, los tensoactivos tienden a formar aglomeraciones - micelas de moléculas tensoactivas que presentan sus porciones hidrofílicas al agua y que internalizan las porciones las porciones hidrofóbicas. Con concentraciones crecientes, pueden observarse también otras estructuras, pero éstas
20 tienden a ser algo complejas. Por otro lado, cada tensoactivo tiene una concentración mínima en agua por debajo de la cual se dispersan las micelas (concentración micelar crítica - CMC), y la preparación de tensoactivo acuoso se convierte de forma eficaz en una solución de unímeros sin estructura.

[0036] Las micelas de tensoactivos son eficazmente envolturas y, en agua, tendrán la
25 porción más hidrofóbica de la molécula formando generalmente el interior de la envoltura. Estas micelas pueden interactuar fácilmente con otras sustancias y, si la sustancia es un aceite, por ejemplo, entonces la sustancia puede ser internalizada en su totalidad en la micela, o formar una asociación de otro modo, por medio de la cual solubilizar de forma eficaz la sustancia en agua.

30 **[0037]** Los fármacos problemáticos de hecho pueden fomentar la formación de micelas de los poloxámeros en agua, a temperaturas y concentraciones inferiores de lo que podría esperarse de otro modo, y a menudo permanecen estables en dilución infinita. En aquellos casos en los que la formación de micelas se cataliza, o incluso fomenta, se cree que el fármaco se internaliza en la micela y sirve para mejorar
35 notablemente la estabilidad de la micela.

[0038] En la presente invención se utilizan combinaciones de poloxámeros. De

manera sorprendente, se ha descubierto que tales combinaciones son sinérgicas, cuando los bloques de PO tienen diferentes tamaños. Sin quedar limitados por la teoría, se cree que se debe a la formación de micelas mixtas.

[0039] Como se ha señalado arriba, los poloxámeros comprenden unidades de PO y unidades de EO. Las unidades de PO generalmente son hidrofóbicas, y forman la parte central de cualquier micela. En micelas con solo un poloxámero, los bloques de PO se alinean unos con otros, mientras que los bloques de EO también se alinean unos con otros en el exterior, para formar un sistema estable termodinámicamente. En una micela mixta, con poloxámeros de distinta longitud de PO, cuando los bloques de PO de diferentes poloxámeros se alinean, bien se deja un "hueco" en el interior de la micela, o parte del bloque de EO del poloxámero más corto debe alinearse con el PO de la molécula más grande. Ésta no es estable termodinámicamente y, con poloxámeros que son sustancialmente diferentes, no ocurre casi nunca.

[0040] Cuando el fármaco está presente, la formación de micelas mixtas puede fomentarse a menudo, compensando el fármaco la diferencia en la longitud del bloque de PO ocupando el espacio en el extremo de la cadena de PO más corta, obviando así la necesidad de una asociación no favorable de forma termodinámica de EO y PO, o cualquier tendencia a los "huecos", o ambos.

[0041] En la práctica, se apreciará que los "huecos" reales no estarían presentes en el interior micelar, puesto que los bloques de PO de alrededor ajustarían sus configuraciones de acuerdo a eso para compensar el "desequilibrio" en las longitudes de cadenas. Sin embargo, dichas exigencias configuracionales serían restrictivas desde un punto de vista entrópico y, por tanto, desfavorables termodinámicamente.

[0042] Esta capacidad de algunos fármacos problemáticos de estabilizar las micelas mixtas tiene numerosas ventajas. En primer lugar, puede estabilizar la micela hasta el punto de que la micela no se desagregue ni siquiera en dilución infinita, una vez formada, de forma que el fármaco libre no se libera simplemente por los efectos de la dilución. En segundo lugar, el efecto puede ser lo suficientemente fuerte como para que los poloxámeros que normalmente no forman micelas, o que son solo solubles en agua con moderación, formen micelas fácilmente en presencia del fármaco problemático y otro poloxámero, y simplemente no suele ser necesaria el mezclado vigoroso. En tercer lugar, las micelas pueden ser estables termodinámicamente, de forma que no se desagregarán con el almacenamiento y, si se calientan hasta su alteración, sencillamente se reformarán con el enfriamiento. En cuarto lugar, las micelas mixtas formadas de forma sinérgica atrapan el fármaco de forma activa y eficaz, de manera que hay incluso menos fármaco problemático libre en la solución

acuosa, reduciendo así en mayor medida el dolor en la inyección en caso de inyectables, por ejemplo. Por último, en mezclas sinérgicas, se requiere menos poloxámero para solubilizar el fármaco problemático o, de forma concomitante, la misma cantidad asegura que sustancialmente todo el fármaco problemático libre es
5 absorbido.

[0043] Por ejemplo, el poloxámero conocido como P407 (también conocido como F127) tiene propiedades sinérgicas con P188 (también conocido como F68), que son generalmente mayores cuando la relación de P407 a P188 se encuentra entre aproximadamente 7:3 y 3:7 en peso. Generalmente, se prefiere que la cantidad de
10 P407 sea al menos igual a la de P188 en peso, pero preferiblemente mayor.

[0044] La naturaleza del poloxámero no es esencial para la presente invención aunque, especialmente cuando la formulación está destinada a la administración a seres humanos, debería ser farmacéuticamente aceptable. Si la formulación es para su aplicación dérmica, los requisitos no son tan estrictos, aunque se prefiere que la
15 formulación no sea irritante.

[0045] Los fármacos no solo estabilizan las micelas de poloxámero mixtas, sino que, para la mayoría de fármacos, no hay ningún requisito de las micelas a cumplir y que una mezcla extremadamente simple de fármaco, poloxámeros y agua es suficiente para formar una formulación de la invención. Además, la mezcla puede ser esterilizada
20 en autoclave sin problemas generalmente, y puede prepararse generalmente por mezclado con rodillo sencillo, puesto que las preparaciones son estables termodinámicamente, y se forman fácilmente, dependiendo del fármaco.

[0046] Los poloxámeros son generalmente no reactivos y no sensibles a ningún otro aditivo del sistema, como BSA (albúmina sérica bovina) o sal, como cloruro de sodio. Además, parece que el pH tiene un efecto escaso, o totalmente nulo. Por lo tanto, no
25 existe ningún problema con la incorporación de sustancias adecuadas para obtener la formulación del fármaco problemático adecuada para la inyección, o colorantes o emolientes u otros excipientes en vehículos tópicos, por ejemplo, dependiendo del fármaco. En concreto, se prefiere que las formulaciones inyectables de la invención
30 deban ser isotónicas con la sangre, para no causar hemólisis, por ejemplo.

[0047] Los poloxámeros preferidos individualmente son P188, P234, P237, P338 y P407. P407 y P188 son especialmente preferidos puesto que han sido aprobados para fines medicinales. P234 y P338 presentan mejores capacidades de solubilización generalmente que P407, pero ninguno ha sido aprobado. P237 también proporciona
35 una excelente absorción, pero aún tiene que ser aprobado.

[0048] Los fármacos problemáticos preferidos de la presente invención son aquellos

fármacos que se asocian al dolor en su inyección, o que solo pueden formularse de forma inconveniente, como mediante el uso de un solvente orgánico, como el alcohol. Dado que los fármacos problemáticos preferidos se conocen bien en la técnica, se apreciará que las concentraciones preferidas de fármaco problemático también se conocen. Los fármacos especialmente preferidos y las concentraciones de administración adecuadas de los mismos son las que se ejemplifican a continuación.

5 [0049] Incluso cuando los poloxámeros sencillos son capaces de proporcionar concentraciones finales preferidas, el uso de combinaciones sinérgicas permite el uso de menos poloxámero, así como garantiza una mayor partición de fármaco en las micelas.

10 [0050] Como se ha apuntado arriba, los bloques de PO de los poloxámeros sinérgicos parecen ser de pesos diferentes, aunque una persona con experiencia en la técnica puede determinar fácilmente qué combinación de poloxámeros resulta sinérgica. Incluso una combinación de P108 y P188 es sinérgica.

15 [0051] Parece que P401 tiene demasiado poco EO y no es particularmente útil en la presente invención, puesto que su falta de solubilidad en el agua no se vence de forma significativa mediante ningún fármaco.

20 [0052] En general, siempre que haya una diferencia entre dos poloxámeros, concretamente entre las porciones de PO, se formará una mezcla sinérgica. Por ejemplo, una mezcla de P237 y P234, o una mezcla de P188 y P184, no son sinérgicas, pero otras mezclas, como por ejemplo: P407 con P338, P234, P237, P188 o P108; P338 con P234, P237, P188 o P108; P234 con P188 o P108; o P237 con P188 o P108 son todas útiles.

25 [0053] Cualquier proporción sinérgica es aceptable y útil. En general, una proporción de aproximadamente 1: 1 hasta aproximadamente 8: 2 p/p es útil, siendo preferida de 1:1 a 7:3.

[0054] Se apreciará que la presente invención proporciona además un método para el tratamiento o profilaxis del cuerpo humano o animal mediante la administración de una cantidad efectiva de una preparación de la presente invención al mismo.

30 [0055] Los radios hidrodinámicos de las micelas de poloxámeros tienden a no exceder aproximadamente los 10 - 20 nm, y se pueden filtrar fácilmente a través de un filtro de 0,2 μm . Dichos filtros se usan comercialmente para esterilizar formulaciones, y esto es otra ventaja de la presente invención. Un grave inconveniente con las emulsiones, como Diprivan, que es una preparación de anestésico Propofol, es la falta de opciones para la esterilización de la formulación. En general, no pueden filtrarse fácilmente a través de un filtro de 0,2 μm , puesto que el tamaño de las partículas de la emulsión es

generalmente demasiado grande, y la emulsión es también demasiado inestable para esterilizarse en autoclave. En cambio, las formulaciones de la presente invención son estables termodinámicamente, de forma que pueden ser filtradas para su esterilización y/o esterilizadas en autoclave.

5 **[0056]** La esterilización en autoclave puede resultar no deseable en los casos en los que la filtración logre el efecto necesario, y deberá observarse también que la esterilización en autoclave puede tener el efecto de alterar las micelas y la formulación en general, hasta que punto de que puede ser necesario mezclar de nuevo la formulación tras la esterilización en autoclave. En general, esto no presenta ningún
10 problema concreto porque las formulaciones de la presente invención normalmente son estables termodinámicamente y, por lo tanto, los componentes vuelven fácilmente al estado favorecido de la formulación, aunque puede ser un inconveniente. Debe observarse también que la esterilización en autoclave puede no ser adecuada si otros componentes están presentes en la formulación estéril y pueden verse afectados de
15 forma adversa por las elevadas temperaturas.

[0057] La preparación de formulaciones de la presente invención generalmente es sencilla. Aunque los componentes de las formulaciones pueden añadirse en cualquier secuencia, como se desee, muchos fármacos preferidos son casi insolubles en agua, de forma que el método comercial y generalmente deseado de mezclado es preparar
20 una solución de poloxámero en agua, seguido de la adición del fármaco problemático, o disolver el fármaco en los poloxámeros antes de la adición de agua. La solución del fármaco en poloxámeros puede lograrse con calentamiento, si procede, cuando los poloxámeros son sólidos a temperatura ambiente.

[0058] P407 es fácilmente soluble en agua, pero el calentamiento del agua y el
25 poloxámero, mientras se mezcla, puede aumentar generalmente la velocidad de formación de micelas. Además, algunos poloxámeros necesitan temperaturas aumentadas para formar micelas en agua de forma satisfactoria. En general, las concentraciones de poloxámero de aproximadamente el 10% p/v resultan útiles en la presente invención, pero las concentraciones de poloxámeros, tanto sencillos como
30 mixtos, puede ser seleccionada por aquellos con experiencia en la técnica, y por lo general será superior al 0,5% e inferior a aproximadamente el 20%. Las concentraciones más preferidas son de entre 3 y el 12%. Algunos poloxámeros comenzarán a gelificar en concentraciones superiores, y cualquier concentración de poloxámeros que gelifique a la temperatura corporal, especialmente cuando se asocie
35 a un fármaco problemático dado, debe evitarse para fines de inyección. Las mezclas de poloxámero preferidas son aquellas que mejoran la absorción de fármaco y/o

inhiben la gelificación, especialmente a la temperatura corporal.

[0059] En un modo de realización, la concentración total de poloxámero es superior al 0,5% e inferior al 20% p/p de la preparación 10, preferiblemente entre el 3 y el 15% p/v, más preferiblemente entre el 5 y el 10% p/v.

5 **[0060]** La cantidad de agua en la formulación puede ser cualquiera que se desee, como se ha explicado arriba, y preferiblemente forma sustancialmente toda la formulación excepto por el poloxámeros y el fármaco. En particular, se prefiere que el agua forme entre el 75 y el 95% de la formulación, más preferiblemente del 80 al 90% p/p.

10 **[0061]** Sorprendentemente, también hemos descubierto que es posible de manera sencilla introducir un anestésico local en las formulaciones de la presente invención, normalmente cuando el propio fármaco no es un anestésico. Por consiguiente, la presente invención proporciona también una preparación como se ha definido arriba, que comprende, o que comprende además, lidocaína.

15 **[0062]** Por lo tanto, en casos en los que todavía se observa algo de dolor en la inyección tras formular el fármaco problemático en una mezcla de poloxámeros y agua, éste puede reducirse en mayor medida incorporando lidocaína en la preparación. Por lo tanto, se reduce sustancialmente el dolor, y a menudo puede reducirse a tan solo el dolor asociado al aparato de inyección en sí. En su defecto,
20 puede usarse una formulación tópica de lidocaína para adormecer una zona a intervenir localmente, por ejemplo, o una preparación tópica de carvacrol [2-metil-5-(1-metiletil)-fenol] puede aplicarse para esterilizar una zona de la piel o una herida u otra lesión.

[0063] Algunas formulaciones preferidas de este aspecto de la presente invención
25 tienen la ventaja de mezclar el activo en una preparación junto con lidocaína (2-dietilamino- 2',6'-acetoxilidida), lignocaína, u otro anestésico local, sin tener que preparar la inyección inmediatamente antes de su uso. Esto puede ser especialmente ventajoso cuando otras formulaciones del fármaco son inestables, o potencialmente inestables, en presencia del anestésico local, por ejemplo.

30 **[0064]** Los niveles adecuados de anestésico local oscilan entre aproximadamente el 0,01 % y el 1% y, más preferiblemente, entre el 0,05% p/v y el 0,40% p/v. Sin embargo, se apreciará que las formas de base libre de los fármacos, como lidocaína, se incluyen en la presente invención, siendo especialmente preferida una preparación que incorpora base libre de lidocaína.

35 **[0065]** El fármaco puede añadirse en cualquier etapa durante la preparación de una formulación, pero se prefiere actualmente añadir el fármaco a una solución acuosa del

poloxámero. Los fármacos problemáticos preferidos son naturalmente aceites, y pueden añadirse simplemente a la solución de poloxámero e incorporarse a la solución en una técnica de mezclado con rodillo.

5 **[0066]** La solubilización de muchos fármacos problemáticos en solución de poloxámeros acuosa se produce de forma espontánea con agitación suave. El hecho de que los sistemas homogéneos estables pueden prepararse usando dicha agitación suave es indicativo de que la incorporación del fármaco problemático en el sistema acuoso se produce por un mecanismo de solubilización en las micelas de poloxámero en lugar de por un mecanismo de emulsificación. La solubilización micelar, como la
10 incorporación del fármaco problemático en micelas de P407, resulta en un sistema estable termodinámicamente. Resulta energéticamente favorable para este tipo de sistema formarse de manera que solo sea necesaria la agitación suave para facilitar un contacto adecuado entre el vehículo de solubilización y las especies solubilizadas. En cambio, la mayoría de emulsiones pueden clasificarse como sistemas
15 cinéticamente estables. Con dichos sistemas, debe aplicarse suficiente energía para superar una energía de activación significativa antes de que puedan formarse; esta energía se aplica normalmente a través de alguna forma de mezclado de alto cizallamiento. De modo similar, una vez formado, existe una barrera de energía de activación significativa para cualquier proceso de desemulsificación, aunque estos
20 sistemas pueden romperse, dado el tiempo suficiente o la entrada de suficiente energía, p.ej., por centrifugación. Aunque los sistemas cinéticamente estables pueden permanecer estables durante mucho tiempo, los sistemas estables termodinámicamente, como aquellos de la presente invención, tienen, técnicamente, una estabilidad a largo plazo infinita.

25 **[0067]** Cuando el fármaco es naturalmente un sólido, éste puede solubilizarse primero bien a temperaturas superiores en presencia de poloxámero, o bien en presencia de un solvente adecuado, a elevada temperatura de forma opcional. El solvente puede eliminarse posteriormente de la formulación final por técnicas estándares, o dejar que permanezca ahí. En el último caso, la presente invención permite aún el uso de una
30 cantidad reducida de solvente, en contraste con la técnica.

[0068] Las formulaciones de la presente invención necesitan muy pocos componentes. La mezcla de poloxámero y lidocaína y agua es suficiente para una formulación básica, pero se prefiere enormemente que cualquier formulación inyectable se componga con solución salina, por ejemplo, para obtener la formulación isotónica, o
35 isosmótica, con la sangre. En las preparaciones de la presente invención, un nivel adecuado es aproximadamente 0,40 - 0,60 % p/v, para lograr una osmolalidad de

aproximadamente 300 mOsm, siendo deseable un margen de aproximadamente 280 - 320 mOsm. Se puede utilizar cualquier medida fuera de este margen, pero posiblemente lleve a un dolor perceptible.

5 **[0069]** Además de la conveniencia de obtener formulaciones inyectables isotónicas con la sangre, se prefiere generalmente minimizar el número de otros ingredientes y asegurar que cualquier formulación que se hace llegar al paciente sea estéril. Dado que la formulación puede esterilizarse tras la preparación, entonces esto no es un problema concreto. Sin embargo, puede ser deseable incorporar agentes esterilizantes, agentes estabilizantes y/o bacteriostáticos, por ejemplo. Las
10 formulaciones de la técnica precedente han incluido metabisulfito de sodio y EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), que pueden incorporarse en las formulaciones de la presente invención, si se desea. Puede usarse propilenglicol, por ejemplo, pero no se prefiere generalmente. Se apreciará que pueden usarse también otros aditivos, como antioxidantes.

15 **[0070]** Se apreciará fácilmente por aquellos con experiencia en la técnica cómo administrar las formulaciones de la presente invención a un ser humano o animal. Las cantidades y momentos de administración se indicarán generalmente por el fabricante del fármaco. En concreto, los fármacos utilizados en la presente invención se prefieren administrar mediante inyección, aunque las formulaciones líquidas como las gotas
20 para los ojos y ungüentos también se encuentran abarcadas por la invención.

[0071] Las formulaciones de la presente invención pueden proporcionarse de cualquier forma adecuada y pueden proporcionarse en cualquier recipiente adecuado para mantener la esterilidad. Si fuera necesario, los recipientes pueden esterilizarse en autoclave inmediatamente antes del uso, aunque no se prefiere, y generalmente no
25 resulta conveniente.

[0072] Las formulaciones de la presente invención pueden proporcionarse también como concentrados, aunque las altas concentraciones de tensoactivos no se prefieren generalmente y, en el caso de determinados poloxámeros, pueden llevar a la gelificación, lo que no es deseable. Por lo tanto, se prefiere generalmente que las
30 formulaciones inyectables de la presente invención se proporcionen en una forma adecuada para su inyección directa. Como tal, cualquier ampolla (por ejemplo) que contenga la formulación de la invención puede, según convenga, utilizarse directamente en una jeringuilla adaptada de forma adecuada para administrar la formulación.

35 **[0073]** De manera más general, la ampolla, u otro recipiente, puede ser perforable, o tener un cierre o tapa extraíble, de forma que pueda usarse una jeringuilla para extraer

la solución, o la solución puede vertirse directamente en una jeringuilla, u otro aparato para dosificarlo al paciente.

[0074] Pueden proporcionarse geles y cremas en botes o tubos, y las gotas pueden proporcionarse en botella cuentagotas, por ejemplo. Otros medios de dispensación y almacenamiento adecuados serán aparentes fácilmente para aquellos con experiencia en la técnica.

[0075] La presente invención se ilustrará ahora con relación a los siguientes Ejemplos, en los que, a menos que se indique lo contrario, todos los porcentajes son peso por volumen y el agua utilizada es agua desionizada estéril. Los Ejemplos se ilustran con relación a las Figuras adjuntas, en las que:

La Figura 1 muestra datos de la concentración máxima de aditivo (MAC, en inglés) para carvacrol;

La Figura 2 muestra datos de MAC para lidocaína; y

La Figura 3 muestra datos de MAC para decanoato de flufenazina y enantato de flufenazina.

EJEMPLO 1

Preparación de muestras

Soluciones madre de poloxámero (500 ml):

[0076] Se prepararon soluciones de poloxámero de 10% p/v añadiendo 50g de poloxámero, o mezcla de poloxámero, a 350 ml de agua destilada. Después, se mezcló usando un agitador de varilla hasta que se disolvió completamente. Esta solución se completó después hasta los 500 ml con agua destilada.

Formulaciones del fármaco problemático (20 ml):

[0077] Se prepararon formulaciones de fármaco problemático de 0,1% p/v añadiendo 0,02 g de fármaco problemático a 20 ml de una solución madre, según la preparación arriba citada. Después, se situaron las soluciones en un mezclador de rodillo para mezclarse hasta que todo el fármaco problemático había sido solubilizado (determinado por evaluación visual), normalmente durante la noche, o durante un periodo de tiempo suficientemente largo, a veces de hasta 72 horas.

EJEMPLO 2

[0078] Se determinó la concentración máxima de aditivo (MAC) y el grado de solubilización sinérgico para una selección de activos solubles en moderación e insolubles en agua en mezclas acuosas de P407 + P188.

[0079] Para cada activo, se determinó la MAC en las siguientes soluciones de poloxámero acuosas:

10 %p/p

P407

7% p/p P407 + 3% p/p P188,

3 %p/p P407 + 7 %p/p P 188

10%p/p P188

[0080] Los activos que se examinaron se enumeran, junto con su forma física y área de actividad farmacológica, en la Tabla 1.

Tabla 1

Activos investigados en mezclas P407 + P188.		
Activo	Forma física	Área de actividad farmacológica
Flufenazina Decanoato	Líquido oleoso viscoso	Antiesquizofrénico
Flufenazina Enantato	Líquido oleoso viscoso	Antiesquizofrénico
Lidocaína	Sólido	Anestésico local
Carvacrol	Líquido	Antiséptico

[0081] Como ayuda a la evaluación del nivel de solubilización sinérgica presente en el sistema, los datos experimentales aportados en las Figuras 1 - 3 también incluyen la MAC calculada de los sistemas que se esperaría si los poloxámeros que comprenden la mezcla fueran solubilizados de forma independiente y la MAC total fuera simplemente la suma de las MACs individuales de los dos componentes o adición. Puede observarse que las MACs de cada uno de los sistemas mixtos son muy superiores de las que podrían esperarse de las adiciones. Los datos se presentan en la Figura 2.

[0082] En las Figuras adjuntas, se muestran los datos para carvacrol en la Figura 1, lidocaína en la Figura 2 y decanoato de flufenazina (2- {4- [3-(2-trifluorometilfenotiazin-10-il)propil]piperazina-1-il} etil decanoato) y enantato de flufenazina (2- {4- [3-(2-trifluorometilfenotiazin-10-il)propil]piperazina-1-il} etil heptanoato) en la Figura 3.

Tabla 2

Cuantificación del nivel de solubilización sinérgica observada en las mezclas de P407 + P188		
Activo	7% p/v P407 + 3% p/v P188	3% p/v P407 + 7% p/v P188
Carvacrol	1,8	2,1
Lidocaína	1,4	1,5
Decanoato de flufenazina	1,6	3,6
Enantato de flufenazina	1,8	2,5

[0083] Las figuras representan la proporción sinérgica, es decir,

$$\text{MAC}_{\text{experimental}} / \text{MAC}_{\text{adición}}$$

5

EJEMPLO DE FORMULACIÓN DE REFERENCIA 1

Decanoato de flufenazina

[0084] Se prepararon 100 ml de una formulación de antipsicóticos como sigue:

10	9 %p/v	Poloxamer 407;
	4 %p/v	Poloxamer 188;
	0,025 %p/v	Decanoato de flufenazina;
	0,4 %p/v	Cloruro sódico;
	q.s. 100ml	Agua para inyección.

15 Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

[0085] Todos los componentes excepto el decanoato de flufenazina se disolvieron en el agua. El decanoato de flufenazina se añadió después con mezclado suave hasta que se solubilizó por completo.

20 **EJEMPLO DE FORMULACIÓN DE REFERENCIA 2**

Decanoato de flufenazina

[0086] Se prepararon 100 ml de una formulación de antipsicóticos como sigue:

	3 %p/v	Poloxamer 407;
	7 %p/v	Poloxamer 188;
25	0,025 %p/v	Decanoato de flufenazina;
	0,52 %p/v	Cloruro sódico;
	q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

30 [0087] Todos los componentes excepto el decanoato de flufenazina se disolvieron en el agua. El decanoato de flufenazina se añadió después con mezclado suave hasta que se solubilizó por completo.

EJEMPLO DE FORMULACIÓN DE REFERENCIA 3

Decanoato de flufenazina

[0088] Se prepararon 100 ml de una formulación de antipsicóticos como sigue:

	4 %p/v	Poloxamer 407;
	3 %p/v	Poloxamer 188;
	0,025 %p/v	Decanoato de flufenazina;
5	0,65 %p/v	Cloruro sódico;
	q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

[0089] Todos los componentes excepto el decanoato de flufenazina se disolvieron en el agua. El decanoato de flufenazina se añadió después con mezclado suave hasta que se solubilizó por completo.

EJEMPLO DE FORMULACIÓN DE REFERENCIA 4

Decanoato de flufenazina

[0090] Se prepararon 100 ml de una formulación de antipsicóticos como sigue:

15	3 %p/v	Poloxamer 407;
	7 %p/v	Poloxamer 188;
	0,025 %p/v	Decanoato de flufenazina;
	0,1 % p/v	Clorhidrato de lignocaína
	0,52 %p/v	Cloruro sódico;
20	q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

[0091] Todos los componentes excepto el decanoato de flufenazina se disolvieron en el agua. El decanoato de flufenazina se añadió después con mezclado suave hasta que se solubilizó por completo.

EJEMPLO DE FORMULACIÓN 5

Lidocaína

[0092] Se prepararon 100 ml de una formulación de anestésico local como sigue:

	7 %p/v	Poloxamer 407;
30	3 %p/v	Poloxamer 188;
	1,0 %p/v	Lidocaína base;
	0,52 %p/v	Cloruro sódico;
	q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según

sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

[0093] Todos los componentes excepto la lidocaína base se disolvieron en el agua. La lidocaína base se añadió después con mezclado suave hasta que se solubilizó por completo.

5 **EJEMPLO DE FORMULACIÓN DE REFERENCIA 6**

Enantato de flufenazina

[0094] Se prepararon 100 ml de una formulación de antipsicóticos como sigue:

	7 %p/v	Poloxamer 407;
	3 %p/v	Poloxamer 188;
10	0,025 %p/v	Enantato de flufenazina;
	0,52 %p/v	Cloruro sódico;
	q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

15 **[0095]** Todos los componentes excepto el decanoato de flufenazina se disolvieron en el agua. El enantato de flufenazina se añadió después con mezclado suave hasta que se solubilizó por completo.

EJEMPLO DE FORMULACIÓN 7

Lidocaína

20 **[0096]** Se prepararon 100 ml de una formulación de anestésico local como sigue:

	3 %p/v	Poloxamer 407;
	7 %p/v	Poloxamer 188;
	1,0 %p/v	Lidocaína base;
	0,52 %p/v	Cloruro sódico;
25	q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

30 **[0097]** Todos los componentes excepto la lidocaína base se disolvieron en el agua. La lidocaína base se añadió después con mezclado suave hasta que se solubilizó por completo.

EJEMPLO DE FORMULACIÓN DE REFERENCIA 8

Carvacrol

[0098] Se prepararon 100 ml de una formulación de antiséptico tópico como sigue:

	3 %p/v	Poloxamer 407;
--	--------	----------------

7 %p/v	Poloxamer 188;
1,0 %p/v	Carvacrol
q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

[0099] Todos los componentes excepto el carvacrol se disolvieron en el agua. El carvacrol se añadió después con mezclado suave hasta la completa solubilización.

EJEMPLO DE FORMULACIÓN DE REFERENCIA 9

Carvacrol

[0100] Se prepararon 100 ml de una formulación de antiséptico tópico como sigue:

4 %p/v	Poloxamer 407;
2 %p/v	Poloxamer 188;
1,0 %p/v	Carvacrol
q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

[0101] Todos los componentes excepto el carvacrol se disolvieron en el agua. El carvacrol se añadió después con mezclado suave hasta la completa solubilización.

EJEMPLO DE FORMULACIÓN DE REFERENCIA 10

Carvacrol

[0102] Se prepararon 100 ml de una formulación de antiséptico tópico como sigue:

4 %p/v	Poloxamer 407;
2 %p/v	Poloxamer 188;
1,0 %p/v	Carvacrol
0,1 % p/v	Clorhidrato de lignocaína
q.s. 100ml	Agua para inyección.

Solución de hidróxido de sodio diluido o solución de ácido clorhídrico diluido (según sea necesario para obtener una solución con pH 6,0 - 7,0)

[0103] Todos los componentes excepto el carvacrol se disolvieron en el agua. El carvacrol se añadió después con mezclado suave hasta que se solubilizó por completo.

Reivindicaciones

1. Una preparación anestésica acuosa, que comprende un único anestésico local, agua y una mezcla sinérgica de poloxámeros, en la que el anestésico local es lidocaína, y **caracterizada porque** la lidocaína se solubiliza en la preparación por medio de la mezcla sinérgica de poloxámeros que, junto con el agua, son capaces de solubilizar mayor cantidad de lidocaína que una cantidad equivalente de cualquier poloxámero de la combinación en las mismas condiciones.
2. Una preparación según la reivindicación 1, en la que el agua forma al menos un 85% p/v de aquella parte de la preparación no compuesta por poloxámeros y fármaco.
3. Una preparación según la reivindicación 1 ó 2, en la que cada poloxámero comprende al menos un 10% p/p del poloxámero total.
4. Una preparación según la reivindicación 3, en la que cada poloxámero comprende al menos un 20% p/p del poloxámero total.
5. Una preparación según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la mezcla es de solo dos poloxámeros.
6. Una preparación según la reivindicación 5, en la que la proporción de un poloxámero respecto del otro se encuentra entre 7:3 y 3:7 en peso.
7. Una preparación según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que los poloxámeros se seleccionan del grupo compuesto por P188, P234, P237, P338 y P407.
8. Una preparación según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que los poloxámeros son P407 y P188.
9. Una preparación según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la mezcla de poloxámeros forma entre un 3 y un 15% p/v de la preparación.
10. Una preparación según la reivindicación 9, en la que la mezcla de poloxámeros forma entre un 5 y un 10% p/v de la preparación.

11. Una preparación según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que consta esencialmente solo de fármaco, poloxámeros y agua.
- 5 12. Una preparación según la reivindicación 1, en la que el anestésico es una base libre de 2-dietilamino-2',6'-acetoxilidida (lidocaína).
13. Una preparación según la reivindicación 1 ó 12, que está adaptada para la administración tópica.
- 10 14. Una preparación según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es un líquido.
- 15 15. Una preparación según la reivindicación 14, adecuada para la inyección.
- 16 16. Una preparación según cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 13, que es un gel muy fluido.
- 17 17. Una formulación de dosis unitaria de una preparación según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende una cantidad eficaz terapéuticamente de lidocaína.
- 20 18. Una formulación de múltiples dosis unitarias según la reivindicación 17.
- 25 19. Una formulación según la reivindicación 17 ó 18, proporcionada en un recipiente sellado.

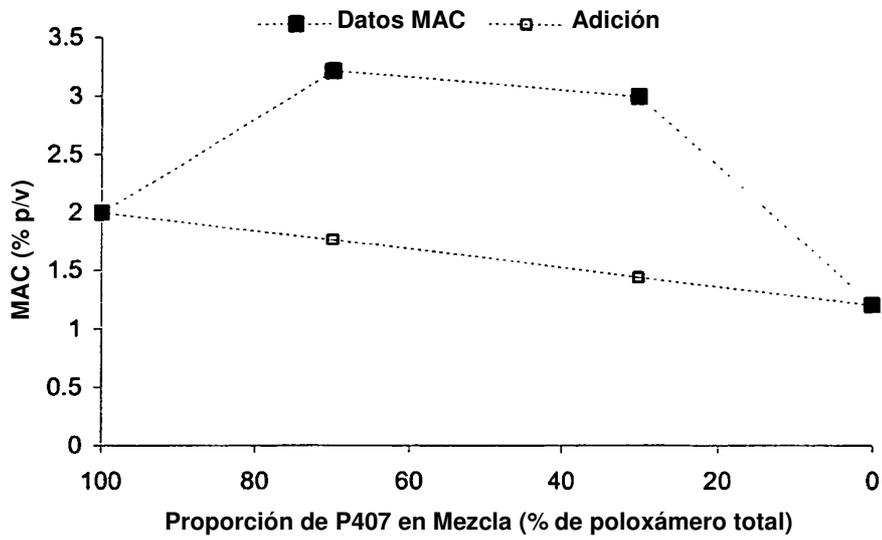


Fig. 1

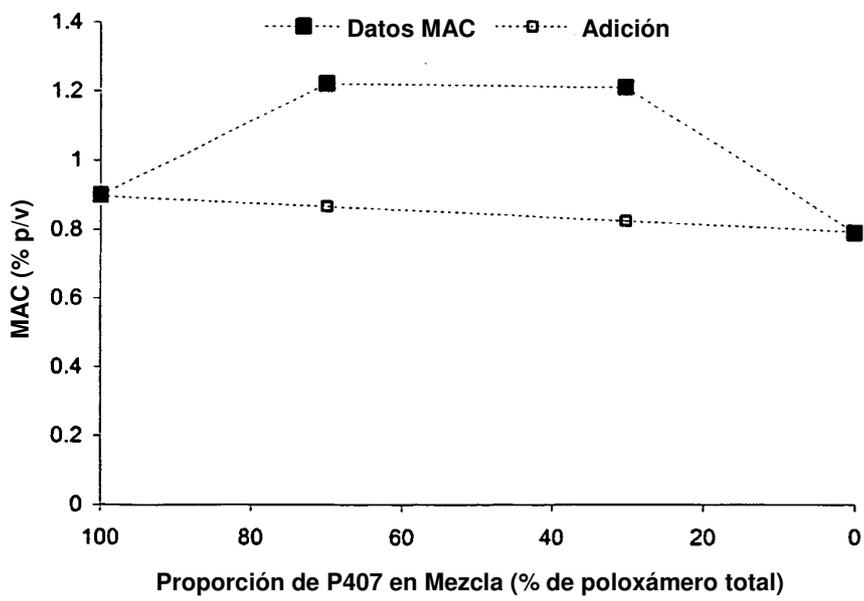


Fig. 2

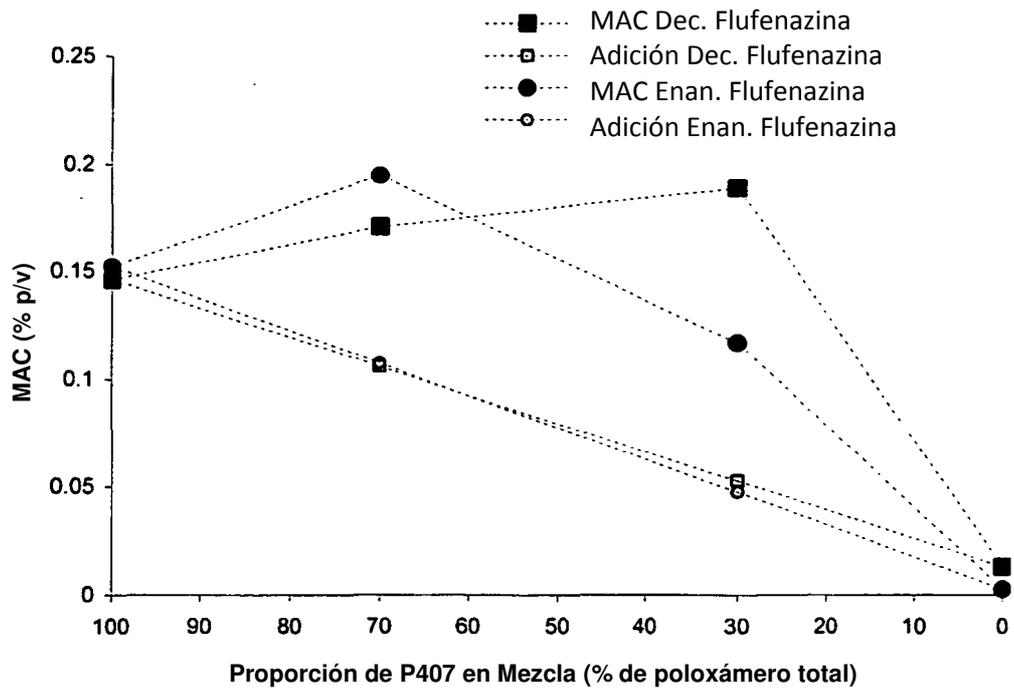


Fig. 3