



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 667 945

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01) A61K 38/13 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01) A61K 47/32 (2006.01) A61K 9/107 (2006.01) A61K 31/436 (2006.01) A61K 31/355 (2006.01)

(12)

# TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: 08.10.2008 PCT/US2008/079170

(87) Fecha y número de publicación internacional: 16.04.2009 WO09048929

96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 08.10.2008 E 08837729 (6)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 21.02.2018 EP 2197461

(54) Título: Composiciones oftálmicas que comprenden inhibidores de calcineurina o Inhibidores de mTOR

③ Prioridad:

08.10.2007 US 997796 P 04.12.2007 US 992205 P 20.03.2008 US 38223 P 23.09.2008 US 99420 P

Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 16.05.2018 (73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

MITRA, ASHIM K.; VALAGALETI, POONAM R. y NATESAN, SUBRAMANIAN

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

### **DESCRIPCIÓN**

Composiciones oftálmicas que comprenden inhibidores de calcineurina o Inhibidores de mTOR

#### Campo

5

10

15

20

35

Las realizaciones descritas en este documento se refieren a composiciones oftálmicas estables que comprenden inhibidores de calcineurina o inhibidores de mTOR, y más particularmente a procedimientos para tratar una enfermedad y/o afección ocular usando las composiciones descritas.

#### Antecedentes

La enfermedad y la lesión en la superficie anterior del ojo son las principales causas de visitas a los médicos para el cuidado médico de los ojos en los Estados Unidos. Estas enfermedades y lesiones se encuentran entre las afecciones oculares más dolorosas y pueden provocar discapacidad y ceguera. Los principales problemas clínicos de la superficie del ojo incluyen el secado de la superficie ocular, anomalías en la película lagrimal y complicaciones relacionadas; heridas en la superficie ocular con la patología resultante y la cicatrización; distrofias de disfunción corneal y enfermedad hereditaria; enfermedad inflamatoria; e infecciones oculares externas. Las enfermedades y lesiones oculares pueden tener síntomas que van desde picor, ojos llorosos hasta problemas de visión. Por lo tanto, es importante abordar los problemas oculares de inmediato, ya que algunas enfermedades pueden empeorar progresivamente o incluso desencadenar otros problemas graves. La mayoría del tratamiento farmacológico de la enfermedad ocular incluye la aplicación tópica de soluciones en la superficie del ojo como gotas. A pesar de la proporción relativamente pequeña de una dosis de fármaco aplicada por vía tópica que finalmente llega a los tejidos oculares del segmento anterior, las formulaciones tópicas siguen siendo eficaces, en gran parte debido a las muy altas concentraciones de fármacos que se administran.

El documento US 2005/0277584 describe una solución acuosa líquida que comprende una concentración terapéuticamente eficaz de una ciclosporina y un succinato de polietilenglicol de tocoferol de vitamina E, en la que no está presente ningún solvente orgánico hidrófilo a una concentración mayor que la mitad de la de la ciclosporina. La composición está destinada para uso oftálmico

La enfermedad y la lesión de los tejidos del segmento posterior del ojo, que incluyen la retina y la coroides, están implicados en muchas de las enfermedades con ceguera más comunes en el mundo industrializado. La degeneración macular relacionada con la edad (AMD) por sí sola afecta a más de 10 millones de estadounidenses. La pérdida grave de la visión causada por la AMD y otras enfermedades que afectan el segmento posterior, incluida la retinopatía diabética, el glaucoma y la retinosis pigmentosa, representan la mayoría de los casos de ceguera irreversible en todo el mundo. Actualmente, el tratamiento de la enfermedad del segmento posterior está en gran medida limitado por la dificultad de administrar dosis eficaces de fármacos a los tejidos diana en el ojo posterior.

### Resumen

Las composiciones oftálmicas que comprenden inhibidores de calcineurina o inhibidores de mTOR se describen en este documento. Las composiciones oftálmicas de la presente divulgación son soluciones acuosas de micelas mixtas. Las composiciones oftálmicas descritas en este documento son biocompatibles, y son particularmente útiles para la aplicación tópica en el ojo para el tratamiento de una afección ocular.

La composición farmacéutica de la presente invención forma micelas mixtas, es apropiada para la aplicación tópica al tejido ocular y comprende:

- un inhibidor de calcineurina seleccionado de voclosporina, ciclosporina A, pimecrolimus, tacrolimus, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o combinaciones de los mismos; o un inhibidor de mTOR seleccionado entre sirolimus, temsirolimus, everolimus, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o combinaciones de los mismos:
  - vitamina E TPGS; y
  - octoxinol-40.
- Según los aspectos ilustrados en este documento, se proporciona un procedimiento de preparación de una composición de micelas mixtas que incluye la mezcla de un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR con dos surfactantes, a saber vitamina E TPGS y octoxinol-40, en un solvente para formar una solución de solvente; la evaporación de la solución de solvente para formar un material casi sólido; la hidratación del material casi sólido con una solución acuosa; y disolver la mezcla casi sólida para producir la composición de micelas mixtas, en la que la composición es ópticamente transparente.

Según los aspectos ilustrados en este documento, se proporciona un procedimiento de tratamiento de una enfermedad ocular en un paciente que lo necesita que incluye la administración por vía tópica a un ojo del paciente una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de calcineurina o un inhibidor

de mTOR, la composición además tiene vitamina E TPGS y octoxinol-40, en la que la composición es una solución acuosa de micelas mixtas.

Según los aspectos ilustrados en este documento, se proporciona un procedimiento para tratar, reducir, mejorar o aliviar una enfermedad ocular inflamatoria en un animal que incluye proporcionar una composición farmacéutica de micelas mixtas que tiene un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR encapsulado en micelas, las micelas formadas con vitamina E TPGS y octoxinol-40; y administrar al animal una cantidad de la composición farmacéutica a una frecuencia suficiente para tratar, reducir, mejorar o aliviar la enfermedad ocular inflamatoria.

Según los aspectos ilustrados en este documento, se proporciona un procedimiento para tratar, reducir, mejorar o aliviar una afección o trastorno de la parte posterior del ojo en un sujeto que incluye proporcionar una composición farmacéutica de micelas mixtas que tiene un inhibidor de calcineurina encapsulado en micelas formadas con vitamina E TPGS y octoxinol-40; y administrar al sujeto una cantidad de la composición farmacéutica a una frecuencia suficiente para tratar, reducir, mejorar o aliviar la afección o trastorno de la parte posterior del ojo.

Según los aspectos ilustrados en este documento, se proporciona una composición de lágrima artificial que incluye una solución acuosa de micelas mixtas, las micelas mixtas formadas a partir de vitamina E TPGS y octoxinol-40.

15 Breve descripción de los dibujos

5

10

25

40

45

Las realizaciones descritas actualmente se explicarán adicionalmente con referencia a los dibujos adjuntos, en las que se hace referencia a estructuras similares mediante números similares a lo largo de las diversas vistas. Los dibujos mostrados no son necesariamente a escala, con énfasis, en cambio, en general, al ilustrar los principios de las realizaciones descritas actualmente.

La figura 1 muestra una representación gráfica de los valores medios de la prueba de lágrima de Schirmer (STT) de pacientes caninos con KCS durante 30 días de tratamiento con una realización de una formulación micelar mixta que contiene un 0.2% de voclosporina de la presente divulgación.

La figura 2 muestra los niveles tisulares de voclosporina después de una sola dosis tópica (1 día) de una composición farmacéutica de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente que tienen <sup>14</sup>C-voclosporina para conejos blancos hembra de Nueva Zelanda. Se observaron niveles terapéuticos de voclosporina incluso en la marca de 24 horas, es posible la administración de dosis una vez al día (QD) con la composición de micelas mixtas acuosa de las realizaciones descritas actualmente. El experimento incluyó conejos machos también con resultados similares (datos no mostrados).

Las figuras 3A-D muestran concentraciones medias de tejido ocular de voclosporina después de una dosis tópica única (1 día) o repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de una composición farmacéutica de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente que tienen <sup>14</sup>C-voclosporina en conejos blancos hembra de Nueva Zelanda. La figura 3A muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en la córnea. La figura 3B muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en el iris/cuerpo ciliar. La figura 3C muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en la glándula lagrimal. La figura 3D muestra la concentración media de tejido ocular de la voclosporina en el cristalino.

Las figuras 4A-D muestran concentraciones medias de tejido ocular de voclosporina después de una dosis tópica única (1 día) o repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de una composición farmacéutica de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente que tienen <sup>14</sup>C-voclosporina en conejos blancos hembra de Nueva Zelanda. La figura 4A muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en la conjuntiva inferior. La figura 4B muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en el párpado inferior. La figura 4C muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en la membrana nictitante. La figura 4D muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en la esclerótica.

Las figuras 5A-D muestran el tejido ocular medio y las concentraciones de voclosporina en fluidos después de una dosis tópica única (1 día) o repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de una composición farmacéutica de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente que tienen <sup>14</sup>C-voclosporina en conejos blancos hembra de Nueva Zelanda. La figura 5A muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en la conjuntiva superior. La figura 5B muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en el párpado superior. La figura 5C muestra la concentración media de fluido ocular de voclosporina en el humor acuoso. La figura 5D muestra la concentración media de fluido ocular de voclosporina en el humor vítreo.

Las figuras 6A-D muestran el tejido ocular medio y las concentraciones de voclosporina en fluidos después de una dosis tópica única (1 día) o repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de una composición farmacéutica de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente que tienen <sup>14</sup>C-voclosporina en conejos blancos hembra de Nueva Zelanda. La figura 6A muestra la concentración media de fluido ocular de voclosporina en lágrimas. La figura 6B muestra la concentración media de tejido ocular de la voclosporina en el ganglio linfático submandibular. La figura 6C muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en el nervio óptico. La figura 6D muestra la concentración media de tejido ocular de voclosporina en la coroides/retina.

# ES 2 667 945 T3

La figura 7 es un gráfico que muestra los valores de C<sub>max</sub> de voclosporina después de una dosis tópica repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de una composición farmacéutica de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente que tienen <sup>14</sup>C-voclosporina para conejos blancos hembra de Nueva Zelanda.

Mientras que los dibujos identificados anteriormente establecen realizaciones descritas actualmente, también se contemplan otras realizaciones, como se observa en la discusión.

## Descripción detallada

5

10

40

45

55

Las realizaciones descritas en este documento se refieren a composiciones farmacéuticas que comprenden inhibidores de calcineurina o inhibidores de mTOR en una forma de dosificación tópica micelar mixta. Se ha encontrado que las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación tratan, reducen, mejoran y alivian las afecciones oculares en un paciente o sujeto. En una realización, las composiciones se pueden usar para el tratamiento de enfermedades oculares, que incluyen enfermedades inflamatorias de la superficie ocular. Ejemplos de tales enfermedades incluyen, pero no se limitan a, síndrome del ojo seco (DES), síndrome de Sjogren, uveítis, conjuntivitis (ojo rosado), queratitis, queratoconjuntivitis, queratoconjuntivitis vernal (VKC), queratoconjuntivitis atópica (AKC), trastornos autoinmunes de la superficie ocular, tal como conjuntivitis cicatrizante, blefaritis y escleritis.

- En una realización, las composiciones se pueden usar para el tratamiento de un trastorno y/o afección de la parte posterior del ojo. Ejemplos de tales afecciones/trastornos incluyen, pero no se limitan a, uveítis posterior, degeneración macular relacionada con la edad (AMD, húmeda y seca), afecciones oculares diabéticas, tales como la retinopatía diabética (DR) y el edema macular diabético (DME), glaucoma, hipertensión ocular, dolor ocular postoperatorio e inflamación, neovascularización ocular tal como neovascularización del segmento posterior (PSNV), vitreorretinopatía proliferativa (PVR), retinitis por citomegalovirus (CMV), membranas neovasculares coroideas (CNVM), enfermedades vasculares oclusivas, retinitis pigmentosa, neuritis óptica, enfermedades de la superficie ocular, enfermedades de la córnea, enfermedades retinianas tales como membrana epirretiniana, manifestaciones oculares de enfermedades sistémicas, afecciones oculares hereditarias y tumores oculares.
- 25 En una realización, las composiciones se pueden usar para prevenir el rechazo de trasplantes de, por ejemplo, aloinjertos corneales después del trasplante. Es bien sabido que, en la inflamación, los linfocitos T juegan un papel crítico en la mediación del rechazo de tejidos extraños. La prevención del rechazo es de vital importancia para mantener la salud de las córneas trasplantadas. El rechazo puede ocurrir en cualquiera de las capas que comprenden la córnea, por ejemplo, el epitelio corneal, el estroma corneal o el endotelio corneal. El funcionamiento de la córnea 30 puede verse comprometido después del rechazo endotelial. La capa endotelial sirve para mantener la córnea en un estado compacto, actuando como una bomba al eliminar el agua del estroma corneal. Si la función de la capa endotelial se ve comprometida, puede producirse desorientación de las fibras de colágeno y se puede perder la transparencia de la córnea. Las células endoteliales humanas no son replicativas, y como consecuencia, la pérdida de células del donante en el contexto del rechazo es irreversible y puede conducir a la disminución de la función y 35 supervivencia del injerto. De este modo, el objetivo de ya sea la prevención o el tratamiento del rechazo en los receptores de trasplante de córnea es minimizar la pérdida de células endoteliales. Las composiciones de la presente divulgación se pueden usar para la prevención del rechazo después del trasplante de aloinjerto corneal.

Un paciente o sujeto que se va a tratar por cualquiera de las composiciones o procedimientos de la presente divulgación se puede referir a un animal humano o no humano. En una realización, la presente divulgación proporciona procedimientos para el tratamiento de una enfermedad ocular en un paciente humano que lo necesite. En una realización, la presente divulgación proporciona procedimientos para el tratamiento de una enfermedad ocular inflamatoria en un paciente humano que lo necesite. En otra realización, la presente divulgación proporciona procedimientos para el tratamiento de una enfermedad ocular en un paciente veterinario que lo necesite, que incluye, entre otros, perros, caballos, gatos, conejos, jerbos, hámsteres, roedores, aves, mamíferos acuáticos, ganado, cerdos, camélidos y otros animales zoológicos.

Como se usa en este documento, los términos "enfermedad ocular", "afección ocular", "enfermedad del ojo" y "afección del ojo" se refieren a enfermedades/afecciones del (los) ojo(s) que pueden ser amenazantes visuales, provocar molestias en los ojos y puede señalar problemas de salud sistémicos.

Como se usa en este documento, el término "enfermedad del segmento anterior" se refiere a todos los trastornos que afectan a la superficie del ojo, la cámara anterior, el iris y el cuerpo ciliar y el cristalino del ojo. La superficie del ojo está compuesta de córnea, conjuntiva, párpados, glándulas lagrimales y meibomianas, y los nervios interconectados.

Como se usa en este documento, los términos "enfermedad ocular del segmento posterior" y "enfermedad de la parte posterior del ojo" se refieren a todos los trastornos que afectan el segmento posterior del ojo. Una enfermedad ocular posterior es una enfermedad que afecta principalmente a un sitio ocular posterior como coroides o esclerótica, vítreo, cámara vítrea, retina, nervio óptico y vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan un sitio ocular posterior.

Como se usa en este documento, los términos "biocompatible" y "no irritante" se refieren a la propiedad de ser biológicamente compatibles al no producir una respuesta tóxica, perjudicial o inmunológica en el tejido vivo. Las

# ES 2 667 945 T3

composiciones de la presente divulgación son biocompatibles. De forma similar, ninguno de los componentes de las composiciones de la presente divulgación es intrínsecamente irritante para los tejidos oculares.

Como se usa en este documento, el término "emulsión" se refiere a una mezcla de dos o más líquidos inmiscibles, donde un líquido se dispersa en otro. Una emulsión, por ejemplo, una mezcla íntima de aceite y agua generalmente tiene una apariencia turbia o lechosa.

5

10

25

30

35

40

55

Como se usa en este documento, el término "micela" se refiere a un agregado (o agrupación) de moléculas surfactantes. Las micelas solo se forman cuando la concentración de surfactante es mayor que la concentración crítica de micelas (CMC). Los surfactantes son sustancias químicas que son anfipáticas, lo que significa que contienen grupos tanto hidrófobos como hidrófilos. Las micelas pueden existir en diferentes formas, incluidas las esféricas, cilíndricas y discoidales. Una micela que comprende al menos dos especies moleculares diferentes es una micela mixta. Las composiciones oftálmicas de la presente divulgación incluyen una solución micelar mixta acuosa, transparente.

Las micelas poliméricas se explotan como nanoportadores farmacéuticos para la administración de fármacos poco hidrosolubles (esto es, insolubles en agua) o hidrófobos, que se pueden solubilizar en el núcleo interno hidrófobo de una micela. Las micelas pueden, por lo tanto, servir para mejorar la solubilidad y la biodisponibilidad de diversos fármacos hidrófobos. El pequeño tamaño de las micelas (por lo general de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 nm) permite la acumulación eficiente de una unidad estructural activa asociada en los tejidos diana. Además, el pequeño tamaño de las micelas permite la ventaja de la esterilización de micelas por filtración a través de membranas con un tamaño de corte de 0.22 µm. Las micelas se pueden formar a partir de uno o más surfactantes no iónicos poliméricos. Dado que el tamaño de la micela es más pequeño que las longitudes de onda de la luz visible, se cree que la luz no está dispersa por las pequeñas micelas, lo que da como resultado una solución transparente, clara.

Como se usa en este documento, el término "claridad óptica" se refiere a una transmisión de la luz del 90% o mayor de una longitud de onda de 400 nm en una trayectoria de 1.0 centímetros. La claridad de la solución resulta del tamaño de la micela, que es por lo general más pequeño que la longitud de onda más pequeña de una radiación de luz visible (aproximadamente 350 nm). En una realización, las composiciones oftálmicas de la presente divulgación son sustancialmente transparentes con una absorción en general, por debajo de 0.1; preferiblemente con absorción, por debajo de 0.05 medida a 400 nm.

El valor del índice HLB (equilibrio hidrófilo/lipófilo) es un concepto introducido por Griffin en 1950 como una medida de la hidrofilicidad o lipofilia de los surfactantes no iónicos. Puede determinarse experimentalmente mediante el procedimiento de titulación de fenol de Marszall; véase "Parfumerie, Kosmetik", Vol. 60, 1979, pp. 444-448; se pueden encontrar referencias bibliográficas adicionales en Rompp, Chemistry Lexicon, 8th Edition 1983, p. 1750. Véase también, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 4,795,643 (Seth).

El síndrome del ojo seco (DES, ojo seco crónico, queratitis sicca, xeroftalmía, queratoconjuntivitis seca) se puede definir como una afección que incluye una variedad de trastornos que provocan la pérdida o la alteración de la composición de la película lagrimal natural, que mantiene la superficie del ojo. Sin esta película lagrimal, la visión se ve afectada y los pacientes pueden sufrir molestias oculares graves. El DES puede ser causado por una excesiva evaporación de lágrimas o por una reducción de la producción de lágrimas en la glándula lagrimal, que es el sitio de la producción de lágrimas. Aunque se desconocen las causas exactas de esta condición, existen pruebas que respaldan el vínculo entre la reducción de la producción de lágrimas y la inflamación de la glándula lagrimal. Los medicamentos actualmente disponibles para DES están dejando un espacio sustancial para productos más eficaces y mejor tolerados.

El DES también puede ser un síntoma del síndrome de Sjogren, que es un trastorno autoinmune en el que se destruyen las glándulas que producen lágrimas y saliva. Esto conduce a sequedad de boca, disminución de lagrimeo y otras membranas mucosas secas.

La uveítis es una inflamación dentro del ojo que afecta a la uvea. La uvea es la capa del ojo entre la esclerótica y la retina, e incluye el iris, el cuerpo ciliar y la coroides. La úvea suministra la mayor parte del suministro de sangre a la retina. La uveítis se puede considerar una enfermedad autoinmune que resulta en la inflamación crónica del ojo. Existe evidencia sustancial que indica la participación de los linfocitos T, células clave implicadas en los procesos inflamatorios, en el desarrollo de la uveítis. La inflamación puede causar áreas de cicatrización en la coroides y la retina que causan áreas de pérdida de visión. Existen varias formas de uveítis que incluyen uveítis anterior, pars planitis y uveítis posterior. Pueden ocurrir complicaciones graves si la uveítis no se trata; incluyendo cataratas, glaucoma, desprendimiento de retina, edema retiniano y pérdida permanente de la visión.

La uveítis anterior (iritis) se produce en la parte frontal del ojo y es la forma más común de uveítis. Par planitis es una inflamación de la pars plana, un área estrecha entre el iris y la coroides. Esta condición ocurre con más frecuencia en hombres jóvenes, pero generalmente no se asocia con otra enfermedad. La uveítis posterior (condroitis) afecta principalmente a la coroides; la parte posterior del tracto uveal. Si la retina también está implicada, se llama coriorretinitis. La uveítis posterior puede ocurrir en asociación con una enfermedad autoinmune o después de una

infección sistémica. En la uveítis posterior, la inflamación puede durar de meses a años y puede causar daño permanente en la visión, incluso con tratamiento.

La uveítis puede causar deterioro de la visión, dolor ocular y pérdida de la visión. Se estima que aproximadamente el 10% de los casos nuevos de ceguera en los EE. UU. Son causados por uveítis. Aproximadamente 300,000 personas padecen uveítis solo en los EE. UU., la mayoría de las cuales son afectadas por uveítis anterior. La única clase terapéutica aprobada por la FDA para el tratamiento de la uveítis son los corticosteroides, que se caracterizan por múltiples efectos secundarios, tales como hipertensión, hiperglucemia e hipercolesterolemia, y en el ojo, el glaucoma y la formación de cataratas.

La conjuntivitis (ojo rosado) describe un grupo de enfermedades que causan hinchazón, picazón, ardor y enrojecimiento de la conjuntiva, la membrana protectora que reviste los párpados y cubre las áreas expuestas de la esclerótica o el blanco del ojo.

La queratitis es una inflamación de la córnea (porción transparente en la parte frontal del ojo). La queratitis puede ser causada por una infección (bacteriana, fúngica, viral, parásita, etc.) o un agente no infeccioso (por ejemplo, ciertos tipos de enfermedades autoinmunes están asociados con una variedad de queratitis no infecciosas).

15 La queratoconjuntivitis se refiere a una inflamación de la córnea y la conjuntiva.

5

25

35

40

La queratoconjuntivitis vernal (VKC) es una enfermedad inflamatoria ocular recurrente caracterizada por protuberancias duras, elevadas y de tipo guijarro en el párpado superior. También puede haber hinchazones y engrosamiento de la conjuntiva. La conjuntiva es la membrana más externa que recubre los párpados, así como las partes expuestas del ojo, a excepción de la córnea.

La queratoconjuntivitis atópica es el resultado de una afección llamada atopia. Atopia es una condición genética por la cual el sistema inmune produce anticuerpos más altos que los normales en respuesta a un alérgeno dado.

Las enfermedades mediadas inmunológicamente sistémicas tales como la conjuntivitis cicatrizante y otros trastornos autoinmunes de la superficie ocular representan un grupo de afecciones clínicamente heterogéneo en el que los mecanismos autorreactivos agudos y crónicos pueden causar un daño significativo al ojo. Cuando es grave y afecta al epitelio y a la sustancia propia de la conjuntiva, se puede producir cicatrización, lo que ocasiona importantes alteraciones mecánicas como resultado de la fibrosis. Estas afecciones, aunque generalmente poco frecuentes, pueden ser la causa de patologías profundas y discapacidad visual.

La blefaritis es una afección común que causa la inflamación de los párpados.

La escleritis es una enfermedad inflamatoria grave que afecta la capa externa blanca del ojo, conocida como esclerótica.

La calcineurina es una proteína fosfatasa regulada por calcio/calmodulina implicada en la señalización intracelular. Los inhibidores de la calcineurina son sustancias que bloquean la desfosforilación de la calcineurina de los sustratos apropiados, al dirigirse a la fosfatasa de la calcineurina (PP2B, PP3), una enzima celular que está implicada en la regulación génica. Otra clase de compuestos que exhiben este perfil terapéutico general son los inhibidores de mTOR. Los inhibidores de mTOR se dirigen a un objetivo molecular conocido como "diana de la rapamicina en mamíferos" (mTOR). Un compuesto prototipo de esta clase es sirolimus.

La degeneración macular relacionada con la edad (AMD) es una enfermedad asociada con el envejecimiento que destruye gradualmente la visión central aguda. La AMD afecta la mácula, que se encuentra en el centro de la retina. AMD ocurre en dos formas: húmedo y seco. La AMD húmeda ocurre cuando vasos sanguíneos anormales detrás de la retina comienzan a crecer debajo de la mácula. Estos nuevos vasos sanguíneos tienden a ser muy frágiles y a menudo pierden sangre y fluidos. La sangre y el líquido elevan la mácula desde su lugar normal en la parte posterior del ojo. El daño a la mácula ocurre rápidamente. La AMD seca ocurre cuando las células sensibles a la luz en la mácula se descomponen lentamente, borrando gradualmente la visión central en el ojo afectado.

La diabetes puede afectar al ojo de varias maneras. La retinopatía diabética (DR) es una complicación de la diabetes que resulta del daño a los vasos sanguíneos del tejido sensible a la luz en la parte posterior del ojo (la retina). Al principio, la retinopatía diabética puede causar ningún síntoma o solo problemas de visión leves. Eventualmente, sin embargo, la retinopatía diabética puede provocar ceguera. El edema macular diabético (DME) es la hinchazón de la retina en la diabetes mellitus debido a la filtración de líquido de los vasos sanguíneos dentro de la mácula.

La neovascularización ocular es la formación anormal o excesiva de vasos sanguíneos en el ojo. La neovascularización ocular se ha demostrado en la retinopatía diabética y la degeneración macular relacionada con la edad (ARMD).

La vitreorretinopatía proliferativa (PVR) es la formación de tejido cicatricial dentro del ojo. "Proliferativa" porque las células proliferan y "vitreorretinopatía" porque los problemas involucran el vítreo y la retina. En PVR se forma tejido cicatricial en láminas en la retina que se contraen. Esta marcada contracción tira de la retina hacia el centro del ojo y

separa y distorsiona la retina severamente. La PVR puede ocurrir tanto en sentido posterior como anterior con plegamiento de la retina tanto en sentido anterior como circunferencial.

El citomegalovirus (CMV) está relacionado con el virus del herpes y está presente en casi todos. Cuando el sistema inmunitario de una persona se suprime debido a una enfermedad (HIV), un trasplante de médula ósea o un órgano, o la quimioterapia, el virus CMV puede causar daños y enfermedades al ojo y al resto del cuerpo. El CMV afecta el ojo en aproximadamente el 30% de los casos al causar daño a la retina. Esto se llama retinitis por CMV.

5

25

30

35

40

45

La neuritis óptica se produce cuando el nervio óptico se inflama y la vaina de mielina se daña o se destruye. El daño a los nervios que ocurre en la sección del nervio óptico que se encuentra detrás del ojo se llama neuritis retrobulbar, que es otro término que a veces se usa para la neuritis óptica.

También conocida como fruncimiento macular, la membrana epirretiniana es una membrana similar a una cicatriz que se forma sobre la mácula. Por lo general, progresa lentamente y afecta la visión central al causar borrosidad y distorsión. A medida que avanza, el tirón de la membrana en la mácula puede causar hinchazón.

Un inhibidor de calcineurina de la presente divulgación es preferiblemente un compuesto de unión a inmunofilina que tiene actividad inhibidora de calcineurina. Los inhibidores de calcineurina que se unen a inmunofilina son compuestos que forman complejos inhibidores de calcineurina con inmunofilinas, por ejemplo, ciclofilina y macrofilina. Los ejemplos de inhibidores de calcineurina que se unen a ciclofilina son ciclosporinas o derivados de ciclosporina (en lo que sigue, ciclosporinas) y ejemplos de inhibidores de calcineurina que se unen a macrofilina son ascomicina (FR 520) y derivados de ascomicina (en lo que sigue, ascomicinas). Se conoce una amplia gama de derivados de ascomicina, que ya sea se producen naturalmente entre especies de hongos o se pueden obtener mediante la manipulación de procedimientos de fermentación o mediante derivación química. Los macrólidos de tipo ascomicina incluyen ascomicina, tacrolimus (FK506), sirolimus y pimecrolimus.

La ciclosporina, originalmente extraída del hongo del suelo *Potypaciadium infilatum*, tiene una estructura cíclica de 11 aminoácidos e incluye, por ejemplo, Ciclosporinas A a I, tales como ciclosporina A, B, C, D y G. La ciclosporina se une a la proteína citosólica ciclofilina de linfocitos inmunocompetentes, especialmente linfocitos T, formando un complejo. El complejo inhibe la calcineurina, que en circunstancias normales induce la transcripción de la interleucina-2 (IL-2). La ciclosporina también inhibe la producción de linfoquinas y la liberación de interleucina, lo que conduce a una función reducida de las células T efectoras.

La voclosporina es un inhibidor de la calcineurina de próxima generación que es un derivado semisintético de la ciclosporina A más potente y menos tóxico. Al igual que otras moléculas de esta clase, la voclosporina inhibe reversiblemente los linfocitos inmunocompetentes, particularmente los linfocitos T, y también inhibe la producción y liberación de linfoquinas. Esta acción está principalmente mediada por la inhibición de la calcineurina, una enzima fosfatasa que se encuentra en el citoplasma de las células. La voclosporina tiene una sola extensión de carbono con doble enlace que se ha demostrado que se extiende más profundamente en la región de cierre/regulación de la calcineurina. En una realización, las composiciones de la presente divulgación comprenden la transversión de voclosporina, trans-ISA247 CAS RN 368455-04-3 que se describe, por ejemplo, en la Publicación de Patente de los Estados Unidos No.: 2006/0217309. Se describen composiciones adicionales de voclosporina, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos No. 7,060,672.

El Tacrolimus (FK506) es otro inhibidor de calcineurina que también es un producto fúngico, pero que tiene una estructura macrólida de lactona. Tacrolimus se ha usado como inmunosupresor junto con trasplantes de hígado, riñón, corazón, pulmón y corazón/pulmón. También ha demostrado que tacrolimus inhibe la producción de IL-2. Tacrolimus se une a una inmunofilina (proteína de unión FK 12, FKBP12), seguido por la unión del complejo a la calcineurina para inhibir su actividad fosfatasa.

El sirolimus (rapamicina) es un producto microbiano aislado de los actinomicetos *Streptomyces hygroscopicus*. El sirolimus se une a una inmunofilina (proteína de unión a FK 12, FKBP12) formando un complejo que inhibe la ruta de la diana de la rapamicina en mamíferos (mTOR) a través de la unión directa del complejo1 de mTOR (mTORC1). El sirolimus inhibe la respuesta a la interleucina-2 (IL-2) y por lo tanto bloquea la activación de las células T y B. Por el contrario, el tacrolimus y la ciclosporina inhiben la producción de IL-2.

El pimecrolimus es un nuevo inhibidor de la calcineurina que se ha encontrado que tiene propiedades antifúngicas contra *Malassezia* spp., al igual que el tacrolimus.

Los inhibidores de calcineurina tales como ciclosporina A, voclosporina, ascomicina, tacrolimus, pimecrolimus, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se utilizan en una composición de micelas mixtas de la presente divulgación. En una realización, el inhibidor de calcineurina es voclosporina.

Los inhibidores de mTOR tales como sirolimus (rapamicina), temsirolimus, everolimus, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se utilizan en una composición de micelas mixtas de la presente divulgación.

La presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR, vitamina E TPGS y octoxinol-40 en la que la composición farmacéutica forma micelas mixtas. Por

# ES 2 667 945 T3

lo general, las micelas mixtas se proporcionan en una solución acuosa de modo que se consigue la aplicación tópica de las composiciones. Las composiciones se pueden usar en la aplicación tópica en el ojo para tratar una variedad de afecciones oculares, que incluyen las afecciones tanto del segmento anterior como las del segmento posterior.

En una realización, la composición comprende ciclosporina A, vitamina E TPGS y octoxinol-40. En una realización, la composición comprende voclosporina, vitamina E TPGS y octoxinol-40. En una realización, la composición comprende tacrolimus, vitamina E TPGS y octoxinol-40. El inhibidor de mTOR se selecciona de entre sirolimus, temsirolimus, everolimus o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En una realización, la composición comprendía sirolimus, vitamina E TPGS y octoxinol-40. En una realización se describe, la composición que comprende pimecrolimus, vitamina E TPGS y octoxinol-40.

- En una realización de la presente divulgación, se usan dos surfactantes para generar una formulación micelar mixta de voclosporina, dando como resultado un aumento en la solubilidad y biodisponibilidad acuosa de la voclosporina. Se prefieren derivados de succinato de polietilenglicol tocoferol de vitamina E (TPGS) con pesos moleculares de PEG entre aproximadamente 500 y 6000 Da. En una realización preferida, el derivado polimérico de vitamina E con un índice HLB superior a aproximadamente 10 es el succinato de polietilenglicol de tocoferol de vitamina E 1000 (vitamina E TPGS, tocofersolan). En una realización, la vitamina E TPGS está presente en la composición de aproximadamente 0.01% en peso a aproximadamente 20% en peso/volumen. En una realización, la vitamina E TPGS está presente en la composición de aproximadamente 0.1% en peso a aproximadamente 10% en peso/volumen. Se debe entender que, a lo largo de la memoria descriptiva, el término porcentaje en peso (% en peso) se refiere a masa por unidad de volumen, a menos que se especifique lo contrario.
- El succinato de polietilenglicol tocoferol de vitamina E 1000 (Vitamina E TPGS) es un excipiente anfipático que es un derivado soluble en agua de la vitamina E de origen natural. La vitamina E TPGS, o vitamina E PEGilada, es un derivado de la vitamina E en el que las subunidades del polietilenglicol están unidas por un diéster de ácido succínico en el anillo hidroxilo de la molécula de vitamina E. La vitamina E TPGS es un surfactante no iónico hidrófilo con un índice HLB de aproximadamente 13. Diversos derivados químicos de vitamina E TPGS que incluyen enlaces éster y éter de diversas unidades estructurales químicas se incluyen dentro de la definición de vitamina E TPGS. Además de servir como fuente de vitamina E soluble en agua, se ha sugerido que la vitamina E TPGS se utilice como emulsionante, solubilizante, potenciador de la absorción y un vehículo para formulaciones de administración de fármacos solubles en lípidos. El segundo surfactante es octoxinol-40.
- El octoxinol-40 (IGEPAL CA-897) tiene un índice HLB de aproximadamente 18. En una realización, el octoxinol-40 está presente en la composición desde aproximadamente el 0.001% en peso a aproximadamente 10 % en peso/volumen. En una realización, el octoxinol-40 está presente desde aproximadamente 0.01 % en peso a aproximadamente 5.0 % en peso/volumen.
- Los inhibidores de calcineurina y los inhibidores de mTOR que se pueden formular según la presente divulgación se seleccionan de ciclosporina A, voclosporina (LX211), ascomicina, tacrolimus (FK506), sirolimus, everolimus y pimecrolimus, incluyendo sus sales farmacéuticamente aceptables. Un conservante se puede usar o no para preservar las formulaciones. En una realización, una mezcla de cantidades definidas de octoxinol-40 forma micelas mixtas con vitamina E TPGS, creando estabilidad y solubilidad para un fármaco insoluble en agua que llena el núcleo interno de la micela mixta. En una realización, la composición de micelas mixtas comprende un inhibidor de calcineurina, vitamina E TPGS y octoxinol-40. La formulación micelar mixta es una solución acuosa transparente y homogénea del inhibidor de calcineurina o inhibidor de mTOR. En una realización, la vitamina E TPGS contribuye a la solubilización del inhibidor de calcineurina o inhibidor de mTOR y puede reducir la incomodidad ocular en afecciones acuosas. En una realización, 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.
- En las composiciones de las realizaciones descritas actualmente, el inhibidor de calcineurina o inhibidor de mTOR está presente a concentraciones que varían desde aproximadamente 0.01 por ciento en peso (% en peso) a aproximadamente 10 % en peso, desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 3.0 % en peso. En una realización, las composiciones de la presente divulgación comprenden voclosporina a aproximadamente 0.2 a aproximadamente 0.5 % en peso, como se ilustra en los ejemplos. En una realización, la concentración de Vitamina E TPGS es desde aproximadamente 0.01 a aproximadamente 20 % en peso, desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5 % en peso. El octoxinol-40 o sus mezclas de homólogos están presentes a concentraciones desde aproximadamente 0.001 a aproximadamente 10 % en peso, desde aproximadamente 0.01 a aproximadamente 3.0 % en peso. En una realización, la cantidad total de surfactantes en las composiciones de la presente divulgación es 30 por ciento o menos de la composición total siendo el componente restante principal agua.
- En una realización, una composición de la presente divulgación comprende aproximadamente 0.2 % en peso de voclosporina, aproximadamente 2.5 % en peso de vitamina E TPGS, y aproximadamente 2.0 % en peso de octoxinol-40. En una realización. a composición de la presente divulgación comprende aproximadamente 0.5 % en peso de voclosporina, aproximadamente 3.5 % en peso de vitamina E TPGS, y aproximadamente 2.0 % en peso de octoxinol-40. En otra realización, una composición de la presente divulgación comprende aproximadamente 2.0 % en peso voclosporina.

La administración específica de sitio a la parte posterior del ojo, que incluye la coroides, y particularmente la retina, es uno de los desafíos que enfrentan los investigadores en el campo de la oftalmología terapéutica. Existe una necesidad creciente pero no satisfecha de portadores de fármacos que lleguen a la retina a niveles terapéuticos apropiados después de la administración tópica. Como se mostrará en los ejemplos que siguen, se ha encontrado que después de la administración tópica de una composición de las realizaciones descritas actualmente, el inhibidor de calcineurina o el fármaco inhibidor de mTOR puede alcanzar la parte posterior del ojo, proporcionando de este modo un tratamiento para las afecciones oculares de la parte posterior del ojo

5

10

15

20

25

30

50

55

60

Las composiciones de la presente divulgación se pueden usar como una plataforma de administración de fármacos aplicada por vía tópica para el suministro de una variedad de fármacos hidrófobos, insolubles en agua, tales como un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR en la parte posterior del ojo para diversas afecciones de la parte posterior del ojo.

En una realización, una composición de micelas mixtas de la presente divulgación que tiene ya sea un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR que llena el núcleo interno de la micela mixta, se puede usar en aplicación tópica en el ojo en un procedimiento de tratamiento de una afección ocular de la parte posterior del ojo. En una realización, el inhibidor de calcineurina o el inhibidor de mTOR está presente en la composición a concentraciones desde aproximadamente 0.01 por ciento en peso (% en peso) a aproximadamente 10 % en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0.1 % en peso a aproximadamente 3.0 % en peso. En una realización, el inhibidor de calcineurina o inhibidor de mTOR es voclosporina, y la voclosporina está presente en la composición a una concentración desde aproximadamente 0.2 % en peso a aproximadamente 0.5 % en peso. En una realización, la vitamina E TPGS está presente en la composición a concentraciones desde aproximadamente 0.01 % en peso a aproximadamente 20 % en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0.1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso. En una realización, el octoxinol-40 o sus mezclas de homólogos están presentes en la composición a concentraciones desde aproximadamente 0.001 % en peso a aproximadamente 10 % en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0.01 % en peso a aproximadamente 10 % en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0.01 % en peso a aproximadamente 10 % en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0.01 % en peso a aproximadamen

En una realización, una composición de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente comprende aproximadamente 0.2 % en peso de voclosporina, aproximadamente 2.5 % en peso de vitamina E TPGS, y aproximadamente 2.0 % en peso de octoxinol-40. En una realización, una composición de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente comprende aproximadamente 0.5 % en peso de voclosporina, aproximadamente 3.5 % en peso de vitamina E TPGS, y aproximadamente 2.0 % en peso de octoxinol-40. En otra realización, una composición de micelas mixtas de las realizaciones descritas actualmente comprende voclosporina a aproximadamente 2.0 % en peso.

En la actualidad, la mayoría de las enfermedades oculares se tratan con la aplicación tópica de soluciones administradas como gotas para los ojos para fármacos solubles en agua y como ungüentos o suspensiones acuosas para fármacos insolubles en agua. Estas formas de dosificación representan aproximadamente el 90% de las formulaciones actualmente comercializadas. La córnea representa una vía primaria para la penetración ocular de fármacos aplicados por vía tópica. La absorción del fármaco tiene lugar principalmente a través de la córnea y en el humor acuoso y se difunde al segmento posterior. El fármaco se puede difundir en la raíz del iris y posteriormente en el humor acuoso de la cámara posterior y en los tejidos posteriores. El fármaco medicamento puede ingresar directamente a través de la pars plana sin encontrarse con la barrera hemato-retiniana. El fármaco se puede difundir a través de la esclerótica por difusión lateral seguida de la penetración de la membrana de Bruch y del epitelio pigmentario de la retina (RPE). En menor medida, el fármaco se puede absorber en la circulación sistémica ya sea a través de los vasos conjuntivales o a través del conducto nasolagrimal y obtener acceso sistémico a los vasos retinianos.

Como se muestra en los ejemplos a continuación, se observaron niveles terapéuticos de voclosporina 24 horas después de la administración de una composición farmacéutica de la presente divulgación, que indica que la dosificación una vez al día (QD) con las composiciones micelares mixtas acuosas de las realizaciones descritas actualmente es posible. Como se muestra en los ejemplos, la voclosporina, dada en la composición de micelas mixtas de la presente divulgación, se puede detectar a niveles elevados en la coroides/retina, mientras que se detectan bajos niveles de voclosporina en el humor vítreo. La voclosporina inhibidora de calcineurina está llegando a la parte posterior del ojo cuando se aplica por vía tópica en las formulaciones micelares mixtas descritas en este documento.

Las composiciones de la presente divulgación también pueden contener otros componentes tales como, pero no se limitan a, aditivos, adyuvantes, soluciones reguladoras, agentes de tonicidad, polímeros bioadhesivos y conservantes. En cualquiera de las composiciones de esta divulgación para administración tópica para el ojo, las mezclas se formulan preferiblemente a aproximadamente pH 5 a aproximadamente pH 8. Este intervalo de pH se puede lograr mediante la adición de soluciones reguladoras a la composición como se describe en los ejemplos. En una realización, el intervalo de pH en la composición en una formulación es de aproximadamente pH 6.6 a aproximadamente pH 7.0. Se debe apreciar que las composiciones de la presente divulgación pueden ser estandarizadas por cualquier sistema regulador común tal como los complejos de fosfato, borato, acetato, citrato, carbonato y borato-poliol, con el pH y la osmolalidad ajustados de acuerdo con técnicas bien conocidas para valores

fisiológicos apropiados. Las composiciones micelares mixtas de la presente divulgación son estables en solución acuosa regulada. Es decir, no hay interacción adversa entre la solución reguladora y cualquier otro componente que pueda causar que las composiciones sean inestables.

Los agentes de tonicidad incluyen, por ejemplo, manitol, cloruro de sodio, xilitol, etc. Estos agentes de tonicidad se pueden usar para ajustar la osmolalidad de las composiciones. En un aspecto, la osmolalidad de la formulación se ajusta para que esté en el intervalo de aproximadamente 250 a aproximadamente 350 mOsmol/kg. En un aspecto preferido, la osmolalidad de la formulación se ajusta entre aproximadamente 280 y aproximadamente 300 mOsmol/kg.

5

35

40

45

Se puede incluir un aditivo tal como un azúcar, un glicerol y otros alcoholes de azúcar en las composiciones de la presente divulgación. Se pueden añadir aditivos farmacéuticos para aumentar la eficacia o la potencia de otros ingredientes en la composición. Por ejemplo, se puede añadir un aditivo farmacéutico a una composición de la presente divulgación para mejorar la estabilidad del inhibidor de calcineurina o el inhibidor de mTOR, para ajustar la osmolalidad de la composición, para ajustar la viscosidad de la composición, o por otra razón, tal como como efectuando la administración del fármaco. Los ejemplos no limitantes de aditivos farmacéuticos de la presente divulgación incluyen azúcares, tales como, trehalosa, manosa, D-galactosa y lactosa. En una realización, los azúcares se pueden incorporar en una composición durante la etapa de hidratación (esto es, externamente) (véase el ejemplo 17). En una realización, una solución micelar mixta acuosa, transparente de la presente divulgación incluye aditivos tales como azúcares.

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

En una realización, una composición de la presente divulgación incluye al menos un polímero bioadhesivo. El polímero bioadhesivo puede mejorar la viscosidad de la composición y de ese modo aumentar el tiempo de residencia en el ojo. Los polímeros bioadhesivos de la presente divulgación incluyen, por ejemplo, polímeros carboxílicos como Carbopol® (carbómeros), Noveon® (policarbofilos), derivados de celulosa que incluyen alquilo e hidroxialquilcelulosa como metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, gomas como de algarroba, xantano, agarosa, karaya, guar y otros polímeros que incluyen, pero no se limitan a, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polietilenglicol, Pluronic® (Poloxámeros), tragacanto y ácido hialurónico; polímeros de transición de fase para proporcionar la administración sostenida y controlada de medicamentos adjuntos al ojo (por ejemplo, ácido algínico, carragenanos (por ejemplo, Eucheuma), mezclas de gomas de xantano y algarrobo, pectinas, acetato ftalato de celulosa, alquilhidroxialquil celulosa y sus derivados, poliacrílico hidroxialquilado ácidos y sus derivados, poloxámeros y sus derivados, etc. Las características físicas en estos polímeros pueden estar mediadas por cambios en factores ambientales tales como la fuerza iónica, el pH o la temperatura solos o en combinación con otros factores. En una realización, el opcional o más polímeros bioadhesivos están presentes en la composición desde aproximadamente 0.01 % en peso a aproximadamente 10 % en peso/volumen, preferiblemente desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5 % en peso/volumen. En una realización, las composiciones de la presente divulgación comprenden además al menos un excipiente de polímero hidrofílico seleccionado de, por ejemplo, PVP-K-30, PVP-K-90, HPMC, HEC, y policarbofilo. En una realización, el excipiente de polímero se selecciona de PVP-K-90, PVPK-30 o HPMC. En una realización, el excipiente de polímero se selecciona de PVP-K-90 o PVP-K-30.

En una realización, si se desea un conservante, las composiciones se pueden conservar opcionalmente con cualquier sistema bien conocido tal como alcohol bencílico con/sin EDTA, cloruro de benzalconio, clorhexidina, Cosmocil® CQ o Dowicil® 200.

Las composiciones oftálmicas se pueden administrar por vía tópica al ojo como soluciones micelares mixtas transparentes, acuosas, biocompatibles. Las composiciones tienen los fármacos incorporados y/o encapsulados en micelas que se dispersan en un medio acuoso.

En una realización, la presente divulgación proporciona un procedimiento de preparación de una composición de micelas mixtas que incluye la mezcla de un inhibidor de calcineurina o de mTOR con un primer surfactante que tiene un índice HLB mayor de 10 en un solvente para formar una solución de solvente; la evaporación de la solución de solvente para formar un material casi sólido; hidratar el material casi sólido con una solución acuosa que comprende un segundo surfactante que tiene un índice HLB mayor que 13 para formar una mezcla; y disolver la mezcla para producir la composición de micelas mixtas, donde la composición resultante es ópticamente transparente.

Los disolventes apropiados que se pueden usar para preparar las composiciones de micelas mixtas de la presente divulgación incluyen alcoholes de cadena corta, por ejemplo, metanol, etanol, n-propanol, isopropanol y butanol, así como, cloroformo, acetona, cloruro de metileno, dimetilsulfóxido, dimetilformamida y propilenglicol. Se puede usar la combinación de dos o tres alcoholes de cadena corta. Los solventes orgánicos volátiles como el cloroformo y la acetona se pueden usar en combinación con alcoholes de cadena corta. En una realización, la presente divulgación proporciona un procedimiento de preparación de una composición de micelas mixtas que incluye la mezcla de un inhibidor de calcineurina con vitamina E TPGS en un alcohol de cadena corta para formar una solución alcohólica de cadena corta; la evaporación de la solución alcohólica de cadena corta para formar un material casi sólido; hidratar el material casi sólido con una solución acuosa que comprende octoxinol-40 para formar una mezcla; y disolver la mezcla para producir la composición de micelas mixtas, donde la composición resultante es ópticamente transparente.

5

10

15

20

25

30

35

45

50

55

60

En una realización, el alcohol de cadena corta es etanol. En una realización, la presente divulgación proporciona un procedimiento de preparación de una composición de micelas mixtas que incluye la mezcla de un inhibidor de calcineurina con vitamina E TPGS y octoxinol-40 en etanol para formar una solución etanólica. En una realización, el etanol es etanol al 95%. En otra realización, el procedimiento proporciona la evaporación de la solución etanólica para formar un material casi sólido. El material casi sólido puede ser resultante de la evaporación rotatoria al vacío de la solución etanólica, en cuyo caso el material casi sólido puede ser una película delgada. El material casi sólido también puede ser resultante de la evaporación de la solución etanólica mediante, por ejemplo, liofilización, deshidratación por congelación, secado por pulverización o mediante el uso de evaporadores a gran y pequeña escala, tal como evaporadores de película, evaporadores centrífugos y evaporadores de vórtice. El material casi sólido estará esencialmente libre de etanol (aproximadamente <2% de EtOH), pero puede contener hasta aproximadamente 5% de agua. En una realización, el procedimiento proporciona la hidratación del material casi sólido con una solución acuosa; y disolver la mezcla para producir la composición de micelas mixtas, en el que la composición resultante es ópticamente transparente. La etapa de disolución se puede realizar por sonicación, mezcla, agitación vorticial, agitación, mezcla por movimiento giratorio en un evaporador rotatorio y/o agitación del material casi sólido en la solución acuosa, o por otros procedimientos conocidos en la técnica. En una realización, el procedimiento comprende además la mezcla de un polímero bioadhesivo en la solución acuosa antes de la etapa de hidratación. En una realización, el polímero bioadhesivo se selecciona de PVP-K-30, PVP-K-90, HPMC, HEC y policarbofilo. En una realización, el polímero bioadhesivo se selecciona de PVP-K-30 o PVP-K-90. En una realización, el inhibidor de calcineurina en la composición de micelas mixtas es voclosporina. En una realización, la voclosporina está presente desde aproximadamente el 0.001% hasta aproximadamente el 10% en la composición de micelas mixtas.

Los materiales de envasado farmacéuticamente aceptables para las composiciones incluyen, 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 para los expertos en el arte. Las composiciones se pueden envasar asépticamente empleando tecnología de sellado, soplado y llenado. El sellado, soplado y llenado (BFS) describe un proceso de llenado aséptico en el que los recipientes huecos son moldeados por soplado, llenados con producto estéril y sellados, todo en un ciclo continuo de la máquina. La tecnología es una alternativa a las operaciones convencionales de llenado y recubrimiento aséptico, que a menudo proporciona ahorros de costos a través de un alto rendimiento y eficiencia del proceso. En una realización, las composiciones de la presente divulgación se llenan en botellas, paquetes, viales, ampollas, recipientes LDPE BFS o recipientes HDPE BFS de un solo uso.

En una realización, se pueden suministrar múltiples dosis como una pluralidad de paquetes de un solo uso. En otra realización, las composiciones se empaquetan convenientemente en una botella, recipiente o dispositivo que permite la aplicación medida, que incluye recipientes equipados con un cuentagotas para aplicación oftálmica tópica.

Mientras el régimen preciso se deja a discreción del médico, se recomienda que las composiciones de la presente divulgación se apliquen por vía tópica colocando una o dos gotas, o más, en cada ojo 1 a 4 veces al día. Por ejemplo, la composición se puede aplicar 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 veces al día, o más. En una realización, la composición se aplica por vía tópica colocando una o dos gotas en cada ojo una o dos veces al día.

Las lágrimas artificiales son gotas lubricantes para los ojos que se usan para tratar, entre otras cosas, la sequedad e irritación asociadas con la producción deficiente de lágrimas en la queratoconjuntivitis seca (ojos secos). Las lágrimas artificiales también se pueden usar para humedecer las lentes de contacto, así como para humedecer los ojos durante un examen ocular. Por lo general, las lágrimas artificiales contienen agua, sales y polímeros, pero carecen de las proteínas que se encuentran en las lágrimas naturales. Diversas lágrimas artificiales están disponibles sin receta médica que contienen ingredientes tales como carboximetil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa (también conocida como, HPMC o hipromelosa) e hidroxipropil celulosa. Se han descubierto efectos adversos en las lágrimas artificiales sin receta médica, que generalmente son una consecuencia del componente carboximetilcelulosa y otros lubricantes similares. Estos efectos adversos incluyen, por ejemplo, dolor ocular, irritación, enrojecimiento continuo o cambios en la visión.

En un aspecto, se describen en este documento composiciones de lágrimas artificiales biocompatibles únicas. Las composiciones de lágrimas artificiales de la presente divulgación se formulan como soluciones acuosas, micelares mixtas estériles que incluyen micelas formadas a partir de un primer surfactante con un índice HLB superior a aproximadamente 10, y un segundo surfactante con un índice HLB de más de aproximadamente 13. En una realización, la solución acuosa incluye diversos ingredientes elegidos entre uno de los excipientes de polímero

hidrófilos, agentes de tonicidad, soluciones reguladoras, conservantes, cosolventes o antioxidantes. Las composiciones de lágrimas artificiales biocompatibles se pueden usar para tratar la irritación, el enrojecimiento, la hinchazón, la reacción alérgica, la irritación debida al uso de lentes de contacto y los arañazos y abrasiones corneales de los ojos.

5 Se pueden emplear diversos excipientes de polímero hidrófilo que incluyen, pero no se limitan a, PVP-K-30, PVP-K-90, HPMC, HEC y policarbofilo. En una realización, el excipiente de polímero hidrófilo es PVP-K-90.

Se pueden emplear diversos agentes de tonicidad para ajustar la tonicidad de las composiciones de lágrimas artificiales, preferiblemente a la de las lágrimas naturales. Por ejemplo, se pueden añadir cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro de calcio y/o manitol a las composiciones para aproximar la tonicidad fisiológica. En una realización, el agente de tonicidad es cloruro de sodio. Dicha cantidad de agente de tonicidad variará, dependiendo del agente particular que se añadirá. En general, sin embargo, las composiciones tendrán una concentración de agente de tonicidad de aproximadamente 0.1-1.5% p/v.

Se puede añadir un sistema regulador apropiado (por ejemplo, fosfato de sodio, acetato de sodio, citrato de sodio, borato de sodio o ácido bórico en agua) para evitar la deriva del pH en condiciones de almacenamiento. La concentración particular variará, dependiendo del agente empleado. En general, dicha concentración variará desde aproximadamente 0.02 a 2.0% p/v. En una realización, el sistema regulador incluye fosfato de sodio. Además, el fosfato de sodio puede incluir fosfato monosódico (esto es, monobásico) y fosfato disódico (esto es, dibásico). En una realización, el pH del sistema regulador se ajusta de manera que una composición de lágrima artificial de las realizaciones descritas actualmente varía desde aproximadamente 6.5 a aproximadamente 7.5.

- Se pueden añadir conservantes a las composiciones de lágrimas artificiales de la presente divulgación para aumentar la vida útil de las composiciones y para facilitar el uso de botellas multidosis. Los ejemplos de conservantes incluyen, pero no se limita a, cloruro de benzalconio (BAC), clorobutanol, GenAqua (perborato de sodio) y Polyquad (Polyquaternium-1).
- Una formulación representativa para una composición de lágrima artificial según las realizaciones descritas actualmente se muestra en el ejemplo 16. Aunque se enumeran valores de concentración específicos, los expertos en el arte reconocerán que las concentraciones de los diversos ingredientes se pueden variar. De forma similar, puede no ser necesario incluir todos los ingredientes enumerados en el ejemplo 16 en cada composición de lágrima artificial.

Un procedimiento de preparación de una composición de micelas mixtas incluye la mezcla de un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR 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 solvente para formar una solución de solvente; la evaporación de la solución de solvente para formar un material casi sólido; la hidratación del material casi sólido con una solución acuosa; y disolver la mezcla casi sólida para producir la composición de micelas mixtas, en el que la composición es ópticamente transparente.

Un procedimiento de tratamiento de una enfermedad ocular en un paciente que lo necesita incluye la administración tópica a un ojo del paciente de una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR, teniendo la composición adicionalmente vitamina E TPGS y octoxinol-40, en el que la composición es una solución acuosa de micelas mixtas.

Un procedimiento para tratar, reducir, mejorar o aliviar una enfermedad ocular inflamatoria en un animal incluye proporcionar una composición farmacéutica de micelas mixtas que tiene un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR encapsulado en micelas, las micelas formadas con un primer surfactante con un índice HLB mayor que aproximadamente 10 y un segundo surfactante con un índice HLB mayor que aproximadamente 13; y administrar al animal una cantidad de la composición farmacéutica a una frecuencia suficiente para tratar, reducir, mejorar o aliviar la enfermedad ocular inflamatoria.

Un procedimiento para tratar, reducir, mejorar o aliviar una afección o trastorno de la parte posterior del ojo en un sujeto incluye proporcionar una composición farmacéutica de micelas mixtas que tiene un inhibidor de calcineurina encapsulado en micelas formadas con un primer surfactante con un índice HLB mayor que aproximadamente 10 y un segundo surfactante con un índice HLB mayor que aproximadamente 13; y administrar al sujeto una cantidad de la composición farmacéutica a una frecuencia suficiente para tratar, reducir, mejorar o aliviar la afección o trastorno de la parte posterior del ojo.

## 50 Ejemplos

40

55

10

En general, todos los reactivos usados están disponibles comercialmente y se usan sin purificación adicional a menos que se indique lo contrario. La voclosporina (voclosporina, LX211, ISA247) se obtuvo de Isotechnika, Inc., Edmonton, Alberta, Canadá. La solución stock obtenida de Isotechnika fue almacenada por Lux Biosciences en the New Jersey Center for Biomaterials; la ciclosporina A se obtuvo de Xenos Bioresources, Inc., Santa Barbara, CA; Sirolimus y Tacrolimus se obtuvieron de Haorui Pharma-Chem, Inc. La vitamina E TPGS (grado NF) se obtuvo de Eastman Chemical Company, se obtuvo IGEPAL CA-897 (Octoxinol-40) de Rhodia, Inc., en el laboratorio se preparó agua

desionizada destilada usando el EASY Pure UV Compact Ultra Pure Water System, (Barnstead, IA). El Kollidon® 30 (PVP) y Kollidon® 90 F (Povidona K 90) se obtuvieron de BASF. La hidroxietilcelulosa, 100 cps y 5000 cps se obtuvieron de Spectrum, Methocel®, la HPMC se obtuvo de Colorcon, Noveon®, el Policarbofilo se obtuvo de Lubrizol Advanced Materials.

5 Ejemplo 1. Preparación general de una formulación básica.

Con el fin de preparar formulaciones a concentraciones de fármaco de 0.02, 0.2, 0.4, 0.5, y 1.0 % en peso, se emplearon los siguientes protocolos. Las formulaciones básicas del fármaco se hicieron en las proporciones mostradas en la tabla 1. En un primer protocolo, por ejemplo, se calcularon inhibidor de calcineurina y vitamina E TPGS requeridos para 50 mL, se pesaron y luego se mezclaron en 5 mL de etanol al 95% hasta que se obtuvo una solución transparente. La solución etanólica se evaporó al vacío para obtener una película delgada de material casi sólido. El agua desionizada, 25 mL, se mezcló con octoxinol-40 y la solución se añadió a la película delgada de material casi sólido y se sonicó durante aproximadamente 20 minutos para asegurar la formación completa de micelas mixtas. Las formulaciones 2X preparadas se almacenaron a temperatura ambiente. Alternativamente, en un segundo protocolo, se calcularon las cantidades de fármaco, vitamina E TPGS y octoxinol-40 requeridas para 50 mL, se pesaron, luego se mezclaron en 5 mL de etanol al 95% y se evaporaron al vacío para formar una película delgada de material casi sólido. La película delgada de material casi sólido se disolvió luego en 25 mL de agua desionizada y se sonicó o se mezcló mediante movimiento giratorio en un evaporador rotatorio durante aproximadamente 20 minutos para asegurar la formación completa de micelas mixtas. Las formulaciones 2X preparadas se almacenaron a temperatura ambiente.

Tabla 1. Formulaciones 2x básicas (% en peso/volumen).

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

Ejemplo 2. Preparación general de formulaciones.

Las formulaciones 2X básicas mostradas en la tabla 1 se prepararon como se describe en el segundo protocolo descrito en el ejemplo 1. Se prepararon formulaciones básicas en las que el inhibidor de calcineurina o de mTOR era voclosporina, ciclosporina A, sirolimus y tacrolimus. En una preparación para 50 mL de formulación; se preparó una mezcla de solución reguladora disolviendo cantidades de los componentes mostrados en la tabla 2 en 25 mL de agua desionizada para preparar una solución reguladora 2X. La mezcla de solución reguladora 2X se preparó con y sin conservantes añadidos.

Tabla 2. Mezcla de solución reguladora.

Componentes	Cantidad durante	Cantidad durante	Cantidad durante	Cantidad durante
	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL
Fosfato de sodio, dibásico	0.4048 g	0.4048 g	0.4048 g	0.4048 g
Fosfato de sodio, 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
N.A. = no añadido				

30

35

10

15

20

25

La cantidad requerida de excipiente de polímero mostrado en la tabla 3A se dispersó en 2.5 mL de mezcla de solución reguladora 2X y se agitó suavemente en vórtex para obtener una solución transparente. La formulación básica 2X se añadió en un volumen igual y se mezcló para obtener una solución uniforme. El pH de la solución se ajustó con NaOH o HCl a un objetivo de aproximadamente 6.8. La osmolalidad de la solución se ajustó con NaCl para que estuviera en el intervalo de aproximadamente 280-300 mOsmol/kg. La formulación se esterilizó mediante un filtro de membrana de nylon (0.22 µm) y luego se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso.

Tabla 3A. Formulaciones.

Etiqueta/Ingredientes	1	2	3	4	5	6
Formulación básica (2X)	2.5 mL					
Mezcla de solución reguladora (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	
Policarbofilo (0.5%)						25 mg
Agua	2.5 mL					
Vol. Total aprox.	5 mL					

En un procedimiento alternativo para la preparación de 100 mL de formulaciones, las formulaciones 2X básicas mostradas en la tabla 1 se prepararon usando voclosporina. Para hacer formulaciones a concentraciones de voclosporina de 0.2, 0.4 y 0.5 % en peso/volumen, se calcularon las cantidades apropiadas de fármaco, vitamina E TPGS y octoxinol-40 requeridas para 100 mL, se pesaron y luego se mezclaron en 10 mL de etanol al 95% y se evaporó a vacío durante aproximadamente 12 horas para formar una película delgada de material casi sólido. La película delgada de material casi sólido se disolvió a continuación en 50 mL de agua desionizada y se sonicó, o se mezcló mediante movimiento giratorio en un evaporador rotatorio, durante aproximadamente 20 minutos para asegurar la formación completa de micelas mixtas; luego se almacena a temperatura ambiente. La cantidad requerida de excipiente de polímero mostrado en las tablas 3B y 3C se dispersó en 40 mL de agua desionizada y se agitó para obtener una solución de polímero transparente. Los otros componentes mostrados en las tablas 3B y 3C se añadieron a la formulación básica 2X de 50 mL y se agitaron bien para obtener una solución regulada transparente. La solución regulada transparente se transfirió lentamente a la solución de polímero transparente y se mezcló bien. El pH de la solución se ajustó con NaOH o HCl a un objetivo de aproximadamente 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 mediante un filtro de membrana de nylon (0.22 μm) y luego se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso.

5

10

Tabla 3B. Formulaciones.

Etiqueta/Ingredientes	1	2	3	4	5	6
Formulación básica (2 X)	50 mL					
Povidona-K-30		1.8g				
Povidona-K-90			1.2g			
Hidroxipropil metil celulosa				0.5g		
Hidroxietil celulosa					0.5g	
Policarbofilo						0.9g
Fosfato de sodio, dibásico	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g
heptahidrato						
Fosfato de sodio, 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. Formulaciones.

Etiqueta/Ingredientes	1	2	3	4	5	6
Formulación básica (2 X)	50 mL					
Povidona-K-30		1.8g				
Povidona-K-90			1.2g			
Hidroxipropil metil celulosa				0.5g		
Hidroxietil celulosa					0.5g	
Policarbofilo						0.9g
Fosfato de sodio, dibásico heptahidrato	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g	0.81g
Fosfato de sodio, 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 Bencilconio	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 optimizada con concentración de voclosporina al 0.2% en peso/vol. se muestra en la tabla 3D.

Tabla 3D. Formulación al 0.2% en peso/volumen de voclosporina.

Ingrediente	Cantidad
Voclosporina (LX211)	0.2 g
Vitamina E TPGS	2.0 g
Octoxinol -40	2.0 g
PVP-K-90	1.2 g
Fosfato de sodio, dibásico	0.81 g
Fosfato de sodio, monobásico	0.93 g
Cloruro de Sodio	0.2 g
Agua hasta	100 mL

5

10

A menos que se indique lo contrario, los datos a continuación son para formulaciones a aproximadamente 0.2% de voclosporina. La viscosidad de la formulación se midió usando un viscosímetro de tipo cono y placa. La claridad de la formulación se midió a 400 nm como se describe. La osmolalidad, pH, viscosidad y absorbancia a 400 nm para diversas formulaciones con 0.2% de voclosporina se muestran en la tabla 4A.

Tabla 4A. Características de formulación.

Etiqueta/Ingredientes	Osmolalidad	(mOsmol/kg)	рН	Viscosidad (Poise)	Absorbancia a 400 nm
	Antes de añadir NaCl	Después de añadir NaCl		(1.000)	
Formulación básica (1X)	010	-	-	0.06	0.025

Formulación básica (2X) + Mezcla de solución reguladora (2X)	218	-	6.83	0.07	0.021
B. For + BM + PVP-K-30	248	347	6.85	0.07	0.032
B. For + BM + PVP-K-90	224	303	6.81	0.08	0.034
B. For + BM + HPMC	228	311	6.82	0.11	0.025
B. For + BM + HEC	237	283	6.80	0.08	0.031
B. For + BM + Policarbofilo	248	289	6.83	0.08	0.046

Se preparó una formulación de ciclosporina A (CsA) en las concentraciones mostradas en la tabla 4B de una manera similar a la descrita en el segundo protocolo en el ejemplo 1.

Tabla 4B. Formulación CsA.

Etiqueta/Ingredientes	% en peso/vol
Fármaco (CsA)	0.05
Vitamina E TPGS	3
Octoxinol -40	0.02
Hidroxietil celulosa	0.2
Cloruro de benzalconio	0.01
EDTA	0.01
Cloruro de Sodio	0.86
Agua	100

La formulación de CsA se ajustó a pH 6.88 y la osmolalidad fue de 320 mOsm/kg.

Ejemplo 3. Determinación del contenido del fármaco.

Cada formulación se analizó para determinar el contenido del fármaco mediante HPLC. La fase móvil de HPLC consistió en acetonitrilo/agua/ácido trifluoroacético (75:25:0.1 v/v/v) a una velocidad de flujo de 1 mL/min con elución del compuesto de interés de una columna de fenilo de fase reversa (5 micras, 15 x 4.6 mm). La absorbancia del fármaco se midió a 210 nm con un detector de UV y se comparó con una curva estándar del fármaco diana a diversas concentraciones conocidas. El pico observado para la voclosporina eluyó a aproximadamente 5.5 min.

Ejemplo 4. Prueba de eficiencia de filtración.

Se probaron diversos tipos de membranas para usar en la esterilización por filtración de formulaciones que contienen un 0.2% en peso de voclosporina. Las membranas con un tamaño de poro de 0.22 µM eran de diversos materiales, incluidos nylon, teflón y policarbonato. La recuperación de las membranas se evaluó mediante determinación de HPLC del contenido de fármaco descrito anteriormente y se comparó con la muestra centrifugada. Los resultados de las pruebas comparativas de eficiencia de filtración se muestran en las tablas 5A y 5B. En general, se encontraron membranas de nylon, teflón y policarbonato de 0.22 µM cada una aceptable para la esterilización por filtración.

Tabla 5A. Prueba de eficiencia de filtración 1.

Formulación	Área	Conc. (μg/mL)	Conc.Exp. (μg/mL)	% de recuperación	Cantidad del fármaco en 50 mL (g)	Contenido de fármaco (en porcentaje)
Muestra centrifugada						
1	4619728	2108.93	2200	95.86	0.105446	0.211

5

10

15

2	4571834	2089.58	2200	94.98	0.104479	0.209
3	4589872	2096.87	2200	95.31	0.104843	0.210
Membrana de nylon						
1	4537680	2075.78	2200	94.35	0.103789	0.208
2	4512464	2065.60	2200	93.89	0.10328	0.207
Membrana de teflón						
1	4581475	2093.48	2200	95.16	0.104674	0.209
2	4567613	2087.88	2200	94.90	0.104394	0.209
3	4639411	2116.88	2200	96.22	0.105844	0.212

Tabla 5B. Prueba de eficiencia de filtración 2.

Formulación	Área	Conc. (μg/mL)	Conc.Exp. (μg/mL)	% de recuperación	Cantidad del fármaco en 50 mL (g)	Contenido de fármaco (en porcentaje)
Muestra ce	ntrifugada					
1	4531917	2073.45	2200	94.25	0.103673	0.207
2	4506733	2063.28	2200	93.79	0.103164	0.206
3	4514394	2066.38	2200	93.93	0.103319	0.207
Membrana de policarbonato						
1	4491373	2057.08	2200	93.50	0.102854	0.206
2	4522797	2069.77	2200	94.08	0.103489	0.207
3	4482973	2053.68	2200	93.35	0.102684	0.205

Se prepararon formulaciones al 0.2% en peso de voclosporina con diversos excipientes de polímero bioadhesivo como se describió anteriormente en la tabla 3C. Las características de formulación se midieron y el contenido de fármaco se determinó por HPLC después de la filtración a través de una membrana de nylon de 0.22 µm. Los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Contenido de fármaco en formulaciones de voclosporina al 0.2% en peso.

Parámetro	Formulación básica 1X	PVP-K- 30	PVP-K- 90	HPMC	HEC	PC
pH (antes del ajuste)	6.36	6.40	6.38	6.41	6.31	4.60
pH (después del ajuste)	6.80	6.81	6.80	6.82	6.82	6.80
Osmolalidad (mOsm/kg)	325	328	303	280	297	330
Viscosidad (Poise)	0.11	0.12	0.13	0.17	0.16	0.19

Contenido de	0.203	0.202	0.192	0.191	0.173	0.183
fármaco (%) por HPLC						

Ejemplo 5. Claridad de las formulaciones.

5

Se midió visualmente la claridad de las formulaciones y se registró la absorbancia de la muestra a 400 nm usando un espectrofotómetro UV-visible. Se colocaron un mililitro de formulación y los vehículos libres de fármaco correspondientes en una cubeta de plástico y se registró la absorbancia a 400 nm. El agua se usó como blanco. En un aspecto preferido, la formulación micelar mixta es una formulación transparente con absorbancia a 400 nm de menos de aproximadamente 0.1. Se muestra la absorbancia a 400 nm para diversas formulaciones en la tabla 4A, y en experimentos de dilución en las tablas 9-14.

La claridad visual también se usó como una guía en ensayos de formulación. Por ejemplo, las tablas 7 y 8 muestran claridad visual a diversos % en peso de voclosporina, vitamina E TPGS y octoxinol-40 en diversas formulaciones básicas 1X, preparadas como se describe en el segundo protocolo en el ejemplo 1.

Etiqueta/Ingredientes	1	2	3	4
Fármaco (voclosporina) (% en peso)	2.0	2.0	2.0	2.0
Vitamina E TPGS (grado alimenticio) (% en peso)	4.5	5.0	5.5	6.0
Octoxinol-40 (% en peso)	3.0	3.0	3.0	3.0
Agua hasta (mL)	100	100	100	100
Claridad visual	lechoso	lechoso	lechoso	lechoso

Tabla 7. Ensayos de formulación.

En la tabla 7, se usó vitamina E TPGS de calidad alimentaria a las concentraciones mostradas; todas las muestras eran lechosas. En la tabla 8, las muestras 1 y 2 eran visualmente transparentes, pero las muestras 3 y 4 contenían fármaco no disuelto.

Etiqueta/Ingredientes 2 3 4 Fármaco (voclosporina) (% en peso) 0.75 1.0 1.5 2.0 Vitamina E TPGS (% en peso) 6.0 6.0 6.0 6.0 Octoxinol-40 (% en peso) 4.0 4.0 4.0 4.0 Agua hasta (mL) 100 100 100 100 Claridad visual transparente transparente turbio turbio

Tabla 8. Pruebas de formulación.

Ejemplo 6. Estudio de dilución de formulaciones de voclosporina en lágrimas artificiales.

Las formulaciones de voclosporina se evaluaron en estudios de dilución. El objetivo era someter las formulaciones a dilución en condiciones similares al ojo. La concentración de voclosporina fue 0.2% en peso en cada formulación probada. Las formulaciones que se describen en la tabla 3A se mezclaron cada una 1: 1, 1: 5 y 1:10 con diversas marcas de lágrimas artificiales disponibles sin receta médica (OTC) en la farmacia. Se emplearon Systane® (Lubricant Eye Drops, Alcon, Inc.; Visine® (Lubricant Eye Drops, Pfizer, Inc.; Lágrimas refrescantes® (Lubricant Eye Drops), Allergan, Inc.; y Lágrimas Hypo® (Lubricant Eye Drops), Novartis. Las mediciones se tomaron en condiciones ambientales. Los datos (absorbancia a 400 nm) se muestran en las tablas 9 a 14 A. Los resultados no mostraron aumento en la turbidez y, por consiguiente, ninguna precipitación de voclosporina fuera de la solución.

Tabla 9. Absorbancia de muestra a 400 nm, predilución.

No. de muestra	Formulaciones	Absorbancia (400 nm)
1	PVP-K-30	0.020
2	PVP-K-90	0.018
3	HPMC	0.021
4	HEC	0.019
5	Policarbofilo	0.192
6	Agua	0.000
	Fluido lagrimal	Absorbancia (400 nm)
7	Lágrimas refrescantes	0.000
8	Lágrimas Visine	0.017
9	Lágrimas Systane	0.023
10	Lágrimas Hypo	0.002

Tabla 10. Absorbancia de muestra a 400 nm, después de la dilución.

No. de muestra:	Formulación	Tipo de fluido lagrimal	Factor de dilución	Absorbancia (400 nm)
11			2X	0.020
12	-	Lágrimas refrescantes	5X	0.014
13	-		10X	0.002
14	-		2X	0.011
15	-	Lágrimas Visine	5X	0.005
16	PVP-K-30		10X	0.002
17	1 11 10 00		2X	0.019
18	•	lágrimas Systane	5X	0.019
19	•		10X	0.021
20	-		2X	0.013
21	-	Lágrimas Hypo	5X	0.005
22			10X	0.041

Tabla 11. Absorbancia de muestra a 400 nm, después de la dilución.

No. de muestra:	Formulación	Tipo de fluido lagrimal	Factor de dilución	Absorbancia (400 nm)
23			2X	0.012
24	PVP-K-90	Lágrimas refrescantes	5X	0.007
25			10X	0.004
26		Lágrimas Visine	2X	0.013

27		5X	0.006
28		10X	0.003
29		2X	0.020
30	lágrimas Systane	5X	0.020
31		10X	0.031
32		2X	0.010
33	Lágrimas Hypo	5X	0.005
34		10X	0.003

Tabla 12. Absorbancia de muestra a 400 nm, después de la dilución.

No. de muestra:	Formulación	Tipo de fluido lagrimal	Factor de dilución	Absorbancia (400 nm)
35			2X	0.010
36		Lágrimas refrescantes	5X	0.004
37			10X	0.001
38			2X	0.009
39		Lágrimas Visine	5X	0.005
40	НРМС		10X	-0.001
41			2X	0.018
42		lágrimas Systane	5X	0.021
43			10X	0.021
44			2X	0.009
45		Lágrimas Hypo	5X	0.004
46			10X	0.002

Tabla 13. Absorbancia de muestra a 400 nm, después de la dilución.

No. de muestra:	Formulación	Tipo de fluido lagrimal	Factor de dilución	Absorbancia (400 nm)
47			2X	0.009
48		Lágrimas refrescantes	5X	0.004
49			10X	0.002
50			2X	0.010
51	HEC	Lágrimas Visine	5X	0.004
52	_		10X	0.002
53	_		2X	0.020
54	_	lágrimas Systane	5X	0.020
55			10X	0.020

56		2X	0.010
57	Lágrimas Hypo	5X	0.004
58		10X	0.003

Tabla 14A. Absorbancia de muestra a 400 nm, después de la dilución.

No. de muestra:	Formulación	Tipo de fluido lagrimal	Factor de dilución	Absorbancia (400 nm)
59			2X	0.052
60		Lágrimas refrescantes	5X	0.078
61			10X	0.054
62			2X	0.046
63		Lágrimas Visine	5X	0.086
64	Policarbofilo		10X	0.065
65	Policarbollio		2X	0.038
66		lágrimas Systane	5X	0.053
67			10X	0.047
68			2X	0.030
69		Lágrimas Hypo	5X	0.013
70			10X	0.008

Se realizaron más estudios de dilución en la formulación que se muestra en la tabla 3B, columna 1, con solución salina regulada como diluyente. La formulación diluida se caracterizó y los datos se muestran en la tabla 14B. La estabilidad micelar se confirmó a una dilución de al menos 20 veces en solución salina regulada.

5

10

15

Tabla 14B. Estabilidad micelar tras la dilución.

Formulación	Factor de dilución	Aspecto	pН	Osmolalidad (mOsm/kg)	Tamaño de partícula (nm)	PD	DST (°C)	Tiempo RS
	0X	Transparente	6.78	326	10.6	0.037	55	3 min
Sin polímero	4X	Transparente	6.87	340	12.2	0.161	60	3 min 40 s
pomnoro	20X	Transparente	7.08	300	20.8	0.264	65	2 min
	100X	Transparente	7.25	301	339.6	0.537	-	-
DST- Temperatura de disociación, RS- Reestabilización, PD- Polidispersidad								

Ejemplo 7 Temperatura de disociación para las formulaciones libres de fármacos y formulaciones que contienen voclosporina.

Se ensayaron las formulaciones mostradas en la tabla 3A para determinar la temperatura de disociación con y sin 0.2% en peso de voclosporina/volumen. Se preparó un baño de agua a una temperatura constante de ~ 60 °C y se usó para analizar muestras con fármaco. Se insertó un vial de vidrio que contenía la formulación en el baño de agua con un termómetro insertado en la formulación. Tan pronto como se observó algo de turbidez, se tomó una lectura de la temperatura. Las soluciones turbias se enfriaron a temperatura ambiente y el fármaco volvió a las micelas mixtas

con el resultado de que todas las soluciones volvieron a estar transparentes. Se registró el tiempo para la reestabilización (restablecimiento de la claridad visual). Los datos para muestras con voclosporina se muestran en la tabla 15. Se usó un bloque de calor para calentar y analizar muestras sin fármaco de manera similar. Los datos para muestras sin voclosporina se muestran en la tabla 16.

Los datos muestran que, en ausencia de voclosporina, la temperatura de disociación de las formulaciones micelares generalmente es aproximadamente 20-40 grados centígrados más alta que la temperatura de disociación de la formulación micelar en presencia de voclosporina (con la excepción de la formulación que contiene HPMC). La disminución de la temperatura de disociación de las formulaciones micelares que contienen el fármaco indica que el fármaco se incorpora a las micelas, y de este modo se solubiliza.

Tabla 15. Temperatura de disociación de la formulación con 0.2% en peso de voclosporina.

10

No. de muestra:	Formulaciones con 0.2% de voclosporina	Temperatura (°C)	Tiempo requerido para la reestabilización			
1	Formulación sin polímero (básica)	44	6 min			
2	PVP-K-30	46	5 min 30 s			
3	PVP-K-90	45	4 min 30 s			
4	HPMC	44	2 min			
5	HEC	43	5 min			
6	Policarbofilo	43	ND			
ND = No determinado						

Tabla 16. Temperatura de disociación de la formulación sin voclosporina.

No. de muestra:	Formulaciones libres de fármaco	Temperatura (°C)
7	PVP-K-30	92
8	PVP-K-90	90
9	HPMC	46
10	HEC	90
11	Policarbofilo	75

Se realizó un experimento de disociación térmica adicional en el que los viales que contenían 1 mL de formulaciones de voclosporina al 0.2% (básica, HPMC y PVP-K-90) se calentaron en un baño de agua mantenido a ~ 50 °C, durante aproximadamente 5 minutos. Las micelas mixtas se desestabilizaron y la solución se volvió turbia o de color blanco lechoso. Las soluciones se enfriaron a temperatura ambiente y el fármaco volvió a las micelas mixtas con el resultado de que todas las soluciones volvieron a estar transparentes. Se registró el tiempo para la reestabilización. La muestra PVP-K-90 se recicló por segunda vez con los mismos resultados.

Generalmente, las formulaciones con un % en peso aumentado de octoxinol-40 presentaron un aumento en la temperatura de disociación y disminuyeron el tiempo de regeneración (el tiempo requerido para la reestabilización), como se muestra en las tablas 17 y 18.

Tabla 17. Temperaturas de disociación en formulaciones básicas con un 0.2% en peso de voclosporina y varios% en peso de octinolol-40.

No. de muestra:	Concentración de octoxinol-40	Temperatura de disociación (°C)	Tiempo requerido para la reestabilización
1	0.5%	46	7 min 30 s
2	1.0%	53	6 min 10 s

3	1.5%	55	5 min 30 s
4	2.0%	55	3 min 20 s
5	2.5%	56	3 min

Tabla 18. Temperaturas de disociación en formulaciones básicas con 0.5% en peso de voclosporina y diversos % en peso de octoxinol-40.

No. de muestra:	Concentración de octoxinol-40	Temperatura de disociación (°C)	Tiempo requerido para la reestabilización
1	0.5%	46	No estabilizado
2	1.0%	46	6 min
3	1.5%	47	5 min
4	2.0%	48	7 min
5	2.5%	49	7 min 30 s
6	3.0%	49	7 min 30 s

- Otro experimento de temperatura de disociación donde la concentración de octoxinol-40 se incrementó desde 0.5% a 2.5% en la formulación de PVP-K-90 con 0.2% en peso de voclosporina dio como resultado un aumento en la temperatura de disociación desde 45 °C a 55 °C. La formulación se restableció a una solución transparente dentro de los 3 minutos posteriores al enfriamiento.
- Se evaluó la adición de otros excipientes para determinar el efecto sobre la temperatura de disociación. La adición de PEG 400 al 5% a las formulaciones preparadas en la tabla 3B con 0.2% en peso de voclosporina dio como resultado temperaturas de disociación similares y un tiempo ligeramente mayor para la reestabilización, como se muestra en la tabla 19.

Tabla 19. Temperatura de disociación: efecto de la adición de PEG 400 al 5% (v/v).

No. de muestra:	Formulaciones con voclosporina	Temperatura de disociación (°C)	Tiempo requerido para la reestabilización
1	Formulación sin polímero + PEG 400 al 5%	42	6 min
2	PVP-K-90 + PEG 400 al 5%	44	6 min
3	HPMC + PEG 400 al 5%	42	2 min 45 s
4	HEC + PEG 400 al 5%	39	6 min

La adición de 1% de HPMC a las formulaciones preparadas en la tabla 3B con 0.2% en peso de voclosporina y PVP-K-90 dio como resultado temperaturas de disociación similares, pero un tiempo reducido requerido para la reestabilización, como se muestra en la tabla 20.

Tabla 20. Temperatura de disociación: Efecto de la adición de 1% de HPMC a la formulación de PVP-K-90.

No. de muestra:	Formulaciones con voclosporina	Temperatura de disociación (°C)	Tiempo requerido para la reestabilización
1	PVP-K-90 + HPMC	43	3 min 45 s

Ejemplo 8. Mediciones del tamaño de partícula.

5

10

15

El tamaño medio de partícula y el índice de polidispersidad de las micelas mixtas se miden usando la técnica de dispersión dinámica de la luz (analizador del tamaño de partícula Brookhaven 90Plus, Holtsville, NY), tomando el promedio de tres mediciones. Las diferentes soluciones se colocaron en celdas de plástico desechables. Se usó un volumen de muestra de 200 μL para determinar el tamaño de partícula. El tamaño de partícula y la polidispersidad para formulaciones preparadas en el ejemplo 2 con 0.2% en peso de voclosporina se muestran en la tabla 21. La formulación con 0.2% en peso de voclosporina y PVP-K-90 presentó un diámetro de micela promedio de 13.3 nm con una distribución de tamaño muy estrecha y una polidispersidad de 0.005. Por el contrario, la formulación con 0.2% en peso de voclosporina y HEC presentó un diámetro promedio de micelas de 23.8, pero una amplia distribución del tamaño de partícula bimodal dio como resultado una gran polidispersidad de 0.482.

Tabla 21. Análisis del tamaño de partícula.

No. de muestra:	Formulaciones con 0.2 % de voclosporina	Diámetro (nm)	Polidispersidad
1	Formulación sin polímero	8.0	0.657
2	PVP-K-30	19.8	0.206
3	PVP-K-90	13.3	0.005
4	HPMC	32.9	0.317
5	HEC	23.8	0.482

El tamaño de partícula, la polidispersidad, la temperatura de disociación y el tiempo de reestabilización para formulaciones con un 0.2% en peso y un 0.5% en peso de voclosporina en formulaciones con un 2% de octoxinol-40 se muestran en las tablas 22 y 23.

Tabla 22. Características de las formulaciones que contienen un 0.2% en peso de voclosporina con un 2% de Octoxinol-40.

No. de muestra:	Formulaciones	Osmolalidad (mOsm/kg)	Tamaño de partícula (nm)	Índice de polidispersidad	Temperatura de disociación (°C)	Tiempo requerido para la reestabilización
1	Formulación sin solución reguladora y polímero	75	9.9	0.103	57	2 min
2	Formulación sin polímero	231	11.1	0.157	58	2 min 40 s
3	Formulación que contiene 3% de OC-40 sin polímero	248	10.5	0.083	65	3 min
4	PVP-K-30 (1.8%)	256	11.6	0.147	58	3 min
5	PVP-K-90 (1.2%)	266	12.5	0.156	59	3 min 20 s
6	HPMC (0.3%)	275	97.3	0.160	53	3 min
7	HEC (0.3%)	233	83.9	0.166	59	2 min 50 s

Tabla 23. Características de las formulaciones que contienen 0.5% en peso de voclosporina con 2% de octoxinol-40.

No. de muestra:	Formulaciones	Osmolalidad (mOsm/kg)	Tamaño de partícula (nm)	Índice de polidispersidad	Temperatura de disociación (°C)	Tiempo requerido para la reestabilización
1	Formulación sin solución reguladora y polímero	178	9.6	0.030	49	14 min
2	Formulación sin polímero	275	10.6	0.055	46	12 min
3	Formulación que contiene 3% de OC-40 sin polímero	358	11.0	0.115	44	13 min
4	PVP-K-30 (1.8%)	284	12.7	0.189	47	12 min
5	PVP-K-90 (1.2%)	281	21.8	0.251	48	12 min 50 s

Ejemplo 9. Determinación del peso y el volumen de la gota.

5

10

Para determinar la cantidad de inhibidor de calcineurina administrada por gota, se determinó el peso y volumen de la gota para cada formulación. Dado que el tamaño de la gota depende de la tensión superficial de la formulación, se ensayaron dos formulaciones, como se describe en la tabla 3A, que contienen 0.2% en peso de voclosporina/volumen para el tamaño y volumen de la gota suministrada. La formulación que contiene PVP-K-90 y la formulación que contiene HPMC, 0.5 mL cada una, se llenaron individualmente en recipientes BFS de capacidad de 0.8 mL (sellado, soplado y llenado) proporcionados por un proveedor de fabricación. El material de la botella era LDPE y el estudio se realizó en condiciones ambientales. Diez gotas de cada formulación se exprimieron en un plato tarado y se pesaron. De forma similar, diez gotas de formulaciones se comprimieron en el cilindro de medición y se registró el volumen. Los datos se muestran en las tablas 24 y 25.

Tabla 24. Peso de 10 gotas.

No. de Muestra	Peso de 10 gotas (g)	
	PVP-K-90	HPMC
1	0.2843	0.2851
2	0.2829	0.2843
3	0.2838	0.2848
Promedio	0.2836	0.2847

Tabla 25. Volumen de 10 gotas.

9				
No. de Muestra	Volumen de 10 gotas (mL)			
	PVP-K-90	HPMC		
1	0.29	0.30		
2	0.28	0.29		
3	0.28	0.29		
Promedio	0.283	0.293		

## Ejemplo 10. Estudios de estabilidad.

Se realizaron estudios de compatibilidad de estabilidad y formulación en tres tipos de botellas apropiadas para administración farmacéutica. Los volúmenes conocidos de las seis formulaciones del ejemplo 1 se transfirieron a tres tipos diferentes de recipientes, esto es, LDPE, polipropileno y cloruro de polivinilo y se almacenaron a temperatura ambiente. A intervalos de tiempo predeterminados (0, 6, 24 y 48 h), las muestras se retiraron de los recipientes y se analizaron para determinar el contenido de fármaco por el procedimiento de HPLC. Ninguna de las formulaciones almacenadas en diversos tipos de recipientes presentó una disminución en el contenido de fármaco durante el período de estudio.

Ejemplo 11. Tolerabilidad local en conejos de formulaciones que comprenden un inhibidor de calcineurina.

Se realizó un estudio en conejos para ensayar la tolerancia de formulaciones micelares mixtas que contienen voclosporina (formulación básica 1X, Tabla 3A, columna 1, ya sea al 0.2% en peso o al 0.5% en peso de voclosporina, un conejo cada uno) frente a solución salina. Para el estudio se usaron conejos albinos de Nueva Zelanda adultos jóvenes saludables (3-4 Kg). Se colocó una gota (aproximadamente 30 μL) de solución salina en un ojo y se colocó una gota de formulación con voclosporina en el otro ojo del conejo. No se notó ninguna diferencia en los siguientes parámetros observados: parpadeo del ojo, lagrimeo, tamaño de la pupila, enrojecimiento, movimiento del ojo.

Ejemplo 12. Tolerabilidad local en conejos de formulaciones que comprenden un inhibidor de calcineurina.

Se llevaron a cabo estudios adicionales en conejos para probar la tolerancia de diversas formulaciones micelares mixtas. Las formulaciones F1-F16 como se muestra en las tablas 26 y 27 se usaron para estos estudios.

Código	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Voclosporina	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%
Vitamina E TPGS	2%	2%	3.5%	3.5%	2%	2%	3.5%	3.5%
OX-40	2%	3%	2%	3%	2%	3%	2%	3%
PVP-K-90	-	-	-	-	0.6%	0.6%	0.6%	0.6%

Tabla 26. Formulaciones F1 a F8.

Tabla 27. Formulaciones F9 a F16.

Código	F9	F10	F11	F13	F14	F14	F15	F16
Voclosporina	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.02%	0.02%	0.02%	0.02%
Vitamina E TPGS	2%	2%	3.5%	3.5%	2%	2%	3.5%	3.5%
OX-40	2%	3%	2%	3%	2%	3%	2%	3%
PVP-K-90	1.2%	1.2%	1.2%	1.2%	1.2%	1.2%	1.2%	1.2%

Se usaron conejos albinos de Nueva Zelanda adultos jóvenes sanos (3-4 kg) para el estudio. Se colocó una gota (aproximadamente 30  $\mu$ L) de una formulación con voclosporina (LX211) en un ojo del conejo. Cada formulación se probó por triplicado.

Ambos ojos de cada animal fueron examinados por un oftalmólogo veterinario certificado por la junta usando una lámpara de hendidura manual y un oftalmoscopio indirecto. Tanto los ojos de control como los ojos de prueba se clasificaron de acuerdo con la congestión conjuntival, hinchazón y secreción, reflejo acuoso, reflejo y afectación de la luz del iris, gravedad y área de turbidez corneal, pannus, examen de fluoresceína y opacidad del cristalino usando el sistema de puntuación Hackett/McDonald (véase, por ejemplo, Hackett, R.B. and McDonald, T.O. Ophthalmic Toxicology and Assessing Ocular Irritation. Dermatoxicology, 5th Edition. Ed. F.N. Marzulli and H.I. Maibach. Washington, D.C.: Hemisphere Publishing Corporation. 1996; 299-305 and 557-566). En el examen de fluoresceína, se aplicó aproximadamente una gota de cloruro de sodio, USP al 0.9%, al final de una tira impregnada de fluoresceína y luego se aplicó a la esclerótica superior de los ojos izquierdo y derecho (se usa una tira impregnada de fluoresceína para cada animal). Después de una exposición de aproximadamente 15 segundos, el colorante de fluoresceína se enjuagó suavemente de cada ojo con cloruro de sodio, USP al 0.9%. Luego se examinaron los ojos usando una lámpara de hendidura con una fuente de luz filtrada azul cobalto. Para el examen lenticular, se instiló

20

5

30

35

aproximadamente una gota de una solución midriática de acción corta en cada ojo para dilatar la pupila. Después de que se produjo una dilatación aceptable, se examinó el cristalino de cada ojo usando un biomicroscopio con lámpara de hendidura.

La lente cristalina se observa fácilmente con la ayuda del biomicroscopio de lámpara de hendidura, y la ubicación de la opacidad lenticular se puede discernir fácilmente mediante iluminación directa y retroiluminada. La ubicación de las opacidades lenticulares se puede dividir arbitrariamente en las siguientes regiones lenticulares que comienzan con la cápsula anterior: Subcapsular anterior, cortical anterior nuclear subcapsular posterior, capsular posterior. El cristalino se evalúa de manera rutinaria durante las evaluaciones oculares y se clasifica como ya sea 0 (normal) o 1 (anormal). Se debe describir la presencia de opacidades lenticulares y anotar la ubicación. Los resultados para diversas formulaciones se muestran en las tablas 28 a 31.

5

10

Tabla 28. Resultados del ensayo de tolerabilidad en ojos de conejo para diversas formulaciones al 0.2% en peso de voclosporina.

		Р	retrata	miento	)		1 ho	ora			24 hc	ras			72 h	oras	
# de cone jo		F 1	F 2	F 3	F 4	F 1	F 2	F 3	F 4	F 1	F 2	F 3	F 4	F 1	F 2	F 3	F 4
159		0	0			1	1			0	0			0	0		
160	PV			0	0			0	0			0	0			0	0
l61	P- K-	0		0		1		0		0		0		0		1	
l62	90 al 0%		1		1		1		1		1	1 2	2		2		0
163		0			0	0			0	0			0	0			0
164			0	0			0	1			0	0			0	0	

Tabla 29. Resultados del ensayo de tolerabilidad en ojos de conejo para diversas formulaciones al 0.2% en peso de voclosporina.

		F	Pretrata	miento	)		1 h	ora			24 h	oras			72 h	oras	
# de		F	l F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
cone jo		5	6	7	8	5	6	7	8	5	6	7	8	5	6	7	8
165		0	0			0	0			0	0			0	0		
166	PV P-			1	1			1	1			0	0			0	0
167	K- 90	0		0		1		2		0		0		0		0	
168	al 0.6		0		0		0		0		1		0		0		0
169	%	0			0	1			1	1			1	1			0
170			0	0			1	1			0	0			0	0	

Tabla 30. Resultados del ensayo de tolerabilidad en ojos de conejo para diversas formulaciones al 0.2% en peso de voclosporina.

		Pretra	Pretratamiento	to		<b>+</b>	1 Hora			N	24			7	72	
										운	ras			운	ras	
	F9	F10	F11	F12	F9	F10	F11	F12	F9	F10	F11	F12	F9	F10	F11	F12
7 00 7	0	0			0	0			0	0			0	0		
ラ- <b>と</b> -Lゝ			0	0			_	0			0	0			0	0
	0		0		0		0		0		0		0		0	
		0		0		0		0		0		0		0		0
	0			0	0			0	0			0	0			0
		0	0			0	_			0	0			0	0	

Tabla 31. Resultados de la prueba de tolerabilidad en ojos de conejo para diversas formulaciones al 0.02% en peso de Voclosporina

			Pretrata	Pretratamiento			1 Hora	ora			24 Horas	4 ras			72 Horas	2 ras	
Conejo #		F13	F14	F15	F16	F13	F14	F14 F15	F16	F13	F14	F15	F16	F13	F14	F15	F16
177	1 3% BVB 1/2 00	0	0			0	_			0	0			0	0		
178	06-V - V 0 V 7:1			0	0			2	0			0	0			0	0
621		0		0		0		0		0		0		0		0	
180			0		0		0		0		0		_		0		0
135		0			0	0			0	0			0	0			0
136			0	0			0	1			_	_			0	2	

### Ejemplo 13. Estudio clínico de voclosporina tópica en perros con KCS

Se diseñó y condujo un estudio de eficacia piloto, de etiqueta única, de un solo grupo, que evaluaba la voclosporina tópica. El estudio pretendía documentar la eficacia del 0.2% en peso de voclosporina en una composición según las realizaciones descritas actualmente para el tratamiento de la queratoconjuntivitis seca canina (KCS). El estudio cubrió la evaluación de la producción de lágrimas (medida por la prueba de lágrima de Schirmer (STT)), la respuesta de la observación clínica de la córnea y la evaluación general de la eficacia de los oftalmólogos participantes.

Los perros diagnosticados con KCS inmunomediada crónica (> 3 meses de duración) se seleccionaron de las poblaciones clínicas del North Carolina State Veterinary Teaching Hospital. El diagnóstico de KCS inmunomediada se realizó por exclusión de otras causas de KCS. Los perros seleccionados para participar en este estudio tuvieron una demostración de la función lagrimal residual y mostraron una respuesta a la ciclosporina tópica disponible comercialmente.

En este estudio, no hubo período de reposo y los animales se cambiaron directamente de ciclosporina A tópica (ciclosporina al 0.2% en vaselina, USP, aceite de maíz, NF y base de CAB Amerchol® (Optimmune® Schering Plough Animal Health))

- a 0.2% en peso de voclosporina en una composición de micelas mixtas según las realizaciones descritas actualmente, administradas por vía tópica cada 12 horas. Los exámenes físicos y oftálmicos se realizaron a los 0, 7, 14 y 28 días. El estudio se diseñó de manera que una respuesta favorable a la voclosporina se consideraría un mantenimiento o aumento del valor de STT en comparación con los valores previos al estudio.
- Se ingresaron seis perros y completaron el estudio. Para estos 6 perros, la media de STT en el día 0 fue de 21.9 ± SD de 3.2 mm/min; a los 7 días de terapia STT fue de 22.4 ± 4.0 mm/min; a los 14 días STT fue de 20.3 ± 2.5 mm/min, y a los 30 días STT fue de 21.0 ± 1.9 mm/min. Esto indica claramente que la voclosporina ha mantenido el STT en estos perros durante 30 días. Véase la media de los valores de STT en la figura 1. Todos los perros se han sentido cómodos sin ningún signo de efectos secundarios o irritación asociados con el medicamento. No se observaron efectos adversos en ningún animal durante el período de tratamiento de 30 días.
- Ejemplo 14. Robustez y estabilidad de las formulaciones.

5

10

- Se ensayó la robustez de una formulación según la presente divulgación que contenía 0.2% en peso de voclosporina sometiendo las muestras a múltiples ciclos de calentamiento/enfriamiento, ciclos de refrigeración, agitación vigorosa o exposición prolongada a la luz solar.
- Ciclado térmico: se colocó un conjunto de viales de vidrio que contenían formulación en un baño de agua con temperatura ajustada a ~ 70 °C. Las muestras se calentaron hasta que apareció la turbidez y luego se enfriaron a temperatura ambiente para que la solución se vuelva transparente, lo que constituía una ronda de ciclos térmicos. El ciclo térmico se repitió 5 o 10 veces. Después de completar los 5 o 10 ciclos térmicos, las muestras se analizaron para determinar la temperatura de disociación seguida por el tiempo de regeneración y la determinación del tamaño micelar como se describió anteriormente.
- 35 Ciclado de refrigeración: un conjunto de muestras se sometió a las condiciones de refrigeración. Las muestras se colocaron en un refrigerador (4 °C) durante 12 horas y luego se llevaron a temperatura ambiente y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 12 horas. El ciclo térmico se repitió 5 o 10 veces. Después de completar los 5 o 10 ciclos, las muestras se analizaron para la temperatura de disociación, seguido por el tiempo de regeneración y la determinación del tamaño micelar como se describió anteriormente.
- 40 Agitación vigorosa: las muestras se colocaron en una plataforma de agitación y el agitador se hizo funcionar a ~75 rpm a temperatura ambiente. Las muestras se retiraron después de 4 horas o 24 horas y se analizaron para determinar la temperatura de disociación, el tiempo de regeneración y el tamaño micelar como se describió anteriormente.
- Exposición a la luz solar: las soluciones se colocaron bajo la luz solar directa durante 4 horas. Después de la exposición, se analizó la temperatura de disociación de la muestra, seguido del tiempo de regeneración y el tamaño micelar como se describió anteriormente.
  - La formulación micelar mixta según la presente divulgación que contiene 0.2% en peso de voclosporina se sometió a diversas condiciones de estrés (ciclos de calor/frío, ciclos de refrigeración/ambientales, agitación vigorosa y exposición a la luz solar). La composición de micelas mixtas según las realizaciones descritas actualmente que contiene el 0.2% en peso de voclosporina no mostró cambios en la temperatura de disociación, el tiempo de regeneración y el tamaño de la micela como se muestra en la tabla 32.

Tabla 32: Efecto del estrés sobre la temperatura de disociación, el tiempo de regeneración y el tamaño de la micela, promedio de tres muestras replicadas.

No.	Descripción de la prueba (°C)	Temperatura de disociación	Tiempo de regeneración (min)	Tamaño micelar (nm)	PDI
1	Muestras antes de someterse a estrés	54.0 ± 1.0	2.5	13.3 ± 0.2	0.193 ± 0.004
2	Muestras sometidas a 5 ciclos de calor/frío	57.3 ± 0.6	3.0	16.0 ± 1.6	0.198 ± 0.020
3	Muestras sometidas a 10 ciclos de calor/frío	57.0 ± 1.0	3.0	15.9 ± 1.4	0.211 ± 0.10
4	Muestras sometidas a 5 ciclos de refrigeración/ambiente	55.0 ± 1.0	2.6 ± 0.3	13.6 ± 0.4	0.195 ± 0.011
5	Muestras sometidas a 10 ciclos de refrigeración/ambiente	55.0 ± 1.7	3.0	13.3 ± 0.8	0.189 ± 0.10
6	Muestras sometidas a 4 horas de agitación en una plataforma de agitación	54.6 ± 0.6	3.0 ± 0.1	14.2 ± 0.7	0.193 ± 0.008
7	Muestras sometidas a 24 horas de agitación en una plataforma de agitación	54.6 ± 0.6	$2.8 \pm 0.3$	14.1 ± 0.4	0.193 ± 0.003
8	Muestras sometidas a 4 horas de luz solar	54.6 ± 0.6	2.8 ± 0.3	13.7 ± 0.4	0.194 ± 0.005

Estudio de estabilidad: las soluciones por triplicado se transfirieron a viales de vidrio limpios y se almacenaron a diferentes temperaturas (45 °C, 30 °C, RT y 4 °C). A intervalos de tiempo predeterminados (0, 7, 14 y 30 días) se extrajeron muestras y se evaluaron los cambios en el color, la separación de fases, el pH, el contenido de fármaco, la temperatura de disociación, el tiempo de regeneración y el tamaño micelar.

5

10

Las muestras almacenadas a 30 °C, RT y 4 °C, durante hasta 30 días no mostraron cambios en el color, fase, pH, contenido de fármaco, temperatura de disociación, tiempo de regeneración y tamaño micelar. Las soluciones almacenadas a 45 °C formaron precipitados que indicaban inestabilidad térmica de la formulación a altas temperaturas.

Ejemplo 15. Preparación y caracterización micelar de formulaciones que contienen diversos inhibidores de calcineurina o mTOR.

Tabla 33. Formulaciones que contienen diversos inhibidores de calcineurina y mTOR.

Ingrediente	Cantidad	para 100 ml	L
Ciclosporina A	0.2g	-	-
Sirolimus	-	0.2g -	-
Tacrolimus	-	-	0.2g
Vitamina E TPGS	2.5g	2.5g	2.5g
Octoxinol-40	2.0g	2.0g	2.0g
PVP-K-90	1.2g	1.2g	1.2g
Fosfato de sodio, dibásico	0.81g	0.81g	0.81g
Fosfato de sodio, monobásico	0.93g	0.93g	0.93g

Cloruro de Sodio	0.2g	0.2g	0.2g
Agua hasta	100 ml	100 ml	100 ml

Se pesaron las cantidades calculadas de fármacos, vitamina E TPGS y octoxinol-40 requeridas para 10 mL, luego se mezclaron en 4 mL de etanol al 95%, y se evaporaron al vacío para formar una película delgada de material casi sólido. La película delgada de material casi sólido se disolvió luego en 5 mL de agua desionizada y se sonicó durante aproximadamente 40 minutos para asegurar la formación completa de micelas mixtas. Las formulaciones básicas preparadas se almacenaron a temperatura ambiente.

Se preparó una mezcla de solución reguladora que contenía fosfato de sodio, dibásico, fosfato de sodio, monobásico y cloruro de sodio disolviendo en agua desionizada. La solución stock de PVP-K-90 se preparó en agua. Se añadió el volumen requerido de solución de polímero y solución reguladora a las formulaciones básicas y se agitó suavemente en vórtex para obtener una solución transparente. El pH de la solución se ajustó con NaOH o HCl a un objetivo de aproximadamente 6.8. La formulación se esterilizó mediante un filtro de membrana de nylon (0.22 µm) y luego se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso. El tamaño micelar de las formulaciones se midió usando la técnica de dispersión dinámica de la luz (analizador de tamaño de partícula Brookhaven 90Plus, Holtsville, NY), tomando el promedio de tres mediciones. Los resultados del estudio se describen a continuación. Se encontró que las formulaciones eran claras y transparentes a temperatura ambiente. El tamaño micelar y el índice de polidispersidad (PDI) de las formulaciones se dan en la tabla 34.

Tabla 34: Tamaño de micelas observadas y PDI de las formulaciones

Formulación que contiene	Tamaño de micela (nm)	PDI
Ciclosporina	12.6 ± 0.2	0.119 ± 0.004
Sirolimus	13.9 ± 0.1	0.198 ± 0.002
Tacrolimus	13.8 ± 0.2	0.199 ± 0.005

Ejemplo 16. Composiciones de lágrimas artificiales.

Tabla 35: Composición de lágrima artificial biocompatible

Ingrediente	Cantidad
Voclosporina	0
Vitamina E TPGS	2.5 g
Octoxinol -40	2.0 g
PVP-K-90	1.2 g
Fosfato de sodio, dibásico	0.81 g
Fosfato de sodio, monobásico	0.93 g
Cloruro de sodio	0.2 g
Agua	hasta 100 mL

Para mostrar que ninguno de los componentes de las composiciones de lágrimas artificiales de la presente divulgación es intrínsecamente irritantes para los tejidos oculares, se realizó un estudio para determinar la tolerabilidad y toxicidad ocular de las lágrimas artificiales.

Se administró por vía tópica conejos blancos de Nueva Zelanda (NZW) (5 hembras/5 machos) una gota de aproximadamente 35 μl o la composición de lágrimas artificiales de la presente divulgación a cada ojo a intervalos de 1 hora, hasta un máximo de 8 veces por día. Los animales se sacrificaron después de 14 días de administración de lágrima artificial. Los siguientes parámetros fueron evaluados durante el estudio: morbilidad/mortalidad, examen físico, observaciones clínicas, pesos corporales, consumo de alimento, observaciones oculares macro y microscópicas, electrorretinografía (ERG), medición de la presión intraocular (IOP), y luego de la necropsia, la histopatología fue

20

5

10

realizada en los siguientes tejidos: ojos, timo, ganglios linfáticos mandibulares, rostrales y caudales, bazo. Todos los animales estaban sanos y no mostraron hallazgos fuera del rango normal. Los informes de exámenes relacionados con los ojos se proporcionan en más detalles a continuación:

Clasificación microscópica ocular:

El sistema de clasificación ocular microscópico se aplicó a los hallazgos oculares después del uso del biomicroscopio de lámpara de hendidura que incluía la inserción de un filtro azul para evaluar la retención del colorante fluoresceína. No se observaron lesiones por oftalmoscopia indirecta realizada antes de la dosis, y después de 14 días de aplicación de composición de lágrima artificial (8 veces por día).

Observaciones de datos de tonometría (IOP):

Las lecturas medias de tonometría (Tono-pen) de presiones intraoculares (IOP) en conejos realizados antes de la prueba y después de 14 días de aplicación de composición de lágrima artificial estaban entre 11-17 mm/Hg de presión y estaban dentro del rango histológico normal (10 -20/mm Hg). En conclusión, no se observaron efectos de la IOP en asociación con tratamientos tópicos administrados (8 veces por día).

Observaciones de datos de ERG:

- Se realizaron los ERG estimuladores del campo completo bilaterales en conejos que utilizan el protocolo ISCEV y la unidad HMsERG. La evaluación preliminar de las amplitudes máximas de ondas a y b para estimulación de alta intensidad con 10 cd.s/m2 y estimulación de parpadeo de 30 Hz, también usando 10 cd.s/m2, ambas bajo condiciones escotópicas, no mostró ningún hallazgo después de 14 días de aplicación de composición de lágrima artificial (8 veces por día).
- 20 Observaciones histopatológicas

No hubo hallazgos histopatológicos después de 14 días de aplicación de composición de lágrima artificial (8 veces por día)

Ejemplo 17. Formulaciones micelares mixtas que contienen aditivos de azúcar.

Se añadieron aditivos de azúcar, tales como trehalosa, manosa, D-galactosa y lactosa a las diversas formulaciones de la presente divulgación y se llevaron a cabo estudios de estabilidad a diferentes temperaturas. Los azúcares se añadieron a las formulaciones durante la etapa de rehidratación (externamente) o se añadieron antes de la creación de la película delgada (internamente). Se encontró que las formulaciones eran estables en presencia de los azúcares adyuvantes.

También se prepararon formulaciones que contenían una concentración disminuida de octoxinol-40 con azúcar cuando se añadió azúcar durante la preparación de la formulación básica (internamente). Se llevaron a cabo estudios con 0.05% y 0,1% de octoxinol-40 y 0.5% y 1,0% de azúcar para los estudios de estabilidad. Los resultados obtenidos durante los estudios mostraron que la formulación permaneció estable hasta 35 días a 30 °C.

Voclosporina	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%
Vitamina E TPGS	2.5	2.5	2.5	2.5
Octoxinol-40	0.05%	0.1%	0.05%	0.1%
Trehalosa	0.5%	0.5%	1.0%	1.0%
Agua	hasta 100 ml	hasta 100 ml	hasta 100 ml	hasta 100 ml

Tabla 36: Composiciones de formulaciones (azúcares agregados internamente).

## 35 Procedimiento:

40

Se requirieron cantidades calculadas de fármaco (aproximadamente 0.2%, esto es, 200 mg), vitamina E TPGS (aproximadamente 2.5%, esto es, 2.5 g) y octoxinol-40 (aproximadamente 0.05/0.1%, esto es, 50/100 mg) para 100 mL de la formulación se pesaron. Doscientos miligramos de fármaco, aproximadamente 2.5 g de TPGS y aproximadamente 50/100 mg de octoxinol-40 se disolvieron en aproximadamente 2 ml, aproximadamente 1 ml y aproximadamente 50/100  $\mu$ L de etanol al 95%, respectivamente. Para el azúcar, se disolvió aproximadamente 1 g de trehalosa en aproximadamente 4.5 ml de mezcla de agua/etanol (aproximadamente 2.5 ml de agua + aproximadamente 2.0 ml de etanol) por separado y se mezcló con otros contenidos. La misma relación agua: etanol se usó para preparar formulaciones que contienen diferentes cantidades de azúcar. La mezcla se evaporó luego a

vacío durante la noche para formar una película delgada. La película delgada se disolvió luego en aproximadamente 45 mL de agua desionizada y se sonicó durante aproximadamente 45 minutos para asegurar la formación completa de micelas mixtas.

La solución de rehidratación que contiene fosfato de sodio, dibásico (aproximadamente 0.8092%), fosfato de sodio, monobásico (aproximadamente 0.9287%), cloruro de sodio (aproximadamente 0.18%) y el polímero PVP-K 90 (aproximadamente 1.2%) se preparó disolviendo cantidades en aproximadamente 45 mL de agua desionizada. Esta solución de polímero se añadió entonces a las micelas preparadas previamente en un cilindro de medición y el volumen se completó a aproximadamente 100 mL con agua desionizada (q.s.). Finalmente, el pH de la formulación se ajustó con NaOH o HCl a aproximadamente 6.8. La formulación se esterilizó mediante un filtro de membrana de nylon (0.22 μm).

Durante los estudios de estabilidad, a intervalos de tiempo predeterminados, las muestras se retiraron, se centrifugaron y la solución sobrenadante se recogió para el análisis del contenido de fármaco.

### Resultados:

5

10

Se encontró que las formulaciones eran claras y transparentes a temperatura ambiente antes del inicio de los estudios de estabilidad. El tamaño micelar observado estaba en el intervalo de 12 - 14 nm. Las formulaciones de ejemplo con octoxinol-40 y trehalosa son las siguientes:

Ε

F

Código	Etiqueta de formulación
В	0.05% de OC-40 + 0.5% de trehalosa
С	0.1% de OC-40 + 0.5% trehalosa

0.05% de OC-40 + 1.0% de trehalosa

0.1% de OC-40 + 1.0% de trehalosa

Tabla 37A: Formulaciones con aditivos de azúcar.

Tabla 37R: Porcentaie de fárm	ana rootanta da difa	rantaa farmulaajanaa a	20.00

Día	0	2	4	6	8	13	18	25	35
В	100.00	103.11	98.26	98.20	98.72	101.59	98.85	107.14	95.40
С	100.00	98.43	94.55	95.50	96.66	98.65	94.88	93.84	95.21
E	100.00	96.37	97.22	99.04	97.61	99.38	95.88	93.12	91.75
F	100.00	99.54	98.33	100.33	99.00	100.97	95.11	95.79	97.27

Ejemplo 18. Distribución ocular y farmacocinética de 0.2% en peso/vol. de voclosporina en formulaciones micelares mixtas de la presente divulgación.

El objetivo de este estudio fue evaluar la distribución temporal y la acumulación potencial con la dosificación repetida, la diferencia de género y la posible unión a melanina de una composición de voclosporina al 0.2% marcada radiactivamente con <sup>14</sup>C (solución oftálmica) de la presente divulgación después de la aplicación ocular determinando radioactividad en tejidos oculares, lágrimas y sangre en conejos blancos de Nueva Zelanda (NZW) y Dutch Belted (DB).

# Procedimientos:

Se usaron conejos NZW (30 hembras/8 machos) en un estudio de dosis única (SD) y de dosis repetidas (RD) de 7 días (véase la tabla 38). Se usaron conejos DB (16 mujeres) en un estudio de dosis única (véase la tabla 39). Los animales no se trataron (controles) o se les administró una dosis ocular tópica única o diaria durante 7 días (35 μL de <sup>14</sup>C-voclosporina al 0.2% en una formulación micelar mixta en uno o ambos ojos). Se evaluaron los niveles de radioactividad del tejido sanguíneo y ocular en puntos de tiempo designados mediante combustión seguida de recuento de centelleo líquido. No se produjo mortalidad, morbilidad o evidencia de irritación clínica en ninguno de los conejos.

20

25

35

Tabla 38. Distribución tisular ocular de <sup>14</sup>C-Voclosporina en composición micelar mixta.

ID del grupo	No. de animales/grupo	<sup>14</sup> C-Dosis de administración <sup>a</sup>	Matrices recolectadas	Tiempo de recolección de muestras (tiempo de eutanasia)				
1 <sup>b</sup>	2♀ 2♂	Ninguna	Lágrima, sangre, tejido ocular/fluidos	Predosis				
2 <sup>c</sup>	12 ♀ 6 ♂	35 μL/ojo, una vez, ocular (bilateral)	Lágrima, sangre, tejido ocular /fluidos (grupo SD)	♀: 0.5, 1, 2, 4, 8 y 24 horas  ♂: 1, 4 y 24 horas después de la administración de la dosis (2 animales/punto de tiempo)				
3	2♀	35 μL/ojo, una vez, ocular (unilateral)	Lágrima, sangre, tejido ocular/fluidos	1 h después de la administración de la dosis				
4 <sup>a</sup>	2♀	35 μL/ojo, una vez al día bilateral durante 6 días	Lágrima, sangre, tejido ocular/fluidos	Justo antes de la 7ª dosis de administración en el siguiente grupo				
5 <sup>e</sup>	<b>12</b> ♀	35 μL/ojo, una vez al día bilateral durante 7 días	Lágrima, sangre, tejido ocular /fluidos (grupo RD)	0.5, 1, 2, 4, 8 y 24 horas después de la última dosis de administración (2 animales/punto de tiempo)				

a La formulación de la dosis tópica contenía 0.2% de voclosporina. La dosis diana fue de  $\sim$  3  $\mu$ Ci/35  $\mu$ L y 70 ng de voclosporina.

Tabla 39. Distribución tisular ocular de <sup>14</sup>C-Voclosporina en composición micelar mixta.

ID del grupo	No. de animales/grupo	14C-Dosis de administración <sup>a</sup>	Matrices recolectadas	Tiempo de recolección de muestras (tiempo de eutanasia)			
1 <sup>b</sup>	2♀	Ninguna	Lágrima, sangre, tejido ocular/fluidos	Predosis			
2 <sup>c</sup>	<b>12</b> 우	35 μL/ojo, una vez, ocular (bilateral)	Lágrima, sangre, tejido ocular /fluidos (grupo SD)	0.5, 1, 2, 4, 8 y 24 horas después de la administración de la dosis (2 animales/punto de tiempo)			
3	<b>2</b> ♀	35 μL/ojo, una vez, ocular (unilateral)	Lágrima, sangre, tejido ocular/fluidos	1 h después de la administración de la dosis			

 $<sup>^{</sup>a}$  La formulación de la dosis tópica contenía 0.2% de voclosporina. La dosis diana fue de  $\sim$  3  $\mu$ Ci/35  $\mu$ L y 70 ng de voclosporina.

b Se usa como concentración previa a la dosis para el Grupo de tratamiento 2 (grupo SD).

c Se usa para la evaluación farmacocinética (grupo SD).

d Se usa como concentración previa a la dosis para el Grupo de Tratamiento 5 (grupo RD).

e Se usa para la evaluación farmacocinética (grupo MD).

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> Se usa como concentración previa a la dosis para el Grupo de tratamiento 2 (grupo SD).

<sup>&</sup>lt;sup>c</sup> Se usa para la evaluación farmacocinética (grupo SD).

En cada punto de muestreo, se usó una prueba t para comparar las concentraciones de tejido dentro o entre las dos cepas de conejos. SigmaStat® 3.5 (Systat, Inc., San Jose, CA) se usó para los análisis estadísticos (p <0.05). Se

realizó un análisis no compartimental de la concentración media de  $^{14}$ C-voclosporina en el tejido, datos de tiempo. El análisis farmacocinético se realizó con WinNonlin 5.2 (Pharsight, Corporation, Mountain View, CA).  $C_{max}$  y  $T_{max}$ , y donde se reportaron AUC y  $t_{1/2}$  calculables.

#### Parámetros farmacocinéticos:

- 5 Los parámetros farmacocinéticos seleccionados (C<sub>max</sub>, AUC, T<sub>max</sub> y t<sub>1/2</sub>) para la radioactividad derivada de <sup>14</sup>C-voclosporina se resumen en las tablas 40 y 41 para conejos NZW y DB, respectivamente. Después de una dosis única, hubo una penetración rápida del fármaco (medida como radioactividad) en los tejidos oculares con las concentraciones más altas (> 1 mg eq/g de tejido) en los párpados, la conjuntiva, la córnea, la membrana nictitante y las lágrimas, y las concentraciones más bajas (1-11 ng eq/g de tejido) en el humor acuoso y vítreo, y el cristalino. Los tejidos oculares restantes alcanzaron diversos niveles (20-223 ng eq/g de tejido) de voclosporina y/o residuo relacionado. La figura 2 muestra los niveles tisulares de <sup>14</sup>C-voclosporina después de una sola dosis tópica (1 día) de la formulación micelar mixta de <sup>14</sup>C-voclosporina al 0.2% en conejos blancos hembra de Nueva Zelanda. Se observaron niveles terapéuticos de voclosporina en la marca de 24 horas, es posible la administración de dosis una vez al día (QD) con la composición de micelas mixtas acuosa de las realizaciones descritas actualmente.
- Después de la dosificación repetida de hasta 7 días, basada en la información limitada disponible generada en este estudio (conjuntiva bulbar inferior, membrana nictitante y conjuntiva bulbar superior), no hubo un cambio aparente en la <sup>14</sup>C-voclosporina t<sub>1/2</sub> (véase la tabla 40). Todas menos una muestra de sangre estaba por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) (3.06 ng eq/mL) en el ensayo de radiactividad. Notablemente, la administración de dosis única dio como resultado niveles terapéuticos (más de 10 ng de fármaco equivalente/gramo de tejido) en todos los tejidos oculares (con la excepción del humor acuoso/vítreo y el cristalino), con una exposición sistémica insignificante.

Tabla 40. Parámetros farmacocinéticos de radioactividad derivada de <sup>14</sup>C-voclosporina después de una administración ocular bilateral única o repetida (QD durante 7 días) de <sup>14</sup>C-voclosporina en una formulación micelar mixta a conejos NZW hembras.

Tejido(s) ocular(es)/Fluid	C <sub>max</sub> (ng eq./g)			AUC (h *	AUC (h * ng eq./g)			T <sub>max</sub> (h)		t <sub>1/2</sub> (h)	
os y sangre	SD	RD	Proporci ón	SD	RD	Proporci ón	SD	R D	S D	R D	
Humor acuoso	6	13	2.3	45	96	2.1	0.5	0. 5	-	14	
Coroides/Retin a	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	
Cristalino	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	2081 4	4163 5	2.0	20763 0	35879 1	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	2024 6	3090 4	1.5	16825 9	23087 8	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	1750 0	1.8	11465 1	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	N C	N C	N C

SD = dosis única; RD = dosis repetida; Proporción = Dosis repetida/Dosis única; - = concentraciones insuficientes de tejido para determinar  $t_{1/2}$ ; BQL = Límite inferior cuantificable (<0.1 ng/mL); NC = No calculado

Tabla 41. Parámetros farmacocinéticos de radioactividad derivada de <sup>14</sup>C-voclosporina después de una sola administración ocular bilateral de 14C-voclosporina en una formulación micelar mixta según la presente divulgación en conejos hembra DB.

Tejido(s) ocular(es)/Fluidos y sangre	C <sub>max</sub> (ng eq./g)	T <sub>max</sub> (h)	t <sub>1/2</sub> (h)	AUC (h * 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
Cristalino	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

Tabla 42. C<sub>max</sub> comparativa de radiactividad derivada de <sup>14</sup>C-voclosporina en conejos NZW y DB después de administración ocular tópica individual de <sup>14</sup>C-voclosporina.

Tejido(s) ocular(es)/Fluidos y sangre	Blanco de Nueva Zelanda (Estudio No. S08861)	Dutch Belted (Estudio No. S08862)		
	C <sub>max</sub> (ng eq./g)	C <sub>max</sub> (ng eq./g)		
Humor acuoso	6	11		
Coroides/Retina	48	49		
Córnea	1203	1519		
Iris/cuerpo ciliar	20	30		
Glándula lagrimal	31	75		
Cristalino	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		

Tabla 43. Distribución de tejidos/fluidos oculares (C<sub>max</sub>) de <sup>14</sup>C-voclosporina en conejos NZW.

	<sup>14</sup> C-voclosporina (0.2%, solución acuosa de <sup>14</sup> C-voclosporina)			
Tejido(s) ocular(es)/Fluidos y sangre	Dosis única	Una vez al día (QD) 7 días		
	C <sub>max</sub> (ng eq./g)a	C <sub>max</sub> (ng eq./g) <sup>a</sup>		
Humor acuoso	6	13		
Coroides/Retina	48	76		
Córnea	1203	3382		
Iris/cuerpo ciliar	20	119		
Glándula lagrimal	31	120		
Cristalino	4	26		

Conjuntiva inferior	1810	2929
Párpado inferior	20814	41635
Membrana nictitante	1716	2468
Nervio óptico	83	164
Esclerótica	223	367
Ganglio linfático submandibular	74	120
Lágrima	20246	30904
Conjuntiva superior	2235	3170
Párpado superior	9896	17500
Humor Vítreo	2	2
Sangre	BQL	BQL
1		

Las figuras 3A-D muestran concentraciones medias de tejido ocular de <sup>14</sup>C-voclosporina después de una dosis tópica única (1 día) o repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de la formulación micelar mixta de <sup>14</sup>C-voclosporina al 0.2% en conejos blancos hembra de Nueva Zelanda (la figura 3A, córnea, la figura 3B, iris/cuerpo ciliar, la figura 3C, glándula lagrimal y las figura 3D, cristalino).

Las figuras 4A-D muestran concentraciones medias de tejido ocular de <sup>14</sup>C-voclosporina después de una dosis tópica única (1 día) o repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de la formulación micelar mixta de <sup>14</sup>C-voclosporina al 0.2% en conejos blancos hembra de Nueva Zelanda (la figura 4A, la conjuntiva inferior, la figura 4B, el párpado inferior, la figura 4C, la membrana nictitante y la figura 4D, la esclerótica).

- Las figuras 5A-D muestran concentraciones medias de líquido y tejido ocular de <sup>14</sup>C-voclosporina después de una dosis tópica única (1 día) o repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de la formulación micelar mixta de <sup>14</sup>C-voclosporina al 0.2% en conejos hembra blanco de Nueva Zelanda (figura 5A, conjuntiva superior, figura 5B, párpado superior, figura 5C, humor acuoso y figura 5D, humor vítreo).
- Las figuras 6A-D muestran concentraciones medias de líquido y tejido ocular de 14C-voclosporina después de una dosis tópica única (1 día) o repetida (7 días), bilateral, una vez al día, de la formulación micelar mixta de 14C-voclosporina al 0.2% en conejos hembra blanco de Nueva Zelanda (la figura 6A, lágrimas, la figura 6B, ganglio linfático, la figura 6C, nervio óptico, y la figura 6D, coroides/retina).
  - La figura 7 es un gráfico que muestra los valores de C<sub>max</sub> de <sup>14</sup>C-voclosporina después de una dosis tópica bilateral repetida (7 días) de la formulación tópica micelar mixta de <sup>14</sup>C-voclosporina al 0.2% para conejos blancos hembra de Nueva Zelanda.

Acumulación potencial de radioactividad derivada de <sup>14</sup>C-voclosporina

La exposición ocular a la exposición ocular a  $^{14}$ C-voclosporina se incrementó de 2.8 a 6.7 veces en córnea, glándula lagrimal, iris/cuerpo ciliar y cristalino después de 7 días de administración ocular bilateral una vez al día de  $^{14}$ C-voclosporina (35  $\mu$ L, 70 ng) (véase la tabla 40). Después de la dosificación múltiple (véanse las tablas 40-43 y las figuras 3-7), aunque la proporción  $C_{max}$ -dosis repetida: $C_{max}$ -dosis única estaba elevada en los tejidos seleccionados, los niveles globales de voclosporina estaban muy por debajo de los niveles de tejido superficial indicando un mínimo acumulación de tejido. También, una  $t_{1/2}$  comparable después de la dosificación única o repetida sugirió una acumulación mínima de tejido.

Posibilidad de unión a melanina:

5

20

25

Después de una dosis única de 14C-voclosporina para DB conejos, las concentraciones de tejido ocular (por ejemplo, C<sub>max</sub>) no fueron significativamente diferentes de los conejos NZW, lo que sugiere una falta de unión a la melanina (véase la tabla 42).

Se pueden conseguir altos niveles de fármaco con una aplicación tópica (dosis única) de las composiciones de la presente divulgación. Más particularmente, se mantuvieron altos niveles de fármaco en los tejidos oculares hasta, y

## ES 2 667 945 T3

más allá de, 24 horas después de la administración, lo que sugiere que la dosificación QD (una vez al día) se puede lograr usando las composiciones de la presente divulgación. La concentración del fármaco es alta en los tejidos del frente del ojo (córnea, conjuntiva, esclerótica) y en la parte posterior del ojo (retina, nervio óptico) pero mínima en el medio del ojo (humor acuoso y vítreo), lo que sugiere transporte del fármaco por un mecanismo que no sea el transporte pasivo a través del ojo. Los altos niveles de fármaco alcanzados en la parte posterior del ojo hacen factible la administración tópica de las composiciones de la presente divulgación para el tratamiento de enfermedades de la parte posterior del ojo (por ejemplo, enfermedades retinianas que implican nervio óptico tal como glaucoma). Se pueden usar diversos fármacos insolubles en agua con las composiciones de la presente divulgación, que incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de calcineurina y mTOR. Se han mostrado niveles muy altos, especialmente en tejidos diana tales como glándula lagrimal, con las composiciones de la presente divulgación.

5

10

15

20

Se midieron las concentraciones de radioactividad derivada de <sup>14</sup>C-voclosporina (ng eq/g de tejido) que excedieron los niveles terapéuticos (≥ 10 ng eq/g de tejido) en todos los tejidos oculares, excepto en el cristalino y los fluidos oculares (humor acuoso, humor vítreo). Después de aplicaciones oculares únicas y repetidas. Los niveles sanguíneos estaban en el límite inferior de cuantificación (LLOQ) lo que sugiere una exposición sistémica mínima, y hubo una distribución mínima de <sup>14</sup>C-voclosoporina en el ojo contralateral no tratado, probablemente debido al comportamiento de aseo de los animales.

La exposición ocular a <sup>14</sup>C-voclosporina en la formulación micelar mixta de la presente divulgación, como se demuestra por C<sub>max</sub> y AUC, varió ampliamente entre los tejidos oculares. La exposición a <sup>14</sup>C-voclosporina fue más alta en los anexos oculares y los tejidos externos (córnea, esclerótica, conjuntiva bulbar inferior, párpado inferior, membrana nictitante, conjuntiva bulbar superior y párpado superior) y lágrimas, y más baja en los tejidos y fluidos oculares interiores (humor vítreo cristalino, humor acuoso); y en el intervalo medio en el iris/cuerpo ciliar, glándula lagrimal, ganglios linfáticos submandibulares, coroides/retina y nervio óptico. De este modo, la mayoría de los niveles de tejido ocular exceden el nivel de 10 ng eq/g necesario para el efecto biológico.

Después de una vez al día, las aplicaciones oculares diarias de <sup>14</sup>C-voclosporina en una formulación micelar mixta durante 7 días, las concentraciones de <sup>14</sup>C-voclosporina en tejidos diana (por ejemplo, conjuntiva, córnea y glándula lagrimal) permanecieron en niveles terapéuticos incluso en la marca de 24 horas, soportando dosis de una vez al día (QD) es posible con una composición de micelas mixtas acuosa de las realizaciones descritas actualmente.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende:

un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR;

vitamina E TPGS; y

5 octoxinol-40,

15

en la que el inhibidor de calcineurina incluye uno de voclosporina, ciclosporina A, pimecrolimus, tacrolimus, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o combinaciones de los mismos;

en la que el inhibidor de mTOR incluye uno de sirolimus, temsirolimus, everolimus, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o combinaciones de los mismos;

- 10 en la que la composición forma micelas mixtas y es apropiada para la aplicación tópica al tejido ocular.
  - 2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica es una solución acuosa de micelas mixtas
  - 3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el inhibidor de calcineurina es voclosporina.
  - 4. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el inhibidor de calcineurina o el inhibidor de mTOR está presente desde 0.01 por ciento en peso a 10 por ciento en peso de un volumen total de la composición.
  - 5. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la vitamina E TPGS está presente desde 0.01% en peso al 20% en peso de un volumen total de la composición.
  - 6. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el octoxinol-40 está presente desde 0.001% en peso al 10% en peso de un volumen total de la composición.
- 7. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 que comprende además uno o más polímeros bioadhesivos seleccionados del grupo que consiste en polivinilpirrolidona (PVP)-K-30, PVP-K-90, hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), hidroxipropil celulosa (HEC) y policarbofilo, preferiblemente que comprende además uno o más aditivos seleccionados del grupo que consiste en trehalosa, manosa, D-galactosa y lactosa.
  - 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de una enfermedad ocular.
- 9. La composición de la reivindicación 1 para el uso de la reivindicación 8 donde la enfermedad ocular es una enfermedad inflamatoria de la superficie ocular seleccionada del grupo en la que síndrome de ojo seco (DES), síndrome de Sjogren, uveítis, conjuntivitis (ojo rosado), queratitis, queratoconjuntivitis, queratoconjuntivitis vernal (VKC), queratoconjuntivitis atópica (AKC), trastornos autoinmunes de la superficie ocular, que incluyen conjuntivitis cicatrizante, blefaritis y escleritis.
- 30 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de queratoconjuntivitis seca.
  - 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de una afección o trastorno de la parte posterior del ojo.
- 12. La composición de la reivindicación 1 para el uso de la reivindicación 11, en la que la afección o trastorno de la parte posterior del ojo se selecciona del grupo que consiste en retinopatía diabética ("DR"), degeneración macular relacionada con la edad ("AMD"), edema macular diabético ("DME"), uveítis posterior y combinaciones de los mismos.
  - 13. Una composición de lágrima artificial que comprende una solución acuosa de micelas mixtas según la reivindicación 1.
  - 14. Un procedimiento de preparación de una composición de micelas mixtas según la reivindicación 1 que comprende:
- la mezcla de un inhibidor de calcineurina o un inhibidor de mTOR con vitamina E TPGS y octoxinol-40 en un solvente para formar una solución de solvente;

la evaporación de la solución del solvente para formar un material casi sólido;

la hidratación del material casi sólido con una solución acuosa; y

la disolución de la mezcla casi sólida para producir la composición de micelas mixtas,

en el que el inhibidor de calcineurina incluye uno de voclosporina, ciclosporina A, pimecrolimus, tacrolimus, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o combinaciones de los mismos;

## ES 2 667 945 T3

en el que el inhibidor de mTOR incluye uno de sirolimus, temsirolimus, everolimus, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o combinaciones de los mismos;

en la que la composición de micelas mixtas es ópticamente transparente.

15. El procedimiento de la reivindicación 14 en el que el inhibidor de calcineurina es voclosporina.

5

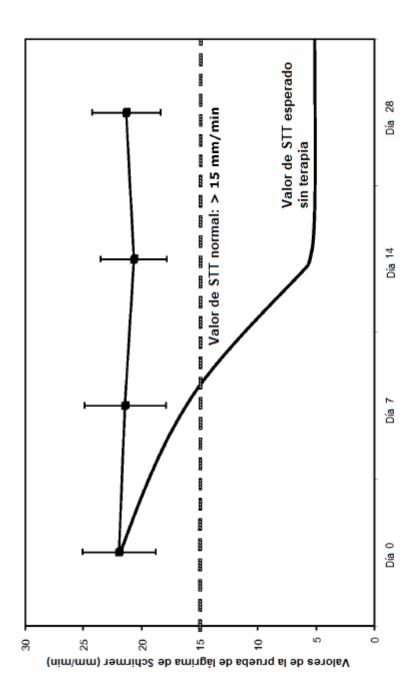
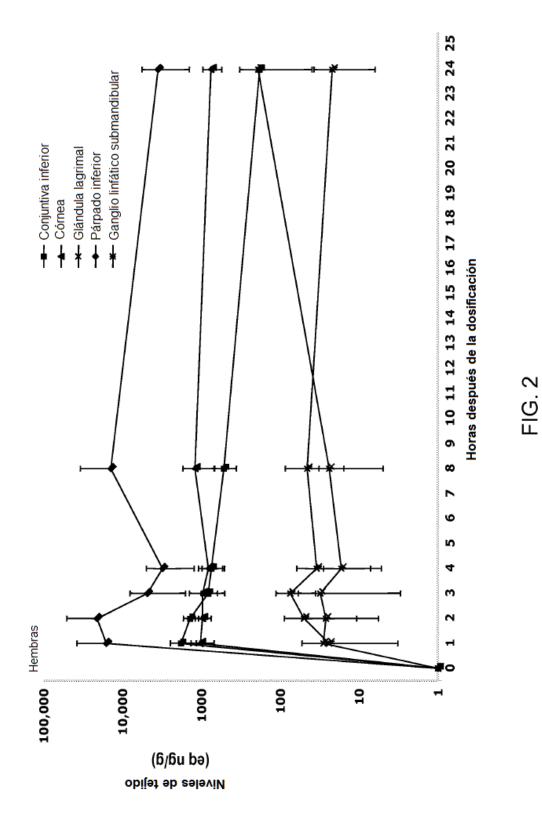


FIG. 1



44

