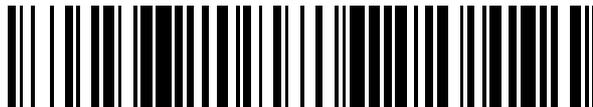


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 385**

51 Int. Cl.:

A61K 9/14 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61K 31/14 (2006.01)
A61K 31/436 (2006.01)
A61K 31/573 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/22 (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.05.2010 E 10786539 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2015 EP 2440185**

54 Título: **Sistemas de suministro tópico para uso oftálmico**

30 Prioridad:

09.06.2009 US 185396 P

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

08.06.2015

73 Titular/es:

AURINIA PHARMACEUTICALS INC. (100.0%)
4464 Markham Street, Suite 1203
Victoria, BC V8Z 7X8, CA

72 Inventor/es:

MITRA, ASHIM K.;
VELAGALETI, POONAM R. y
GRAU, ULRICH M.

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 537 385 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 de suministro tópico para uso oftálmico

5 Campo

Las modalidades descritas en la presente invención se refieren a los sistemas de suministro tópico, y más particularmente a las formulaciones nanomicelares mixtas de corticosteroides y métodos para tratar enfermedades que afectan los segmentos oculares posteriores.

10

Antecedentes

15

El mercado oftálmico incluye afecciones frontales del ojo tal como glaucoma, donde los fármacos se pueden suministrar usando gotas oculares y otras formulaciones oftálmicas convencionales; y enfermedades de la retina que afectan el vítreo o parte posterior del ojo, tales como degeneración macular asociada a la edad (AMD) y edema macular del diabético (DME), que son las principales causas de la pérdida de visión en el mundo occidental.

20

La enfermedad y lesión en la superficie anterior del ojo son las principales causas de visitas a los médicos que cuidan de los ojos en los Estados Unidos. Estas enfermedades y lesiones se encuentran entre las afecciones más dolorosas de los ojos y pueden conducir a la discapacidad y la ceguera. Los principales problemas clínicos de la superficie del ojo incluyen el secado superficie ocular, alteraciones de la película lagrimal, y las complicaciones asociadas; heridas de la superficie ocular con patología y cicatriz resultante; distrofias de disfunción de la córnea y enfermedad hereditaria; enfermedad inflamatoria; e infecciones oculares externas. Enfermedades y lesiones oculares pueden tener síntomas que van desde picazón, ojos llorosos, a deterioro de la visión. Por lo tanto, es importante ocuparse de los problemas de los ojos de inmediato, ya que algunas enfermedades pueden empeorar progresivamente o incluso desencadenar otros serios problemas. La mayoría manejo farmacológico de la enfermedad ocular incluye la aplicación tópica de soluciones en la superficie del ojo en forma de gotas. A pesar de que una proporción relativamente pequeña de una dosis de fármaco tópicamente aplicada alcanza el segmento anterior de los tejidos oculares, las formulaciones tópicas continúan siendo eficaces, en gran parte debido a las altas concentraciones de fármacos que se administran.

30

La enfermedad y lesión en los tejidos del segmento posterior del ojo, incluyendo la retina y la coroides, se involucra en muchas de las enfermedades más comunes que causan ceguera en el mundo industrializado. La degeneración macular asociada a la edad (AMD) impacta sólo en más de 10 millones de estadounidenses. La pérdida de visión severa de AMD y otras enfermedades que afectan al segmento posterior, incluyendo retinopatía diabética, glaucoma, retinitis pigmentosa responden por la mayoría de los casos de ceguera irreversible mundial. En la actualidad, el tratamiento de la enfermedad del segmento posterior está limitado en gran medida por la dificultad en el suministro de las dosis eficaces de fármacos a los tejidos objetivos en la parte posterior del ojo. Mientras que nuevos fármacos han surgido para el tratamiento de estas enfermedades, el estándar de cuidado actual es la administración por inyección directa en el vítreo. Este tipo de régimen no sólo es difícil para los pacientes que sufren, sino que conlleva un riesgo cada vez mayor de daño e infección tisular. Las gotas tópicas raramente lo hacen en la parte posterior del ojo y una barrera hemato-ocular evita que los fármacos administrados sistémicamente penetren el tejido ocular.

35

40

WO 2009/048929 A1 describe composiciones oftálmicas que comprenden inhibidores de la calcineurina o inhibidores de mTOR. Las composiciones incluyen un inhibidor de la calcineurina o un inhibidor de mTOR; un primer surfactante con un índice HLB mayor que aproximadamente 10; y un segundo surfactante con un índice HLB mayor que aproximadamente 13. Las composiciones forman micelas mixtas."

45

Resumen

50

Las modalidades descritas en la presente invención se refieren a los sistemas de suministro tópico para uso oftálmico, que incluyen las formulaciones nanomicelares mixtas de corticosteroides y su uso para tratar enfermedades que afectan los segmentos oculares posteriores.

55

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona una solución oftálmica acuosa que comprende nanomicelas en un tampón fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde se solubiliza la dexametasona a una concentración en el intervalo de aproximadamente 0.01 % p/v a aproximadamente 1.00 % p/v a través del atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrófilas que se extienden desde el núcleo hidrofóbico, en donde las nanomicelas comprenden la vitamina E succinato de tocoferol polietilenglicol

(TPGS) en una concentración en el intervalo de aproximadamente 2.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v estabilizadas con octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0 % p/v a aproximadamente 3.0 % p/v. En una modalidad, la solución oftálmica acuosa tiene un pH de 6.6 a 7.0.

5 De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona la formulación de colirios que comprende:

dexametasona a una concentración en el intervalo de aproximadamente 0.01 % p/v a aproximadamente 1.00 % p/v; vitamina E polietilenglicol succinato de tocoferol (TPGS) a una concentración en el intervalo de aproximadamente 2.0 % p/v a aproximadamente 5.0 % p/v; y

10 octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0 % p/v a aproximadamente 3.0 %, p/v, en donde se solubiliza la dexametasona a través del atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto de vitamina E TPGS y el octoxinol-40. Puede ser que después de la administración de una dosis única de la formulación de colirios a un conejo, los niveles de dexametasona tisular en la retina-coroides posterior son equivalentes a concentraciones de al menos 30 ng/g.

15 Una solución oftálmica acuosa o una formulación de colirios de la invención pueden ser para uso en el tratamiento de una afección ocular de la parte posterior del ojo.

De acuerdo con tercer aspecto de la invención, se proporciona un estuche que comprende:

20 una dosis única de una solución oftálmica acuosa que comprende nanomicelas en un tampón fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde se solubiliza la dexametasona a una concentración en el intervalo de aproximadamente 0.01 % p/v a aproximadamente 1.00 % p/v a través del atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrófilas que se extienden desde el núcleo hidrofóbico, en donde las nanomicelas comprenden la vitamina E succinato de tocoferol polietilenglicol (TPGS) en una concentración en el intervalo de aproximadamente 2.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v estabilizadas con octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0 % p/v a aproximadamente 3.0 % p/v en donde, la dosis única está contenida dentro de un vial preparado a partir de un material de envasado farmacéuticamente aceptable. En una modalidad, la dosis única es aproximadamente 50 µL.

30 Se describe además en la presente invención un método para tratar una afección ocular de la parte posterior del ojo que incluye administrar a un ojo de un paciente una cantidad eficaz de una solución oftálmica acuosa que comprende nanomicelas en un tampón fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde un corticosteroide en una concentración en el intervalo de aproximadamente 0.01 % p/v a aproximadamente 1.00 % p/v se solubiliza a través del atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrófilas que se extienden desde el núcleo hidrofóbico, en donde las nanomicelas comprenden la vitamina E TPGS en una concentración en el intervalo de aproximadamente 2.0 % p/v a aproximadamente 5.0 % p/v estabilizadas con octoxinol-40 en una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0 % p/v a aproximadamente 3.0 % p/v.

40 Se describe además en la presente invención un método para tratar una enfermedad de la parte posterior del ojo que incluye aplicar tópicamente una formulación de la presente descripción al ojo, la formulación que comprende una solución acuosa de nanomicelas cargadas con corticosteroides; transportar las nanomicelas-cargadas con corticosteroides por difusión pasiva a través de los canales/poros acuosos de la esclerótica; transportar las nanomicelas-cargadas con corticosteroides por endocitosis a través de la coroides en el lado basolateral del epitelio pigmentario de la retina; descargar el corticosteroide de las nanomicelas en el epitelio pigmentario de la retina; y tratar la enfermedad de la parte posterior del ojo.

Breve descripción de las figuras

50 Las modalidades actualmente descritas se explicarán más aun con referencia a los dibujos adjuntos, en donde estructuras similares son referidas por números similares en las diversas vistas. Los dibujos que se muestran no están necesariamente a escala, en su lugar generalmente con énfasis de situar en la ilustración los principios de las modalidades actualmente descritas.

55 La **FIG. 1** es una representación esquemática de una modalidad de la permeación de un fármaco hidrofóbico aplicado en forma tópica a través de canales/poros acuosos de la esclerótica del ojo y evasión de vasos sanguíneos coroides/conjuntivales y linfáticos usando una formulación de la presente descripción.

Si bien los dibujos anteriormente identificados exponen modalidades actualmente descritas, otras modalidades se contemplan también, como se indica en la discusión. Esta descripción presenta modalidades ilustrativas en forma de representación y no de limitación

5

Descripción detallada

Las modalidades actualmente descritas se refieren a nanomicelas mixtas no irritantes que comprenden fármacos (hidrófobas) insolubles en agua. La solubilización del fármaco hidrofóbico se logra a través de atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrófilas que se extienden desde el núcleo hidrofóbico. En una modalidad, las nanomicelas se componen de dos surfactantes no iónicos; un primer surfactante no iónico con un índice HLB mayor que aproximadamente 10 y un segundo surfactante no iónico con un índice HLB mayor que aproximadamente 13, en una relación definida. En una modalidad, la diferencia absoluta entre el índice HLB del primer surfactante no iónico y el índice HLB del segundo surfactante no iónico es mayor que aproximadamente 3. En una modalidad, el primer surfactante no iónico actúa como la estructura esférica principal y el segundo surfactante no iónico añade resistencia a la estructura nanomicelar mediante la inserción de sí mismo entre dos cadenas poliméricas del primer surfactante no iónico. En una modalidad, un vehículo adecuado para las nanomicelas es una solución acuosa. Tal estabilización se cree que resulta en la formación de soluciones acuosas de fármacos extremadamente hidrofóbicos que tienen claridad óptica. Una solución acuosa de nanomicelas de la presente descripción puede comprender otros componentes, incluyendo, pero no se limitan a, un agente amortiguador, un agente de isotonicidad, un surfactante, un agente quelante, un agente antibacteriano, un agente anti-infeccioso, un agente de diagnóstico y un conservante. En conjunto, una solución acuosa de nanomicelas mixtas de la presente descripción, que incluyen opcionalmente otros componentes (como se describió anteriormente), se conoce como una "formulación" de la presente descripción.

En una modalidad, las nanomicelas mixtas de la presente descripción pueden mejorar sustancialmente la solubilidad y biodisponibilidad del corticosteroide. En una modalidad, las nanomicelas mixtas de la presente descripción comprenden dexametasona puede mejorar la solubilidad de la dexametasona en hasta aproximadamente 10 veces.

En una modalidad, las nanomicelas mixtas de la presente descripción, con un tamaño en el intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 20 nm, permiten la acumulación eficiente del corticosteroide en los tejidos enfermos objetivos. En una modalidad, una solución acuosa de nanomicelas mixtas de la presente descripción se puede usar como una plataforma de suministro de fármaco aplicado en forma tópica para el suministro de un corticosteroide a la parte posterior del ojo. Las soluciones se pueden suministrar manualmente al ojo en forma de dosificación adecuada, por ejemplo, gotas oculares, o suministrar mediante aparato de microgota o atomizador adecuado típicamente facilitándose una dosis de medicamento dosificada. Se ha encontrado que después de la administración tópica de una formulación de las modalidades actualmente descritas, el corticosteroide es capaz de alcanzar la parte posterior del ojo. Como se mostrará en los Ejemplos más abajo, significativamente altos niveles de dexametasona se encontraron en la parte posterior del ojo sin resultar en niveles significativos en la lente y el humor vítreo, lo que sugiere que el corticosteroide no alcanza la parte posterior del ojo a través de una vía convencional que pasa a través del ojo. En su lugar, se cree que el fármaco está siendo transferido a la parte posterior del ojo a través de una vía no convencional que pasa alrededor del ojo. Por lo tanto, una formulación de las modalidades actualmente descritas es particularmente útil para la aplicación tópica en el ojo de un paciente para el tratamiento de afecciones oculares de la parte posterior del ojo.

En una modalidad, una formulación de la presente descripción se aplica en forma tópica a un ojo. En una modalidad, una formulación de la presente descripción se usa para tratar, reducir, prevenir, mejorar y aliviar las afecciones oculares en un paciente o sujeto. En una modalidad, una formulación de la presente descripción se usa en el tratamiento de un trastorno y enfermedad del segmento posterior. En una modalidad, una formulación de la presente descripción se usa para el tratamiento de una afección ocular de la parte posterior del ojo (posterior), incluyendo, pero no se limitan a, uveítis idiopática, inflamación de la superficie ocular, degeneración macular asociada a la edad (AMD, húmeda y seca), afecciones diabéticas oculares, incluyendo retinopatía y maculopatía diabética, edema macular, glaucoma, neuritis óptica, hipertensión ocular, inflamación y dolor ocular post-operatorio, neovascularización del segmento posterior (PSNV), vitreorretinopatía proliferativa (PVR), retinopatía hipertensiva, retinitis por citomegalovirus (CMV), membranas neovasculares coroidales (CNVM), enfermedades oclusivas vasculares, retinitis pigmentosa, neuralgia, envejecimiento (por ejemplo, relajantes musculares y otros productos estéticos), enfermedades cicatrizantes de la superficie ocular, infecciones oculares, enfermedades oculares inflamatorias, enfermedades de la superficie ocular, enfermedades de la córnea, enfermedades de la retina, manifestaciones oculares de las enfermedades sistémicas, afecciones hereditarias de los ojos y tumores oculares.

Se encontró que después de la administración tópica de una formulación de la presente descripción, el fármaco es capaz de

alcanzar la parte posterior del ojo. Hay dos rutas potenciales para que las moléculas alcancen los tejidos posteriores del ojo tras la administración tópica: (1) ruta intraocular a través de la córnea, humor acuoso, lente, humor vítreo y finalmente la retina; y (2) la ruta trans-esclerótica alrededor de la conjuntiva, a través de la esclerótica, coroides y retina. Para fármacos hidrofóbicos, la ruta intraocular frecuentemente no tiene éxito ya que el estroma hidrofílico se convierte en una barrera limitante de la velocidad para la absorción de trans-corneal. Además, el humor acuoso en los segmentos anterior y posterior fluye en direcciones opuestas y obstaculiza el paso de moléculas desde el humor acuoso a la lente y, posteriormente, a través de los espacios zonulares de la lente para el humor vítreo, haciéndola así una vía desfavorable. La ruta trans-esclerótica ofrece una ruta más viable para el suministro a la parte posterior del ojo de moléculas hidrofóbicas por difusión pasiva a través de los canales/poros acuosos escleróticos.

Los fármacos insolubles en agua, como la dexametasona, encapsulados en nanomicelas mixtas, forman estructuras esféricas de moléculas anfifílicas en agua. La **FIG. 1** es una representación esquemática de una modalidad de la permeación de un fármaco insoluble en agua aplicado tópicamente a través de canales/poros acuosos de la esclerótica del ojo y evasión de vasos sanguíneos coroideos/conjuntivales y linfáticos usando una solución acuosa de nanomicelas mixtas de la presente descripción. En una modalidad, un método para tratar una enfermedad de la parte posterior del ojo que incluye administrar (por ejemplo, aplicando en forma tópica) una formulación de la presente descripción al ojo, la formulación que comprende una solución acuosa de nanomicelas insolubles en agua cargadas con fármaco; transportar las nanomicelas insolubles en agua cargadas con fármaco por difusión pasiva a través de los canales/poros acuosos de la esclerótica; transportar las nanomicelas insolubles en agua cargadas con fármaco mediante endocitosis a través de la coroides en el lado basolateral del epitelio pigmentario de la retina; descargar el fármaco insoluble en agua de las nanomicelas en el epitelio pigmentario de la retina; y tratar la enfermedad de la parte posterior del ojo. En una modalidad, las cadenas hidrófilas en la corona nanomicelar impiden parcialmente el lavado en los vasos sanguíneos de la coroides/conjuntival y linfáticos. En una modalidad, la penetración intraocular limitada del fármaco se logra como resultado de la aplicación en forma tópica de la formulación de la presente descripción. En una modalidad, la penetración intraocular limitada del fármaco resulta en la concentración insignificante del fármaco insoluble en agua en la lente y el humor vítreo del ojo. En una modalidad, la penetración intraocular limitada del fármaco resulta en la presión intraocular (IOP) que permanece sustancialmente igual, es decir, no hay aumento en la IOP debido a la aplicación tópica de la formulación. En una modalidad, la penetración intraocular limitada del fármaco resulta en que no exista desarrollo de cataratas.

La superficie externa de la estructura nanomicelar mixta sobresale los grupos -OH hidrofílicos para el medio exterior. Se cree que debido a su corona hidrófila, estos nanovehículos micelares pueden pasar a través de los canales acuosos/poros de la esclerótica, que están en el intervalo de 30 nm a aproximadamente 300 nm de tamaño. Las nanomicelas se pueden absorber después en el lado basolateral de la Retina del Epitelio Pigmentario (RPE) a través de endocitosis. Los contenidos de los nanovehículos micelares se descargan dentro de la célula después de la fusión con el membrana celular. Se cree que durante el tránsito, la corona nanomicellar hidrófila ayuda a impedir el lavado del fármaco en la circulación sistémica por los vasos sanguíneos coroideos/conjuntivales y linfáticos. En una modalidad, una formulación de la presente descripción es capaz de llevar moléculas de fármacos hidrofóbicos en cantidades terapéuticas a la retina, membrana de Bruch y RPE. Ya que las nanomicelas mixtas pueden llevar los fármacos hidrofóbicos preferentemente a través de la conjuntiva y la esclerótica en lugar de a través de la córnea, la lente y vítreo, niveles insignificantes o niveles no detectables se observan en la lente y vítreo. Por lo tanto, las formulaciones de las modalidades actualmente descritas son particularmente útiles para la aplicación tópica en el ojo de un paciente para el tratamiento de afecciones oculares de la parte posterior (posterior) del ojo.

Un paciente o sujeto que se trata con una formulación de la presente descripción pueden significar ya sea un animal humano o un no-humano. En una modalidad, la descripción proporciona métodos para el tratamiento de afecciones oculares de la parte posterior del ojo en un paciente humano que lo necesita. En una modalidad, la descripción proporciona métodos para el tratamiento de afecciones oculares de la parte posterior del ojo en un paciente veterinario que lo necesita, incluyendo, pero no se limitan a perros, caballos, gatos, conejos, jerbos, hámsters roedores, aves, mamíferos acuáticos, ganado, cerdos, camélidos y otros animales zoológicos.

Como se usa en la presente, los términos "micelas" y "nanomicelas" se refieren a un agregado (o aglomerado) de moléculas surfactantes. Las micelas sólo se forman cuando la concentración de surfactante es mayor que la concentración micelar crítica (CMC). Los surfactantes son productos químicos que son anfipático, lo que significa que contienen tanto grupos hidrofóbicos como hidrofílicos. Las micelas en diferentes formas, incluyendo esférica, cilíndrica, y discoidal. Una micela que comprende al menos dos especies moleculares diferentes es una "micela mixta". Las nanomicelas son partículas coloidales con intervalos de tamaño nanométrico, que forman estructuras esféricas de moléculas anfifílicas en agua

Las micelas poliméricas son explotadas como nanovehículos farmacéuticos para el suministro de fármacos poco solubles en agua, que pueden solubilizarse en el núcleo interior hidrofóbico de una micela. Las micelas pueden servir por lo tanto para

mejorar la solubilidad y biodisponibilidad de diversos fármacos hidrofóbicos (insolubles en agua). (Lukynov y otros, Polyethylene glycol-diacyl lipid micelles demonstrate increased accumulation in subcutaneous tumors in mice. Pharm. Res. 2002, 19:1424-1429.) El pequeño tamaño (típicamente de aproximadamente 10 a 100 nm) de las micelas permite la ventaja de la esterilización de micelas por filtración a través de membranas con el valor de corte de 0.22 μm . Otro ejemplo de una formulación micelar mixta se describe, por ejemplo, por Mu y otros, 2005, que comprende el conjugado de polietilenglicol fosfatidiletanolamina y la vitamina E TPGS en una formulación micelar mixta del fármaco anticanceroso pobremente soluble camptotecina. (Mu y otros, Int. J. Pharmaceutics 2005, 306:142-149). Las micelas pueden formarse a partir de uno o más surfactantes no iónicos poliméricos. Dado que el tamaño de micelas es menor que las longitudes de onda de luz, se cree que la luz no se dispersa por las pequeñas micelas, resultando en una solución ópticamente transparente.

Como se usa en la presente, el término "LX214" se refiere a una formulación tópica 0.2% del potente inhibidor de la calcineurina, voclosporina. La formulación tópica es una solución acuosa no irritante de nanomicelas mixtas, las nanomicelas comprenden una mezcla de cantidades definidas de octoxinol-40 con vitamina E TPGS. En una modalidad, la formulación tópica tiene claridad óptica. En una modalidad, el tamaño medio de las nanomicelas está en el intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 30 nm, de aproximadamente 12 nm a aproximadamente 28 nm, de aproximadamente 14 nm a aproximadamente 26 nm, de aproximadamente 16 nm a aproximadamente 24 nm, de aproximadamente 18 nm a aproximadamente 22 nm.

Como se usa en la presente, el término "claridad óptica" se define como el 90% o mayor transmisión de luz de 400 nm de longitud de onda en una trayectoria de 1.0 centímetro. Una solución oftálmica acuosa de la presente descripción tiene un alto grado de claridad óptica. La claridad óptica de la solución resulta del tamaño nanomicelar que es típicamente más pequeño que la longitud de onda menor de una radiación de luz visible (aproximadamente 350 nm). En una modalidad, las formulaciones de la presente descripción son sustancialmente claras con una pérdida de absorción menos de aproximadamente 0.1% por micrómetro de longitud de la trayectoria. En una modalidad, las formulaciones de la presente descripción son sustancialmente claras con una pérdida de absorción menor de aproximadamente 0.05 % por micrómetro de longitud de la trayectoria medida a 400 nm.

El valor del índice HLB (equilibrio hidrofílico/lipófilo) es un concepto introducido por Griffin en 1950 como una medida de la hidrofilia o lipofilia de agentes surfactantes no iónicos. El valor del índice HLB se puede determinar experimentalmente por el método de titulación del fenol de Marszall; ver "Parfumerie, Kosmetik", Vol. 60, 1979, págs. 444-448; referencias adicionales de la literatura se pueden encontrar en Rompp, Chemistry Lexicon, 8va Edición 1983, pág. 1750. Ver además, por ejemplo, patente de Estados Unidos núm. 4,795,643 (Seth).

Por "tratar" o "tratamiento" se entiende el manejo médico de un sujeto (por ejemplo, un paciente) con la intención de que resultará en una prevención, curación, estabilización o mejoría de los síntomas. El tratamiento incluye el tratamiento activo, es decir, tratamiento dirigido específicamente hacia la mejoría de la enfermedad; tratamiento paliativo, que es, el tratamiento diseñado para el alivio de los síntomas en lugar del curado de la enfermedad; el tratamiento preventivo, es decir, el tratamiento dirigido a la prevención de la enfermedad; y el tratamiento de apoyo, que es, el tratamiento empleado para complementar otra terapia específica dirigida hacia la mejoría de la enfermedad. Como tal, "tratamiento" se refiere además a retrasar el inicio de la enfermedad o trastorno, o inhibir la enfermedad o trastorno, proporcionando de ese modo un beneficio profiláctico.

En las modalidades descritas en la presente invención, una cantidad terapéuticamente eficaz se aplica en forma tópica en el ojo de un sujeto que necesita de tratamiento. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad del agente terapéutico, ya sea como un compuesto individual o en conjunto con otros compuestos que es suficiente para inducir un efecto terapéutico o beneficio profiláctico de la enfermedad o afección que se trata. Esta frase no debe entenderse en el sentido de que la dosis debe erradicar completamente la enfermedad. Una cantidad terapéuticamente eficaz variará en dependencia de, entre otros, las propiedades farmacológicas del compuesto usado en los métodos, la afección a tratar, la frecuencia de administración, el modo de suministro, características del individuo a tratar, la gravedad de la enfermedad, y la respuesta del paciente.

Para tratar la enfermedad ocular, las formulaciones de la presente descripción se pueden aplicar en forma tópica en el(os) ojo(s) afectado(s). En algunas modalidades, la formulación ocular puede aplicarse en volúmenes definidos, tales aproximadamente de 10, 20, 35, 50, 75, 100, 150, o 200 μl o más. La frecuencia de aplicación dependerá, entre otros, del tipo de enfermedad ocular que se trata, la gravedad de la afección, edad y sexo del paciente, la cantidad del fármaco insoluble en agua en la formulación, y el perfil farmacocinético en el tejido ocular a tratar. En algunas modalidades, la formulación se puede administrar más de un veces por día. Cuando las formulaciones se administran más de una vez por día, la frecuencia de administración puede ser de dos, tres, cuatro, hasta ocho veces por día. En algunas modalidades, la

formulación puede ser administrada una a cuatro veces al día. En algunas modalidades, la formulación puede ser aplicada una vez cada dos días. En algunas modalidades, la formulación puede ser aplicada una vez cada cuatro días. En algunas modalidades, la formulación puede ser administrada una vez a la semana. La determinación de la frecuencia y la cantidad a administrar para un trastorno ocular en particular está bien dentro de la experiencia y el juicio del médico practicante.

En algunas modalidades, una formulación ocular de la presente descripción se puede proporcionar en la forma de un estuche. Como tal, el estuche puede contener la formulación ocular en un recipiente, un vial, como unidad de dosis única o como un reservorio de solución única. El estuche puede contener también un dispensador para dispensar las dosis medidas, así como instrucciones para la dosificación y el uso de las formulaciones. En una modalidad, la unidad del estuche proporciona también un medio dispensador secuencial que contienen una pluralidad de conjuntos diarios de componentes de la sub-unidad del estuche, tales como una serie de frascos, botellas, recipientes o ampollas que contienen un suministro (dosis unitaria) de la formulación.

Es parte de esta descripción que una formulación de la presente descripción comprende de aproximadamente 0.01% p/v a aproximadamente 80% p/v, de aproximadamente 0.05% p/v a aproximadamente 16% p/v, de aproximadamente 0.10% p/v a aproximadamente 3.2% p/v. En una modalidad, una formulación de la presente invención comprende de aproximadamente 0.15% p/v a aproximadamente 0.60% p/v del fármaco insoluble en agua. En una modalidad, una formulación de la presente invención comprende de aproximadamente 0.20 % p/v del fármaco insoluble en agua. En una modalidad, una formulación de la presente invención comprende de aproximadamente 0.10% p/v del fármaco insoluble en agua. Clases adecuadas de fármacos insolubles en agua que caen fuera de las reivindicaciones incluyen, pero no se limitan a, péptidos, péptidos cíclicos (por ejemplo, algunos inhibidores de la calcineurina), eicosanoides (por ejemplo, prostaciclina y prostaglandinas), fármacos anti-inflamatorios, fármacos inmunosupresivos (por ejemplo, algunos inhibidores de mTOR), fármacos autonómicos (por ejemplo, beta-bloqueadores, alfa-bloqueadores, beta-agonistas, y alfa-agonistas), fármacos antiangiogénicos, productos biológicos, agentes de terapia génica (por ejemplo, vectores virales), antiinfecciosos (por ejemplo, antifúngicos, antibióticos, y antivirales), anticuerpos monoclonales y fragmentos de los mismos, retinoides, iARN, fotosensibilizadores, mezcla de fármacos, inmuno-moduladores, agentes quimioterapéuticos, antagonistas del receptor acoplado a la proteína G, inhibidores del receptor de la tirosina quinasa (RTK), inhibidores de la hormona del crecimiento, inhibidores de la integrina, inhibidores de la ruta Sdf1/CXCR4, antagonistas del receptor nACh, análogos o sales ésteres o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos. Otras clases adecuadas de fármacos insolubles en agua incluyen esteroides, por ejemplo, corticosteroides. Las formulaciones pueden incluir además excipientes farmacéuticos, incluyendo, pero no se limitan a, agentes antibacterianos, agentes anti-infecciosos, agentes de diagnóstico y conservantes.

Inhibidores de la calcineurina

La calcineurina es una proteína fosfatasa regulada por calcio/calmodulina implicada en la señalización intracelular. Para revisiones de la calcineurina, ver por ejemplo, Rusnak y Mertz, *Physiol. Rev.* 80, 1483-1521 (2000) y Feske y otros, *Biochem. Biophys. Commun.* 311, 1117-1132 (2003). Los inhibidores de la calcineurina son sustancias que bloquean la desfosforilación de la calcineurina de sustratos adecuados, enfocando la fosfatasa de la calcineurina (PP2B, PP3), una enzima celular que participa en la regulación génica. Inhibidores de la calcineurina se encontraron siendo eficaces en la inhibición, entre otras cosas, de la proliferación de células T, y este modo de acción contribuye a los efectos clínicos de inhibidores de la calcineurina para tratar la inflamación crónica y actúan como inmunosupresivos.

Un inhibidor de la calcineurina de la presente descripción es preferentemente un compuesto de unión a la inmunofilina que tiene actividad inhibitoria de la calcineurina. Los inhibidores de la calcineurina que se unen a la inmunofilina son compuestos que forman complejos de inhibición de la calcineurina con las inmunofilinas, por ejemplo ciclofilina y macrofilina. Los ejemplos de inhibidores de la calcineurina que se unen a la ciclofilina son ciclosporinas o derivados de ciclosporina (ciclosporinas en adelante) y ejemplos de inhibidores de la calcineurina que se unen a macrofilina son ascomicina y derivados de la ascomicina (ascomicinas en adelante), ver por ejemplo, Liu y otros, *Cell* 66, 807-815 (1991) y Dumont y otros, *J. Exp. Med.*, 176, 751-780 (1992). Ascomicinas y su preparación son conocidas. La ascomicina (FR 520) es un antibiótico macrólido descrito por ejemplo en la patente de Estados Unidos núm. 3,244,592 y en EP 349061. Se conocen una amplia variedad de derivados de la ascomicina, que son ya sea de origen natural entre las especies fúngicas o se obtienen mediante la manipulación de los procedimientos de fermentación o por derivatización química. Los macrólidos de tipo ascomicina incluyen ascomicina, tacrolimus (FK506) y pimecrolimus.

La ciclosporina es un péptido fúngico compuesto por 11 aminoácidos. Ha estado en uso desde 1983 como un fármaco inmunosupresor. La ciclosporina inhibe la producción de IL-2. La ciclosporina se une a la proteína citosólica ciclofilina (un inmunofilina) de los linfocitos inmunocompetentes, especialmente linfocitos T. El complejo de la ciclosporina y ciclofilina inhibe la calcineurina, que en circunstancias normales induce la transcripción de la interleucina-2. La ciclosporina inhibe

también la producción de linfoquinas y la liberación de interleucina, que conduce a una función reducida de las células T efectoras. La ciclosporina se usa en el tratamiento de reacciones de rechazo agudo, pero se ha sustituido cada vez más con nuevos inmunosupresivos debido a nefrotoxicidad.

5 Las ciclosporinas y su preparación son, por ejemplo descritas en la patente de Estados Unidos núm. 4,117,118. La ciclosporina, originalmente extraída del hongo del suelo *Potrypaciadium infilatum*, tiene una estructura de 11-aminoácidos cíclicos e incluye por ejemplo, las ciclosporinas A a I, tales como ciclosporina A, B, C, D y G. La ciclosporina A (ciclosporina; ciclo(L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-valil-((3R,4R,6E)-6,7-didehidro-3-hidroxi-N,4-dimetil-L-2-aminooctanoil-L-2-aminobutanoil-N-metilglucil-N-metil-L-leucil-L-valil-N-metilleucilo)) se usa en una emulsión oftálmica comercialmente disponible (Ding y otros, patente de Estados Unidos núm. 5,474,979, Restasis[®]) para uso en el tratamiento de síndrome de ojo seco. Domb (patente de Estados Unidos núm. 7,026,290) describe un concentrado dispersable para el suministro de la ciclosporina incluyendo un surfactante con un HLB (balance hidrofílico/lipófilo) de al menos aproximadamente 8 y un surfactante con un bajo HLB de menos de aproximadamente 5.

15 Las ciclosporinas de la presente descripción incluyen también análogos de ciclosporina. Por ejemplo, los análogos de la ciclosporina descritos en Naicker y otros, patente de Estados Unidos núm. 6,998,385, incorporados en la presente como referencia, son de particular interés. Un ejemplo preferido de un análogo de la ciclosporina es voclosporina (ciclosporina A, 6 (ácido (2S,3R,4R)-3-hidroxi-4-metil-2-(metilamino)-6,8-nonadienoico)-; incluyendo específicamente la versión trans-ISA_{7x}247, trans-ISA247 CAS RN 368455-04-3), que se describen en, por ejemplo, Naicker y otros, patente de Estados Unidos 7,429,562, incorporados en la presente como referencia. Otras composiciones de ciclosporina se describen, por ejemplo, en Naicker y otros, patente de Estados Unidos núm. 7,060,672; incorporadas como referencia.

25 Voclosporina ("VCS") es un inhibidor de la calcineurina de última generación. Al igual que otras moléculas de esta clase, VCS inhibe reversiblemente los linfocitos inmunocompetentes, particularmente los linfocitos T, e inhibe también la producción y liberación de linfoquinas. Esta acción es principalmente mediada a través de la inhibición de la calcineurina, una enzima fosfatasa que se encuentra en el citoplasma de las células. VCS es un derivado semi-sintético más potentes y menos tóxico de la ciclosporina A.

30 Tacrolimus (FK506) es otro inhibidor de la calcineurina, que es también un producto fúngico, pero tiene una estructura de lactona macrólido. Tacrolimus (Prograf[®], oral, inyectable, Astellas Pharma US; y Protopic[®], tópico, Astellas Pharma US) se usa como un inmunosupresor en combinación con los trasplantes de hígado, riñón, corazón, pulmón y corazón/pulmón. Tacrolimus inhibe además la producción de IL-2. Tacrolimus se une a una inmunofilina (proteína de unión a FK-12, FKBP12), seguido por la unión del complejo a la calcineurina para inhibir su actividad fosfatasa.

35 Ascomicina, denominada también Inmunomicina, FR-900520, FK520, es un análogo étlico de tacrolimus (FK506) con fuertes propiedades inmunosupresoras. La Ascomicina actúa mediante la unión a inmunofilinas, especialmente a la macrofilina-12. Parece que la ascomicina inhibe la producción de citocinas Th1 (interferón e IL-2) y Th2 (IL-4 e IL-10). Además, la ascomicina inhibe preferentemente la activación de los mastocitos, un importante componente celular de la respuesta atópica. La ascomicina produce un efecto inmunomodulador más selectivo en el que inhibe la fase de inducción de dermatitis alérgica de contacto, pero no altera la respuesta inmune primaria cuando se administra sistémicamente.

45 El pimecrolimus es un agente inmunomodulador usado en el tratamiento de la dermatitis atópica (eczema). Es actualmente disponible como una crema tópica, comercializado únicamente por Novartis (sin embargo Galderma está promoviendo la molécula en Canadá desde principios de 2007) bajo el nombre comercial Elidel. Pimecrolimus es un derivado de ascomicina macrolactámico. Pimecrolimus, como tacrolimus, pertenece a la clase de inmunosupresivos macrolactámicos de la ascomicina, que actúa mediante la inhibición de la activación de células T por la ruta de la calcineurina y la inhibición de la liberación de numerosas citocinas inflamatorias, evitando de ese modo la cascada de señales inmunes e inflamatorias.

50 Un inhibidor de la calcineurina tales como ciclosporina A, voclosporin, ascomicina, tacrolimus, pimecrolimus, un análogo del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede utilizar en una formulación nanomicelar mixta acuosa no irritante de la presente descripción. El inhibidor de la calcineurina puede ser voclosporin.

Inhibidores de mTOR

55 Otra clase de compuestos que exhiben este perfil terapéutico en general son los inhibidores de mTOR. Los inhibidores mTOR enfocan un objetivo molecular conocido como "objetivo mamífero de la rapamicina" (mTOR). Un compuesto prototípico de esta clase es el sirolimus.

Sirolimus (rapamicina, Rapamune[®], oral, Wyeth Pharmaceuticals, Inc.) es un producto microbiano aislado del actinomiceto *Streptomyces hygroscopicus*. Sirolimus se descubrió inicialmente como un agente antifúngico en los 1970, pero debido a sus efectos inmunosupresivos, no se desarrolló para usarse como un antibiótico. Similitudes estructurales con tacrolimus condujeron eventualmente a los investigadores a investigar las propiedades inmunosupresivas de sirolimus en el trasplante experimental de órgano. (Gummert y otros, 1999). Sirolimus se une a una inmunofilina (proteína de unión a FK-12, FKBP12), pero el complejo inhibe la ruta del objetivo mamífero de la rapamicina (mTOR) a través de la unión directamente el complejo de mTOR 1 (mTORC1). Sirolimus inhibe la respuesta a la interleucina-2 (IL-2) y bloquea de ese modo la activación de células B y T. Por el contrario, tacrolimus y ciclosporina inhiben la producción de IL-2. Sirolimus (rapamicina) se divulga en un método para tratar la inflamación ocular en Kulkarni en la patente de Estados Unidos núm. 5,387,589. Las formulaciones para el tratamiento ocular que comprenden sirolimus se describen en Dor y otros, WO 2006/086744.

Un inhibidor inmunosupresivo de mTOR, tales como sirolimus (rapamicina), temsirolimus, everolimus, un análogo del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede utilizar en una formulación nanomicelar mixta acuosa no irritante de la presente descripción.

Corticosteroides

Los corticosteroides son una familia de compuestos que incluyen el cortisol adrenal de la hormona esteroide (hidrocortisona) y fármacos sintéticos relacionados, incluyendo, pero no se limita a, prednisolona, metilprednisolona, prednisona, triamcinolona, betametasona, budesonida, y dexametasona. Los corticosteroides adrenales son hormonas extraídas de la corteza adrenal o una sustancia sintética similar en estructura química y actividad biológica a una hormona de este tipo. Los corticosteroides tienen mecanismos de acción similares: se unen a proteínas específicas de unión a corticosteroides en el citoplasma. Estos complejos se transportan después en el núcleo donde se unen a porciones discretas del ADN de la célula. Los corticosteroides se agrupan generalmente en cuatro clases, basado en la estructura química.

La prednisolona es un fármaco corticosteroide con actividad predominantemente de glucocorticoides y baja de mineralocorticoide, lo que es útil para el tratamiento de una amplia variedad de afecciones inflamatorias y autoinmunes, incluyendo, pero no se limitan a, asma, uveítis, artritis reumatoide, colitis ulcerante y enfermedad de Crohn, parálisis de Bell, esclerosis múltiple, cefaleas en racimo, y el lupus eritematoso sistémico. La suspensión oftálmica de acetato de prednisolona es un producto adrenocorticales esteroide preparado como una suspensión oftálmica estéril, que se usa para reducir la hinchazón, enrojecimiento, prurito y reacciones alérgicas que afectan el ojo.

La metilprednisolona es una droga de glucocorticoide sintético. Como la mayoría de los esteroides adrenocorticales, la metilprednisolona se usa típicamente para sus efectos antiinflamatorios. La lista de afecciones médicas para las que se prescribe la metilprednisolona es bastante larga, y es similar a otros corticosteroides tal como prednisolona.

La prednisona es un fármaco de corticosteroide sintético que por lo general se toma por vía oral, pero que puede suministrarse mediante inyección intramuscular y se puede usar para una serie de condiciones diferentes. Tiene un efecto principalmente de glucocorticoide. La prednisona es un profármaco que se convierte en el hígado en prednisolona, que es el fármaco activo y también un esteroide.

Triamcinolona es un corticosteroide sintético administrado por vía oral, por inyección, inhalación, o como un ungüento o crema tópica.

La hidrocortisona es una hormona esteroide producida por la corteza adrenal. La hidrocortisona es usada comúnmente para el tratamiento a corto plazo de la inflamación en el ojo (debido a la alergia, lesión o infección) o el oído (debido a eczema).

La betametasona es un esteroide glucocorticoide moderadamente potente con propiedades anti-inflamatorias e inmunosupresivas. La betametasona se aplica como una crema tópica, ungüento, espuma, loción o gel para tratar el prurito (por ejemplo, del eczema).

La dexametasona es un corticosteroide sintético potente. Se ha demostrado por estudios en animales y humanos basados en una aplicación oral que posee aproximadamente seis a siete veces la potencia de la prednisolona y al menos 30 veces la potencia de la cortisona. La potencia de este compuesto se lleva a cabo mediante la adición de un radical metilo y un átomo de flúor al radical prednisolona. MAXIDEX[®] 0.1% (suspensión oftálmica de dexametasona) es un esteroide adrenocortical preparado como una suspensión oftálmica tópica estéril.

Los corticosteroides tales como prednisolona, metilprednisolona, prednisona, triamcinolona, hidrocortisona, betametasona se pueden usar en una formulación mixta nanomicelar acuosa no irritante de la presente descripción. En una modalidad de la presente invención, el corticosteroide es la dexametasona y se utiliza una formulación mixta nanomicelar acuosa no irritante de la presente descripción.

En una modalidad, una formulación mixta nanomicelar de la presente descripción incluye dos surfactantes no iónicos. En una modalidad, una formulación mixta nanomicelar de la presente descripción incluye un primer surfactante no iónico con un índice HLB mayor que aproximadamente 10, y un segundo surfactante no iónico con un índice HLB de más de aproximadamente 13. El primer surfactante no iónico que tiene un HLB mayor que aproximadamente 10 es la vitamina E polietilenglicol succinato de tocoferol (TPGS). Particularmente preferidos los surfactantes no-iónicos son la vitamina E polietilenglicol succinato de tocoferol (TPGS) derivados con PEG de pesos moleculares entre aproximadamente 500 y 6000 Da. En una modalidad, el derivado polimérico de la vitamina E con un índice de HLB mayor que aproximadamente 10 es la vitamina E polietilenglicol succinato de tocoferol 1000 (Vitamina E TPGS, tocofersolán). En una modalidad, la vitamina E TPGS contribuye a la solubilización del fármaco insoluble en agua y puede reducir el malestar ocular en condiciones acuosas. Se entenderá a lo largo de la especificación que el término por ciento en peso (% en peso) se refiere a la masa por unidad de volumen, a menos que se especifique de cualquier otra forma.

La vitamina E polietilenglicol succinato de tocoferol 1000 (Vitamina E TPGS, tocoferlosán, PM, aproximadamente 1,513 g/mol, Eastman Chemical Co., Kingsport, Tenn) es un excipiente anfipático que es un derivado soluble en agua de la vitamina E de fuente natural. La vitamina E TPGS, o vitamina E PEGilada, es un derivado de la vitamina E en donde las subunidades de polietilenglicol se enlazan por un diéster de ácido succínico en el hidroxilo del anillo de la molécula de vitamina E. La vitamina E TPGS es un surfactante no iónico anfipático con un índice HLB de aproximadamente 13. Varios derivados químicos de la vitamina E TPGS incluyendo los enlaces éster y éter de varias porciones químicas se incluyen dentro de la definición de vitamina E TPGS. Adicionalmente de servir como una fuente de vitamina E soluble en agua, la vitamina E TPGS se ha sugerido para su uso como un emulsificante, solubilizante, potenciador de la absorción, un vehículo para formulaciones de suministro de fármacos solubles en lípidos. La vitamina E TPGS es un componente de un producto aprobado por la FDA, Agenerse[®] (Amprenavir, un antiviral inhibidor de la proteasa del VIH) de GlaxoSmithKline Pharmaceuticals.

El segundo surfactante no iónico que tiene un HLB mayor que aproximadamente 13 es el octoxinol-40. En una modalidad, el octoxinol-40 contribuye a la reducción de la incomodidad ocular, y a la formación de una formulación micelar mixta estable, que es ópticamente transparente. Octoxinol-40 se usa como un agente surfactante en una formulación comercializada (Acular[®], y Acular LS[®] de Allergan, Inc., CA). Octoxinol-40 (IGEPAL CA-897) tiene un índice HLB de aproximadamente 18. En una modalidad, una formulación de la presente descripción comprende un fármaco insoluble en agua (es decir, hidrofóbico) se puede aplicar tópicamente a un ojo en un método para tratar una afección ocular de la parte posterior del ojo. Como se mostrarán en los Ejemplos que siguen, se ha encontrado que después de la administración tópica de una formulación de la presente descripción, el fármaco insoluble en agua es capaz de alcanzar la parte posterior del ojo, proporcionando así un tratamiento para las afecciones oculares de la parte posterior del ojo. Es parte de esta descripción que el fármaco insoluble en agua está presente en la formulación en concentraciones de aproximadamente 0.01% p/v a aproximadamente 10% p/v, preferentemente de aproximadamente 0.1% p/v a aproximadamente 3.0% p/v El fármaco insoluble en agua es dexametasona, y la dexametasona está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 0.1 % p/v a aproximadamente 1.0 % p/v. Preferentemente, la cantidad total de surfactantes en una formulación de las modalidades actualmente descritas es aproximadamente 30 por ciento o menos de la formulación total, siendo el agua el principal componente restante.

Debe entenderse que las formulaciones de la presente descripción pueden comprender además otros componentes tales como, pero no se limitan a, amortiguadores, agentes lubricantes, agentes de la tonicidad, agentes anti-infecciosos, agentes antibacterianos, antioxidantes, polímeros bioadhesivos, agentes potenciadores de la viscosidad, agentes humectantes, y conservantes. En cualquiera de las formulaciones mixtas de la presente descripción para la administración tópica en el ojo, las mezclas se formulan preferentemente de aproximadamente pH 5 a aproximadamente pH 8. Este intervalo de pH se puede lograr mediante la adición de amortiguadores a las mezclas, como se describe en los ejemplos. En una modalidad, el intervalo de pH en las mezclas de una formulación es de aproximadamente pH 6.6 a aproximadamente pH 7.0. Se debe apreciar que las formulaciones de la presente descripción se pueden regular por cualquier sistema de amortiguador común tal como fosfato, borato, acetato, citrato, carbonato y complejos de borato-poliol, con el pH y la osmolalidad ajustadas de acuerdo con las técnicas bien conocidas en los valores fisiológicos adecuados. Las formulaciones de las modalidades actualmente descritas son estables en solución acuosa regulada. Es decir, no hay ninguna interacción adversa entre el amortiguador y cualquier otro componente que pueden causar que sean inestables las composiciones.

Agentes de tonicidad incluyen, por ejemplo, manitol, dextrosa, cloruro sódico, xilitol y glicerol. Estos agentes de tonicidad se pueden usar para ajustar la osmolalidad de las composiciones. En una modalidad, la osmolalidad de una formulación de la presente descripción se ajusta para estar en el intervalo de aproximadamente 75 a aproximadamente 350 mOsm/kg.

5

En una modalidad, una formulación de la presente descripción comprende además uno o más polímeros bioadhesivos. La bioadhesión se refiere a la capacidad de ciertas macromoléculas biológicas y sintéticas e hidrocoloides de adherirse a los tejidos biológicos. La bioadhesión es un fenómeno complejo, que depende en parte de las propiedades de los polímeros, tejido biológico, y el medio circundante. Se han encontrado varios factores que contribuyen a una capacidad bioadhesiva del polímero: la presencia de grupos funcionales capaces de formar puentes de hidrógeno (-OH, COOH), la presencia y resistencia de cargas aniónicas, elasticidad suficiente para las cadenas poliméricas que interpenetran la capa mucosa, y el alto peso molecular. Los sistemas de bioadhesión se usaron en la odontología, ortopedia, oftalmología, y en aplicaciones quirúrgicas. Sin embargo, recientemente un interés significativo en el uso de materiales bioadhesivos ha surgido en otras áreas tales como reemplazos artificiales basados en tejido suave y sistemas de liberación controlada para la liberación local de agentes bioactivos. Estas aplicaciones incluyen los sistemas de liberación de fármacos en la cavidad bucal o cavidad nasal, y para la administración intestinal o rectal.

10

15

En una modalidad, los polímeros bioadhesivos se incorporan opcionalmente en la formulación para mejorar la viscosidad y por lo tanto para aumentar el tiempo de permanencia en el ojo. Los polímeros bioadhesivos de la presente descripción incluyen, por ejemplo, polímeros carboxílicos como Carbopol[®] (carbómeros), Noveon[®] (policarbofilos), etc.; derivados de celulosa incluyendo alquil e hidroxialquilcelulosa como metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, etc.; gomas tipo algarrobilla, xantano, agarosa, karaya, guar, etc.; y otros polímeros incluyendo, pero no se limitan a, alcohol de polivinilo, pirrolidona de polivinilo, polietilenglicol, Pluronic[®] (p oloxámeros), tragacanto, y ácido hialurónico; polímeros de transición de fase para proporcionar el suministro sostenido y controlado de medicamentos cerrados para el ojo (por ejemplo, ácido algínico, carragenanos (por ejemplo, Eucheuma), xantano y mezclas de goma de algarrobilla, pectinas, acetato ftalato de celulosa, alquilhidroxialquil celulosa y derivados de los mismos, ácidos poliacrílicos hidroxialquilados y sus derivados, poloxámeros y sus derivados, etc. Las características físicas en estos polímeros se pueden mediar por cambios en los factores ambientales tales como la fuerza iónica, pH, o temperatura solos o en combinación con otros factores. En una modalidad, el opcional uno o más polímeros bioadhesivos está presente en la formulación desde aproximadamente 0.01% a aproximadamente 10% en volumen por peso; preferentemente 0.1 a aproximadamente 5% en volumen por peso. En una modalidad, la formulación nanomicelar mixta opcionalmente comprende además excipientes de polímero hidrofílico seleccionados de, por ejemplo, PVP-K-30, PVP-K-90, HPMC, HEC, y policarbofilo. En una modalidad, el excipiente polímero se selecciona de PVP-K-90, PVP-K-30 o HPMC. En una modalidad, el excipiente polímero se selecciona de PVP-K-90 o PVP-K-30.

20

25

30

35

En una modalidad, si se desea un conservante, las formulaciones se pueden opcionalmente preservar con cualquier sistema bien conocido tales como alcohol bencílico con/sin EDTA, cloruro de benzalconio, clorhexidina, Cosmocil[®] CQ, o Dowicil[®] 200.

40

Los materiales de envasado farmacéuticamente aceptables para las formulaciones pueden incluir, pero no se limitan a polipropileno, poliestireno, polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de alta densidad (HDPE), policarbonato, cloruro de polivinilideno, y otros materiales conocidos por aquellos con experiencia en la materia. En una modalidad, las formulaciones se envasan asépticamente empleando la tecnología de llenado-sellado por soplado. El llenado-sellado por soplado (BFS) describe un proceso de llenado aséptico en el que recipientes huecos que son moldeados por soplado, llenados con el producto estéril, y sellados, todo en un solo ciclo continuo de la máquina. La tecnología es una alternativa para el llenado aséptico convencional y operaciones de tapado, proporcionando frecuentemente ahorros en los costos a través de alto rendimiento y eficiencia del proceso.

45

50

En una modalidad, las formulaciones descritas en la presente se llenan en botellas de uso único, paquetes, viales BFS LDPE, ampollas, recipientes BFS LDPE, o recipientes BFS HDPE.

En una modalidad, las dosis múltiples se pueden suministrar como una pluralidad de paquetes de uso único. En una modalidad, las formulaciones se envasan convenientemente en una botella, recipiente o dispositivo que permite la aplicación dosificada, incluyendo los recipientes equipados con un cuentagotas para aplicación oftálmica tópica.

55

Aunque el régimen preciso se deja a discreción del médico, se recomienda que las formulaciones de las modalidades actualmente descritas se pueden aplicar en forma tópica colocando una a dos gotas, o más, en cada ojo de 1 a 4 veces al

día. Por ejemplo, la formulación puede aplicarse 1, 2, 3, 4 o 8 veces al día, o más. En una modalidad, una formulación de la presente descripción se aplica en forma tópica colocando una a dos gotas en cada ojo una o dos veces al día.

5 En una modalidad, una formulación de la presente descripción se aplica tópicamente a un ojo de un paciente, se transporta en el ojo, y libera un fármaco a una porción posterior del ojo con acumulación del fármaco insignificante en la porción media del ojo. En una modalidad, la acumulación del fármaco insignificante en la porción media del ojo se refiere a la acumulación del fármaco insignificante en al menos uno del humor acuoso, lente y humor vítreo. Se cree que las formulaciones de la presente descripción pueden reducir significativamente los efectos secundarios asociados a la terapia actual para tratar afecciones de la parte posterior del ojo. Efectos secundarios adversos de la terapia con corticosteroides actual incluyen, pero no se limitan a, cataratas e hipertensión ocular. Estos efectos secundarios causan frecuentemente la reducción de la eficacia terapéutica y la suspensión del tratamiento.

15 En una modalidad, una formulación de la presente descripción se puede usar como una plataforma de suministro de fármaco aplicado en forma tópica para el suministro de un fármaco hidrofóbico, insoluble en agua a la parte posterior del ojo. En una modalidad, una formulación de la presente descripción se aplica en forma tópica a un ojo. En una modalidad, una formulación de la presente descripción se usa para tratar, reducir, prevenir, mejorar y/o aliviar afecciones oculares en un paciente o sujeto. En una modalidad, una formulación de la presente descripción se usa para tratar, reducir, prevenir, mejorar y/o aliviar una enfermedad de la parte posterior del ojo. Ejemplos de la enfermedad de la parte posterior del ojo, entre otros, el edema macular como edema macular quístico angiográfico; isquemia de la retina y neovascularización coroidea; degeneración macular; enfermedades de la retina (por ejemplo, retinopatía diabética, edema retinal diabético, desprendimiento de retina); enfermedades inflamatorias tales como uveítis (incluyendo panuveítis) o coroiditis (incluyendo coroiditis multifocal) de causa desconocida (idiopática) o asociada con una enfermedad sistémica (por ejemplo, autoinmune); epiescleritis o escleritis; coriorretinopatía de peridigones; enfermedades vasculares (isquemia retinal, vasculitis de la retina, insuficiencia vascular coroidea, trombosis coroidea); neovascularización del nervio óptico; y neuritis óptica.

25 En una modalidad, una solución oftálmica acuosa incluye nanomicelas en un amortiguador fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde un corticosteroide en una concentración de aproximadamente 0.01% p/v a aproximadamente 1.00% p/v se solubiliza a través del atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrófilas que se extienden desde el núcleo hidrofóbico, en donde las nanomicelas comprenden la vitamina E TPGS en una concentración en el intervalo de aproximadamente 3.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v estabilizada con octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0% p/v a aproximadamente 3.0% p/v. En una modalidad, la solución oftálmica acuosa tiene un pH de 6.6 a 7.0.

35 En una modalidad, una formulación de colirios incluye un corticosteroide en una concentración que varía de aproximadamente 0.01% p/v a aproximadamente 1.00% p/v; vitamina E TPGS a una concentración que varía de aproximadamente 3.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v; y octoxinol-40 a una concentración que varía de aproximadamente 1.0% p/v a aproximadamente 3.0% p/v, en donde el corticosteroide se solubiliza a través del atrapamiento en un núcleo hidrófobo micelar mixto de la vitamina E TPGS y el octoxinol-40. En una modalidad, después de la administración de una dosis única de la formulación de colirios a un conejo, los niveles de dexametasona tisular en la retina-coroidea posterior son equivalentes a las concentraciones de al menos 30 ng/g.

45 En una modalidad, un estuche incluye una dosis unitaria de una solución oftálmica acuosa que comprende nanomicelas en un amortiguador fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde un corticosteroide a una concentración de aproximadamente 0.01% p/v a aproximadamente 1.00% p/v se solubiliza a través de atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrofílicas que se extienden a partir del núcleo hidrofóbico, en donde las nanomicelas comprenden vitamina E TPGS a una concentración en el intervalo de aproximadamente 3.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v estabilizado con octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0% p/v a aproximadamente 3.0% p/v, en donde la dosis unitaria está contenida dentro de un vial preparado a partir de un material envasado farmacéuticamente aceptable. En una modalidad, la dosis unitaria es aproximadamente 50 µL.

50 Un método para preparar nanomicelas de la presente descripción incluye mezclar un corticosteroide con un primer surfactante que tiene un índice HLB mayor que aproximadamente 10 y un segundo surfactante que tiene un índice HLB mayor que aproximadamente 13 en un disolvente para formar una solución disolvente; evaporar la solución disolvente para formar una materia casi sólida; hidratar la materia casi sólida con una solución acuosa; y disolver la materia casi sólida para producir las nanomicelas, en donde las nanomicelas son ópticamente claras. El corticosteroide es dexametasona.

Las soluciones oftálmicas acuosas se pueden usar en un método para tratar, reducir, mejorar, o aliviar una afección ocular

5 en un sujeto que incluye proporcionar una solución oftálmica acuosa que incluye nanomicelas en un amortiguador fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde un corticosteroide a una concentración de aproximadamente 0.01% p/v a aproximadamente 1.00% p/v se solubiliza a través de atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrofílicas que se extienden a partir del núcleo hidrofóbico, en donde las nanomicelas comprenden vitamina E TPGS a una concentración en el intervalo de aproximadamente 3.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v estabilizado con octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0% p/v a aproximadamente 3.0% p/v; y administrar al sujeto una cantidad de la solución oftálmica acuosa a una frecuencia suficiente para tratar, reducir, mejorar o aliviar la afección ocular. En una modalidad, la afección ocular es una afección o trastorno de la parte posterior del ojo El corticosteroide es dexametasona.

10 Las soluciones oftálmicas acuosas se pueden usar en un método para tratar, reducir, mejorar, o aliviar una afección ocular en un sujeto que incluye proporcionar una solución oftálmica acuosa que incluye nanomicelas en un amortiguador fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde un corticosteroide a una concentración de aproximadamente 0.01% p/v a aproximadamente 1.00% p/v se solubiliza a través de atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrofílicas que se extienden a partir del núcleo hidrofóbico, en donde las nanomicelas comprenden vitamina E TPGS a una concentración en el intervalo de aproximadamente 3.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v estabilizado con octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0% p/v a aproximadamente 3.0% p/v; y administrar al sujeto una cantidad de la solución oftálmica acuosa a una frecuencia suficiente para tratar, reducir, mejorar o aliviar la afección ocular. El corticosteroide es dexametasona.

20 Una formulación que comprende una solución acuosa de nanomicelas cargadas con corticosteroide se puede usar en un método para tratar una enfermedad de la parte posterior del ojo que incluye aplicar en forma tópica una formulación de la presente descripción al ojo, la formulación que comprende una solución acuosa de nanomicelas cargadas con corticosteroide; transportar las nanomicelas cargadas con corticosteroide por difusión pasiva a través de los canales/poros acuosos de la esclerótica; transportar las nanomicelas cargadas con corticosteroide por endocitosis a través de la coroides en el lado basolateral del epitelio pigmentario de la retina; descargar el corticosteroide de las nanomicelas en el epitelio pigmentario de la retina; y tratar la enfermedad de la parte posterior del ojo. El corticosteroide es dexametasona.

30 Las modalidades actualmente descritas se describen en los siguientes Ejemplos, que se exponen para ayudar en la comprensión de la descripción, y no se deben interpretar para limitar de ninguna manera el alcance de la descripción como se define en las reivindicaciones que siguen después de eso. Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a las personas de habilidad ordinaria en la técnica con una exposición y descripción de cómo hacer y usar las modalidades descritas, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención ni pretenden representar que los experimentos más abajo son todos los únicos experimentos realizados. Se han hecho esfuerzos para asegurar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tomar en consideración algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique de cualquier otra forma, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura es en grados centígrados, y la presión está en o próxima a la atmosférica.

40 Ejemplos

45 Generalmente, todos los reactivos estaban disponibles comercialmente y se usaron sin purificación adicional a menos que se indique de cualquier otra forma. La Voclosporina se obtuvo de Isotechnika, Inc., Edmonton, Alberta, Canadá. La materia prima obtenida de Isotechnika se almacenó por Lux Biosciences en el Centro de Biomateriales de la Universidad de Rutgers Nueva Jersey; la Ciclosporina A se obtuvo de Xenos Recursos Biológicos, Inc., Santa Barbara, CA; Sirolimus y Tacrolimus se obtuvieron de Haorui Pharma-Chem, Inc., NJ; la Dexametasona se obtuvo de Biomol, Plymouth, PA. La vitamina E TPGS (Grado NF) se obtuvo de Eastman Chemical Company, IGEPAL CA-897 (Octoxinol-40) se obtuvo de Rhodia, Inc., el Agua Destilada Desionizada se preparó en la casa en UMKC (Universidad de Missouri, Kansas City) mediante el uso del Sistema de Agua Ultra Pura EASY Pure UV Compact, (Barnstead, IA). Kollidon® 30 (PVP), y Kollidon® 90 F (Povidone K 90) se obtuvieron de BASF. Hidroxietilo celulosa, 100 cps, y 5000 cps se obtuvieron de Spectrum, Methocel®, HPMC se obtuvo de Colorcon, Noveon®, Policarbofil se obtuvo de Lubrizol Advanced Materials.

Ejemplo 1

55 Preparación de Formulaciones Nanomicelar Mixtas

Las formulaciones nanomicelares mixtas de la presente descripción que tienen las concentraciones de fármaco de 0.02% en peso, 0.2% en peso, 0.4% en peso, 0.5% en peso y 1.0% en peso se fabricaron como se describe más abajo. Las

5 formulaciones de fármacos básicas 2X se hicieron en las relaciones que se muestran en la Tabla 1. En un protocolo, por ejemplo, el inhibidor de la calcineurina y la vitamina E TPGS requeridas para aproximadamente 50 mL se calcularon, pesaron, después mezclaron en aproximadamente 5 mL de 95% etanol, hasta que se obtuvo una solución clara. La solución etanólica se evaporó bajo vacío para obtener una capa fina de la materia casi sólida. Aproximadamente 25 mL de agua desionizada, se mezcló con octoxinol-40 y la solución se añadió a la capa fina de la materia casi sólida y se sonicó durante aproximadamente 20 minutos para asegurar la formación completa de las micelas mixtas. Las formulaciones de fármacos 2X preparadas se almacenaron a temperatura ambiente. Alternativamente, cantidades de fármaco, vitamina E TPGS y octoxinol-40 requeridos para aproximadamente 50 mL se calcularon, pesaron, mezclaron después en aproximadamente 5 mL de 95% etanol, y evaporaron bajo vacío para formar una capa fina de la materia casi sólida. La capa fina de la materia casi sólida se disolvió después en aproximadamente 25 mL de agua desionizada y sonicó o mezcló por movimiento rotatorio en un evaporador rotatorio durante aproximadamente 20 minutos para asegurar la completa formación de micelas mixtas. Las formulaciones 2X preparadas se almacenaron a temperatura ambiente.

TABLA 1

Etiqueta/ Ingredientes	1	2	3
Fármaco	0.4	0.8	1.0
Vitamina E TPGS	4.0	6.0	7.0
Octoxinol-40	1.0	1.0	1.0

25 Las formulaciones Básicas 2X que se muestran en la Tabla 1 se prepararon como se describió en el protocolo alternativo descrito en el Ejemplo 1. Las formulaciones básicas ilustrativas se prepararon donde el inhibidor de la calcineurina o inhibidor de mTOR fue voclosporina, ciclosporina A, sirolimus o tacrolimus. En una preparación para 50 mL de formulación: una mezcla de amortiguador se preparó disolviendo cantidades de los componentes que se muestran en la Tabla 2 en 25 mL de agua desionizada para preparar un amortiguador 2X. La mezcla de amortiguador 2X se preparó tanto con y sin (N/A) conservantes añadidos.

TABLA 2

Componentes	Cantidad para 50 mL			
Fosfato sódico dibásico	0.4048 g	0.4048 g	0.4048 g	0.4048 g
Fosfato sódico monobásico	0.4645 g	0.4645 g	0.4645 g	0.4645 g
EDTA	10 mg	N/A	10 mg	N/A
CLORURO DE BENZALCONIO	10 mg	N/A	N/A	10 mg

50 La cantidad requerida de excipiente polímero que se muestra en la Tabla 3A se dispersó en 2.5 mL de mezcla amortiguador 2X y suavemente se agitó en vórtex para obtener una solución clara. La formulación básica 2X se añadió en el mismo volumen y mezcló para obtener una solución uniforme. El pH de la solución se ajustó con NaOH o HCl para un objetivo de aproximadamente pH 6.8. La osmolalidad de la solución se ajustó con NaCl para estar en el intervalo de aproximadamente 280-300 mOsmol/kg. La formulación se esterilizó por un filtro de membrana de nylon (0.22 µm) y después se almacenó a temperatura ambiente hasta el uso.

TABLA 3A

Etiqueta/ Ingredientes	1	2	3	4	5	6
Formulación básica (2X)	2.5 mL					
Mezcla amortiguador (2X)		2.5 mL				
PVP- K-30 (1.8%)		90 mg				
PVP-K-90 (1.2%)			60 mg			
HPMC (0.5%)				25 mg		
HEC (0.5%)					25 mg	
Policarbofil (0.5%)						25 mg
Agua	2.5 mL					
Total Aprox. Vol.	5 mL					

En un procedimiento alternativo para la preparación de formulaciones de 100 mL, las formulaciones básicas 2X ilustrativas que se muestran en la Tabla 1 se prepararon usando voclosporina ("VCS"). Para hacer las formulaciones en concentraciones VCS de 0.2% en peso/volumen, 0.4 % en peso/volumen y 0.5% en peso/volumen, se calcularon cantidades adecuadas de fármaco, vitamina E TPGS y octoxinol-40 requeridas para 100 mL, se pesaron, después se mezclaron en 10 mL de 95% etanol, y se evaporaron bajo vacío durante aproximadamente 12 horas para formar una capa fina de materia casi sólida. La capa fina de la materia casi sólida se disolvió después en 50 mL de agua desionizada y sonicó, o mezcló por movimiento rotatorio en un evaporador rotatorio durante aproximadamente 20 minutos para asegurar la completa formación de micelas mixtas; después se almacenó a temperatura ambiente. La cantidad requerida del excipiente polímero que se muestra en las Tablas 3B y 3C se dispersó en 40 mL de agua desionizada y se agitó para obtener una solución de polímero claro. Los otros componentes que se muestran en las Tablas 3B y 3C se añadieron a 50 mL la formulación básica 2X y agitaron bien para obtener la solución regulada clara. La solución regulada clara se transfirió lentamente en la solución de polímero claro y se mezcló bien. El pH de la solución se ajustó con NaOH o HCl para un objetivo de aproximadamente pH 6.8. La osmolalidad de la solución se mantuvo en el intervalo de 280-300 mOsmol/kg. El volumen se llevó hasta 100 mL con agua. La formulación se esterilizó por un filtro de membrana de nylon (0.22 μ m) y después se almacenó a temperatura ambiente hasta el uso.

Tabla 3B

Etiqueta/ Ingredientes	1	2	3	4	5	6
Formulación básica (2X)	50 mL					
Povidona-K-30		1.8g				
Povidona-K-90			1.2g			
Hidroxi propil metil celulosa				0.5g		
Hidroxietilcelulosa					0.5g	
Policarbofil						0.9g
Fosfato sódico, dibásico heptahidrato	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g
Fosfato sódico, monobásico	0.93g	0.93g	0.93g	0.93g	0.93g	0.93g
Cloruro de sodio	0.2g	0.2g	0.2g	0.2g	0.2g	0.2g
Agua hasta	100 ml					

Tabla 3C

Etiqueta/ Ingredientes	1	2	3	4	5	6
Formulación básica (2X)	50 mL					
Povidona- K-30		1.8g				
Povidona-K-90			1.2g			
Hidroxi propil metil celulosa				0.5g		
Hidroxietilcelulosa					0.5g	
Policarbofil						0.9g
Fosfato sódico, dibásico heptahidrato	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g
Fosfato sódico, monobásico	0.93g	0.93g	0.93g	0.93g	0.93g	0.93g
Cloruro de sodio	0.2g	0.2g	0.2g	0.2g	0.2g	0.2g
Cloruro de Benzalconio	0.02g	0.02g	0.02g	0.02g	0.02g	0.02g
EDTA	0.02g	0.02g	0.02g	0.02g	0.02g	0.02g
Agua hasta	100 ml					

Una formulación nanomicelar de la presente descripción que tiene una concentración VCS de 0.2% p/v, puede ser una solución oftálmica que tiene la composición que se encuentra en la Tabla 3D:

Tabla 3D

Ingrediente	Cantidad
Voclosporina	0.2 g
Vitamina E TPGS	2.0 g
Octoxinol -40	2.0 g
PVP-K-90	1.2 g
Fosfato sódico dibásico	0.81 g
Fosfato sódico monobásico	0.93 g
Cloruro de sodio	0.2 g
Agua hasta	100 ml

Una formulación nanomicelar de la presente descripción que tiene concentraciones de Ciclosporina A ("CsA") de 0.05 % p/v, puede ser una solución oftálmica que tiene la composición que se encuentra en la Tabla 4:

TABLA 4

Etiqueta/ Ingredientes	% en peso/vol
Fármaco (CsA)	0.05
Vitamina E TPGS	3
Octoxinol -40	0.02
Hidroxietilcelulosa	0.2
CLORURO DE BENZALCONIO	0.01
EDTA	0.01
Cloruro de sodio	0.86
Agua hasta	100

La formulación ilustrativa que se muestra en la Tabla 4 se fabricó usando una manera similar como se describió en el protocolo alternativo en el Ejemplo 1. La formulación CsA se ajustó a un pH de aproximadamente 6.88 y la osmolalidad fue 320 mOsm/kg.

Ejemplo de Referencia 2

Distribución Ocular y Farmacocinética de ¹⁴C-Voclosporina después de la Administración Tópica de una 0.2% en peso/vol. Formulación Nanomicelar de Voclosporina (LX214).

Conejos NZW (30 hembras/8 machos) se usaron en un estudio de dosis única (SD) y dosis repetida por 7 días (RD) (Tabla 5A). Los conejos DB (16 hembras) se usaron en un estudio de dosis única (Tabla 5B). Los animales o no se trataron (controles) o se les administró una dosis ocular tópica única o una diaria durante 7 días (35 µL de 0.2% solución ¹⁴C-LX214 a uno o ambos ojos). La sangre y los niveles de radiactividad del tejido ocular se evaluaron en intervalos de tiempo designados a través de la combustión seguido por conteo por centelleo líquido. Se midieron además las concentraciones de voclosporina en la sangre usando un método validado de cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas de ionización a presión atmosférica (LC-API/MS/MS).

Tabla 5A

ID Grupo	núm. de Animales/grupo	Administración de dosis de ¹⁴ C ^a	Matrices recogidas	Tiempo de recolección de la muestra (Tiempo de eutanasia)
1 ^b	2 ♀ 2 ♂	Ninguno	Lágrima, Sangre, Tejidos/Fluidos oculares	Pre-dosis
2 ^c	12 ♀ 6 ♂	35 µL/ojo, una vez, Ocular (bilateral)	Lágrima, Sangre, Tejidos/Fluidos oculares (grupo SD)	♀: 0.5, 1, 2, 4, 8, y 24 hr ♂: 1,4, y 24 hr Después de la administración de la dosis (2 animales/intervalo de tiempo)
3	2 ♀	35 µL/ojo, una vez, Ocular (unilateral)	Lágrima, Sangre, Tejidos/Fluidos oculares	1 hr después de la administración de la dosis

4 _d	2 ♀	35 µL/ojo, una vez diariamente, bilateral durante 6 días	Lágrima, Sangre, Tejidos/Fluidos oculares	Justo antes de la 7 ^{ma} administración de la dosis en el próximo grupo
5 _e	12 ♀	35 µL/ojo, una vez diariamente, bilateral durante 7 días	Lágrima, Sangre, Tejidos/Fluidos oculares (grupo RD)	0.5, 1, 2, 4, 8, y 24 hr después de la última administración de la dosis (2 animales/intervalo de tiempo)

a La formulación de dosis tópica contuvo 0.2% voclosporina. La dosis objetivo fue ~3 µCi/35 µL y 70 ng de voclosporina.
 b Se usa como la concentración predosis para el Grupo 2 de Tratamiento (grupo SD).
 c Se usa para la evaluación farmacocinética (grupo SD).
 d Se usa como la concentración predosis para el Grupo 5 de Tratamiento (grupo RD).
 e Se usa para la evaluación farmacocinética (grupo MD).

TABLA 5B

ID Grupo	núm. de Animales/grupo	Administración de dosis de ¹⁴ C ^a	Matrices recogidas	Tiempo de recolección de la muestra (Tiempo de eutanasia)
1 ^b	2 ♀	Ninguno	Lágrima, Sangre, Tejidos/Fluidos oculares	Pre-dosis
2 ^c	12 ♀	35 µL/ojo, una vez, Ocular (bilateral)	Lágrima, Sangre, Tejidos/Fluidos oculares (grupo SD)	0.5, 1, 2, 4, 8, y 24 hr después de la administración de la dosis (2 animales/intervalo de tiempo)
3	2 ♀	35 µL/ojo, una vez, Ocular (unilateral)	Lágrima, Sangre, Tejidos/Fluidos oculares	1 hr después de la administración de la dosis

a La formulación de dosis tópica contuvo 0.2% voclosporina. La dosis objetivo fue ~3 µCi/35 µL y 70 ng de voclosporina/dosis.
 b Se usa como la concentración predosis para el Grupo 2 de Tratamiento (grupo SD).
 c Se usa para la evaluación farmacocinética (grupo SD).

En cada punto de muestreo, se usó una prueba t para comparar las concentraciones en el tejido dentro o entre las dos cepas de conejos. SigmaStat[®] 3.5 (Systat, Inc., San Jose, CA) se usó para el análisis estadístico ($p < 0.05$). El análisis no compartimental se realizó sobre los datos medios de concentración de ¹⁴C-LX214-tiempo en tejido. El análisis farmacocinético se realizó usando WinNonlin 5.2 (Pharsight, Corporation, Mountain View, CA). C_{máx} y T_{máx}, y AUC y t_{1/2} donde es calculable se reportan.

Los parámetros farmacocinéticos seleccionados (C_{máx}, AUC, T_{máx}, y t_{1/2}) para la radiactividad derivada de ¹⁴C-LX214 a continuación de la administración ocular bilateral de una dosis única (SD) o dosis repetida (RD) (una vez al día durante 7 días), se resumen en las Tablas 6 y 7 para conejos hembra NZW y hembra DB, respectivamente. Después de una dosis única, hubo penetración rápida del fármaco (medido como radiactividad) en los tejidos oculares con las concentraciones más altas (> 1 mg eq/g de tejido) lo que ocurre en los párpados, conjuntiva, córnea, membrana nictitante y lágrimas, y las concentraciones más bajas (1-11 ng eq/g de tejido) en el humor acuoso y vítreo, y la lente. Los tejidos oculares restantes alcanzaron varios niveles (20-223 ng eq/g de tejido) de voclosporina y/o residuo relacionado. A continuación de la

dosificación repetida hasta 7 días, no hubo cambio aparente en ¹⁴C-LX214 t_{1/2}, lo que sugiere la acumulación mínima en tejido (Tabla 6). En las porciones posteriores del ojo (por ejemplo, la coroides/retina y el nervio óptico), el nivel medido en cada intervalo de tiempo fue sustancialmente mayor que la concentración considerada terapéutica de 30 eq ng/g. Sin embargo, ninguna acumulación significativa del fármaco, en comparación con los niveles en tejido después de la dosis única, se observó después de la dosificación repetida durante 7 días. Los altos niveles de fármaco son alcanzables con una aplicación tópica (dosis única) de la formulación de la presente descripción. Más particularmente, los niveles altos de fármacos se mantuvieron en los tejidos oculares hasta, y más allá de, 24 horas post-administración, lo que sugiere que la dosificación QD (una vez al día) es factible usando las composiciones de la presente descripción. La concentración del fármaco es alta en tejidos en la parte frontal del ojo (córnea, conjuntiva, esclerótica) y en la parte posterior del ojo (retina, nervio óptico) pero mínima en el centro del ojo (humor acuoso y vítreo), lo que sugiere el transporte del fármaco por un mecanismo distinto del de forma pasiva a través del ojo. Los niveles altos de fármaco logrados en la parte posterior del ojo hace la administración tópica de las composiciones de la presente descripción factibles para el tratamiento de enfermedades de la parte posterior del ojo (por ejemplo, de la retina, enfermedades que implican el nervio óptico tal como glaucoma). Varios fármacos insolubles en agua se pueden usar con las composiciones de la presente descripción, que incluyen, pero sin limitarse a, calcineurina, inhibidores de MTOR, y corticosteroides. Los altos niveles, especialmente en los tejidos de la parte posterior del ojo tales como la coroides/retina y nervio óptico, se han demostrado con las formulaciones de la presente descripción.

TABLA 6

Tejido (s)/ Fluidos Oculares & Sangre	C _{max} (ng eq./g)			AUC (hr*ng eq./g)			T _{máx} (hr)		T _{1/2} (h)	
	SD	RD	Relación	SD	RD	Relación	SD	RD	SD	RD
Humor acuoso	6	13	2.3	45	96	2.1	0.5	0.5	-	14
coroides/Retina	48	76	1.6	472	897	1.9	1.0	2.0	23	-
Córnea	1203	3382	2.8	23166	54624	2.4	8.0	0.5	-	-
Iris/Cuerpo ciliar	20	119	5.8	382	1952	5.1	24.0	1.0	-	-
Glándula Lagrimal	31	120	3.9	416	1109	2.7	2.0	4.0	-	6
Lente	4	26	6.7	47	356	7.5	24.0	0.5	-	-
Conjuntiva Bulbar Inferior	1810	2929	1.6	12029	16585	1.4	0.5	0.5	10	7
Párpado inferior	20814	41635	2.0	207630	358791	1.7	1.0	0.5	-	-
Membrana Nictitante	1716	2468	1.4	12135	15964	1.3	0.5	0.5	7	8
Nervio óptico	83	164	2.0	569	1805	3.2	0.5	0.5	-	16
Esclerótica	223	367	1.6	2646	3825	1.4	0.5	0.5	-	16
Ganglio linfático submandibular	74	120	1.6	893	1190	1.3	2.0	2.0	-	-
Lágrima	20246	30904	1.5	168259	230878	1.4	0.5	0.5	-	7
Conjuntiva Bulbar Superior	2235	3170	1.4	14782	19944	1.3	0.5	0.5	7	7
Párpado superior	9896	17500	1.8	114651	98656	0.9	1.0	0.5	-	4
Humor vítreo	2	2	1	27	23	0.9	8.0	4.0	-	-
Sangre	BQL	BQL	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC

SD = dosis única; RD = Dosis Repetida; Relación = Dosis Repetida/Dosis Única; - = Concentraciones de tejido insuficientes para determinar t_{1/2}; BQL= Por debajo del Límite Cuantificable (<0.1ng/mL); NC= No calculado.

5

TABLA 7

Tejido (s)/ Fluidos Oculares & Sangre	C _{max} (ng eq./g)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (hr)	AUC (hr*ng eq./g)
Humor acuoso	11	0.5	-	56
Coroides/Retina	49	1.0	-	92
Córnea	1519	8.0	-	27844
Iris/Cuerpo ciliar	30	24.0	-	541
Glándula Lagrimal	75	1.0	-	335
Lente	2	24.0	-	26
Conjuntiva Bulbar Inferior	2080	1.0	15	13107
Párpado inferior	69055	4.0	-	512473
Membrana Nictitante	2400	1.0	12	13091
Nervio óptico	192	1.0	16	1127
Esclerótica	220	1.0	-	3502
Ganglio linfático submandibular	86	4.0	-	635
Lágrima	57476	1.0	-	262299
Conjuntiva Bulbar Superior	2491	1.0	14	14296
Párpado superior	8245	4.0	-	68063
Humor vítreo	1	1.0	-	16
Sangre	BQL	NC	NC	NC

10

15

20

25

30

35

La Tabla 8 muestra la radiactividad derivada de C_{máx} de ¹⁴C-voclosporina comparada en conejos NZW y DB después de la administración ocular tópica única de ¹⁴C-voclosporina.

40

45

50

55

TABLA 8

Tejido (s)/ Fluidos Oculares & Sangre	Blanco Nueva Zelanda (Estudio núm. S08861)	Pigmentado (Estudio núm S08862)
	C _{máx} (ng eq./g)	C _{máx} (ng eq./g)
Humor acuoso	6	11
Coroides/Retina	48	49
Córnea	1203	1519
Iris/Cuerpo ciliar	20	30
Glándula Lagrimal	31	75
Lente	4	2
Conjuntiva Bulbar inferior	1810	2080
Párpado inferior	20814	69055
Membrana nictitante	1716	2400
Nervio óptico	83	192
Esclerótica	223	220
Ganglio linfático submandibular	74	86
Lágrima	20246	57476
Conjuntiva Bulbar Superior	2235	2491
Párpado superior	9896	8245
Humor vítreo	2	1
Sangre	BQL	BQL

Ejemplo 3

Preparación de una Formulación Nanomicelar Mixta de Dexametasona

La solubilidad acuosa de los corticosteroides, tales como dexametasona, es aproximadamente 0.159 mg/mL. En este ejemplo, la solubilidad del fármaco, dexametasona, se mejoró por aproximadamente 6.2 veces (1 mg/mL). En una modalidad, para hacer una composición a una concentración de fármaco (dexametasona) de 0.1% en peso, se empleó el siguiente protocolo. La formulación básica del fármaco se hizo en las relaciones que se muestran en la Tabla 9. En este protocolo, se calcularon la dexametasona, vitamina E TPGS y octoxinol-40, se pesaron, después se mezclaron en 6 mL de 95% etanol para una formulación final de 50 mL, hasta que se obtuvo una solución clara. La solución etanólica se evaporó bajo vacío para obtener una capa fina de la materia casi sólida. Aproximadamente 25 mL de agua desionizada, se mezcló con la capa fina de la materia casi sólida y se sonizó durante aproximadamente 20 minutos para asegurar la formación completa de las micelas mixtas. La formulación 2X preparada se almacenó a temperatura ambiente.

TABLA 9

Etiqueta/ Ingredientes	% en peso
Fármaco	0.1
Vitamina E TPGS	4.5
Octoxinol-40	2.0

Preparación General de la Composición:

La formulación básica 2X que se muestra en la Tabla 9 se preparó como se describió en la formulación básica del protocolo donde el fármaco empleado fue el esteroide dexametasona. En la preparación de 50 mL de formulación: una mezcla de amortiguador se preparó disolviendo cantidades de los componentes que se muestran en la Tabla 10 en 25 mL de agua desionizada para preparar un amortiguador 2X.

TABLA 10

Componentes	Cantidad para 50 mL de formulación final
Fosfato de sodio dibásico (0.81 %)	0.2025 g
Fosfato sódico monobásico (0.93%)	0.2325 g
cloruro sódico (0.18%)	0.045 g

Excipiente polímero (PVP-K-90, 1.2%, 0.3 g para 50 mL) se dispersó en 25 mL de mezcla de amortiguador 2X y suavemente se agitó en vórtex para obtener una solución clara. La formulación básica 2X se añadió en el mismo volumen y mezcló para obtener una solución uniforme. El pH de la solución se ajustó con NaOH o HCl para un objetivo de pH 6.8. La osmolalidad de la solución se ajustó con NaCl para estar en el intervalo de aproximadamente 280-300 mOsmol/kg. La formulación se esterilizó por un filtro de membrana de nylon (0.22 µm) y después se almacenó a 4 °C hasta el uso.

En una modalidad, una formulación nanomicelar mixta de dexametasona de la presente descripción incluye los componentes listados en la Tabla 11:

TABLA 11

Componentes (% p/v)	Peso (g)
Dexametasona (0.1%)	0.025 g
Vit. E TPGS (4.5%)	1.125 g
Octoxinol - 40 (2.0%)	0.5 g
Fosfato sódico dibásico (0.81%)	0.2025 g
Fosfato sódico monobásico (0.93%)	0.2325 g
cloruro sódico (0.18%)	0.045 g
PVP K-90 (1.2%)	0.3 g

Las pruebas de estabilidad mostraron que después de aproximadamente 40 días en el refrigerador (~ 4 °C) la concentración de dexametasona en la composición permaneció aproximadamente constante (las muestras se diluyeron 1000 veces antes del análisis). El análisis de dexametasona en las muestras de estabilidad se analizaron usando cromatografía líquida de alto rendimiento de fase reversa. La fase móvil consistió de 40% acetonitrilo: 60% agua: 0.1% ácido trifluoroacético, bombeado a

un régimen de flujo de 1 ml/min. La fase estacionaria consistió de una columna C18, 250 × 4.6 mm (Phenomenex, Torrance, CA). El tamaño de partícula de las composiciones micelares mixtas que comprenden 0.1% dexametasona mostraron tamaño de micelas de aproximadamente 20 nm. La viscosidad de formulación micelar mixta 0.1% se midió para ser 2.79 centipoise. La claridad óptica se evaluó midiendo la absorbancia de la formulación a 400 nm usando un espectrofotómetro UV-Visible, (Modelo: BioMate-3, Thermo Spectronic, Waltham, MA), con agua como blanco. La formulación fue clara, ya que la absorbancia UV de la formulación que contiene el fármaco fue similar al agua (blanco).

Ejemplo 4

Distribución Ocular y Farmacocinética de ¹⁴C-Dexametasona después de la Administración Tópica de una Formulación Nanomicelar de 0.1% en peso/vol Dexametasona

Este estudio se llevó a cabo para evaluar la distribución temporal de una formulación tópica de 0.1% en peso/vol. de dexametasona de la presente descripción después de la aplicación ocular (dosis única de 50 µL por ojo) mediante la determinación de la concentración en los tejidos oculares, lágrimas, y sangre en conejos macho Blanco de Nueva Zelanda (NZW).

Conejos machos NZW (n=4) que pesan entre 2.0 y 2.5 kilogramos se usaron en un estudio de dosis única (SD). Los animales se anestesiaron antes del experimento por medio de ketamina HCl (35 mg/kg) y xilazina (3.5 mg/kg) administrado por vía intramuscular. La anestesia se mantuvo durante todo el experimento Cincuenta microlitros de formulación micelar mixta de 0.1% dexametasona (Vitamina E TPGS - 4.5% y Octoxinol-40 - 2.0%) se infundió por vía tópica. Después de un período de 60 min, la eutanasia se realizó bajo anestesia profunda con una inyección intravenosa de pentobarbital sódico a través de la vena marginal de la oreja. Después de la eutanasia, el globo del ojo se enucleó inmediatamente (en un promedio dentro de 150 segundos) y se transfirió a un vaso que contiene amortiguador de fosfato enfriado con hielo (pH 7.4). Lavados repetitivos se llevaron a cabo en amortiguador de fosfato frío para eliminar cualquier fármaco adsorbido sobre la superficie. El humor acuoso se retiró por paracentesis limbal y después el humor vítreo se aspiró usando una jeringa de 1 ml de tuberculina después de hacer una pequeña incisión en la unión del limbo esclerótica. El globo ocular enucleado se abrió con un corte y los siguientes tejidos se diseccionaron: córnea, iris-cuerpo ciliar (ICB), lente, retina-coroides (RC) y esclerótica. Después de la disección, los tejidos se secaron con Kimwipes® y pesaron. El contenido de proteína en el humor acuoso y vítreo se midió por el método de Bradford (estuche de estimación de proteína Bio-Rad, Hercules, CA). Todas las muestras de tejido se almacenaron a -80 °C antes de su análisis adicional.

Los tejidos se homogeneizaron en aproximadamente 500 µl de amortiguador fosfato frío (4 °C) (pH 7.4) durante aproximadamente 4 minutos con un homogeneizador de tejido (Tissue Tearor, Modelo 985-370; Dremel Multipro, Racine, WI) en un baño de hielo, con el excepción de la esclerótica, que requiere 1.5 ml de amortiguador. Se usaron doscientos microlitros de humor acuoso (AH) y humor vítreo (VH) para el análisis como tal sin procesamiento adicional. Posteriormente, se usaron 200 µl de los homogeneizados de tejido (córnea, iris-cuerpo ciliar, lente, retina coroides y esclerótica), humor acuoso y humor vítreo para el procesamiento adicional de la muestra.

La dexametasona se extrajo de los homogeneizados de tejido ocular usando extracción simple líquido-líquido. La Prednisolona se usó como estándar interno (IS) en el ensayo cuantitativo LC-MS/MS para la Dexametasona. Veinticinco microlitros de IS a una concentración de 10 µg/ml se añadió a todas las muestras de homogeneizado de tejido y agitó en vórtex durante 30 segundos. Quinientos microlitros de *t*-butil metil éter se añadió a las muestras y luego se agitó con vórtex vigorosamente durante 1 min. Las muestras se centrifugaron a 10,000 rpm durante 25 min a 4 °C. El sobrenadante se separó y evaporó después, usando SpeedVac® (SAVANT Instruments, Inc., Holbrook, NY). Los residuos secos se disolvieron en 100 µl de acetonitrilo:agua (70:30) que contienen 0.05% de ácido fórmico y después la muestra se agitó con vórtex durante 1 min. Los estándares de calibración se prepararon retando tejidos control apropiado (tejidos obtenidos de animales no tratados) con diferentes concentraciones de dexametasona. Todos los estándares y las muestras se sometieron al mismo procedimiento de extracción. Todos los estándares y las muestras se analizaron usando LC-MS/MS.

El análisis de dexametasona a partir de los homogeneizados de tejido ocular se realizó usando un espectrómetro de masas triple cuádruplo con ionización por electrospray (ESI) en una fuente IonSpray turbo (API 2000; Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos) acoplado a un sistema de cromatografía de líquidos (Agilent HP1100, Agilent Technology Inc., Palo Alto, CA, Estados Unidos) y columna C18 de 50 × 4.6 mm (Phenomenex, Torrance, CA). La fase móvil consistió en 70% acetonitrilo y 30% agua con 0.1% ácido fórmico y se bombeó a un régimen de flujo de 0.2 ml/min. El volumen de muestra inyectado fue 25 µl y el tiempo de análisis fue de 7 min. El modo de monitorización de reacción múltiple (MRM) se utilizó para detectar el compuesto de interés. El límite de cuantificación se encontró que es 2.7 ng/ml. La Tabla 12 muestra

la concentración de dexametasona lograda en los fluidos y tejidos oculares a continuación de la administración única de colirio tópico de formulación nanomicelar mixta de 0.1% dexametasona de la presente descripción.

TABLA 12

Tejido (s)/ Fluidos Oculares & Sangre	C \pm SD (ng eq./g)
Coroides/Retina	48.5 \pm 23.1
Córnea	1050.7 \pm 446.8
Iris/Cuerpo ciliar	529.6 \pm 309.1
Humor acuoso	344.0 \pm 116.7
Esclerótica	103.9 \pm 67.1
Lente	No detectable
Humor vítreo	No detectable

Los informes indican que los niveles de concentración terapéutica de dexametasona requeridos en el humor vítreo para el tratamiento de la uveítis posterior es 0.01-4.0 μ g/mL. Se cree que las formulaciones nanomicelares descritas pueden reducir significativamente los efectos secundarios asociados con la terapia actual para tratar afecciones de la parte posterior del ojo. Por ejemplo, tales efectos secundarios adversos de la terapia actual con esteroide incluyen la catarata e hipertensión ocular. Como resultado la toxicidad a largo plazo de la dosis limitante, tales como catarata e hipertensión ocular o glaucoma puede reducirse o evitarse por completo. Estos efectos secundarios frecuentemente causan la reducción de la eficacia terapéutica y la interrupción de la terapia. El uso de una formulación nanomicelar de la presente descripción, una concentración de dexametasona lograda en la retina-coroides (RC \sim 50 ng/g de tejido) después de una administración única del colirio (50 μ L) cae en el intervalo de concentración terapéutica para el tratamiento de enfermedades del segmento posterior. Se cree que los niveles de concentración mayor se pueden alcanzar en RC a continuación de dosificación múltiple o por una carga mayor de fármaco dentro de las nanomicelas. Curiosamente, la concentración de dexametasona en la lente y humor vítreo fue por debajo del límite de detección (LOD = 2.5 ng/mL). Este resultado interesante sugiere que tras la administración tópica, las nanomicelas penetran a través de canales/poros acuosos de la esclerótica alcanzando la RPE transecleróticamente (alrededor del globo) y no intraocularmente a través de la lente y el humor vítreo. Aunque la inyección/implante intravítreo entrega directamente los compuestos al segmento posterior del ojo, sus efectos secundarios potenciales inherentes como aumento de la presión intraocular, hemorragia, desprendimiento de retina, cataratas, endoftalmítis, llevan a complicaciones que limitan la terapia a largo plazo. Los niveles de concentración insignificantes en la lente y el humor vítreo sugiere que estos efectos secundarios pueden ser disminuidos en gran medida o incluso eliminados usando la nueva formulación nanomicelar mixta desarrollada.

40 Ejemplo de Referencia 5

Preparación de una Formulación Nanomicelar Mixta de Rapamicina (Sirolimus) La rapamicina (sirolimus) es un inhibidor de mTORr aprobado por USFDA. Es un fármaco hidrofóbico con una solubilidad acuosa baja (2.6 μ g/mL). En este ejemplo, la solubilidad del fármaco, rapamicina, se mejoró hasta aproximadamente 2000 veces (4 mg/mL).

La formulación de micela nanomixta de la rapamicina (sirolimus) de aproximadamente 25 nm se preparó por un método de evaporación del disolvente. La preparación de la formulación se dividió en dos etapas: 1. Preparación de la formulación básica y 2. rehidratación. En resumen, 200 mg de rapamicina, 4.5 g de Vit E TPGS y 2 mg de octoxinol-40 se disolvieron en 10 mL de etanol por separado. Todas las tres soluciones se mezclaron al mismo tiempo en un matraz de fondo redondo. La solución se mezcló para obtener una solución homogeneizada. Se evaporó el disolvente por evaporación rotatoria para obtener una capa fina sólida. El etanol residual en la formulación se eliminó bajo alto vacío durante toda la noche a temperatura ambiente. La capa fina resultante se hidrató con 50 mL de agua bidestilada. La formulación rehidratada se sometió a sonicación, durante aproximadamente 20 minutos. La formulación rehidratada obtenido se hizo con solución de amortiguador fosfato, pH 6.8, a 100 mL, que se filtró después a través filtro de membrana de nylon de 0.2 μ m para esterilizar y eliminar cualquier otra partícula extraña.

Ejemplo de Referencia 6

Distribución Ocular y Farmacocinética de ^{14}C -Rapamicina después de la Administración Tópica de una Formulación Nanomicelar de 0.2 % en peso/vol Rapamicina

5 Para los estudios en animales, se usaron formulaciones de 0.2% rapamicina (2 mg/mL), que mostraron un aumento ~ 1000 veces en la solubilidad. El protocolo de los animales para este experimento se aprobó por la Universidad de Missouri Kansas City Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (UMKC IACUC). Los conejos machos NZW que pesaban aproximadamente 2.5 kg se obtuvieron de Rabbitry de Myrtle (Thompson Station, TN). Los animales se aclimataron durante 24 horas en la instalación de animales UMKC. Para el tratamiento, se usaron N=3 animales. Los animales se anestesiaron antes del experimento por medio de ketamina HCl (35 mg/kg) y xilazina (3.5 mg/kg) administrado por vía intramuscular. La anestesia se mantuvo durante todo el experimento. Cincuenta microlitros de formulación nanomicelar mixta de 0.2% rapamicina (Vit. E TPGS - 4.5% y Octoxinol-40 - 2.0%) se instiló en forma tópica en el saco conjuntival del ojo izquierdo. Un minuto antes de la instilación de la formulación, cincuenta microlitros de amortiguador se instiló por vía tópica en el saco conjuntival del ojo derecho como tratamiento control. Después de un período de 60 min, la eutanasia se realizó bajo anestesia profunda con una inyección intravenosa de pentobarbital sódico a través de la vena marginal de la oreja.

20 A continuación de la eutanasia, el globo del ojo se enucleó inmediatamente y se transfirió a un vaso que contiene amortiguador de fosfato enfriado con hielo (pH 7.4). Los globos de los ojos enucleados se lavaron dos veces en amortiguador fosfato frío para eliminar cualquier fármaco adsorbido en la superficie. El humor acuoso (AH) se retiró por paracentesis limbal y después el humor vítreo (VH) se aspiró usando una jeringa de 1 mL de tuberculina después de hacer una pequeña incisión en la unión del limbo esclerótica. El globo ocular enucleado se abrió con un corte y los siguientes tejidos se diseccionaron: córnea, iris-cuerpo ciliar (ICB), lente, retina-coroides (RC) y esclerótica. Después de la disección, los tejidos se secaron con Kimwipes[®] y pesaron. Todos los tejidos se homogeneizaron usando el siguiente procedimiento descrito más abajo y se almacenaron a -80 °C. Los homogeneizados de tejido se descongelaron. El contenido de proteína se determinó en una alícuota y se utilizó otra alícuota de cada homogeneizado para el contenido de rapamicina como se describe más abajo.

30 Homogeneización del tejido:

Cuatro tejidos (retina-coroides, lente, córnea y el iris cuerpo ciliar) por animal se homogeneizaron en 500 μL de amortiguador de fosfato frío (4 °C) (pH 7.4) durante aproximadamente 4 min con un homogeneizador de tejidos (Tissue Tearor, Modelo 985-370; Dremel Multipro, Racine, WI) en un baño de hielo. La esclerótica requirió 2.0 mL de amortiguador para la homogeneización. El humor acuoso y humor vítreo no requirieron homogeneización.

35 Determinación de proteína:

El contenido de proteína en los extractos de tejidos (córnea, lente, esclerótica, retina-coroides, Iris cuerpos ciliares), humor acuoso y vítreo se midió por el método de Bradford (estuche de estimación de proteínas Bio-Rad, Hercules, CA) siguiendo las directrices de los fabricantes.

Extracción para la determinación de rapamicina:

45 Doscientos μL de cada homogeneizado de tejido (córnea, iris-cuerpo ciliar, lente, retina-coroides y esclerótica), humor acuoso (100 μL) y humor vítreo (200 μL) se extrajeron para el análisis de rapamicina. La eritromicina se usó como un estándar interno (IS). Veinticinco microlitros de IS en una concentración de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se añadió a todas las muestras de homogeneizado de tejido excepto el blanco y se agitó por vórtex durante 60 segundos. La rapamicina y el IS se extrajeron a partir de los homogeneizados de tejido ocular usando el método de precipitación de la proteína. Veinticinco microlitros de 50% trietilamina en metanol (v/v) se añadió a todas las muestras y se agitó con vórtex vigorosamente después durante 2 min. Las proteínas se precipitaron añadiendo a la mezcla anterior 800 μL de metanol y se mezcló con vórtex durante otros 2 minutos. Las muestras se centrifugaron después a 10,000 rpm durante 30 min a 4°C. El sobrenadante, 500 μL , se separó y evaporó después, usando SpeedVac[®] (SAVANT Instruments, Inc., Holbrook, NY). Los residuos secos se reconstituyeron en 100 μL de fase móvil HPLC (acetonitrilo-agua (80:20 v/v) con 0.1% ácido fórmico), seguido por agitación con vórtex durante 2 min. Estándares para la curva de calibración para cada uno de los homogeneizados de tejido individuales se prepararon retando los respectivos homogeneizados de tejidos de control (blanco) con diversas concentraciones (intervalo de la curva de calibración de 10.48-1000 ng/ml) de rapamicina. Siete curvas de calibración (una por tejido) se prepararon y analizaron junto con cada análisis de muestra de homogeneizado de tejido. Una matriz de la muestra por tejido se extrajo a partir de los ojos tratados con el control. Todos los estándares y las muestras se analizaron usando LC-MS/MS.

Métodos analíticos para el análisis de rapamicina:

El análisis de rapamicina a partir de los homogeneizados de tejido ocular se realizó usando un espectrómetro de masas triple cuádruplo con ionización por electrospray (ESI) en una fuente IonSpray turbo (API 3200; Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos) acoplado a un sistema de cromatografía líquida (Prominence HPLC Shimadzu, Riverwood Drive, Columbia Maryland-21046, Estados Unidos) y columna C 8 de fase reversa, 5µm, 50 × 4.6 mm (Waters Corporation US) y la temperatura de la columna se mantuvo a 40 °C (calentador de columna CH-30 Flatron, sistemas planos Inc., Estados Unidos). La fase móvil consiste de acetonitrilo-agua (80:20 v/v) con 0.1% ácido fórmico y se bombeó a un régimen de flujo de 0.25 mL/min. El volumen de muestra inyectado fue 20 µL y el tiempo de corrida del análisis fue 7 min. El modo de monitorización de reacción múltiple (MRM) se utilizó para detectar el compuesto de interés. La transición MRM para la rapamicina $m/z[M+Na]^+$: 936.4/409.3 y para IS $m/z[M+H]^+$: 734.4/576.5 se optimizaron. La curva de calibración consistió de 10.48 ng/mL, 29.95 ng/mL, 187.20 ng/mL, 312.00 ng/mL, 480.00 ng/mL, 640.00 ng/mL, 800.00 ng/mL y 1000.00 ng/mL de rapamicina en los respectivos extractos de muestras de tejidos. El límite inferior de cuantificación se determinó que es 10.48 ng/mL.

Los niveles de rapamicina en los tejidos oculares aislados se proporcionan en la Tabla 13. Las unidades de ng/ml en el extracto de tejido se convirtieron en ng/g de tejido basado en el peso real de la muestra de tejido. La rapamicina no se detectó en AH , VH y en la lente. La concentración más alta se detectó en la córnea seguido por el iris-cuerpo ciliar, esclerótica y después la retina/coroides (parte posterior del tejido del ojo). Se observa que muy por encima de los niveles terapéuticos de rapamicina con la aplicación tópica se logra en la retina/coroides (objetivo para el edema macular diabético, neovascularización de la retina, degeneración macular asociada a la edad húmeda) cuando la formulación se aplica en forma tópica. Los nanoportadores micelares, debido a sus cadenas hidrofílicas en el exterior pueden utilizar los canales/poros acuosos de la esclerótica para penetrar de manera eficiente, cuyo diámetro está en el intervalo de 30 nm a 300 nm. Adicionalmente, la corona micelar hidrofílica ayuda a evadir el lavado de los fármacos en la circulación sistémica por los vasos sanguíneos conjuntivales/coroidales y linfáticos. Utilizando los canales acuosos de la esclerótica la rapamicina atraviesa la vía transescleral y alcanza la parte posterior del ojo (retina coroides). Aquí, la difusión del fármaco en el humor acuoso, lente y el humor vítreo se evita debido a la naturaleza hidrofóbica del fármaco. Por lo tanto, se pueden evitar los efectos secundarios asociados con las inyecciones intravítreas repetidas.

TABLA 13

Tejido (s)/ Fluidos Oculares & Sangre	C ± SD (ng/g)
Córnea	2260.74 ±507.11
Iris músculos ciliares	585.48 ±80.06
Esclerótica	486.39 ±89.99
coroides/Retina	362.35 ±56.17

Para la preparación de las formulaciones nanomicelares mixtas de la presente descripción, se seleccionaron dos surfactantes no iónicos, vitamina E TPGS y octoxinol-40, que fácilmente formaron nanomicelas mixtas. En una modalidad, 2.5% vitamina E TPGS y 2.0% octoxinol -40 se usó para la fabricación de una formulación nanomicelar de voclosporina de la presente descripción. En una modalidad, se usó 4.5% vitamina E TPGS y 2.0% de octoxinol-40 para la fabricación de una formulación nanomicelar de rapamicina de la presente descripción y una formulación nanomicelar de dexametasona de la presente descripción. La osmolalidad de las formulaciones preparadas estuvieron en el intervalo desde aproximadamente 75 mOsm/kg a aproximadamente 325 mOsm/kg. El tamaño de las nanomicelas mixtas, formulación de 0.2% rapamicina, se determinó con un analizador del tamaño de partícula y se encontró que era 25.3 ± 1.2 nm con un índice de polidispersidad de 0.206. Hubo un aumento en el tamaño de las micelas de rapamicina cuando se compara con voclosporina (~ 12 nm) y dexametasona (~18 nm). Las nanomicelas mixtas se disociaron y liberaron la rapamicina hidrofóbica para formar una suspensión acuosa lechosa en el intervalo de temperatura de aproximadamente 83 °C a aproximadamente 90 °C, con un tiempo de regeneración al enfriar de aproximadamente 2 min a aproximadamente 3 min para formar una solución clara de nuevo. En comparación con una formulación nanomicelar de voclosporina, las formulaciones nanomicelares mixtas de dexametasona y rapamicina se disociaron a unas temperaturas mucho más altas. La absorbancia de las nanomicelas mixtas se observó a 400 nm en un espectrofotómetro UV-Visible usando agua como blanco. La absorbancia de la formulación se encontró que era insignificante (0.033 AU). Esto demuestra que la formulación fue clara y no se observó precipitación del

fármaco. EL atrapamiento de la rapamicina en una formulación nanomicelar se determinó con UV-HPLC en una longitud de onda de 278 nm usando una columna C-8 para la separación. La temperatura de la columna se mantuvo a aproximadamente 40°C. La eficiencia de atrapamiento de voclosporina o dexametasona se determinó con UV-HPLC a una longitud de onda de 210 nm y 254 nm respectivamente usando para la separación una columna Zorbax SB-fenil. Para el análisis de voclosporina la temperatura de la columna se mantuvo a 70°C.

La formulación nanomicelar mixta 0.2% que contiene rapamicina, administrada por vía tópica, se usó para estudiar el nivel de la rapamicina en varios tejidos oculares. La formulación nanomicelar mostró niveles de fármaco terapéutico en la retina/coroides (segmento posterior del ojo). No se detectó fármaco en el humor vítreo. Los niveles de fármaco estaban por debajo del límite de detección en el humor acuoso y la lente. La concentración más alta se detectó en la córnea seguido por iris-cuerpo ciliar, esclerótica y después la retina/coroides. Se observó tendencia similar en el suministro del fármaco a la retina/coroides con el inhibidor de la calcineurina (voclosporina) y corticosteroide (dexametasona). Los datos de distribución en tejido ocular de voclosporina y dexametasona mostraron aproximadamente 252 ng/mg y aproximadamente 50 ng/mg de nivel de fármaco en el tejido, respectivamente, en la retina/coroides. La formulación de rapamicina mostró un tremendo aumento en las concentraciones de fármaco en la retina y la coroides. La concentración de fármaco detectado en la retina/coroides fue aproximadamente 370 ng/g de tejido (~ 1.5 veces y ~ 7.5 veces más de voclosporina y dexametasona, respectivamente). La Tabla 14 más abajo compara las propiedades físicas para una formulación nanomicelar de 0.2% voclosporina de la presente descripción, una formulación nanomicelar de 0.1% dexametasona de la presente descripción y una formulación nanomicelar de 0.2 % rapamicina de la presente descripción

TABLA 14

Formulación	Tamaño de partícula (nm)	Índice de polidispersión	Temperatura de disociación (°C)	Tiempo de regeneración (min)	Absorbancia
0.2% Voclosporina	12.5	0.156	55	3.3	0.026
0.1% Dexametasona	18.0	0.218	N.D	N.D	0.025
0.2% Rapamicina	25.0	0.206	90	2.9	0.033
N.D - No determinado (por encima de 100 °C)					

Se apreciará que varias de las anteriormente descritas y otras características y funciones o alternativas de estas, pueden ser combinadas de manera deseable en muchos otros sistemas o aplicaciones diferentes. Varias alternativas actualmente imprevistas o inesperadas, modificaciones, variaciones, o mejoras en la misma pueden ser posteriormente hechas por aquellos con experiencia en la técnica lo que además se pretende que se abarque por las siguientes reivindicaciones.

Reivindicaciones

- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
1. Una solución oftálmica acuosa que comprende nanomicelas en un amortiguador fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde la dexametasona en una concentración en el intervalo de aproximadamente 0.1% p/v a aproximadamente 1.00% p/v se solubiliza a través de atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrofílicas que se extienden a partir del núcleo hidrofóbico en donde las nanomicelas comprenden vitamina E polietilenglicol succinato de tocoferol (TPGS) a una concentración en el intervalo de aproximadamente 2.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v estabilizado con octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0% p/v a aproximadamente 3.0 % p/v.
 2. La solución acuosa oftálmica de la reivindicación 1 en donde el pH está en un intervalo de aproximadamente 6.6 a aproximadamente 7.0.
 3. Una formulación de colirio que comprende:

dexametasona a una concentración en el intervalo de aproximadamente 0.01 % p/v a aproximadamente 1.00 % p/v; vitamina E polietilenglicol succinato de tocoferol (TPGS) a una concentración en el intervalo de aproximadamente 2.0 % p/v a aproximadamente 5.0 % p/v; y octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0 % p/v a aproximadamente 3.0 %, p/v, en donde la dexametasona se solubiliza a través de atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto de la vitamina E TPGS y el octoxinol-40.
 4. La solución oftálmica acuosa de la reivindicación 1 o la formulación de colirio de la reivindicación 3 en donde la concentración de la dexametasona es de aproximadamente 0.05 % p/v a aproximadamente 0.25% p/v.
 5. La solución oftálmica acuosa de la reivindicación 1 o la formulación de colirio de la reivindicación 3 en donde la concentración de la vitamina E TPGS es de aproximadamente 4.0 % p/v a aproximadamente 5.0% p/v.
 6. La solución oftálmica acuosa de la reivindicación 1 o la formulación de colirio de la reivindicación 3 en donde la concentración del octoxinol-40 es de aproximadamente 1.5 % p/v a aproximadamente 2.5% p/v.
 7. La formulación de colirio de la reivindicación 3 en donde la dexametasona está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 0.1% en peso p/v, la vitamina E TPGS está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 4.5% p/v, y el octoxinol -40 está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 2.0% p/v.
 8. Un estuche que comprende: una dosis unitaria de una solución oftálmica acuosa que comprende nanomicelas en un amortiguador fisiológicamente aceptable, que tiene un pH de 5.0 a 8.0, en donde la dexametasona en una concentración en el intervalo de aproximadamente 0.01 % p/v a aproximadamente 1.00 % p/v se solubiliza a través de atrapamiento en un núcleo hidrofóbico micelar mixto con una corona compuesta de cadenas hidrofílicas que se extienden a partir del núcleo hidrofóbico, en donde las nanomicelas comprenden vitamina E polietilenglicol succinato de tocoferol (TPGS) a una concentración en el intervalo de aproximadamente 2.0% p/v a aproximadamente 5.0% p/v estabilizado con octoxinol-40 a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1.0% p/v a aproximadamente 3.0 % p/v, en donde la dosis unitaria está contenida dentro de un vial preparado a partir de un material envasado farmacéuticamente aceptable.
 9. El estuche de la reivindicación 8 en donde la dosis unitaria es de aproximadamente 50 µL.
 10. El estuche de la reivindicación 8 en donde la dexametasona está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 0.1% en peso p/v, la vitamina E TPGS está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 4.5% p/v, y el octoxinol -40 está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 2.0% p/v.
 11. El estuche de la reivindicación 8 en donde el material envasado farmacéuticamente aceptable es polietileno de baja densidad o polietileno de alta densidad.

- 12.** Una solución acuosa oftálmica o una formulación de colirio de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para uso en el tratamiento de una afección ocular de la parte posterior del ojo.

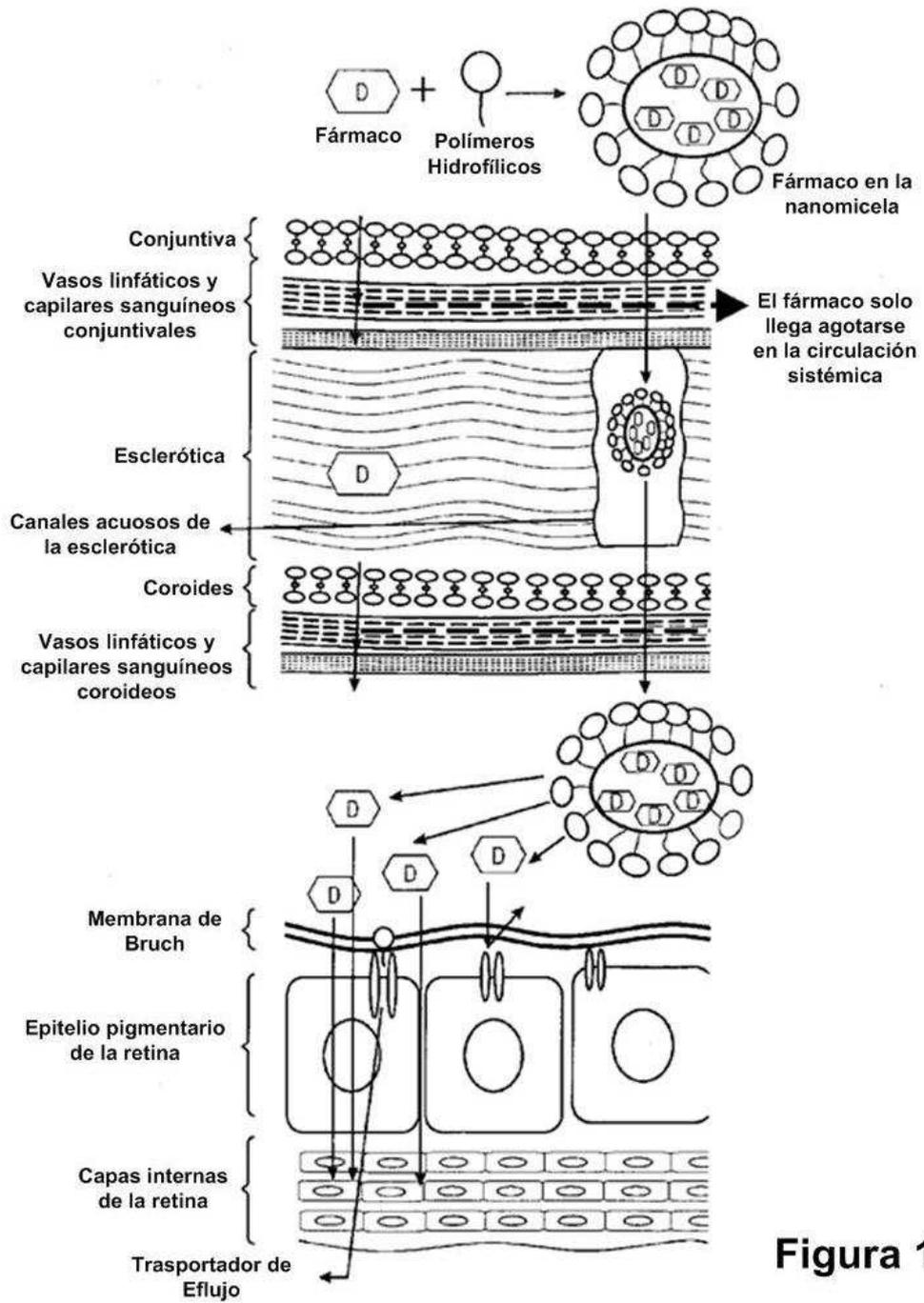


Figura 1