

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 420 356**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.02.2005 E 05717745 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.03.2011 EP 1722759**

54 Título: **Composición conteniendo quitosan y fosfato de polioli o un fosfato de azúcar**

30 Prioridad:

**21.02.2004 GB 0403938**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**23.08.2013**

73 Titular/es:

**ARCHIMEDES DEVELOPMENT LIMITED (100.0%)  
Albert Einstein Centre, Nottingham Science &  
Technology Park, University Boulevard  
Nottingham, Nottinghamshire NG7 2TN, GB**

72 Inventor/es:

**DYER, ANN MARGARET;  
PASTOR, PATRICIA y  
ILLUM, LISBETH**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 420 356 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**

**[0001]** Esta invención se refiere a composiciones farmacéuticas que aseguran la captación de agentes terapéuticos por superficies mucosas.

**[0002]** Los medicamentos polares, incluyendo medicamentos de bajo peso molecular, péptidos de alto peso molecular, proteínas y polisacáridos, no son normalmente absorbidos eficazmente por las membranas mucosas, tales como el tracto gastrointestinal, la mucosa oral, el ojo, la vagina, la cavidad nasal o el recto.

**[0003]** El uso de "mejorantes de absorción" tales como tensioactivos no iónicos, ciclodextrinas, fosfolípidos y sales biliares para mejorar la absorción de moléculas polares por membranas mucosas ha sido descrito previamente (Para una revisión ver Davis et al (eds.), *Delivery Systems for Peptide Drugs*, Plenum Press, New York, 1987; y Lee (ed.), *Peptide and Protein Delivery*, Marcel Dekker Inc., New York, 1991).

**[0004]** Quitosan es un biopolímero catiónico que comprende glucosamina y glucosamina N-acetil que tiene propiedades bioadhesivas y se ha mostrado que mejora la biodisponibilidad sistemática de ciertos compuestos de medicamentos por superficies mucosales tal como la cavidad nasal (ver Illum, *Drug Discovery Today*, 7, 1184-1189, 2002).

**[0005]** Soluciones neutras inyectables de quitosan que forman geles biodegradables in situ se describen en la literatura (A. Chenite et al., *Biomaterials* 21: 2155-2161 (2000); E. Ruel-Gariepi et al., *Int. J. Pharm.* 203: 89-98 (2000); A. Chenite et al., *Carbohydrate Polymers* 46: 39-47 (2001)) y la literatura de patentes (WO01/36000, WO99/07416 y US-B- 6344488). La formación de gel in-situ es facilitada por la adición de una sal aniónica poliol-fosfato a la solución de quitosan, se informa que esto resulta en la neutralización de quitosan cargado positivamente y la solución. Cuando inyectadas in vivo las fórmulas líquidas son convertidas en implantes de gel in-situ y pueden ser usadas para suministrar moléculas biológicamente activas y como matrices encapsulantes para aplicaciones de ingeniería de tejidos (A. Chenite et al., *Carbohydrate Polymers* 46: 39-47 (2001)).

**[0006]** US 9422116 revela una composición oftálmica de liberación sostenida de líquido acuoso que comprende quitosan.

**[0007]** Es un objeto de la presente invención proporcionar una composición adecuada para suministro de agentes terapéuticos por la superficie mucosal. En particular, la presente invención se preocupa de la provisión de una solución que gelifica a temperatura fisiológica, prolongando de ese modo el tiempo de residencia del agente terapéutico sobre la superficie mucosal.

**[0008]** Más particularmente, a la vista de las ventajas conocidas del uso del quitosan en composiciones para el transporte de medicamentos por membranas mucosales, tal como la cavidad nasal, sería particularmente ventajoso proporcionar composiciones de quitosan que inicialmente tienen baja viscosidad pero forman un gel a temperatura fisiológica de forma un gel se forma poco después de la aplicación a una superficie mucosal. Esto no ha sido posible previamente a causa de que las composiciones que comprenden quitosan en concentración relativamente alta tienden a tener alta viscosidad y puede, por tanto, ser difíciles de suministrar, usando por ejemplo un dispositivo de spray nasal. Adicionalmente, el comienzo de la gelificación usando composiciones de la técnica anterior pueden ser prolongado.

**[0009]** La presente invención, por tanto, proporciona una composición de acuerdo a la Reivindicación 1.

**[0010]** Las composiciones de la invención puede estar en cualquier forma adecuada. Como la persona de normal conocimiento en la materia apreciará, formas adecuadas dependerán del método pretendido de administración. Las composiciones de la invención están en la forma de una solución acuosa o una composición acuosa en la cual el agente terapéutico se suspende.

**[0011]** Por el término "quitosan" incluimos los derivados de quitina, o poli-N-acetil-D-glucosamina, incluyendo todas las poliglucosaminas y oligómeros de materiales de glucosamina de diferentes pesos moleculares, en que la mayor proporción de los grupo N acetil ha sido eliminada a través de hidrólisis (desacetilación). De acuerdo con la presente invención, el grado de desacetilación, que representa la proporción de grupos N acetil que han sido eliminados por desacetilación, debería ser preferiblemente mayor que 40 %, por ejemplo de 40 a 97%, más preferiblemente de 50 a 98%, más preferiblemente de 60 a 95% y más preferiblemente de 70 a 90%.

**[0012]** El quitosan, derivado o sal de quitosan usado en la presente invención debería tener preferiblemente un peso molecular de 4000 Daltons (Da) o mayor, más preferiblemente de 10,000 a 2,000,000 Da, más preferiblemente de 25,000 a 1,000,000 Da y más preferiblemente de 50,000 a 300,000 Da.

**[0013]** Las sales de quitosan son adecuadas para usar en la presente invención. Sales con varios ácidos orgánicos y no orgánicos son adecuados. Tales sales adecuadas incluyen, pero no están limitadas al nitrato, fosfato, glutamato, lactato, sulfato, citrato, hidrocloreuro y sales de acetato. Preferiblemente, se usa la

sal de glutamato o hidrocioruro.

**[0014]** Derivados de quitosán y sus sales son también adecuados para el uso de la invención. Derivados de quitosán adecuados son derivados formados por unión de grupos acilo y/o alquilo con grupos hidroxilo, pero no los grupos amino de quitosán. Ejemplos incluyen éteres O-alquil de quitosán, ésteres O-acil de quitosán, trimetil quitosán y derivados similares. Quitosanos modificados, tales como los conjugados a polietilenglicol pueden ser usados en la presente invención. Conjugados de quitosán y polietilenglicol son descritos en WO99/01498.

**[0015]** Quitosanos adecuados para uso en la presente invención pueden ser obtenidos de varias fuentes, incluyendo Primex, Haugesund, Noruega; NovaMatrix, Drammen, Noruega; Seigagaku America Inc., MD, USA; Meron (India) Pvt, Ltd., India; Vanson Ltd, VA, USA; y AMS Biotechnology Ltd., UK. Derivados adecuados incluyen aquellos que son revelados en Roberts, Quitina Chemistry, MacMillan Press Ltd., London (1992).

**[0016]** Particularmente compuestos preferidos de quitosán que pueden ser mencionados incluyen glutamato de quitosán (disponible como Protasan UPG213 de NovaMatrix, Drammen, Noruega) y otros compuestos de quitosán de viscosidad media (por ejemplo grados UPG113, UPCL213 y UPCL113 también disponibles de NovaMatrix, Drammen, Noruega).

**[0017]** Como se apreciará, la cantidad de quitosán, una sal o derivado del mismo o sal de un derivado del mismo presente en las composiciones de la presente invención dependerá, al menos hasta cierto punto, de factores tales como otros componentes presentes, su concentración y el modo pretendido de administración. Si la composición de la invención es en forma de una solución acuosa o suspensión, el quitosán, sal o derivado del mismo o sal de un derivado del mismo está preferiblemente presente en una cantidad de desde 0.25 a 3.0 %p/v, más preferiblemente de 0.35 a 2.5 %p/v, por ejemplo de 0.35 a 2.0 %p/v, desde 0.5 to 2.5 %p/v, desde 0.75 a 2.0 %p/v o desde 0.4 a 1 %p/v y más preferiblemente desde 0.45 a 1.5 %p/v expresado como base de quitosán.

**[0018]** Preferiblemente, el quitosán usado en la presente invención tiene una carga positiva en solución.

**[0019]** El quitosán, sal o derivado del mismo o sal de un derivado del mismo usado en la presente invención es preferentemente soluble en agua. Por el término "soluble en agua", queremos decir que el quitosán, sal o derivados del mismo o sal de un derivado del mismo tiene una solubilidad de al menos 1 mg/ml y preferiblemente de al menos 10 mg/ml en agua a temperatura ambiente.

**[0020]** Las composiciones de la presente invención comprenden un fosfato de poliol o fosfato de azúcar. Estos términos y los términos alternativos de sales de monofosfato dibásico de un poliol o un azúcar serán bien entendido por los expertos en la materia e incluyen, pero no están limitados a, todas las sales o derivados de fosfato de glicerol, sorbitol, xilitol, manitol, fructosa, glucosa, galactosa, ribosa, xilosa-, trehalosa, sacarosa o mezclas de los mismos. Preferiblemente, se usa una sal o derivado de glicerol, sorbitol, fructosa o glucosa. Más preferiblemente, se usa una sal o derivado de glicerol.

**[0021]** Preferiblemente, el fosfato de poliol es  $\beta$ -glicerofosfato o glicerol-2-fosfato y más preferiblemente glicerofosfato disódico  $\beta$  es usado en la presente invención.

**[0022]** Como se apreciará, la cantidad de sal fosfato de poliol o fosfato de azúcar presente en las composiciones de la presente invención dependerá, al menos hasta un punto, de factores tales como los otros componentes presentes, su concentración y el modo pretendido de administración. Si la composición final de la invención es en forma de una solución acuosa o suspensión, preferiblemente contiene desde 0.25 hasta 3.0 % p/v, más preferiblemente desde 0.5 hasta 2.5 % p/v y más preferiblemente desde 0.75 hasta 2.0 % p/v de la sal fosfato de poliol o fosfato de azúcar. Es particularmente preferido que las composiciones de la invención contengan glicerofosfato  $\beta$  disódico en estas cantidades.

**[0023]** Las composiciones de la invención comprende un plastificante. Por el término "plastificante" queremos decir un material que es capaz de interactuar a un nivel molecular con el quitosán, sal o derivado del mismo o sal de un derivado del mismo y así alterar ciertas propiedades físicas y mecánicas del quitosán, sal o derivado del mismo o sal de un derivado del mismo mejorando la movilidad de las cadenas de polímeros. Sin desear estar atado por la teoría, se piensa que el plastificante tiene el efecto de reducir la temperatura en la que ocurre gelificación de las composiciones modificando las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas y la unión de hidrógeno entre cadenas de quitosán, que son las principales fuerzas implicadas en la formación de gel. Se apreciará que la naturaleza y cantidad del plastificante usado en las composiciones de la invención puede ser seleccionada de tal modo que la gelificación de la composición ocurre dentro un rango de temperatura específico.

**[0024]** El plastificante usado en la presente invención es citrato de trietil citrato.

**[0025]** Como se apreciará, la cantidad del plastificante incluido en las composiciones de la presente invención dependerá, al menos hasta cierto punto, de la naturaleza y cantidades de los otros componentes de la composición y el modo pretendido de administración. Preferiblemente, las composiciones finales de la invención comprenden desde 0.05 hasta 5.0 %p/v del plastificante, más preferiblemente desde 0.1 hasta 2.0 %p/v y más preferiblemente desde 0.2 hasta 1.0 %p/v. Por ejemplo, una composición de la invención puede contener citrato de trietilo en una cantidad dentro de estos márgenes.

**[0026]** Las composiciones de la invención comprende un agente terapéutico. El término "agente terapéutico" abarca cualquier sustancia que puede ser usada para evitar o tratar afecciones o enfermedades del cuerpo animal, incluyendo el cuerpo humano, e incluye medicamentos, péptidos, proteínas, polisacáridos, genes (ADN) o constructos de gen, vacunas o componentes de los mismos (por ejemplo antígenos aislados o partes de los mismos) y anticuerpos monoclonales.

**[0027]** Preferiblemente el agente terapéutico es una molécula polar. Por el término "molécula polar" queremos decir moléculas con un coeficiente de partición entre agua y octanol a pH 7,4 de menos de 50, preferiblemente menos de 10.

**[0028]** Los agentes terapéuticos que pueden ser usados en la presente invención incluyen, pero no están limitados a, insulina, PT (hormona paratiroide), análogos PTH, PTHrP (péptido de hormona paratiroide humana), calcitoninas (por ejemplo, porcina, humana, de salmón, pollo o anguila) y modificaciones sintéticas de las mismas, enkefalina, LHRH (hormona liberadora de hormona luteinizante) y análogos (nafarelina, busarelina, leuprolida, goserelina), glucagon, TRH (hormona liberadora de tirotropina), vasopresina, desmopresina, hormona de crecimiento, heparinas, GHRH (hormona liberadora de hormona de crecimiento) CCK (colecistokinina), TF (factor humoral tímico), CGRP (péptido relacionado con gen de calcitonina), péptido atrial natriurético, nifedipina, metoclopramida, ergotamina, pizotizina, pentamidina y vacunas (por ejemplo, vacunas de SIDA, vacunas de sarampión, rinovirus Tipo 13 y vacunas de virus respiratorio sincitial, vacunas de influenza, vacunas pertussis, vacunas meningocócicas, vacunas del tétano, vacunas de difteria, vacunas de cólera y vacunas de ADN (tal como una conteniendo un plásmido de ADN que codifica para un antígeno adecuado)).

**[0029]** Agentes terapéuticos adicionales incluyen, pero no están limitados a, antibióticos y agentes antimicrobianos, tales como hidroclouros de tetraciclina, leucomicina, penicilina, derivados de penicilina, eritromicina, sulfatiazol y nitrofurazona; compuestos antimigraña, tal como naratriptan, sumatriptan, zolmitriptan, rizatriptan, eletriptan, frovatriptan, alnitidan, avitriptan, almotriptan u otros agonistas de 5-HT<sub>1</sub>; vasoconstrictores (tales como hidrocloruro de fenilefedrina, hidrocloruro de tetrahidrozolina, nitrato de nafazolina, hidrocloruro de oximetazolina y hidrocloruro de tramazolina, cardiotónicos (tal como digital y digoxina), vasodilatadores (tal como nitroglicerina e hidrocloruro de papaverina), agentes controladores de metabolismo óseo (tal como vitamina D y vitamina D<sub>3</sub> activa), hormonas sexuales, hipotensoras, agentes antitumorales, agentes antiinflamatorios esferoidales (tales como hidrocortisona, prednisona, fluticasona, prednisolona, triamcinolona, triamcinolona acetonida, dexametasona, betametasona, beclometasona y dipropionato de beclometasona), medicamentos esferoidales antiinflamatorios (tales como acetaminofen, aspirina, aminopirina, fenilbutazona, ácido mefenámico, ibuprofeno, diclofenac sódico, indometacin, colchicinas y probenecid), agentes enzimáticos antiinflamatorios (tales como cimetripsina y bromelain seratiopeptidasa), agentes antihistamínicos (tales como hidrocloruro de difenhidramina, maleato de clorfeniramina y clemastina), expectorantes antitusivos (tales como fosfato de codeína e hidrocloruro de isoproterenol), analgésicos tales como opioides (tales como diamorfina, hidromorfona, buprenorfina, fentanil, oxicodona, codeína, morfina y sus metabolitos polares, tal como morfina-6-glucuronidas y morfina-3-sulfato), combinaciones de opioides y otros agentes analgésicos (tal como medicamentos no esferoidales antiinflamatorios), antieméticos (tal como metoclopramida, ondansetron, clorpromazina), medicamentos para el tratamiento de epilepsia (tal como clonazepam), medicamentos para el tratamiento de trastornos del sueño (tal como melatonina), medicamentos para el tratamiento de asma (tal como salbutamol), medicamentos para el tratamiento de disfunción eréctil (tal como apomorfina, sildenafil y alprostadilo).

**[0030]** Agentes terapéuticos preferidos para uso en la presente invención incluyen calcitonina, sumatriptan, sildenafil, apomorfina, alprostadilo, buprenorfina, fentanil, morfina e hidromorfona.

**[0031]** Dos o más de los agentes terapéuticos listados arriba pueden ser usados en combinación en la presente invención. Los agentes terapéuticos listados arriba pueden ser usados con agentes terapéuticos distintos que los listados arriba. Si las composiciones de la invención contienen más de un agente terapéutico, no es necesario para cada medicamento haber mejorado el efecto terapéutico como resultado de su inclusión en una composición de la invención.

**[0032]** Como la persona con un conocimiento normal en la materia apreciará, la cantidad de agente terapéutico incorporado dentro de las composiciones de la invención dependerá de un número de factores tal como el régimen propuesto de dosificación, la vía de administración y la potencia del agente terapéutico. La cantidad del agente terapéutico incorporado dentro de las composiciones de la invención normalmente estará en el rango de 0.001 mg to 1000 mg.

**[0033]** Los agentes terapéuticos están preferiblemente presentes en las composiciones de la invención en solución o como una suspensión.

**[0034]** Las composiciones de la invención puede contener uno o más excipientes que reducen la viscosidad de la composición antes de la formación de gel. Los excipientes adecuados reductores de viscosidad incluyen, pero no están limitados a, ácidos orgánicos tal como ácido ascórbico, ácido fumárico, ácido málico y ácido tartárico; citrato de tetrilo; polisorbatos tal como polisorbato 80; polietilenglicoles; y propilenglicol. La persona con un conocimiento normal en la materia sería capaz de determinar fácilmente cantidades de tales excipientes dependiendo de factores tales como la identidad del ingrediente(s) activo y la viscosidad de la solución. Debería notarse que ciertas sales de fosfato de poliol o fosfato de azúcar tales como  $\beta$ -glicerofosfato también reducen la viscosidad de las composiciones de la invención.

**[0035]** Es particularmente ventajoso que las composiciones de la invención contengan un excipiente que reduce la viscosidad de la composición si la composición en la ausencia de tal excipiente tiene viscosidad por encima de casi 150 cP. La cantidad de excipiente que reduce la viscosidad de la composición puede ser seleccionada de tal modo que la composición tenga una viscosidad adecuada para el modo pretendido de administración mientras retiene propiedades deseadas de gelificación.

**[0036]** En un aspecto preferido de la invención, las composiciones contienen ácido ascórbico. Preferiblemente, las composiciones de la presente invención comprenden desde 0.001 a 0.5 %p/v de ácido ascórbico, más preferiblemente desde 0.005 a 0.25 %p/v y más preferiblemente desde 0.01 a 0.2 %p/v como medido en relación a la concentración total de ácido ascórbico en la composición.

**[0037]** Las composiciones de la presente invención pueden también contener ingredientes permitidos farmacéuticamente bien conocidos en la materia. Tales ingredientes incluyen, pero no están limitados a, antioxidantes o antioxidantes sinergistas o mezclas de los mismos (por ejemplo, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, ácido fumárico, ácido málico, ácido tartárico, ascorbato sódico o metabisulfito sódico o sus sinergistas por ejemplo edentato disódico), agentes quelantes (tal como ácido edético o una de sus sales), conservantes (tales como sorbato potásico, parabenos, alcohol de feniletíl o cloruro de benzalconio), aromas, edulcorantes, espesantes, adhesivos o agentes de gelificación, incluyendo, pero no limitado a, celulosas tales como metilcelulosa de hidroxipropilo, metilcelulosa, celulosa hidroxipropilo, celulosa de carboxil sódico y celulosa microcristalina, poloxámeros, polietilenglicoles, carbómeros u óxido de polietileno.

**[0038]** Se apreciará que algunos ingredientes pueden tener más de una función cuando se usan en las composiciones de la invención. Por ejemplo, ácidos orgánicos, tales como ácido ascórbico, ácido fumárico, ácido málico, ácido tartárico, pueden actuar tanto como un reductor de viscosidad como un antioxidante si se usa una concentración apropiada del ácido.

**[0039]** Preferiblemente las composiciones de la invención contiene un conservante y/o son estériles. Si los conservantes son omitidos de las composiciones, los microorganismos pueden ser eliminados usando cualquier método adecuado conocido en la técnica, por ejemplo haciendo las composiciones asépticamente o esterilizandolas finalmente.

**[0040]** Si las composiciones de la invención contienen un conservante, puede ser usado cualquier conservante conocido adecuado. Conservantes adecuados incluyen, pero no están limitados a, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, hidroxibenzoato de metilo, feniletíl alcohol, hidroxibenzoato de propilo y benzoato sódico. Preferiblemente el conservante es cloruro de benzalconio. La persona con un conocimiento normal en la materia será fácilmente capaz de optimizar la cantidad de conservante para una composición particular.

**[0041]** Preferiblemente las composiciones de la invención son no pirogénicas.

**[0042]** Como se apreciará, la viscosidad preferida de las composiciones de la invención antes de gelificación dependerá, al menos hasta cierto punto, del modo pretendido de administración. La persona entendida apreciará qué viscosidades son adecuadas a modos particulares de administración. Las composiciones de la invención preferiblemente tienen una viscosidad de 150 mPa·s (cP) o menos, más preferiblemente 100 mPa·s (cP) o menos y más preferiblemente 50 mPa·s (cP) o menos, cuando medido a 25°C después de la fabricación y usando un Reómetro Programmable DV-III de Brookfield calibrado

equipado con un cono CP40 y placa y un volumen de muestra de 500  $\mu$ l, una velocidad de rotación de 0.1 rpm y un tiempo de equilibrado de 3 minutos. Composiciones con viscosidades dentro de estos rangos son particularmente adecuadas para administración intranasal en la forma de un spray pero pueden también ser usadas en otras formas de administración tales como administración vaginal, rectal, mucosa oral, oftálmica u ocular. Como la persona entendida apreciará, la vía nasal de administración es una de las más exigentes en términos de rangos de viscosidad adecuada para las composiciones. Si es posible que las composiciones teniendo una viscosidad de más de 150 mPa·s (cP) puede ser usado en una o más de las otras formas de administración.

**[0043]** Las composiciones de la invención son soluciones o suspensiones normalmente a temperatura ambiente (por ejemplo por debajo 30 °C, tal como alrededor de los 20 to 25 °C). Las composiciones de la invención forman geles cuando se someten a alta temperatura, por ejemplo temperaturas de 30 °C o más. Preferiblemente, las composiciones de la invención forman geles a temperaturas desde 30 a 40 °C. Más preferiblemente, las composiciones de la invención gelifican a una temperatura fisiológica tal como 35 to 37°C (35, 36 o 37°C), por ejemplo a la temperatura dentro de la nariz (alrededor de los 35 °C).

**[0044]** Idealmente, las composiciones de la invención forman un gel al poco rato de ser sometidas a una temperatura adecuada para inducir gelificación. Preferiblemente el gel se forma en 30 minutos o menos, más preferiblemente en 15 minutos o menos, más preferiblemente en 10 minutos o menos y más preferiblemente en 5 minutos o menos.

**[0045]** Por el término "gel" queremos decir una preparación sólida o semisólida transparente o translúcida que comprende macromoléculas orgánicas distribuidas uniformemente por todo un líquido de tal modo que no existan fronteras aparentes entre las macromoléculas dispersadas y el líquido.

**[0046]** Las composiciones preferidas de la invención forman un gel a temperatura fisiológica (35 a 37 °C) en 15 minutos o menos en contacto con una membrana mucosal seguida de administración, más preferiblemente en 10 minutos o menos después de administración y más preferiblemente en 5 minutos o menos después de administración.

**[0047]** Las composiciones de la invención pueden ser usadas para la provisión de un agente terapéutico por una membrana mucosal en la circulación sistemática.

**[0049]** La vía preferida de administración es la vía nasal. Las composiciones de la invención pueden ser administradas a la cavidad nasal en cualquier forma adecuada. Por ejemplo, cuando las composiciones son en forma de una solución o una suspensión, pueden ser administradas en forma de gotas o un spray.

**[0050]** Un método preferido de administrar las composiciones de la invención que están en forma de soluciones o suspensiones es usando un dispositivo spray. Dispositivos spray pueden ser sistemas de una sola ("unidad") dosis o de múltiples dosis, que comprenden por ejemplo una botella, bomba y actuador, y están disponibles de varias fuentes comerciales, incluyendo Pfeiffer (Alemania), Valois (Francia), Calmar (Alemania), Ursatech (Alemania), Bepak (Reino Unido) and Becton-Dickinson (EEUU). Dispositivos de spray electrostáticos, tal como el descrito en US 5,655,517, también son adecuados para la administración intranasal de las soluciones de la invención.

**[0051]** Para un dispositivo de spray, el volumen normal de líquido que es dispensado en una simple actuación de spray es 0.01 a 0.14 ml, por ejemplo 0.05 a 0.14 ml, tal como 0.1 ml. Es una proposición práctica administrar hasta alrededor de 0.2 ml dentro de cada fosa nasal (por ejemplo dos x 0.1 ml atomizaciones) para proporcionar una dosis terapéutica de medicamento, aunque el régimen de dosificación más aceptable sería una atomización dentro de una o ambas fosas nasales.

**[0052]** Si una composición de la invención, en la forma de una solución o suspensiones, va a ser administrada a las superficies oftálmicas, pueden usarse dispositivos de spray comercialmente disponibles equipados con el actuador apropiado, tal como aquellos disponibles de Valois (France). Dispositivos de suministro de spray adecuados para sistemas sin conservantes en forma de bombas multidosis sin venteo están disponibles para suministro del medicamento mucosal a las superficies tales como aquellas de la nariz, el oído y la vía bucal. Tales dispositivos pueden ser obtenidos de las fuentes listadas arriba, por ejemplo de Valois (Francia) o Ursatech (Alemania).

**[0053]** La presente invención también proporciona un dispositivo de suministro de medicamento, tal como un dispositivo de suministro de medicamento adecuado para suministro de una composición por vía nasal, o vías oculares o un cartucho de dosis para usar con tal dispositivo cargado con una composición como se define arriba.

**[0054]** la presente invención proporciona un proceso para la preparación de la composición descrita arriba, cuyo proceso comprende mezclar una solución que comprende quitosán o una sal o derivado del mismo o

una sal de un derivado del mismo con una solución que comprende una sal de fosfato de poliol o fosfato de azúcar. Otros componentes de las composiciones pueden estar presentes en la solución conteniendo quitosan o conteniendo sal de fosfato de poliol o fosfato de azúcar o pueden ser introducidos en la mezcla por separado.

5 **[0055]** La presente invención también proporciona el uso de la combinación de quitosan o una sal o derivado del mismo o sal de un derivado del mismo, una sal de fosfato de poliol o fosfato de azúcar y un plastificante en la fabricación de un medicamento para uso en el transporte de un agente terapéutico por una superficie mucosal en un animal (tal como un mamífero, por ejemplo un humano) y el uso de esta combinación en la fabricación de un medicamento para administración ocular, oftálmica o nasal.

10 Medicamentos producidos de esta manera son para acción sistémica.  
**[0056]** la presente invención también proporciona el uso de una composición como se describe arriba en la fabricación de un medicamento para el uso en el transporte de un agente terapéutico por superficies mucosales en un animal (tal como un mamífero, por ejemplo un humano) y en la fabricación de un medicamento para suministro nasal, oftálmico u ocular. Medicamentos producidos de esta manera son para acción sistémica.

15 **[0057]** Las composiciones de la invención presente pueden ser usadas en la administración de un agente terapéutico para el transporte de ese agente terapéutico por la superficie mucosal en un animal (tal como un mamífero, por ejemplo un humano), por ejemplo en suministro nasal, oftálmico u ocular de un agente terapéutico a un animal. Se pretende que las composiciones de la invención usadas en el suministro de agentes terapéuticos sean para acción sistémica.

20 **[0058]** Las composiciones de la invención pueden ser usadas para tratar/prevenir enfermedades/afecciones en pacientes mamíferos dependiendo de los agente(s) terapéuticos que se emplean. Para las anteriores listas de medicamentos no-exhaustivas, enfermedades/afecciones que pueden ser mencionadas incluyendo aquéllas contra las que se sabe que los agente(s) terapéuticos en cuestión son efectivos, incluyen las listadas específicamente para los medicamentos en cuestión en Martindale "The Extra Pharmacopoeia", 33rd Edition, Royal Pharmaceutical Society (2002).

25 **[0059]** Es una ventaja de la presente invención que la formación del gel prolonga el tiempo de residencia entre el quitosan y la fracción activa y la superficie mucosal. Sin desear ligarse a la teoría, se piensa que las composiciones de la invención pueden mejorar el suministro del agente terapéutico dentro del tejido mucosal para proporcionar, por ejemplo, absorción mejorada dentro de la circulación sanguínea de medicamentos, péptidos y proteínas que actúan sistémicamente, la presentación mejorada de antígenos de vacuna para el tejido linfóide subyacente, y transfección mejorada por ADN de las células del revestimiento mucosal.

30 **[0060]** El quitosan o una sal o un derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo en las composiciones de la presente invención preferiblemente tiene una carga positiva. El fosfato de poliol o fosfato de azúcar neutraliza la carga en el quitosan o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo. Así, el ratio del fosfato de poliol o fosfato de azúcar al quitosan o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo debiera ser tal que no toda la carga positiva en el quitosan o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo sea neutralizado. El ratio del fosfato de poliol o fosfato de azúcar al quitosan o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo dependerá de un número de factores tales como el peso molecular y el grado de desacetilación del quitosan o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo, la identidad y peso molecular del fosfato de poliol o fosfato de azúcar y el porcentaje de neutralización del quitosan o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo. En base de esta información, la persona con un conocimiento normal en la materia sería capaz de calcular un ratio adecuado del fosfato de poliol o fosfato de azúcar al quitosan o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo.

40 **[0061]** Preferiblemente menos del 100 %, más preferiblemente menos del 90 % y más preferiblemente menos del 80 % de la carga positiva en el quitosan o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo es neutralizado en la composición de la invención.

45 **[0062]** Lo siguiente son ejemplos del número de moles de ciertos poliolfosfatos requeridos para neutralizar ciertos materiales de quitosan. El glutamato de quitosan teniendo un grado de desacetilación del 83% requiere 3.4 moles de  $\text{PO}_4^{2-}$  (glicerofosfato) para neutralizar cada mol de quitosan ( $\text{NH}_3^+$ ). El glutamato de quitosan teniendo un grado de desacetilación del 87% requiere 3.3 moles de  $\text{PO}_4^{2-}$  (glicerofosfato) para neutralizar cada mol de quitosan ( $\text{NH}_3^+$ ). Base de quitosan teniendo un grado de desacetilación de 92.6% requiere 1.6 moles de  $\text{PO}_4^{2-}$  (glicerofosfato) para neutralizar cada mol de quitosan ( $\text{NH}_3^+$ ). Hidrocloruro de quitosan teniendo un grado de desacetilación del 87% requiere 2.1 moles de  $\text{PO}_4^{2-}$  (glicerofosfato) para

neutralizar cada mol de quitosán ( $\text{NH}_3^+$ ). Como descrito en Ruel-Gariepi et al., Int. J. Farm., 203 (2000), 89-98, El glutamato de quitosán teniendo un grado de desacetilación del 84% requiere 2.6 moles de  $\text{PO}_4^{2-}$  (glicerofosfato) para neutralizar cada mol de quitosán ( $\text{NH}_3^+$ ). Para asegurar que el quitosán o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo retiene una carga positiva, la cantidad de fosfato de poliol o fosfato de azúcar usado en las composiciones de la invención debería ser menos de la cantidad que proporciona el número de moles de  $\text{PO}_4^{2-}$  requerido para neutralizar el quitosán o una sal o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo.

[0063] En las Figuras:

[0064] Figura 1 muestra perfiles de tiempo - concentración media de plasma después de absorción intranasal de s-CT (calcitonina de salmón) en ovejas obtenido en el Ejemplo 18.

[0065] La invención es ilustrada por los siguientes Ejemplos no limitadores.

[0066] Ejemplos i a iv son Ejemplos Comparativos e ilustran fórmulas que o bien no gelificaron a temperatura fisiológica y/o en las que la viscosidad de la solución es considerada demasiado alta, haciendo así el producto inadecuado para suministro usando dispositivos de spray comercialmente disponibles.

**Ejemplo Comparativo i : Solución de quitosán conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosán**

[0067] Aproximadamente 8 ml de agua ultrapura (Elga) fue dispensada en una copa aforada de agua y 188 mg de glutamato de quitosán (UP G213, FMC BioPolimer AS, Drammen, Norway) fue añadido lentamente agitando. El contenido fue agitado hasta que ocurría su disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta el volumen con agua ultrapura y mezclado.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosán	18.8
Agua ultrapura	hasta 1 ml
Solución pH	5.0
Inicio de gelificación (37 °C)	No formación de gel
Viscosidad de la solución (solución de control)	307.5 mPa·s (cP)

[0068] El inicio de gelificación de una dosis de 100  $\mu\text{l}$  fue determinado cuantitativamente a temperatura fisiológica usando un portaobjetos de microscopio de cristal precalentado colocado en un horno con una espátula para sondar la muestra. La viscosidad (n=3) de la solución fue determinada después de la fabricación a 25 °C usando un Reometro Programable DV-III Brookfield calibrado equipado con un cono CP40 y placa y volumen de muestra de 500  $\mu\text{l}$ , una velocidad de rotación de 0.1 rpm y un tiempo de equilibrado de 3 minutos. Ejemplo Comparativo i falló en gelificar a temperatura fisiológica usando la técnica descrita.

**Ejemplo Comparativo ii: Solución de quitosán conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosán y 6.6 mg/ml citrato trietilo**

Parte A Solución de Quitosán

[0069] 152 mg de citrato de trietilo NF (Morflex Inc, Nort Carolina, USA) se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadieron aproximadamente 16 ml de agua ultrapura. 434 mg de glutamato de quitosán fueron añadidos lentamente y el contenido agitado hasta que ocurrió la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado a volumen con agua ultrapura y mezclada.

Parte B Solución de quitosán.

[0070] 4.6 ml de solución Parte A fría de quitosán (enfriada en hielo) se dispensó en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.709 ml de agua ultrapura fue añadida. El agitado fue continuado durante 5 minutos más. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución se determinaron como detallado previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosán	18.8
Citrato de trietilo	6.6
Agua ultrapura	hasta 1 ml
Solución pH	4.8
Inicio de gelificación (37 °C)	No formación de gel

Viscosidad de la solución 288.1 mPa·s (cP)  
(solución de control)

[0071] El ejemplo comparativo ii falló en gelificar a temperatura fisiológica usando la técnica descrita en el Ejemplo Comparativo i.

5 **Ejemplo Comparativo iii: solución de quitosan conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan y 14.1 mg/ml  $\beta$ -glicerofosfato disódico**

Parte A Solución de quitosan

10 [0072] Aproximadamente 8 ml de agua ultrapura se dispensó en una copa aforada de cristal y 217 mg de glutamato de quitosan se añadieron lentamente agitando. El contenido fue agitado hasta que la disolución ocurrió. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados transferidos y el contenido completado en volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Auto-gelificación de solución de quitosan

15 [0073] 4.6 ml de solución fría de Parte A (enfriada en hielo) fue dispensada en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.5 ml de (Sigma Aldrich, UK) de solución de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml fría (enfriada en hielo; preparado disolviendo 3 g de glicerofosfato  $\beta$  disódico en agua ultrapura en un matraz volumétrico de 20 ml y completado al volumen con agua ultrapura) fue añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.209 ml de agua ultrapura fue añadida y la agitación continuó durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fueron determinados como detallado previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Agua ultrapura hasta	1 ml
Solución pH	6.4
Inicio de la gelificación (3 5 °C)	15-20 minutos
Viscosidad de la solución	178.8 mPa·s (cP)

20 [0074] Ejemplo comparativo iii presentó un aceptable inicio de gelificación a temperatura fisiológica usando la técnica descrito previamente, aunque la alta viscosidad hizo al producto inadecuado para dosificación in vivo.

25 **Ejemplo comparativo iv: solución de Quitosan conteniendo 18.8 mg/ml glutamato de quitosan , -14.1 mg/ml glicerofosfato disódico  $\beta$  y 5 mg/ml citrato de trietilo**

Parte A Solución de quitosan

30 [0075] 57.5 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y aproximadamente 7.5 ml de agua ultrapura fue añadida. 217 mg de glutamato de quitosan se añadieron lentamente agitando. El contenido fue agitado hasta que ocurrió la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados transferidos y el contenido completado en volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante

35 [0076] 4.6 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) fue dispensada en una copa aforada de cristal usando un a pipeta Gilson Microman y 0.5 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriada en hielo) fue añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.209 ml de agua ultrapura se añadieron y la agitación continuó durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fueron determinados como se detalló previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato trietilo	5
Agua ultrapura hasta	1 ml
Solución pH	6.4
Inicio de gelificación (35°C)	10-15 minutos
Viscosidad de solución	173.7 mPa·s (cP)

40 [0077] El ejemplo comparativo iv exhibió un inicio rápido aceptable de gelificación a temperatura fisiológica usando la técnica descrita previamente, aunque la alta viscosidad hizo al producto inadecuado para dosificar in vivo.

45 **Ejemplo de Referencia 1: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato**

**de quitosan , 14.1 mg/ml glicerofosfato disódico $\beta$ , 5mg/ml citrato de trietilo y 0.1 mg/ml ácido ascórbico**

Parte A Solución de quitosan

5 **[0078]** 57.5 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 7.5 ml de agua ultrapura. 0.23 ml de solución de ácido ascórbico 5 mg/ml (preparado por disolución y completando hasta volumen, 100 mg de ácido ascórbico (Sigma Aldrich, UK) en agua ultrapura en un matraz volumétrico de 20 ml) se añadieron a la copa aforada agitando. 217 mg de glutamato de quitosan fue añadido lentamente y el contenido agitado hasta que sucedía la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

ParteB Solución de quitosan auto-gelificante

15 **[0079]** 4.6 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.5 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriada en hielo) era añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.209 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fue determinado como detallado previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato trietilo	5
Ácido ascórbico	0.1
Agua ultrapura <b>hasta</b>	1 ml
Solución pH	6.4
Inicio de gelificación (35°C)	0-5 minutos
Viscosidad of solución	55.2 mPa·s (cP)

20 **[0080]** El ejemplo de Referencia 1, conteniendo una concentración de glutamato de quitosan de 18.8 mg/ml, presentó un rápido inicio de gelificación a 35 °C usando la técnica descrita previamente y una viscosidad significativamente inferior que una solución de control de concentración de polímero similar. Se piensa que la reducción de la viscosidad era debida a la presencia de ácido ascórbico en la composición del Ejemplo 1.

**Ejemplo de Referencia 2: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan , 14.1 mg/ml glicerofosfato disódico  $\beta$ , 5mg/ml citrato de trietilo y 0.5 mg/ml ácido ascórbico**

35 Parte A Solución de quitosan

40 **[0081]** 57.5 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 6.5 ml de agua ultrapura. 1.15 ml de solución de ácido ascórbico 5 mg/ml se añadieron a la copa aforada agitando. 217 mg de glutamato de quitosan fue añadido lentamente y el contenido agitado hasta que sucedía la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

ParteB Solución de quitosan auto-gelificante

45 **[0082]** 4.6 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.5 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriada en hielo) era añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.209 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fue determinado como detallado previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato trietilo	5
Ácido ascórbico	0.5
Agua ultrapura <b>hasta</b>	1 ml
Solución pH	6.5
Inicio de gelificación (35°C)	0-5 minutos
Viscosidad of solución	10.2 mPa·s (cP)

[0083] El ejemplo de Referencia 2, conteniendo la misma concentración de quitosan que el previo Ejemplo de Referencia pero una concentración aumentada de ácido ascórbico, de nuevo presento un rapido inicio de gelificación a 35 °C usando la técnica descrita previamente y la viscosidad de la solución fue más reducida.

**Ejemplo de Referencia 3: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml de glicerofosfato disódico  $\beta$ , 5 mg/ml citrato de trietilo y 1 mg/ml de ácido ascórbico**

Parte A Solución de quitosan

[0084] 57.5 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 5 ml de agua ultrapura. 2.3 ml de solución de ácido ascórbico 5 mg/ml se añadieron a la copa aforada agitando. 217 mg de glutamato de quitosan fue añadido lentamente y el contenido agitado hasta que sucedia la disolución. La solución fue tranferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados tranferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

ParteB Solución de quitosan auto-gelificante

[0085] 4.6 ml de solución fria de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.5 ml de solución fria de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriada en hielo) era añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.209 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuadamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fue determinado como detallado previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato trietilo	5
Ácido ascórbico	1
Agua ultrapura hasta	1 ml
Solución pH	6.4
Inicio de gelificación (35°C)	0-5 minutos
Viscosidad of solución	0 mPa·s (cP)

[0086] El ejemplo de Referencia 3, conteniendo 18.8 mg/ml glutamato de quitosan y una concentración incrementada adicional de ácido ascórbico, presentó un rapido inicio de gelificación a 35 °C usando la técnica descrita previamente y la viscosidad de la solución después de la fabricación era de nuevo más reducida.

**Ejemplo de Referencia 4: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 14.1 mg/ml de quitosan glutamato, 10.6 mg/ml de glicerofosfato disódico  $\beta$ , 3.75 mg/ml de citrato de trietilo y 0.07 mg/ml de ácido ascórbico**

Parte A Solución de quitosan

[0087] 86.25 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 15 ml de agua ultrapura. 0,345 ml de solución de ácido ascórbico 5 mg/ml se añadieron a la copa aforada agitando. 325.5 mg de glutamato de quitosan fue añadido lentamente y el contenido agitado hasta que sucedia la disolución. La solución fue tranferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados tranferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

ParteB Solución de quitosan auto-gelificante

[0088] 13.8 ml de solución fria de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 1.125 ml de solución fria de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriada en hielo) era añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 1.005 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuadamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fue determinado como detallado previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosan	14.1
$\beta$ -glicerofosfato disódico	10.6
Citrato trietilo	3.75
Ácido ascórbico	0.07
Agua ultrapura hasta	1 ml
Solución pH	6.5
Inicio de gelificación (35°C)	10-15 minutos
Viscosidad of solución	70.5 mPa·s (cP)

Viscosidad de solución control 135.9 mPa·s (cP)  
(14.1 mg/ml glutamato de quitosan)

[0089] El ejemplo de Referencia 4, conteniendo una concentración reducida de glutamato de quitosan de 14.4 mg/ml (y concentraciones reducidas correspondientemente de glicerofosfato  $\beta$  y citrato de trietilo), presentó un inicio satisfactorio de gelificación a 35°C usando la técnica descrita previamente y una viscosidad significativamente inferior a la solución de control de la misma concentración de polímero.

**Ejemplo de Referencia 5: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 14.1 mg/ml de glutamato de quitosan, 10.6 mg/ml de glicerofosfato disódico  $\beta$ , 3.75 mg/ml de citrato de trietilo y 0.19 mg/ml de ácido ascórbico**

Parte A Solución de quitosan

[0090] 86.25 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 15 ml de agua ultrapura. 0,863 ml de solución de ácido ascórbico 5 mg/ml se añadieron a la copa aforada agitando. 325.5 mg de glutamato de quitosan fue añadido lentamente y el contenido agitado hasta que sucedía la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

ParteB Solución de quitosan auto-gelificante

[0091] 13.8 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 1.125 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriada en hielo) era añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 1.005 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fue determinado como detallado previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosan	14.1
$\beta$ -glicerofosfato disódico	10.6
Citrato trietilo	3.75
Ácido ascórbico	0.19
Agua ultrapura hasta	1 ml
Solución pH	6.5
Inicio de gelificación (35°C)	10-15 minutos
Viscosidad of solución	32.7 mPa·s (cP)

[0092] El ejemplo de Referencia 5, conteniendo una concentración reducida de quitosan de 14.4 mg/ml (y concentraciones correspondientemente reducidas de glicerofosfato  $\beta$  y citrato de trietilo y una concentración ligeramente más alta de ácido ascórbico que el Ejemplo de Referencia 4, presentó un inicio satisfactorio de gelificación a 35 °C usando la técnica descrita previamente y la viscosidad de la solución era más reducida.

**Ejemplo de Referencia 6: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 14.1 mg/ml de glutamato de quitosan, 10.6 mg/ml de glicerofosfato disódico  $\beta$ , 3.75 mg/ml de citrato de trietilo y 0.37 mg/ml de ácido ascórbico**

Parte A Solución de quitosan

[0093] 86.25 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 15 ml de agua ultrapura. 1.725 ml de solución de ácido ascórbico 5 mg/ml se añadieron a la copa aforada agitando. 325.5 mg de glutamato de quitosan fue añadido lentamente y el contenido agitado hasta que sucedía la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

ParteB Solución de quitosan auto-gelificante

[0094] 13.8 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 1.125 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriada en hielo) era añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 1.005 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fue determinado como detallado previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosan	14.1
$\beta$ -glicerofosfato disódico	10.6
Citrato trietilo	3.75
Ácido ascórbico	0.37

Agua ultrapura	<b>hasta</b>	1 ml
Solución pH		6.5
Inicio de gelificación (35°C)		10-15 minutos
Viscosidad of solución		10.2 mPa·s (cP)

5 **[0095]** El ejemplo de Referencia 6, conteniendo una concentración reducida de glutamato de quitosan de 14.4 mg/ml (y concentraciones correspondientemente reducidas de glicerofosfato  $\beta$  y citrato de trietilo) y una concentración ligeramente más elevada de ácido ascórbico que el Ejemplo de Referencia 5, presentó un inicio satisfactorio de gelificación a 35°C usando la técnica descrita previamente y la viscosidad de la solución era de nuevo más reducida.

10 **Ejemplo de Referencia 7: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 9.4 mg/ml de glutamato de quitosan, 7.1 mg/ml de glicerofosfato disódico  $\beta$ , y 5 mg/ml de citrato de trietilo**

Parte A Solución de quitosan

15 **[0096]** 114 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 16 ml de agua ultrapura. 217 mg de glutamato de quitosan fue añadido lentamente y el contenido agitado hasta que sucedía la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Auto-gelificación quitosan solución

ParteB Solución de quitosan auto-gelificante

20 **[0097]** 9.2 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.133 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  562.5 mg/ml (enfriada en hielo) era añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 1.285 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fue determinado como detallado previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosan	9.4
$\beta$ -glicerofosfato disódico	7.1
Citrato de trietilo	5
Agua ultrapura	<b>hasta</b> 1 ml
Solución pH	6.4
Inicio de gelificación (35°C)	10-15 minutos
Viscosidad of solución	25.5 mPa·s (cP)
Viscosidad de solución control (9.4 mg/ml glutamato de quitosan)	58.2 mPa.s (cP)

25 **[0098]** El ejemplo de Referencia 7 ilustra el efecto de reducir el glutamato de quitosan y concentraciones de glicerofosfato  $\beta$  a 9.4 mg/ml a 7.1 mg/ml respectivamente. Un inicio satisfactorio de gelificación era notado a 35 °C usando la técnica descrito previamente y la formula presentó una viscosidad inferior que una solución de control de concentración similar de polímero.

30 **Ejemplo de Referencia 8: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml de glicerofosfato disódico  $\beta$ , 5 mg/ml de citrato de trietilo y 1 mg/ml de ácido fumárico**

Parte A Solución de quitosan

35 **[0099]** 57.5 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 7.5 ml de agua ultrapura. 11.5 mg de ácido fumárico (Sigma Aldrich, UKera) fue añadido a la copa aforada agitando. 217 mg glutamato de quitosan fue añadido lentamente y el contenido agitado hasta que sucedía la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

ParteB Solución de quitosan auto-gelificante

40 **[0100]** 4.6 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.5 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriada en hielo) era añadido lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.209 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fue determinado como detallado previamente.

Composición	mg/ml
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1

Citrato de trietilo	5
Ácido fumárico	1
Agua ultrapura <b>hasta</b>	1 ml
Solución pH	6.3
Inicio de gelificación (35°C)	5-10 minutos
Viscosidad of solución	95 mPa·s (cP)

[0101] El ejemplo de Referencia 8 ilustra la eficacia del ácido fumárico para reducir la viscosidad de la solución para un producto conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Comparado con el Ejemplo de Referencia 3 (de similar composición pero conteniendo ácido ascórbico en lugar de ácido fumárico), el Ejemplo de Referencia 8 presentó una viscosidad más elevada de la solución a 25°C, que es sin embargo aún significativamente inferior que una solución de control de similar concentración de polímero.

**Ejemplo 9: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo calcitonina de salmón (s-CT) 0.3 mg/ml, glutamato de quitosan 18.8 mg/ml, β-glicerofosfato disódico 14.1 mg/ml, citrato de trietilo 5 mg/ml y ácido ascórbico 1 mg/ml**

Parte A Solución de calcitonina quitosan-salmón

[0102] 115 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadió aproximadamente 5 ml de agua ultrapura. 7 mg de calcitonina de salmón (Polipeptide Laboratories Inc., Torrance CA, USA) se pesaron en una segunda copa aforada pequeña (silanizado) y se añadió aproximadamente 10 ml de agua ultrapura. La solución de citrato de trietilo fue transferida a la copa aforada conteniendo la solución de calcitonina de salmón y se agitó el contenido. Se añadió 23 mg de ácido ascórbico a la copa aforada agitando. Se añadieron 434 mg de glutamato de quitosan lentamente y el contenido se agitó hasta que ocurriese la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml (silanizado), los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo calcitonina de salmón

[0103] 9.2 ml de solución fría de calcitonina de quitosan-salmón de Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 1 ml de solución fría de glicerofosfato β 150 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.418 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación fue determinado como se detalló previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Calcitonina de salmón	0.3
Glutamato de quitosan	18.8
β-glicerofosfato disódico	14.1
Citrato de trietilo	5
Ácido ascórbico	1
Agua ultrapura <b>hasta</b>	1 ml
Solución pH	6.4
Inicio de gelificación (35 °C)	5-10 minutos
Viscosidad de solución	3.1 mPa·s (cP)

[0104] El ejemplo 9 ilustra el efecto de la incorporación de calcitonina de salmón en solución auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Comparado con el Ejemplo de Referencia 3, de similar composición pero en la ausencia de medicamento, el Ejemplo 9 presentó un inicio de gelificación ligeramente más lento usando la técnica descrita previamente. No se notó ninguna diferencia significativa en la viscosidad.

**Ejemplo 10: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 20 mg/ml de morfina (como metanosulfonato), 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml de β glicerofosfato disódico, 5 mg/ml de citrato de trietilo y 1 mg/ml de ácido ascórbico**

Parte A solución de morfina - quitosan

[0105] 115 mg de citrato trietil se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadieron agitando aproximadamente 17 ml de agua ultrapura y 0.761 ml de ácido metanosulfónico 2M (Sigma Aldrich, UK). 462 mg de monohidrato de morfina (Macfarlan Smit Ltd, UK), 23 mg de ácido ascórbico y 434 mg de glutamato de quitosan se añadieron a la copa aforada y el contenido se agitó hasta que sucediese la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado en volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo morfina

[0106] 92 ml de solución de morfina de quitosan fría de Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 1 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.418 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación fue determinado como se detalló previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Morfina	20
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato de trietilo	5
Ácido ascórbico	1
Agua ultrapura hasta	1 ml
Solución pH	6.3
Inicio de gelificación (3 5 °C)	5-10 minutos
Viscosidad de solución	99.1 mPa.s (cP)

[0107] El ejemplo 10 ilustra el efecto de la incorporación de 20 mg/ml de morfina (como metanosulfonato) en la solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Comparado con el Ejemplo de Referencia 3, de similar composición pero en ausencia de medicamento, el Ejemplo 10 presentó un inicio ligeramente más lento de gelificación usando la técnica descrita previamente aunque, significativamente, una viscosidad más elevada de la solución.

**Ejemplo 11: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 4 mg/ml de hidrocloreuro de hidromorfona, 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml de  $\beta$  glicerofosfato disódico, 5 mg/ml de citrato de trietilo y 1 mg/ml de ácido ascórbico**

Parte A solución quitosan - hidromorfona

[0108] 115 mg de citrato trietil se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadieron agitando aproximadamente 15 ml de agua ultrapura. 23 mg de ácido ascórbico se añadieron a la copa aforada agitando, después de lo cual se añadieron lentamente 92 mg de hidrocloreuro de hidromorfona (Macfarlan Smit Ltd, UK). Se añadieron lentamente 434 mg de glutamato de quitosan y el contenido se agitó hasta que sucediera la disolución. La solución era transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo hidromorfona

[0109] 9.2 ml de solución fría de hidromorfona de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 1 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.418 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación fue determinado como se detalló previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Hidrocloreuro de hidromorfona	4
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato de trietilo	5
Ácido ascórbico	1
Agua ultrapura hasta	1 ml
Solución pH	6.3
Inicio de gelificación (3 5 °C)	5-10 minutos
Viscosidad de la solución	11.2 mPa.s (cP)

[0110] El ejemplo 11 ilustra el efecto de la incorporación de 4 mg/ml de hidrocloreuro de hidromorfona dentro de solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Comparado con el Ejemplo de Referencia 3, de composición similar pero en ausencia de medicamento, el Ejemplo 11 presentó un inicio ligeramente más lento de gelificación usando la técnica descrita previamente. No se notó ninguna significativa diferencia en la viscosidad.

**Ejemplo 12: solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 5 mg/ml de apomorfina (como hidrocloreuro), 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml de glicerofosfato disódico, 5 mg/ml de citrato de trietilo y 1 mg/ml de ácido ascórbico**

Parte A Solución quitosan - apomorfina

[0111] 115 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadieron agitando aproximadamente 15 ml de agua ultrapura. 23.1 mg de ácido ascórbico y 118.4 mg de hidrocloreuro de apomorfina (Macfarlan Smit Ltd, UK) se añadieron a la copa aforada agitando. Se añadieron lentamente 434 mg de glutamato de quitosan y el contenido se agitó hasta que sucediese la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo apomorfina

[0112] 9.2 ml de solución fría de quitosan - apomorfina Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 1 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.418 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación fue determinado como se detalló previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Hidrocloreuro de apomorfina	5
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato de trietilo	5
Ácido ascórbico	1
Agua ultrapura <b>hasta</b>	1 ml
Solución pH	6.4
Inicio de gelificación (35 °C)	5-10 minutos
Inicio de gelificación (37 °C)	0-5 minutos
Viscosidad de la solución	36.8 mPa.s (cP)

[0113] El Ejemplo 12 ilustra el efecto de la incorporación de 5 mg/ml de hidrocloreuro de apomorfina en solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Comparado con el Ejemplo de Referencia 3, de composición similar pero en ausencia de medicamento, el Ejemplo 10 presentó un inicio ligeramente más lento de gelificación a 35°C usando la técnica descrita previamente y una viscosidad ligeramente inferior.

**Ejemplo 13: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 5 mg/ml de apomorfina (como hidrocloreuro), 18.8 mg/ml glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml de glicerofosfato disódico, 5 mg/ml de citrato de trietilo, 1 mg/ml de ácido ascórbico y 0.05 mg/ml de edetato disódico**

Parte A Solución quitosan - apomorfina

[0114] 115 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadieron agitando aproximadamente 15 ml de agua ultrapura. 23 mg de ácido ascórbico y 118.4 mg de hidrocloreuro de apomorfina se añadieron a la copa aforada agitando. Se añadieron lentamente 434 mg de glutamato de quitosan y el contenido se agitó hasta que sucediese la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo apomorfina

[0115] 9.2 ml de solución fría de quitosan - apomorfina Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 1 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.418 ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación fue determinado como se detalló previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Hidrocloreuro de apomorfina	5
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato de trietilo	5
Ácido ascórbico	1
Edetato disódico	0,05
Agua ultrapura <b>hasta</b>	1 ml
Solución pH	6.3
Inicio de gelificación (35 °C)	5-10 minutos
Inicio de gelificación (37 °C)	0-5 minutos

Viscosidad de la solución 36.8 mPa.s (cP)

[0116] El Ejemplo 13 ilustra el efecto de la incorporación de 0.05 mg/ml de edetato disódico en la solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 5 mg/ml de hidrocloreto de apomorfina. Comparado con el Ejemplo 12, de composición similar pero en ausencia del antioxidante sinérgico, no se notó ninguna diferencia significativa en el producto.

**Ejemplo 14: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml glicerofosfato disódico  $\beta$  y 10  $\mu$ l/ml de polisorbato 80**

Parte A Solución de quitosan

[0117] 434 mg de glutamato de quitosan fueron añadidos lentamente agitando a una copa aforada conteniendo aproximadamente 18 ml de agua ultrapura. El contenido fue agitado hasta que ocurrió la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 20 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante

[0118] 9.2 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriado en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.266 ml l de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  562.5 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.106 ml de polisorbato 80 (Sigma Aldrich, UK) y 1.046 ml de agua ultrapura fueron añadidos agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fueron determinados como se detalla previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Hidrocloreto de apomorfina	5
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Polisorbato 80	10 $\mu$ l
Agua ultrapura <b>hasta</b>	1 ml
Solución pH	6.2
Inicio de gelificación (37 °C)	5-10 minutos
Viscosidad de la solución	114,4 mPa.s (cP)

[0119] El Ejemplo 14 ilustra la eficacia del polisorbato 80 para facilitar un inicio rápido de gelificación para un producto conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Se notó un inicio de gelificación de 5-10 minutos a 37 °C y una viscosidad de la solución de 114 mPa.s (cP), confirmando la idoneidad del polisorbato 80 mPa.s como una alternativa a la solución de quitosan auto-gelificante de citrato de trietilo.

**Ejemplo 15: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml glicerofosfato disódico  $\beta$ , 5 mg/ml de citrato de trietilo y 1 mg/ml de ácido málico**

Parte A solución de Quitosan

[0120] 57,5 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadieron agitando aproximadamente 7,5 ml de agua ultrapura. 11.5 mg de ácido málico (Sigma Aldrich, UK) se añadieron a la copa aforada agitando. Se añadieron lentamente 217 mg de glutamato de quitosan y el contenido se agitó hasta que sucediese la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante

[0121] 4,6 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.5 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.209 ml de agua ultrapura fueron añadidos agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fueron determinados como se detalla previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Hidrocloreto de apomorfina	5
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato de trietilo	5
Ácido málico	1
Agua ultrapura <b>hasta</b>	1 ml
Solución pH	6.1

Inicio de gelificación (37 °C)	5-10 minutos
Viscosidad de la solución	113,4 mPa.s (cP)

[0122] El Ejemplo 15 ilustra la eficacia del ácido málico para reducir la viscosidad de la solución para el producto que contiene 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Comparado con el Ejemplo de Referencia 3 (de composición similar pero conteniendo ácido ascórbico en lugar de ácido málico), el Ejemplo 15 presentó una viscosidad superior de solución a 25°C, lo cual es sin embargo aún significativamente más baja que un solución de control de similar concentración de polímero.

**Ejemplo 16: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan, 14.1 mg/ml glicerofosfato disódico  $\beta$ , 5 mg/ml de citrato de trietilo y 1 mg/ml de ácido tartárico**

Parte A solución de Quitosan

[0123] 57,5 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal y se añadieron agitando aproximadamente 7,5 ml de agua ultrapura. 11.5 mg de ácido tartárico (Sigma Aldrich, UK) se añadieron a la copa aforada agitando. Se añadieron lentamente 217 mg de glutamato de quitosan y el contenido se agitó hasta que ocurrió la disolución. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 10 ml, los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante

[0124] 4,6 ml de solución fría de quitosan Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson Microman y 0.5 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 0.209 ml de agua ultrapura fueron añadidos agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación y la viscosidad de la solución fueron determinados como se detalla previamente.

<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
Hidrocloruro de apomorfona	5
Glutamato de quitosan	18.8
$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
Citrato de trietilo	5
Ácido tartárico	1
Agua ultrapura hasta	1 ml
Solución pH	6.3
Inicio de gelificación (35 °C)	5-10 minutos
Viscosidad de la solución	83,8 mPa.s (cP)

[0125] El Ejemplo 16 ilustra la eficacia del ácido tartárico para reducir la viscosidad de la solución para el producto que contiene 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Comparado con el Ejemplo de Referencia 3 (de composición similar pero conteniendo ácido ascórbico en lugar de ácido tartárico), el Ejemplo 16 presentó una viscosidad superior de solución a 25°C, lo cual es sin embargo aún significativamente más baja que un solución de control de similar concentración de polímero.

**Ejemplo 17: Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo calcitonina de salmón 0.368 mg/ml (2000 IU/ml), glutamato de quitosan 18.8 mg/ml,  $\beta$ -glicerofosfato disódico 14.1 mg/ml, citrato de trietilo 5 mg/ml y ácido ascórbico 0,25 mg/ml**

Parte A Solución de calcitonina quitosan-salmón

[0126] 287,5 mg de citrato de trietilo se pesaron en una copa aforada de cristal silanizado de 100 ml y se añadió aproximadamente 38 ml de agua ultrapura. 2,875 ml de solución de ácido ascórbico de 5 mg/ml (preparada disolviendo 100 mg de ácido ascórbico en agua ultrapura en un matraz volumétrico de 20 ml y completando hasta el volumen) se añadieron a la solución de citrato de trietilo agitando. 4,25 mg de calcitonina de salmón (preparada disolviendo 100 mg de calcitonina de salmón (Polipeptide Laboratories Inc., Torrance CA, USA) en agua ultrapura en un matraz volumétrico de 20 ml y completando hasta el volumen) se añadieron a la copa aforada agitando. Se añadieron 1085 mg de glutamato de quitosan lentamente y el contenido se agitó hasta que el quitosan se disolvió. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 50 ml (silanizado), los lavados transferidos y el contenido completado hasta volumen con agua ultrapura y mezclado.

Parte B Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo calcitonina de salmón

[0127] 43,323 ml de solución fría de calcitonina de quitosan-salmón de Parte A (enfriada en hielo) se dispensaron en una copa aforada de cristal usando una pipeta Gilson y 4,71 ml de solución fría de glicerofosfato  $\beta$  150 mg/ml (enfriado en hielo) se añadió lentamente (a gotas) con agitación enérgica. 1.968

ml de agua ultrapura se añadieron agitando continuamente durante otros 5 minutos. El inicio de gelificación fue determinado como se detalló previamente.

	<u>Composición</u>	<u>mg/ml</u>
5	Calcitonina de salmón	0.368 (equivalente a 2000 IU/ml)
	Glutamato de quitosan	18.8
	$\beta$ -glicerofosfato disódico	14.1
	Citrato de trietilo	5
	Ácido ascórbico	0,25
10	Agua ultrapura hasta 1 ml	
	Solución pH 6.3	
	Inicio de gelificación (35 °C)	0-5 minutos
	Viscosidad de solución	39,6 mPa.s (cP)

[0128] El ejemplo 17 ilustra el efecto de la incorporación de 2000 IU/ml de calcitonina de salmón en solución auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan. Comparado con el Ejemplo de 9, de similar composición pero conteniendo 1 mg/ml de ácido ascórbico, el Ejemplo 17 presentó una viscosidad de solución ligeramente mayor y un inicio de gelificación ligeramente más rápido usando la técnica descrita previamente. No se notó ninguna diferencia significativa en el pH de la solución.

**Ejemplo 18: Absorción intranasal de la solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 2000 IU/ml de calcitonina de salmón en ovejas**

[0129] Solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 2000 IU/ml s-CT y 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan descrita en el Ejemplo 17, fue dosificada a ovejas en un estudio diseñado para determinar la influencia de solución de quitosan auto-gelificante en su efectividad como mejorador de absorción intranasal. La absorción de la calcitonina de salmón en ovejas fue evaluada a partir de una solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 18.8 mg/ml de quitosan y a partir de solución de control nasal. Las fórmulas dosificadas fueron como sigue:

Formulación 1 (F1) solución de calcitonina de salmón (control) conteniendo 2000 IU/ml s-CT

Formulación 2 (F2) solución de quitosan auto-gelificante conteniendo 2000 IU/ml s-CT y 18.8 mg/ml de glutamato de quitosan

[0130] El método de preparación de la solución de quitosan auto-gelificante es como se ha descrito en el Ejemplo 17. La solución de control fue preparada dispensando aproximadamente 35 ml de agua ultrapura dentro de una pequeña copa aforada de cristal y añadiendo 425 mg de cloruro de sodio (Sigma Aldrich, UK) agitando. Cuando el cloruro de sodio se había disuelto, la solución fue transferida a un matraz volumétrico silanizado de 50 ml y se añadió 2.5 ml de solución de cloruro de benzetonio 3 mg/ml (preparado disolviendo 60 mg de cloruro de benzetonio (Sigma Aldrich, UK) en 20 ml de agua ultrapura) agitando, seguido por 3.683 ml de solución de calcitonina de salmón 5 mg/ml. El pH de la solución fue ajustado a pH 4 usando 0.1M HCl, el contenido se completó hasta volumen y la solución se mezcló a conciencia.

[0131] Una dosis nominal de 0.6 ml de cada formulación (1200 IU) fue dosificada a cada una de seis ovejas. Se recogieron muestras de sangre y se separó el plasma. Se realizó análisis cuantitativo de la calcitonina de salmón en plasma usando un método ELISA. El análisis farmacocinético de datos fue realizado usando un programa WinNonlin para PC (Scientific Consulting Inc., Nort Carolina, USA). Un resumen de datos farmacocinéticos se proporciona en la Tabla 1. Curvas de Concentración Media de Plasma - Tiempo son presentadas en la Figura 1.

[0132] Como una solución simple, la calcitonina de salmón fue absorbida razonablemente bien desde la cavidad nasal de las ovejas. Para la solución de quitosan auto-gelificante, se notó un incremento marcado en C<sub>max</sub>, AUC y biodisponibilidad relativa (Frel). Además el T<sub>max</sub> también se extendió confirmando el tiempo de residencia prolongado entre la formulación y la superficie mucosal.

[0133] En conclusión el estudio demostró la capacidad de la solución de quitosan auto-gelificante de mejorar el tiempo de residencia entre la formulación y la mucosa nasal, con la consecuencia de biodisponibilidad mejorada de la calcitonina de salmón después de la administración intranasal a ovejas.

Formulación	Parámetros PK	Media	SD	CV(%)
F1: solución nasal de control	T <sub>max</sub> (min)	10	6	60
	C <sub>max</sub> (pg/ml)	60.0	26.0	43
	AUC <sub>last</sub> (pg.min/ml)	993	618	62
	Dosis (IU)	1200	0	0
	Frel (%)	100	-	
F2: solución de quitosan auto-gelificante	T <sub>max</sub> (min)	18	10	56
	C <sub>max</sub> (pg/ml)	148.0	44.0	30
	AUC <sub>last</sub> (pg.min/ml)	6520	4648	71
	Dosis (IU)	1200	0	0
	Frel (%)	657	468	71
Frel: biodisponibilidad respecto a la solución de control nasal				

5

10

15

20

25

30

35

40

**Reivindicaciones**

1. Una composición de suministro de medicamento nasal u ocular en forma de una solución acuosa o suspensión para suministro de un agente terapéutico por una superficie mucosal ocular o nasal en la circulación sistémica que comprende:
  - (i) quitosan, una sal del mismo o derivado del mismo que ha sido formado por unión de grupos acilo o alquilo con grupos hidroxilo del quitosan o una sal de un derivado tal del mismo;
  - (ii) un sal de fosfato de poliol o fosfato de azúcar;
  - (iii) citrato de trietilo como un plastificante; y
  - (iv) un agente terapéutico que actúa sistémicamente.
2. Una composición de acuerdo a la Reivindicación 1 para suministro nasal.
3. Una composición de acuerdo a la Reivindicación 1 o 2, donde la sal fosfato de poliol es  $\beta$  glicerofosfato disódico.
4. Una composición de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en donde el quitosan, sal del mismo o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo tiene un peso molecular de 4000 Dalton o mayor.
5. Una composición de acuerdo a la Reivindicación 4, en donde el quitosan, sal del mismo o derivado del mismo o sal de un derivado del mismo, tiene un peso molecular de desde 50,000 hasta 300,000 Dalton.
6. Una composición de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, que comprende base de quitosan o una sal nitrato, fosfato, sulfato, citrato, hidrocloreuro, glutamato, lactato o acetato de quitosan.
7. Una composición de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en donde el quitosan tiene un grado de desacetilación del 40% o mayor.
8. Una composición de acuerdo a la Reivindicación 7, en donde el grado de desacetilación es desde 70 a 90%.
9. Una composición de acuerdo a las Reivindicaciones precedentes que comprende desde 0.25 a 3.0% p/v de quitosan, una sal o un derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo expresado como base de quitosan.
10. Una composición de acuerdo a la Reivindicación 9 que comprende desde 0.45 a 1.5 %p/v de quitosan, una sal o un derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo expresado como base de quitosan.
11. Una composición de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en donde la sal fosfato de poliol o fosfato de azúcar está presente en una cantidad desde 0.25 a 3.0 % p/v.
12. Una composición de acuerdo a la Reivindicación 11, en donde la sal fosfato de poliol o fosfato de azúcar está presente en una cantidad desde 0.75 a 2.0 % p/v.
13. Una composición de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones precedentes que comprende desde 0.05 a 5.0 % p/v de citrato de trietilo.
14. Una composición como reivindicado en la Reivindicación 13 que comprende desde 0.2 hasta 1.0 % p/v de citrato de trietilo.
15. Una composición de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones precedentes que comprende adicionalmente ácido ascórbico.
16. Una composición de acuerdo a la Reivindicación 15 que comprende desde 0.01 a 0.2 % p/v de ácido ascórbico.
17. Una composición de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en donde el agente terapéutico es un medicamento polar, un gen o un constructo de gen.
18. Una composición de acuerdo a la Reivindicación 17, en donde el agente terapéutico es insulina, calcitonina, leuprolida, hormona liberadora de hormona luteinizante, hormona de crecimiento o una hormona liberadora de hormona de crecimiento, naratriptan, sumatriptan, zolmitriptan, rizatriptan, eletriptan, frovatriptan, alnitidan, avitriptan, almotriptan, apomorfina, sildenafil, alprostadil, diamorfina, hidromorfona, buprenorfina, fentanil, oxicodona, codeína, morfina o morfina-6-glucuronida.
19. Un dispositivo de suministro de medicamento adecuado para suministro por medio de uno o más de las vías nasales u oculares o un cartucho de dosis para usar con tal dispositivo cargado con una composición como se defina en cualquiera de las Reivindicaciones precedentes.
20. Un proceso para la preparación de la composición como se defina en cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 18, cuyo proceso comprende mezclar una solución que comprende quitosan o una sal del mismo o derivado del mismo o una sal de un derivado del mismo con una solución que comprende una sal fosfato de poliol o fosfato de azúcar.
21. El uso de la combinación de quitosan o una sal del mismo o derivado del mismo que ha sido formado

por unión de grupos acilo o alquilo con los grupos hidroxilo del quitosan o una sal de tal derivado del mismo, una sal fosfato de poliol o fosfato de azúcar y citrato de trietilo como un plastificante en la fabricación de un medicamento para suministro nasal u ocular de un agente terapéutico actuando sistémicamente.

5

Figura 1 Concentración Media de Plasma-perfiles de tiempo después de la absorción de plasma de s-CT en ovejas

