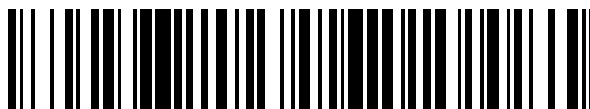


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 675 269**

51 Int. Cl.:

A61K 9/10 (2006.01)
A61K 38/13 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01)
C07K 1/30 (2006.01)
C07K 7/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.11.2012** **PCT/US2012/064998**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.05.2013** **WO13074616**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2012** **E 12788093 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.04.2018** **EP 2779993**

54 Título: **Suspensiones tratables en autoclave de ciclosporina A de forma 2**

30 Prioridad:

15.11.2011 US 201161559849 P

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

10.07.2018

73 Titular/es:

ALLERGAN, INC. (100.0%)
2525 Dupont Drive
Irvine, CA 92612, US

72 Inventor/es:

BLANDA, WENDY, M.;
RIVERS, HONGWEN MA;
MARSH, DAVID, A. y
LUU, MICHELLE

74 Agente/Representante:

MARTÍN BADAJOZ, Irene

ES 2 675 269 T3

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

DESCRIPCIÓN

Suspensiones tratables en autoclave de ciclosporina A de forma 2

5 Antecedentes

El procesamiento aséptico de suspensiones de ciclosporina A en un medio de ácido hialurónico (un hidrogel utilizado como agente de suspensión), se complica por el hecho de que tanto el medicamento como el ácido hialurónico necesitan ser preesterilizados. El ácido hialurónico preesterilizado es extremadamente caro, con un precio de aproximadamente 1 millón de dólares por unos kilogramos (aproximadamente 10.000 dólares por onza) de materia prima estéril. Además, en el proceso de preesterilización de la ciclosporina A, el medicamento se degrada tras la irradiación, como se muestra a continuación y en las figuras 1 y 2:

Tabla 1. Impacto de irradiación en la estabilidad de la ciclosporina

Modo de esterilización	CsA Forma 1 (Potencia e Imp.)	CsA Forma 2 (Potencia e Imp.)	CsA Forma 3 (Potencia e Imp.)	Amorf. CsA (Potencia e Imp.)
Ninguno	98,4 % p/p Total Imp: 0,6 %	94,6 % p/p Total Imp: 0,6 %	97,7 % p/p Total Imp: 0,8 %	96,5 % p/p Total Imp: 0,7 %
15 kGy Gamma	93,9 % p/p % Rel. Cambio: 4,5 % Total Imp: 1,7 %	91,8 % p/p % Rel. Cambio: 2,9 % Total Imp: 1,8 %	94,3 % p/p % Rel. Cambio: 3,6 % Total de Imp 1,3 %	92,1 % p/p % Rel. Cambio: 4,6 % Total Imp: 1,4 %
33 kGy Gamma	90,7 % p/p % Rel. Cambio: 7,8 % Total Imp: 2,8 %	88,5 % p/p % Rel. Cambio: 6,4 % Total Imp: 2,4 %	91,0 % p/p % Rel. Cambio: 6,9 % Total Imp: 2,3 %	87,7 % p/p % Rel. Cambio: 9,2 % Total Imp: 2,3 %
Haz de electrones	92,6 % p/p % Rel. Cambio: 5,9 % Total Imp: 1,5 %	90,3 % p/p % Rel. Cambio: 4,6 % Total Imp: 1,7 %	93,4 % p/p % Rel. Cambio: 4,5 % Total Imp: 1,6 %	92,0 % p/p % Rel. Cambio: 4,7 % Total Imp: 1,3 %

El enfriamiento de la ciclosporina durante la irradiación no mejora significativamente los resultados, como se muestra a continuación en la tabla 2:

Tabla 2. Impacto en la estabilidad de la ciclosporina después de la irradiación en condiciones frías

Modo de esterilización	CsA Forma 1 (Potencia e Imp.)	CsA Forma 2 (Potencia e Imp.)	CsA Forma 3 (Potencia e Imp.)	Amorf. CsA (Permeabilidad e Imp.)
Ninguno	99,4 % p/p Total Imp: 0,7 %	97,6 % p/p Total Imp: 0,5 %	98,4 % p/p Total Imp: 0,7 %	96,5 % p/p Total Imp: 0,7 %
Haz de electrones frío	94,6 % p/p % Rel. Cambio: 4,8 % Total Imp: 1,5 %	91,1 % p/p % Rel. Cambio: 6,7 % Total Imp: 1,5 %	94,6 % p/p % Rel. Cambio: 3,9 % Total Imp: 1,8 %	92,3 % p/p % Rel. Cambio: 4,4 % Total Imp: 1,3 %
Haz de electrones normal (del estudio anterior) % de cambio relativo en la potencia con la esterilización	% Rel. Cambio: 5,9 % Total Imp: 1,5 %	% Rel. Cambio: 4,6 % Total Imp: 1,7 %	% Rel. Cambio: 4,5 % Total Imp: 1,6 %	% Rel. Cambio: 4,7 % Total Imp: 1,3 %

Los niveles adicionales de degradantes deben calificarse en estudios de seguridad preclínicos. Además, es bastante probable que una suspensión, preparada con solo 90-95 % de la ciclosporina A etiquetada (debido al proceso de esterilización), no cumpla las normas reglamentarias en cuanto a período de validez, ya que las autoridades normativas generalmente prohíben períodos de validez inferiores al 90 % de lo etiquetado.

Son documentos relevantes del estado de la técnica WO 2005/072701 A1, WO 2012/166610 A1, WO 95/31211 A1, US 5 981 607 A y US 2005/059583 A1.

La presente invención resuelve estos problemas. En la presente descripción se describen formulaciones de ciclosporina A, combinadas con un agente de suspensión parenteralmente biocompatible, que son estériles, excepcionalmente estables frente a la esterilización por calor y que tienen excelente estabilidad a largo plazo.

35 Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1 y 2 muestran cambios en la potencia de ciclosporina A con cambio en la forma cristalina y el método de esterilización.

La figura 3 muestra datos de patrón de difracción de polvo de rayos x de ciclosporina A de forma 2 después del tratamiento en autoclave.

La figura 4 muestra la congestión observada en el examen de lámpara de hendidura con ocho formulaciones diferentes.

La figura 5 representa patrones característicos de difracción de polvo de rayos x (XRPD) de CsA en una nueva forma cristalina (designada Forma 2 en la presente memoria), forma tetragonal (designada Forma 1 en la presente memoria), y forma ortorrómbica (designada Forma 3 en la presente memoria).

5 La figura 6 representa el difractograma de XRPD de la forma 2 cristalina de CsA.

La figura 7 representa el perfil de sorción/desorción de la forma 2 de CsA.

La figura 8 representa el análisis de MDSC de la forma 2 de CsA recuperada de la formulación al 0,04 % con PS80 al 1 %.

10 La figura 9 muestra la congestión ocular bruta después de administrar una inyección de 100 μ L de CMC, HEC, HPMC, Pluronic y PVP en solución salina tamponada con fosfato por vía subconjuntival a conejos blancos de Nueva Zelanda. Los conejos se observaron durante siete días.

15 La figura 10 muestra la descarga ocular bruta en el experimento descrito en la figura 9.

La figura 11 muestra la hinchazón ocular bruta en el experimento descrito en la figura 9.

La figura 12 muestra el patrón XRPD simulado de formas A de ciclosporina.

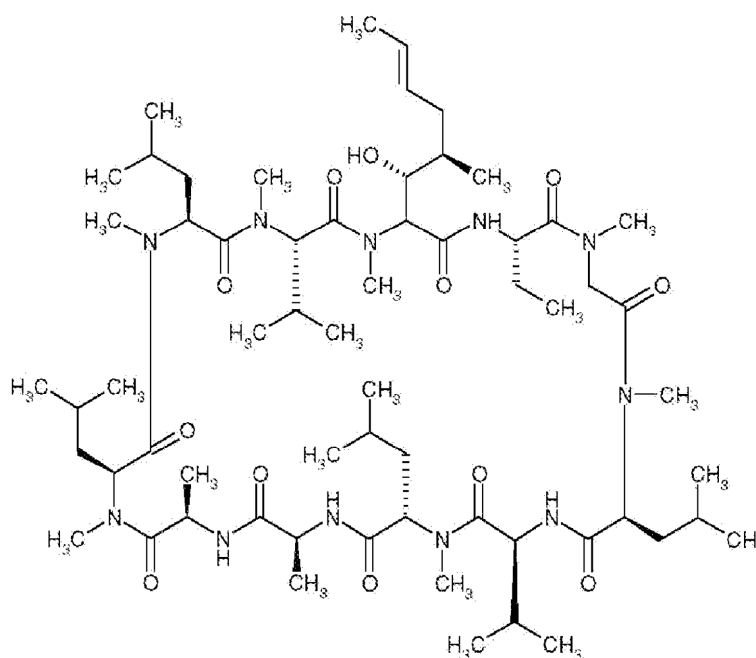
20 Descripción detallada

Se proporciona (1) una formulación que comprende ciclosporina A de forma 2 según la reivindicación 1, (2) métodos de elaboración de una formulación que comprende ciclosporina A de forma 2 según las reivindicaciones 3 y 4, respectivamente, y (3) una formulación que comprende ciclosporina A de forma 2 para usar según la reivindicación 5.

Ciclosporina A

La ciclosporina A (CSA) es un péptido cíclico que tiene la siguiente estructura química:

30

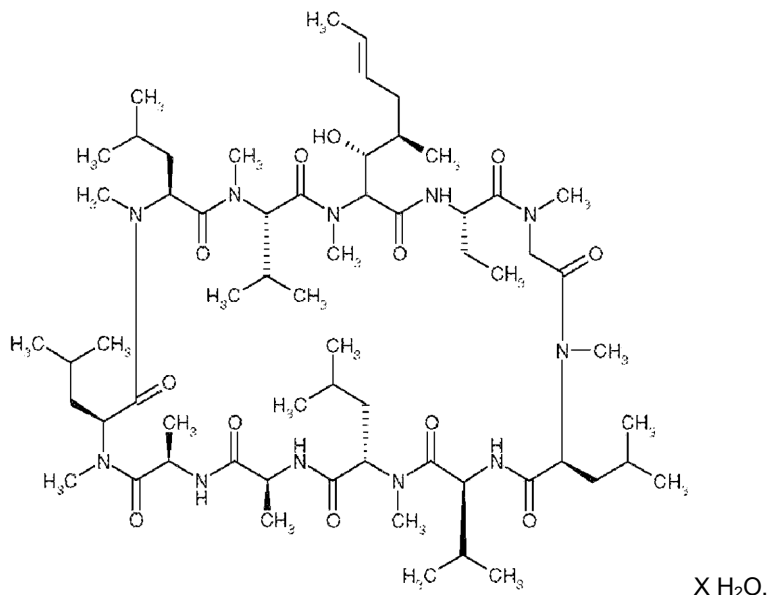


35 Su nombre químico es ciclo[(E)-(2S,3R,4R)-3-hidroxi-4-metil-2-(metilamino)-6-octenoil]-L-2-aminobutiril-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-valil-N-metil-L-leucil-L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-valilo]. También se conoce por los nombres de ciclosporina, ciclosporina A, ciclosporina, y ciclosporina A. Es el ingrediente activo en Restasis® (Allergan, Inc., Irvine, California), una emulsión que comprende 0,05 % (p/v) de ciclosporina. Restasis® está aprobado en los Estados Unidos para aumentar la producción lacrimal en pacientes cuya producción lacrimal está supuestamente reducida debido a la inflamación ocular asociada con la queratoconjuntivitis seca.

40 Ciclosporina A de forma 2

Se sabe que la ciclosporina A está en una forma amorfa, forma cristalina líquida, forma cristalina tetragonal (forma 1) y una forma ortorrómbica (forma 3). Recientemente se ha descubierto una nueva forma cristalina, ciclosporina A de forma 2.

El patrón de XRPD de la forma 2 de CsA difiere significativamente de la forma tetragonal y la forma ortorrómbica (Fig. 1). Los picos cristalinos principales para la forma 2 de CsA aparecen a (2θ) cuando se someten a barrido con un difractómetro de rayos X con una fuente de rayos X como radiación de Cu K α , $\lambda = 0,15$ nm (1,54 Å), a 30 kV /15 mA: 0,75, 0,88, 1,02, 1,13, 1,27, 1,38, 1,45, 1,56 y 1,75 (7,5, 8,8, 10,2, 11,3, 12,7, 13,8, 14,5, 15,6 y 17,5) (separación d en red cristalina a aproximadamente 1,18, 1, 0,87, 0,78, 0,7, 0,64, 0,61, 0,56 y 0,51 nm (a aproximadamente 11,8, 10,0, 8,7, 7,8, 7,0, 6,4, 6,1, 5,6 y 5,1 Å), respectivamente, Fig. 2). Estos picos principales se definen como los únicos para la forma 2 con respecto a las formas ortorrómbica o tetragonal; así como los picos que tienen una intensidad superior a 5 veces el fondo.



en donde X es el número de moléculas de agua y varía de 0 a 3. En una realización, X en la fórmula anterior es 2.

La forma 2 parece ser una forma cinéticamente estable de CsA en suspensiones acuosas. Las suspensiones que contienen la forma 2 no muestran conversión a otras formas polimórficas o pseudomórficas conocidas durante el almacenamiento. Se ha descubierto que la forma 1 y la forma amorfa se convierten en la forma 2 en presencia de agua.

Se ha determinado la estructura cristalina sencilla de la forma hidratada de la forma 2 de CsA y los parámetros de la estructura cristalina se indican en la tabla 2. Estos resultados indican que la forma 2 es única comparada con otras formas cristalinas conocidas de ciclosporina A.

Tabla 1: Datos del cristal y parámetros de recogida de datos de la solución de estructura cristalina de la forma 2 de CsA.

fórmula	C ₆₂ H ₁₁₅ N ₁₁ O ₁₄
peso fórmula	1.238,67
grupo espacial	P 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ (N.º 19)
a (nm (Å))	0,01264 (12,6390(5))
b (nm (Å))	0,01876 (19,7582(8))
c (nm (Å))	0,0296 (29,568(2))
volumen (nm (Å))	7,3838 (7383,8(7))
Z	4
d _{calc} (kg/m ³ (g cm ⁻³))	1114 (1,114)
dimensiones del cristal (mm)	0,27 x 0,18 x 0,12
temperatura (K)	150
radiación (longitud de onda en nm (Å))	Cu K α (0,154184 (1,54184))
monocromador	óptica confocal
coef abs lineal (mm ⁻¹)	0,640
corrección absorción aplicada	empírica ^s
factores de transmisión (mín., máx.)	0,80 0,93
difractómetro	Rigaku RAPID-II
intervalo h, k, l	- 13 a 13 - 21 a 21 - 32 a 21

intervalo 2θ (grados)	5,38-115,00
mosaicidad (grados)	1,31
programas usados	SHELXTL
F_{000}	2704,0
densificante	$1/[\sigma^2(F_o^2)+(0,0845P)^2+0,0000P]$ donde $P=(F_o^2+2F_c^2)/3$
datos recogidos	37360
datos únicos	9964
R_{int}	0,077
datos utilizados en el afino	9964
umbral utilizado en los cálculos del factor R	$F_o^2 > 2,0 \sigma(F_o^2)$
datos con $I > 2,0 \sigma(I)$	6597
número de variables	834
desplazamiento/esd mayor en el ciclo final	0,00
$R(F_o)$	0,061
$R_w(F_o^2)$	0,145
bondad del ajuste	1,037
determinación de la estructura absoluta	Parámetro de Flack ^b (0,0 (3))

La unidad asimétrica de esta forma 2 de CsA contiene una molécula de ciclosporina A y dos moléculas de agua. Es posible que cualquier molécula pequeña que pueda unirse al agua mediante puentes de hidrógeno pueda desempeñar el papel de la carga espacial, lo que proporcionaría un rango de posibles estructuras que van desde el dihidrato ortorrómbico al dihidrato monoclinico distorsionado. El patrón de XRPD calculado a partir de la estructura monocristalina se muestra en la figura 12 y coincide con el patrón experimental mostrado en la figura 2. Estos patrones coincidentes además confirman que la forma 2 es una forma cristalina única y pura de ciclosporina A.

Sin pretender imponer ninguna teoría, el análisis termogravimétrico combinado con valoración volumétrica KF y análisis de sorción desorción de vapor (VSA) sugieren que la forma 2 de CsA es un hidrato no estequiométrico de CsA. El análisis de sorción de vapor de ciclosporina forma 2 indica que el contenido de agua en la nueva forma cristalina varía reversiblemente con la humedad relativa como se muestra en la Fig. 7. De manera similar a la forma tetragonal, la nueva forma de CsA experimenta una transición de fase a una forma de cristal líquido o forma amorfa a 124,4 °C antes de la fusión, como indica el análisis calorimétrico diferencial modulado (MDSC) (figura 8).

La ciclosporina A de forma 2 pueden obtenerse suspendiendo ciclosporina A amorfa al 0,05 % (p/v) en 1 % de Polisorbato 80, calentando la solución a 65 °C, manteniéndola a esa temperatura durante 24 horas y, a continuación, recuperando el precipitado mediante filtración al vacío. A continuación, se puede usar la ciclosporina A de forma 2 así obtenida para generar cantidades adicionales, utilizando la ciclosporina A de forma 2 como núcleo cristalino; en este método, se suspende aproximadamente 30 g de ciclosporina A en una solución de 900 ml de agua que contiene 1 % (p/v) de Polisorbato 80, se calienta la solución a 65 °C y, a continuación, se siembra con 0,2 g de ciclosporina A de forma 2 a una temperatura de 52 °C. La solución se agita a continuación durante aproximadamente 22 horas a una temperatura de entre aproximadamente 61 °C y 65 °C, y después se recupera el precipitado obtenido.

Otros detalles relativos a la forma 2 de CsA se pueden encontrar en el documento de solicitud de patente estadounidense n.º 13/480.710.

Suspensiones estables al calor, esterilizadas por calor de ciclosporina A de forma 2

Las composiciones de la invención son suspensiones oftálmicamente aceptables de ciclosporina A de forma 2. Por "oftálmicamente aceptables", los inventores quieren decir que las suspensiones se formulan de tal manera que no sean irritantes cuando se administran al ojo de un mamífero, tal como un ser humano.

Las suspensiones de la invención comprenden ciclosporina A de forma 2 y un vehículo que comprende un agente de suspensión tal como ácido hialurónico, una celulosa, polivinilpirrolidona (PVP), copolímeros Pluronic® basados en óxido de etileno y óxido de propileno, y polímeros de Carbopol®.

En una realización, la suspensión comprende ciclosporina A de forma 2 a una concentración de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 10 % (p/v). En una realización, la suspensión comprende ciclosporina A de forma 2 a una concentración de aproximadamente 0,001 % (p/v) a aproximadamente 0,01 %, de aproximadamente 0,001 % (p/v) a aproximadamente 0,04 % (p/v), de aproximadamente 0,001 % (p/v) a aproximadamente 0,03 % (p/v), de aproximadamente 0,001 % (p/v) a aproximadamente 0,02 % (p/v), o de aproximadamente 0,001 % (p/v) a aproximadamente 0,01 % (p/v). En otra realización, la suspensión comprende ciclosporina A de forma 2 a una concentración de aproximadamente 0,01 % (p/v) a aproximadamente 0,05 %, de aproximadamente 0,01 % (p/v) a aproximadamente 0,04 % (p/v), de aproximadamente 0,01 % (p/v) a aproximadamente 0,03 % (p/v), de aproximadamente

0,01 % (p/v) a aproximadamente 0,02 % (p/v), o de aproximadamente 0,01 % (p/v) a aproximadamente 0,01 % (p/v). En otra realización, la suspensión comprende ciclosporina A de forma 2 a una concentración de aproximadamente 0,01 % (p/v) a aproximadamente 0,1 %, de aproximadamente 0,1 % (p/v) a aproximadamente 0,5 % (p/v), de aproximadamente 0,01 % (p/v) a aproximadamente 1 % (p/v), o de aproximadamente 1 % (p/v) a aproximadamente 10 % (p/v).

Por ejemplo, las suspensiones pueden comprender aproximadamente 0,001 % (p/v), aproximadamente 0,002 % (p/v), aproximadamente 0,003 % (p/v), aproximadamente 0,004 % (p/v), aproximadamente 0,005 % (p/v), aproximadamente 0,006 % (p/v), aproximadamente 0,007 % (p/v), aproximadamente 0,008 % (p/v), aproximadamente 0,009 % (p/v), aproximadamente 0,01 % (p/v), aproximadamente 0,015 % (p/v), aproximadamente 0,02 % (p/v), aproximadamente 0,025 % (p/v), aproximadamente 0,03 % (p/v), aproximadamente 0,035 % (p/v), aproximadamente 0,04 % (p/v), aproximadamente 0,045 % (p/v), aproximadamente 0,05 % (p/v), aproximadamente 0,055 % (p/v), aproximadamente 0,06 % (p/v), aproximadamente 0,065 % (p/v), aproximadamente 0,07 % (p/v), aproximadamente 0,075 % (p/v), aproximadamente 0,08 % (p/v), aproximadamente 0,085 % (p/v), aproximadamente 0,09 % (p/v), aproximadamente 0,095 % (p/v), aproximadamente 0,1 % (p/v), aproximadamente 0,15 % (p/v), aproximadamente 0,2 % (p/v), aproximadamente 0,25 % (p/v), aproximadamente 0,3 % (p/v), aproximadamente 0,35 % (p/v), aproximadamente 0,4 % (p/v), aproximadamente 0,45 % (p/v), aproximadamente 0,5 % (p/v), aproximadamente 0,55 % (p/v), aproximadamente 0,6 % (p/v), aproximadamente 0,65 % (p/v), aproximadamente 0,7 % (p/v), aproximadamente 0,75 % (p/v), aproximadamente 0,8 % (p/v), aproximadamente 0,85 % (p/v), aproximadamente 0,9 % (p/v), aproximadamente 0,95 % (p/v), o aproximadamente 1,0 % (p/v) de ciclosporina A de forma 2.

Se proporcionan ejemplos a continuación, en la tabla 3:

Tabla 3 - Suspensiones de ciclosporina A de forma 2 tratables en autoclave. CsA=ciclosporina A. CMC=carboximetilcelulosa. HPMC=hidroxipropilmetilcelulosa. HEC=hidroxietilcelulosa. HA=ácido hialurónico. PVP=polivinilpirrolidona. *=suspensión acuosa tratada en autoclave antes de añadir el agente gelificante.

Formulación	CsA (forma cristalina)	CsA (%)	Agente gelificante (tipo)	Agente gelificante (%)	Condiciones de autoclave (Temp (°C)/min)
Formulación	CsA (forma cristalina)	CsA (%)	Agente gelificante (tipo)	Agente gelificante (%)	Condiciones de autoclave (Temp (°C)/min)
1	2	20	CMC	5	121/10
2	3	20	CMC	3	121/10
3	NA	0	Carbopol Ultrez 10	1,5	121/15
4	NA	0	Carbopol Ultrez 10	2,0	121/15
5	NA	0	Carbopol Ultrez 10	2,5	121/15
6	NA	0	Carbopol Ultrez 10	1,0	121/15
7	NA	0	Carbopol Ultrez 10	4,0	121/15
8	2	5	CMC	3	121/15
9	2	5	CMC	2	121/15
10	2	20	CMC	10	121/15
11	2	0	CMC	10	121/15
12	2	5	HPMC	3	121/15
13	2	5	HPMC	6	121/15
14	2	20	HPMC	6	121/15
15	2	20	HPMC	10	121/15
16	2	5	HPMC	6	121/15
17	2	20	HPMC	3	121/15
18	2	5	HPMC	3	121/15
19	2	20	HPMC	3	121/15
20	2	10	HPMC	4,5	121/15
21	2	10	HPMC	4,5	121/15
22	2	10	HEC	3	121/15
23	2	10	HEC	3	121/15
24	2	30	HEC	1	121/15
25	2	10	HA	3,5	121/15*
26	2	10	HA	2,5	121/15
27	2	30	HEC	1	121/15
28	2	30	HA	1	121/15*
29	2	10	HA	2,5	121/15

30	2	10	HA	3,5	121/15
31	2	10	HA	4,5	121/15
32	2	30	HA	3,0	121/15
33	2	20	HA	1,5	121/15
34	2	20	HA	2,5	121/15
35	2	20	HA	3,5	121/15
36	2	10	HA	4	121/15, 121/30, y 123/15
37	2	10	HA	4	121/15, 121/30, y 123/15
38	2	10	HA	4	121/15, 121/30, y 123/15
39	2	35	HA	1	121/15*
40	2	5	HA	3,5	121/15*
41	2	10	HA	3,5	121/15*
42	2	20	HA	2,0	121/15*
43	2	20	HA	2,0	121/15*
44	2	10	HA	3,5	121/15*
45	2	10	HA	3,5	121/15*
46	2	25	n.a.	0	120/15
47	2	25	n.a.	0	118/20
48	2	25	n.a.	0	120/12
HEC1	2	5	HEC	5	121/15
HEC2	2	20	HEC	5	121/15
HEC3	2	5	HEC	2	121/15
HEC4	2	20	HEC	2	121/15
HEC5	2	5	HEC	5	121/15
HEC6	2	20	HEC	5	121/15
HEC7	2	5	HEC	2	121/15
HEC8	2	20	HEC	2	121/15
HEC9	2	10	HEC	3	121/15
PVP1	2	10	PVP	25	121/15
PVP2	2	10	PVP	25	121/15
PVP3	2	10	PVP	15	121/15
PVP4	2	10	PVP	15	121/15
PVP5	2	25	PVP	25	121/15
PVP6	2	25	PVP	25	121/15
PVP7	2	25	PVP	15	121/15
PVP8	2	25	PVP	15	121/15
PVP9	2	10	PVP	25	121/15
PVP10	2	25	PVP	25	121/15

Métodos de preparación

- 5 Las suspensiones de la invención contienen ciclosporina A de forma 2 y un agente de suspensión. En otra realización, la suspensión contiene también uno o más de agua, tampón, y sal, en cantidades suficientes para proporcionar una formulación biocompatible. Por “biocompatible”, los inventores quieren decir que la suspensión es adecuada para su administración en el ojo (por ejemplo, mediante administración parenteral).
- 10 Las formulaciones de la invención se pueden fabricar utilizando una suspensión acuosa esterilizada por calor de ciclosporina de forma 2 mezclada de forma aséptica con un agente de suspensión biocompatible parenteralmente estéril y otro excipiente; o combinando ciclosporina de forma 2 con un agente de suspensión parenteralmente biocompatible y otros excipientes y esterilizando por calor toda la formulación.
- 15 Estos métodos hacen frente a problemas importantes con la formulación de ciclosporina: 1) la ciclosporina sólida no puede preesterilizarse por irradiación sin degradación significativa del medicamento y formación de productos de degradación; 2) la filtración estéril no es factible porque la formulación es una suspensión; y 3) la esterilización terminal mediante calor disminuirá la viscosidad del gel. También, en una realización, la viscosidad final de la formulación de medicamento es suficientemente elevada para mantener la ciclosporina suspendida durante todo el período de validez del producto. En otra realización, la viscosidad es lo suficientemente baja como para permitir que la formulación final
- 20 fluya a través de una jeringa de calibre estrecho, tal como una aguja de 22, 23, 24, 25 o 26 de calibre o más estrecha.

En otra realización, la formulación es lo suficientemente alta como para mantener la ciclosporina suspendida a lo largo de todo el período de validez del producto y también lo suficientemente baja como para permitir que la formulación final fluya a través de una jeringa con una aguja de calibre 22, 23, 24, 25 o 26 o más estrecha.

- 5 En los métodos 1 y 2, indicados a continuación, se utiliza ácido hialurónico como agente de suspensión, pero se puede remplazar por otros agentes de suspensión adecuados.

10 Debe observarse que el ácido hialurónico estéril es muy caro y que el método 2 proporciona un método único de esterilización, que permite el uso de ácido hialurónico no estéril al reducir por calor el polímero hasta el intervalo de peso molecular correcto, de modo que alcance el intervalo de viscosidad deseado. Por lo tanto, el método 2 requiere una fabricación de precisión, donde cada nuevo lote de ácido hialurónico puede desplazarse a un intervalo de viscosidad diferente, en condiciones de fabricación idénticas. Por consiguiente, con el fin de asegurar que se alcanza el intervalo de viscosidad correcto en cada lote comercial, será necesario poder adaptar el ciclo de calor, es decir, ajustarlo según un conjunto de directrices y experimentos del lote de materia prima *antes de* la fabricación del producto farmacológico.

15 Además, debe observarse que en el método 2 se preparan todas las etapas de la formulación en un solo recipiente. Estos dos métodos permiten la rápida producción del producto farmacológico y, por consiguiente, tienen un valor sustancial en el ahorro de un día o más de tiempo de fabricación valioso en comparación con el método 1.

20 Estos métodos dependen del sorprendente descubrimiento por parte de los inventores de que la ciclosporina A de forma 2 puede ser tratada en autoclave y aún conserva su potencia y estabilidad. Otras formas de ciclosporina - amorfa, forma 1 y forma 3 - no pueden ser tratadas en autoclave, sin pérdida inaceptable de sustancia medicamentosa desde la suspensión.

Método 1 - Método de suspensión acuosa

25 La cantidad adecuada de ciclosporina A de forma 2 se suspende y mezcla en solución salina tamponada con fosfato y la suspensión acuosa se esteriliza por calor por autoclave. En un entorno aséptico, se añade la cantidad adecuada de ácido hialurónico preesterilizado a la suspensión estéril de ciclosporina, se mezcla y luego se disuelve. El producto farmacológico se lleva al volumen con agua estéril para inyectar. El producto final tiene una viscosidad en el intervalo correcto para crear una suspensión estable a largo plazo, permitiendo al mismo tiempo que la formulación final fluya a través de una jeringa equipada con una aguja de calibre estrecho, tal como una aguja de calibre 25 o más estrecha.

Método 2 - Método de un solo recipiente

35 Se disuelve un exceso de ácido hialurónico no estéril en solución salina tamponada con fosfato. Se suspende y se mezcla la ciclosporina A de forma 2. La formulación en suspensión resultante se esteriliza por calor en autoclave (utilizando un ciclo de calor "adaptativo"), a la temperatura adecuada y durante la cantidad de tiempo adecuada, tanto para esterilizar la formulación como para llevar la viscosidad al intervalo deseado.

40 Para las formulaciones parenterales, puede ser deseable lograr una viscosidad que sea lo suficientemente alta como para mantener la ciclosporina suspendida a lo largo de todo el período de validez del producto y también lo suficientemente baja como para permitir que la formulación final fluya a través de una jeringa con una aguja de calibre 22, 23, 24, 25 o 26 o más estrecha. Mientras las soluciones de hidrogel son generalmente reconocidas como seguras para uso tópico, muy pocas han sido utilizadas para la administración parenteral, y ninguna ha demostrado poder ser inyectada de forma segura mediante una aguja de calibre 25 (o más estrecha) en tejido subconjuntival a altas concentraciones de hidrogel. Es necesaria una alta concentración de agente de suspensión (hasta 25 %) para mantener la capacidad de suspensión de las formulaciones parenterales de ciclosporina a 5-40 % descritas en la presente memoria. En una realización, las formulaciones parenterales para usar en el tejido subconjuntival son (1) inyectables a través de una aguja de calibre estrecho, tal como un calibre 25 o más estrecho, para minimizar el daño al tejido por parte de la aguja, para permitir una rápida curación del punto de entrada de la aguja y limitar el flujo de retorno de la formulación inyectada; (2) estériles; (3) biocompatibles; y (4) lo suficientemente viscosas como para mantener la capacidad de suspensión a lo largo de todo el período de validez de la formulación y para evitar el reflujo de tejido fuera del espacio subconjuntival. En dichas formulaciones, la viscosidad es lo suficientemente alta como para retener la capacidad de suspensión a largo plazo del medicamento, pero lo suficientemente baja como para permitir que toda la formulación pase fácilmente a través de una aguja de calibre estrecho.

En una realización de la invención, las formulaciones tienen una viscosidad muy alta (p. ej., ≥ 100.000 mPa.s (≥ 100.000 cps)), si bien todavía pueden inyectarse desde una jeringa a través de una aguja de calibre estrecho. La siguiente tabla proporciona ejemplos de dichas formulaciones.

Formulación	CsA 5 %, HA (10203X) 3,5 % Viscosidad: POR DECIDIR		CsA 10 %, HA (10204X) 3,5 % Viscosidad: 1.300.000 cps		CsA 20 %, HA (10205X) 2,0 % Viscosidad: 700.000 cps	
Tamaño y tipo aguja	BD PrecisionGlide	TSK Steriject 27 G x 1,27 cm (0,5 pulg.)	BD PrecisionGlide	TSK Steriject 27 G x 1,27 cm (0,5 pulg.)	BD PrecisionGlide	TSK Steriject 27 G x 1,27 cm (0,5 pulg.)
	Aguja 27 G x 1,27 cm (0,5 pulg.)	Aguja UTW (de pared ultra fina)	Aguja 27 G x 1,27 cm (0,5 pulg.)	Aguja UTW (de pared ultra fina)	Aguja 27 G x 1,27 cm (0,5 pulg.)	Aguja UTW (de pared ultra fina)

Capacidad de inyección	√	√	√	√	√	√
------------------------	---	---	---	---	---	---

Métodos de tratamiento

- Las composiciones de la invención pueden utilizarse para tratar cualquier condición del ojo que se sabe es compatible con el tratamiento tópico con ciclosporina A (tal como con Restasis®) a las concentraciones indicadas en la presente memoria. Por ejemplo, las composiciones de la invención se pueden utilizar para tratar pacientes que sufren de ojo seco, para tratar blefaritis y enfermedad de la glándula de Meibomio, para restaurar la sensibilidad corneal que ha sido alterada debido a cirugía de refracción en el ojo, para tratar conjuntivitis alérgica y atópica y queratoconjuntivitis vernal, y para tratar pterigiones, inflamación conjuntival y corneal, queratoconjuntivitis, enfermedad de injerto contra huésped, glaucoma posttrasplante, trasplantes de córnea, queratitis micótica, queratitis punteada superficial de Thygeson, uveítis, y queratoconjuntivitis límbica superior de Theodore, entre otras condiciones.
- El International Dry Eye Workshop (DEWS) define el ojo seco como “una enfermedad multifactorial de las lágrimas y la superficie ocular que produce síntomas de incomodidad, alteración visual e inestabilidad de la película lagrimal con posibles daños a la superficie ocular, acompañada de una mayor osmolaridad de la película lagrimal e inflamación de la superficie ocular”. Incluye aquellas condiciones, tales como la queratoconjuntivitis seca, que son causadas por deficiencia lacrimal o por evaporación excesiva de las lágrimas.
- La blefaritis es un trastorno crónico que produce inflamación del margen palpebral anterior y posterior, con la participación de la piel y sus estructuras relacionadas (pelos y glándulas sebáceas), la unión mucocutánea, y las glándulas de Meibomio. También puede afectar a la conjuntiva, la película lagrimal y la superficie corneal en etapas avanzadas y puede asociarse con el ojo seco. La blefaritis se clasifica habitualmente en blefaritis anterior o posterior, afectando la anterior a la región palpebral que tiene las pestañas, y la posterior principalmente a los orificios de las glándulas de Meibomio.
- La enfermedad de las glándulas de Meibomio se produce con máxima frecuencia en una de tres formas: meibomitis primaria, meibomitis secundaria y seborrea de Meibomio. La seborrea de Meibomio se caracteriza por un exceso de secreción meibomiana con ausencia de inflamación (enfermedad de hipersecreción de las glándulas de Meibomio). La meibomitis primaria, en cambio, se distingue por las secreciones meibomianas estancadas y espesadas (enfermedad obstructiva de hipersecreción de las glándulas de Meibomio). La meibomitis secundaria representa una respuesta inflamatoria localizada en la que las glándulas de Meibomio presentan inflamación secundaria en forma de manchas a partir de una blefaritis de margen palpebral anterior.
- La disminución en la sensibilidad corneal se produce a menudo tras la cirugía de refracción, tal como la queratectomía fotorrefractiva, la queratomileusis de subepitelio asistida por láser (LASEK), EPI-LASEK, ablación sin contacto transepitelial personalizada, u otros procedimientos en los que se cortan los nervios de la córnea. La disminución en la sensibilidad corneal también puede ocurrir después de una infección viral, tales como los virus HSV-1, HSV-2 y VZV. Los pacientes con disminución en la sensibilidad corneal se quejan a menudo de que sus ojos están secos, aunque la producción de lágrimas y la evaporación pueden ser normales, lo que sugiere que la “sequedad” en dichos pacientes es realmente una forma de neuropatía corneal que se produce cuando los nervios de la córnea han sido cortados por cirugía o se han inflamado tras una infección viral.
- La conjuntivitis alérgica es una inflamación de la conjuntiva a consecuencia de la hipersensibilidad frente a uno o más alérgenos. Puede ser aguda, intermitente o crónica. Se produce estacionalmente, es decir, solamente en determinadas épocas del año, o se produce perennemente, es decir, crónicamente a lo largo del año. Los síntomas de la conjuntivitis alérgica estacional y perenne incluyen, además de inflamación de la conjuntiva, lacrimación, lagrimeo, dilatación vascular de la conjuntiva, picor, hiperlasia papilar, quemosis, edema del párpado, y supuración del ojo. La descarga puede formar una costra sobre los ojos tras el sueño nocturno.
- La queratoconjuntivitis atópica es una forma crónica y severa de conjuntivitis alérgica, que a menudo da lugar a un deterioro visual. Los síntomas incluyen picazón, ardor, dolor, enrojecimiento, sensación de cuerpo extraño, sensibilidad a la luz y visión borrosa. A menudo se produce supuración, especialmente al despertar tras el sueño nocturno; la descarga puede ser fibrosa, filamentosa y mucoide. La conjuntiva inferior se ve a menudo más afectada que la conjuntiva superior. La conjuntiva puede variar de pálida, edematosa, e indiferenciada a tener características de enfermedad avanzada, incluida hipertrofia papilar, fibrosis subepitelial, escorzo del fórmix, triquiasis, entropión, y madurosis. En algunos pacientes la enfermedad progresa hacia erosiones epiteliales en forma de puntos, neovascularización corneal, y otras características de queratopatía que pueden alterar la visión. De forma típica, existe una proliferación de células calciformes en la conjuntiva, la formación pseudotubular epitelial y un mayor número de eosinófilos y mastocitos que se desgranulan en el epitelio. Los linfocitos CD25+T, macrófagos y células dendríticas (HLA-DR.sup.+ , HLA-CD1+) se elevan significativamente en la sustancia propia.
- Como la queratoconjuntivitis atópica, la queratoconjuntivitis vernal es una forma severa de conjuntivitis alérgica, pero suele afectar a la conjuntiva superior de manera más prominente que a la inferior. Se produce en dos formas. En la forma palpebral, hay presentes unas papilas cuadradas, duras, aplanadas, muy juntas; en la forma bulbar (límbal), la conjuntiva circumcorneal se vuelve hiperatrofiada y grisácea. Ambas formas están a menudo

acompañadas de una descarga mucoide. Se puede producir pérdida del epitelio de la córnea, acompañado de dolor y fotofobia, así como placas corneales centrales y puntos de Trantas.

Ejemplos

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos.

Cuando los inventores trataron en autoclave las suspensiones acuosas de ciclosporina A, las partículas de medicamento se agregaron, haciendo que el producto fuera inaceptable. Además, los inventores descubrieron que el ácido hialurónico también se degrada en el tratamiento en autoclave, causando una disminución marcada de la viscosidad. Una viscosidad inferior, a su vez, reduce la capacidad de suspensión de las partículas de medicamento y hace que sedimenten. Las formulaciones que tienen partículas de medicamento en suspensión que se sedimentan demasiado rápido, o irreversiblemente, pueden ser útiles para las pruebas de laboratorio, pero no son comercialmente viables.

Los inventores investigaron las formulaciones de cuatro formas polimórficas de ciclosporina A, la forma amorfa, la forma cristalina tetragonal (forma 1), la forma ortorrómbica (forma 3) y la ciclosporina A de forma 2.

Una suspensión de la forma 1 se convierte en la forma amorfa y se agrega al ser tratada en autoclave; también se observa la aglutinación de la ciclosporina. Por consiguiente, ni la forma 1 ni la forma amorfa son adecuadas para la estabilización en autoclave. Además, una suspensión tratada en autoclave de F3 en agua perdió 11-28 % de su potencia durante el tratamiento en autoclave (tabla 4); lo cual también es inaceptable. En cambio, una suspensión de la forma 2 en agua fue bastante estable al tratamiento en autoclave, resistiendo la degradación en comparación con un control de preesterilización. El análisis por rayos x del sólido filtrado a partir de la formulación de la forma 2 también confirma que la forma 2 es polimórficamente estable al tratamiento en autoclave (Fig. 3). Estos últimos descubrimientos son extremadamente sorprendentes, teniendo en cuenta la falta de estabilidad química o polimórfica de las otras tres formas.

Los inventores investigaron la autocapacidad de una serie de soluciones concentradas de diversos polímeros (sin medicamento) que, cuando se cargan en una jeringa, fluyen a través de una aguja de calibre estrecho (calibre 25 o más estrecho). Los polímeros evaluados fueron los siguientes: ácido hialurónico reticulado (Juvederm®), carbómero, carboximetilcelulosa de peso molecular medio, carboximetilcelulosa de elevado peso molecular, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, Pluronic F127 y polivinilpirrolidona K90. Todos estos pueden adquirirse fácilmente de proveedores comerciales.

Se inyectaron cien microlitros de cada una de las soluciones tratadas en autoclave en conjuntivas de conejo, para evaluar la propensión a producir inflamación. Los polímeros que producían una reacción inflamatoria se eliminaron de la consideración (figura 4, se eliminaron los carbómeros, tanto de CMC como HPMC). Además, se eliminó Juvederm® porque formaba una mezcla de larga duración que, en los humanos, podría causar irritación al moverse el párpado por el sitio de inyección. Tanto HPMC como Pluronic se separaron de la solución durante/después del tratamiento en autoclave y por consiguiente también se eliminaron. De los hidrogeles comercialmente viables, solo HEC y PVP demostraron que no producían inflamación en la conjuntiva de los conejos después del tratamiento en autoclave. Estos dos hidrogeles se utilizaron para formular suspensiones de ciclosporina A para su evaluación posterior. Los resultados de los estudios se muestran en la tabla 5.

Inicialmente, los inventores investigaron la posibilidad de esterilizar por calor una suspensión acuosa de ciclosporina A de forma 1 (que se convierte en la forma amorfa). Este método dio lugar a la aglomeración del medicamento y, por consiguiente, la formulación no era viable. Estudios adicionales, adición de PVP para suprimir la aglomeración de forma 1/forma amorfa, también dieron malos resultados.

Dado que la esterilización con calor de una suspensión acuosa de ciclosporina no parecía ser viable, los inventores planearon preparar suspensiones mediante técnica aséptica, utilizando ciclosporina sólida preesterilizada. Diversas ciclosporinas sólidas (formas 1, 2 y 3 y amorfa) se trataron con irradiación gamma o con haz de electrones. En todos los casos, se produjo una pérdida significativa de medicamento (3-9 %) (Fig. 2 y tabla 1). Además, la pérdida sustancial de medicamento indica que se generan niveles altos de productos de degradación (alrededor de 3-9 %) en el material esterilizado con irradiación. Estas impurezas pueden tener implicaciones toxicológicas y/o normativas negativas; por consiguiente, este enfoque a la esterilización parece no deseable.

Tabla 1. Efecto de la esterilización por irradiación en la sustancia (sólida) de medicamento de ciclosporina (CsA)				
Modo de esterilización	CsA Forma 1 (Potencia e Imp.)	CsA Forma 2 (Potencia e Imp.)	CsA Forma 3 (Potencia e Imp.)	Amorf. CsA (Potencia e Imp.)
Ninguno	98,4 % p/p Total Imp: 0,6 %	94,6 % p/p Total Imp: 0,6 %	97,7 % p/p Total Imp: 0,8 %	96,5 % p/p Total Imp: 0,7 %
15 kGy Gamma	93,9 % p/p % Rel. Cambio: 4,5 % Total Imp: 1,7 %	91,8 % p/p % Rel. Cambio: 2,9 % Total Imp: 1,8 %	94,3 % p/p % Rel. Cambio: 3,6 % Total Imp: 1,3 %	92,1 % p/p % Rel. Cambio: 4,6 % Total Imp: 1,4 %
33 kGy Gamma	90,7 % p/p % Rel. Cambio: 7,8 % Total Imp: 2,8 %	88,5 % p/p % Rel. Cambio: 6,4 % Total Imp: 2,4 %	91,0 % p/p % Rel. Cambio: 6,9 % Total Imp: 2,3 %	87,7 % p/p % Rel. Cambio: 9,2 % Total Imp: 2,3 %

Haz de electrones	92,6 % p/p % Rel. Cambio: 5,9 % Total Imp: 1,5 %	90,3 % p/p % Rel. Cambio: 4,6 % Total Imp: 1,7 %	93,4 % p/p % Rel. Cambio: 4,5 % Total Imp: 1,6 %	92,0 % p/p % Rel. Cambio: 4,7 % Total Imp: 1,3 %
-------------------	--	--	--	--

Posteriormente, los inventores intentaron irradiar ciclosporina sólida (formas 1, 2 y 3 y amorfa) en las mejores condiciones anteriores, a bajas temperaturas. No se observó ninguna mejora significativa con ninguna de las formas de ciclosporina (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de la esterilización por haz de electrones de ciclosporinas en condiciones frías

Tratamiento de muestra de sustancia medicamentosa CsA	Potencia de CsA para la Muestra de control	Potencia de CsA 15 kGy Tratamiento Gamma	Potencia de CsA 30 kGy Tratamiento Gamma	Potencia de CsA 15 kGy Tratamiento haz de electrones
Hielo seco	99,2 % p/p	96,7 % p/p (% Rel. Cambio: 2,5 %)	93,8 % p/p (% Rel. Cambio: 5,4 %)	93,8 % p/p (% Rel. Cambio: 5,4 %)
Envase frío	96,5 % p/p	93,0 % p/p (% Rel. Cambio: 3,6 %)	92,1 % p/p (% Rel. Cambio: 4,6 %)	93,2 % p/p (% Rel. Cambio: 3,4 %)

Después de resultar evidente que la irradiación de ciclosporinas sólidas producía demasiada degradación, los inventores intentaron irradiar una suspensión acuosa de ciclosporina, utilizando ácido hialurónico como agente de suspensión. Este método dio como resultado una degradación del medicamento de 4-10 % dentro de la formulación.

Tabla 3 Efecto de la esterilización por irradiación en suspensiones acuosas de ciclosporina [CsA] utilizando ácido hialurónico [HA] como agente de suspensión, a diversas temperaturas

Tratamiento de esterilización	Potencia de CsA para la muestra de control	Potencia de CsA después de la esterilización	% Cambio relativo en la potencia
Muestra de hidrogel de CsA de control de paquete frío	103,2 % p/p	No aplicable	No aplicable
Muestra CsA-HA (paquete frío) tratada con 15 kGy de Gamma	103,2 % p/p	98,9 % p/p	4,2 %
Muestra CsA-HA (paquete frío) tratada con 30 kGy Gamma	103,2 % p/p	92,3 % p/p	10,6 %
Muestra de CsA-HA (paquete frío) tratada con haz de electrones (15 kGy)	103,2 % p/p	92,8 % p/p	10,1 %

Finalmente, el inventor se centró en la esterilización con vapor de suspensiones acuosas y formulaciones completas de ciclosporinas. Las suspensiones acuosas de forma 1 (que se convierte en amorfa) se aglomeraron durante la esterilización con calor. Las suspensiones acuosas de la forma 3, aunque eran físicamente estables y químicamente más estables que la forma 1, se degradaron de forma significativa durante la esterilización por calor. Pero, para sorpresa de los inventores, las suspensiones acuosas de la forma 2 eran tanto física como químicamente estables (tablas 4 y 5).

Tabla 4. Esterilización por calor de las suspensiones acuosas de ciclosporina (CsA) de forma 2 (F-2) en agua

	Suspensión acuosa Csa-F2 %	Suspensión acuosa Csa-F3 %
Inicial	96,86	101,41
120C 15 min	96,88	88,61
108C 60 min	106,69	71,72

Tabla 5. Estabilidad física de las formas 2 y 3 antes y después de la esterilización por calor

Formulación	Material	Denom.	D90	D50	D10	Condiciones
A	Csa F2	Suspensión acuosa de control	198,6313	116,8544	8,2711	Control de suspensión acuosa para el estudio de la esterilización por vapor
A, tratada en autoclave	Csa-F2	Suspensión acuosa tratada en autoclave	186,4431	99,902	7,0518	Tratada en autoclave a 120C durante 15 minutos
A, tratada en autoclave	Csa-F2	Suspensión acuosa tratada en autoclave	195,603	112,532	9,209	Tratada en autoclave a 108C durante 60 minutos
B	Csa-F3	Suspensión acuosa de control	110,8281	63,3348	7,1711	Control de suspensión acuosa para el estudio de la esterilización por vapor
B, tratada en autoclave	Csa-F3	Suspensión acuosa tratada en autoclave	116,8761	67,523	12,1564	Tratada en autoclave a 120C durante 15 minutos
B, tratada en autoclave	Csa-F3	Suspensión acuosa tratada en autoclave	115,556	65,3309	10,5518	Tratada en autoclave a 108C durante 60 minutos

Formulación	Material	Condiciones	% de potencia en comparación con la forma 2 de CsA estándar
A	Csa-F2	Control	96,9
A	Csa-F2	120 °C, 15 min	96,9
A	Csa-F2	108 °C, 60 min	106,7

B	Csa-F3	Control	101,4
B	Csa-F3	120 °C, 15 min	88,6
B	Csa-F3	108 °C, 60 min	71,7

Congestión ocular

Los agentes de suspensión parenteralmente biocompatibles se identificaron inyectando soluciones concentradas estériles en el espacio subconjuntival y evaluando la respuesta toxicológica. Se administró una inyección de 100 ul de los siguientes polímeros en solución salina tamponada de fosfato por vía subconjuntival a conejos blancos de Nueva Zelanda y se observó durante un período de siete días.

- 5
- 10
 - 2 % Carbómero (Carbopol Ultrez 10NF, Lubrizol)
 - 8 % Carboximetilcelulosa (CMC de baja viscosidad, Lubrizol)
 - 6 % Carboximetilcelulosa (CMC de elevada viscosidad, Lubrizol)
 - 6 % HEC (Ashland)
 - 6 % HPMC (Dow chemical)
 - Juvederm Ultra (Allergan, Inc)
- 15
 - Pluronic F127 (BASF)
 - Polivinilpirrolidona (PVP 90, BASF)

	tipo	nombre	fuelle	núm. lote	info tec	proveedor	CoA	Grado	Proveedor alternativo	Grado
1	PVP	PVP K30	Sigma_Aldrich 81420-500G (o PSO R14247)	BCBB7859	Pm 40K (PSO: 5 % en agua, pH 3,6)	Sigma_Aldrich	sí		BASF	PHEUR/US P/NF/JP
2	PVP	PVP K90	Sigma_Aldrich 81440-250G	BCBB3954	Pm 360K	Sigma_Aldrich	sí		BASF	PHEUR/US P/NF/JP
3	PVP	PVP 10	Sigma-Aldrich PVP10-500G	050M0039	Pm 10K	Sigma_Aldrich	sí		BASF	PHEUR/US P/NF
4	HPMC	Hipromelosa (sometida a ensayo para JP)	PSO Pm#1018 (R19424)	XB14012N11	Sigma H3785: 4.000 mPa. (4.000 cP), 2 % en agua	Dow Chemical	sí	USP/PHEUR		
5	CMC	Carboximetilcelulosa sódica	PSO R19716Q pendiente	96413					CMC de Ashland/Aqualon es NF/USP,	
6	CMC	Carboximetilcelulosa sódica	PSO R19717	96077						
7	Hidroxietilcelulosa (HEC)	Natrosol (Tipo 250-HHX pharm)	Kevin Warner	F0854	Tipo 250-HHX pharm	Ashland			HEC de Ashland./Aqualon es USP/EP,	
8	Acrlato/Acrlato de alquilo C10-30	Carbopol ETD 2020NF	Kevin Warner	EC742EK343	polímero reticulado de acrlato (viscosidad, 47-77K mPa.s (47-77K cP) 0,5 % en peso a pH 7,5)	Lubrizol		USP/NF		
9	Interpolímero de carbómero	Polímero Carbopol Ultrez 10 NF	Kevin Warner	CC83RZG726	tipo A (viscosidad, 45-65K mPa.s (45-65K cP) 0,5 % en peso a pH 7,5)	Lubrizol		USP/NF		
10	Carbómero-Homopolímero	Polímero Carbopol 980 NF	Kevin Warner	EC863CC625	tipo C (viscosidad, 40-60K mPa.s (40-60K cP) 0,5 % en peso a pH 7,5)	Lubrizol		USP/PHEUR/JPE		
	tipo	nombre	fuelle	núm. lote	info tec	proveedor	CoA	Grado	Proveedor alternativo	Grado
1	PVP	PVP K30	Sigma_Aldrich 81420-500G (o PSO R14247)	BCBB7 859	Pm 40K (PSO: 5 % en agua, pH 3,6)	Sigma_Aldrich	sí		BASF	PHEUR/US P/NF/JP
2	PVP	PVP K90	Sigma_Aldrich 81440-250G	BCBB3 954	Pm 360 K	Sigma_Aldrich	sí		BASF	PHEUR/US P/NF/JP
3	PVP	PVP 10	Sigma-Aldrich PVP10-500G	050M0039	Pm 10K	Sigma_Aldrich	sí		BASF	PHEUR/US P/NF
4	HPMC	Hipromelosa (sometida a ensayo para JP)	PSO Pm#1018 (R19424)	XB1401 2N11	Sigma H3785: 4.000 mPa. (4.000 cP), 2 % en agua	Dow Chemical	sí	USP/PHEUR		

5	CMC	Carboximetilcelulosa sódica	PSO R19716Q pendiente	96413					CMC de Ashland/Aqualon es NF/USP,	
6	CMC	Carboximetilcelulosa sódica	PSO R19717	96077						
7	Hidroxietilcelulosa (HEC)	Natrosol (Tipo 250-HHX pharm)	Kevin Warner	F0854	Tipo 250-HHX pharm	Ashland			HEC de Ashland./Aqualon es USP/EP,	
8	Acrlato/Acrlato de alquilo C10-30	Carbopol ETD 2020NF	Kevin Warner	EC742E K343	polímero reticulado de acrlato (viscosidad, 47-77K mPa.s (47-77K cP) 0,5 % en peso a pH 7,5)	Lubrizol		USP/NF		
9	Interpolímero de carbómero	Polímero Carbopol Ultrez 10 NF	Kevin Warner	CC83R ZG726	tipo A (viscosidad, 45-65K mPa.s (45-65K cP) 0,5 % en peso a pH 7,5)	Lubrizol		USP/NF		
10	Carbómero-Homopolímero	Polímero Carbopol 980 NF	Kevin Warner	EC863 CC625	tipo C (viscosidad, 40-60K mPa.s (40-60K cP) 0,5 % en peso a pH 7,5)	Lubrizol		USP/PHEUR/JPE		

Se comprobó que la congestión ocular desaparecía en el transcurso de 7 días para CMC, HEC, HPMC, Pluronic y PVP. Se comprobó que la supuración ocular desaparecía en el transcurso de tres días. La supuración ocular desaparecía en el transcurso de tres días para todos los grupos excepto uno. Los resultados del experimento se proporcionan en las figuras 9-11.

Análisis de impureza y de potencia

Los inventores prepararon diversas formulaciones y evaluaron su potencia y pureza, así como la distribución del tamaño de partículas.

Formulación	Composición			Potencia (%)		Análisis de impurezas		
	Tamaño de partículas (µm) de CsA	CsA (%)	HEC (%)	Sin autoclave	Autoclave	Impurezas totales de CsA antes de autoclave (% a/a)	Impurezas totales de CsA después de autoclave (% a/a)	Cambio absoluto (% a/a)
HEC-1	10	5	5	117,20 %	115,70 %	0,71 %	0,69 %	-0,02 %
HEC-2	10	20	5	103,60 %	116,60 %	0,61 %	0,61 %	0,00 %
HEC-3	10	5	2	116,40 %	118,80 %	0,78 %	0,70 %	-0,08 %
HEC-4	10	20	2	124,50 %	124,70 %	0,73 %	0,69 %	-0,04 %
HEC-5	25	5	5	126,70 %	116,60 %	0,58 %	0,58 %	0,00 %
HEC-6	25	20	5	140,00 %	147,40 %	0,56 %	0,56 %	0,00 %
HEC-7	25	5	2	137,50 %	142,50 %	0,63 %	0,59 %	-0,04 %
HEC-8	25	20	2	129,50 %	119,70 %	0,56 %	0,57 %	0,01 %
HEC-9	10	10	3	118,60 %	111,70 %	0,61 %	0,62 %	0,01 %

Formulación	Composición			Potencia (%)	
	Tamaño de partículas (µm) de CsA	CsA (%)	PVP90 (%)	Sin autoclave	Autoclave
PVP-1	10	5	25	102,51	101,01
PVP-2	10	20	25	113,81	111,82
PVP-3	10	5	15	122,42	114,04
PVP-4	10	20	15	120,28	123,3
PVP-5	25	5	25	118,56	118,46
PVP-6	25	20	25	114,55	115,28
PVP-7	25	5	15	116,37	115,66
PVP-8	25	20	15	120,9	124,05
PVP-9	10	10	25	132,51	136,36
PVP-10	25	10	25	118,03	126,6

Núm. lote	CsA forma cristalina	Excipiente	Temperatura de condiciones autoclave (°C) / tiempo (min.)	Distribución de tamaño de partículas		
				D90	D50	D10
1	2	5 % CMC	Ninguno	52,38	10,80	5,31
2	2	5 % CMC	121/10	18,02	11,55	5,74
3	3	3 % CMC	Ninguno	28,01	12,09	6,84
4	3	3 % CMC	121/10	20,31	11,27	6,56
5	2	Ninguno	Ninguno	198,63	116,85	8,27
6	2	Ninguno	120/15	186,44	99,90	7,05
7	2	Ninguno	108/60	195,60	112,53	9,21
8	3	Ninguno	Ninguno	110,83	63,33	7,17
9	3	Ninguno	121/15	116,88	67,52	12,16
10	3	Ninguno	108/60	115,56	65,33	10,55
11	2	Ninguno	Ninguno	13,15	9,12	6,17
12	2	Ninguno	121/15	14,15	9,12	6,42
13	2	Ninguno	Ninguno	14,14	9,66	6,44
14	2	Ninguno	121/15	14,30	9,37	5,95

Tabla 5. Propiedades de formulación de F2 clave de polímeros evaluados

	Compatibilidad con jeringa	Compatibilidad con autoclave (121°C, 15 min.)	Tolerancia in vivo (1 sem. sub-conj.)	Sedimentación	Potencia CSA-F2
Carbopol	Máx. conc. 4 % con cal. 22	Sin cambio visible	mal tolerada (congestión)	NA	NA
Carboximetilcelulosa (CMC) viscosidad media	Máx. conc. 9 % con cal. 22	Sin cambio visible	mal tolerada (congestión)	NA	NA
Carboximetilcelulosa (CMC) elevada viscosidad	Máx. conc. 6 % con cal. 22	Sin cambio visible	mal tolerada (congestión)	NA	NA
Hidroxietilcelulosa (HEC)	Máx. conc. 6 % con cal. 22	Sin cambio visible	Bien tolerada. Ligera congestión comparada con la solución salina	Sin sedimentación en comparación con gel BDP en las mismas condiciones	No hay pérdida en la potencia posterior a autoclave
Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	Máx. conc. 7 % con cal. 22	Formulación completa se separa visiblemente con esterilización por calor de humedad	Bien tolerada. Comparable a la solución salina.	NA	NA
Juvederm Ultra	30G, según lo formulado por el fabricante	Preesterilizada por el fabricante	mal tolerada (hinchazón en 1 semana)	NA	NA
Pluronic F127	Máx. conc. 40 % con cal. 22	Placebo se separa visiblemente con esterilización por calor de humedad	Tolerada. Leve congestión y descarga en comparación con la solución salina.	NA	NA
Polivinilpirrolidona K90 (PVPK90)	Máx. conc. 27 % con cal. 22	Sin cambio visible	ok	Algo de sedimentación con las concentraciones compatibles con jeringa (pero aceptable)	No hay pérdida en la potencia posterior a autoclave

REIVINDICACIONES

1. Una formulación que comprende ciclosporina A de forma 2 y un vehículo seleccionado de carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, ácido hialurónico, polivinilpirrolidona, polímero de ácido poliacrílico reticulado, y poloxámero, con la condición de que cuando el vehículo se selecciona de carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, ácido hialurónico, polivinilpirrolidona, o poloxámero, la ciclosporina A de forma 2 está a una concentración de aproximadamente 0,01 % (p/v) a aproximadamente 10 % (p/v).
2. La formulación según la reivindicación 1, en donde el vehículo es un polímero de ácido poliacrílico reticulado y la ciclosporina A de forma 2 está a una concentración de aproximadamente 0,01 % (p/v) a aproximadamente 10 % (p/v).
3. Un método de elaboración de una formulación de ciclosporina A, comprendiendo el método las etapas de
 - a) disolver ciclosporina A de forma 2 en solución;
 - b) tratar en autoclave la solución;
 - c) añadir un vehículo seleccionado de carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, ácido hialurónico, polivinilpirrolidona, polímero de ácido poliacrílico reticulado, y poloxámero.
4. Un método de elaboración de una formulación de ciclosporina A, comprendiendo el método las etapas de
 - a) disolver en solución un vehículo seleccionado de carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, ácido hialurónico, polivinilpirrolidona, polímero de ácido poliacrílico reticulado, y poloxámero;
 - b) añadir a la solución ciclosporina A de forma 2;
 - c) tratar en autoclave la mezcla resultante.
5. La formulación de las reivindicaciones 1 o 2, o la formulación que se puede obtener por el método de las reivindicaciones 3 o 4 para usar en un método de tratamiento de una afección seleccionada de ojo seco, blefaritis, enfermedad de la glándula de Meibomio, disminución en la sensibilidad corneal, conjuntivitis alérgica, queratoconjuntivitis atópica, queratoconjuntivitis vernal, y pterigiones, comprendiendo el método la etapa de administrar la formulación a un paciente que tiene dicha condición.

Cambio en la potencia CSA con cambio en la forma cristalina y método de esterilización

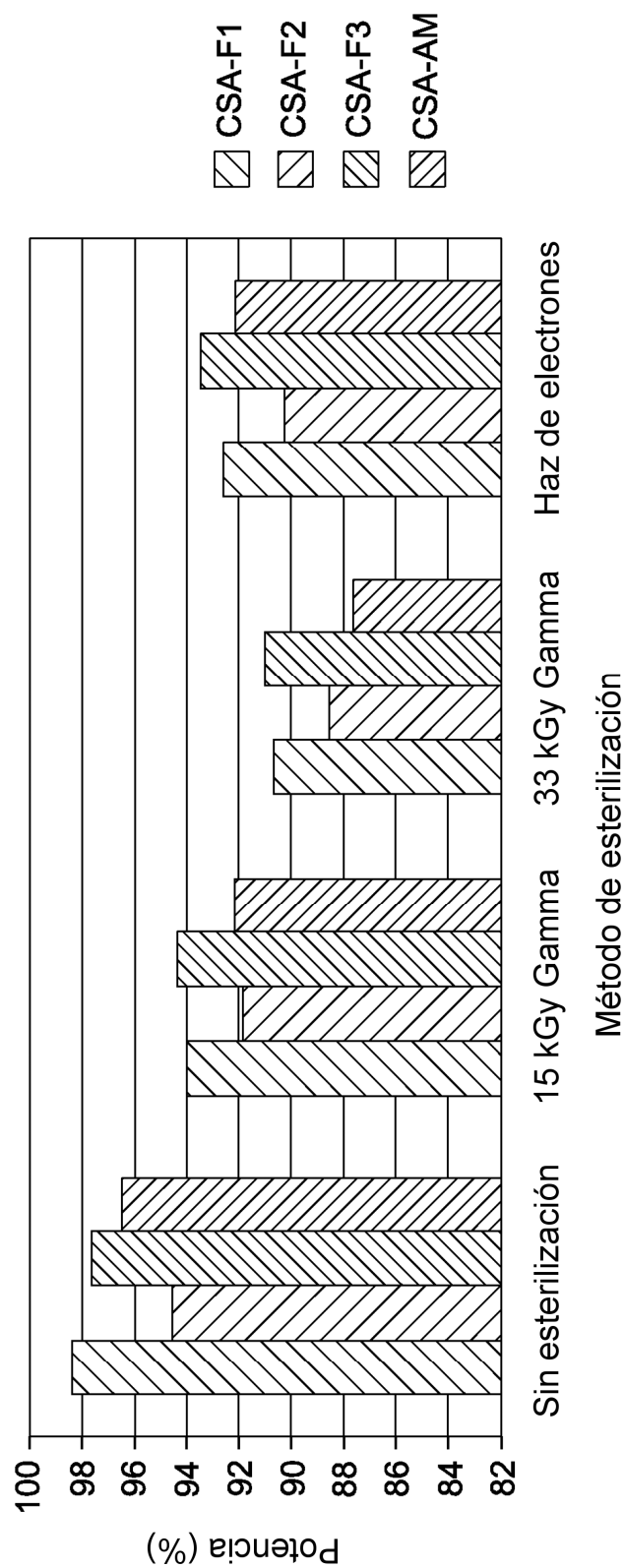


FIG. 1

Cambio en la potencia de CSA con cambio en la forma cristalina y método de esterilización

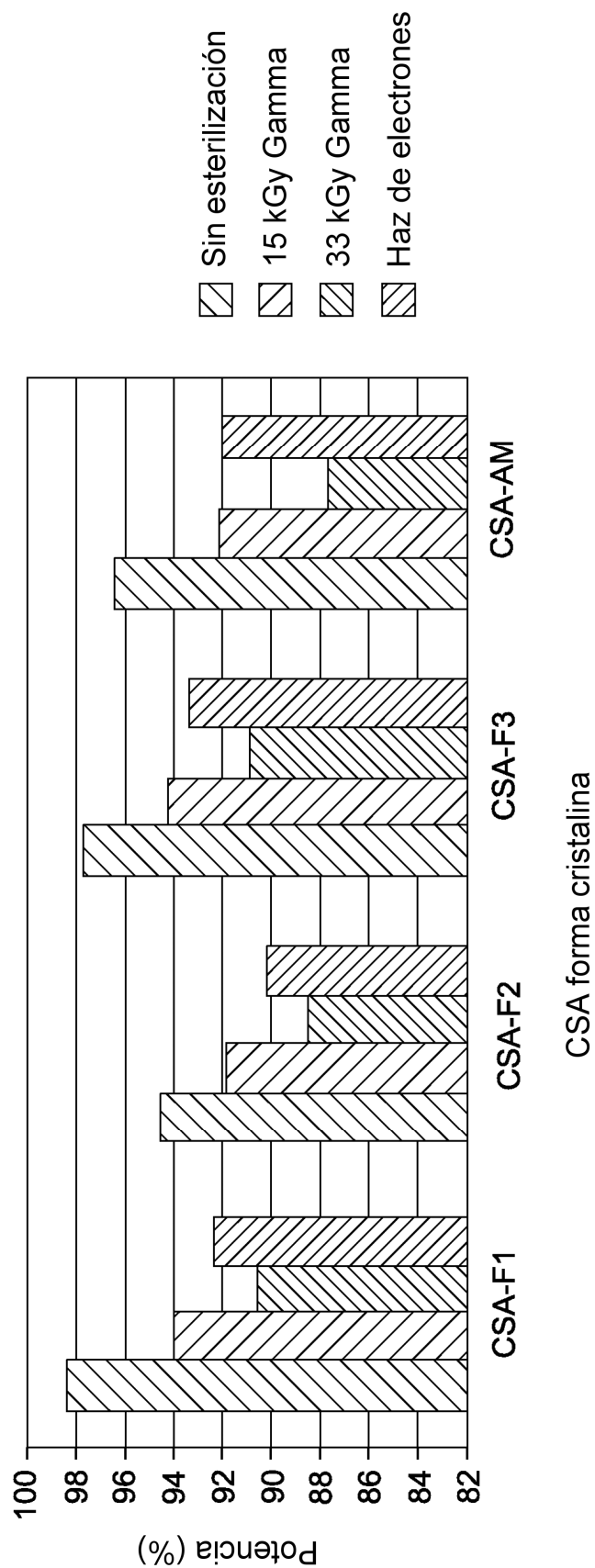


FIG. 2

Forma 2 aislada de suspensión después del tratamiento en autoclave

XRPD de suspensión acuosa de CsA de forma 2 después del tratamiento en autoclave

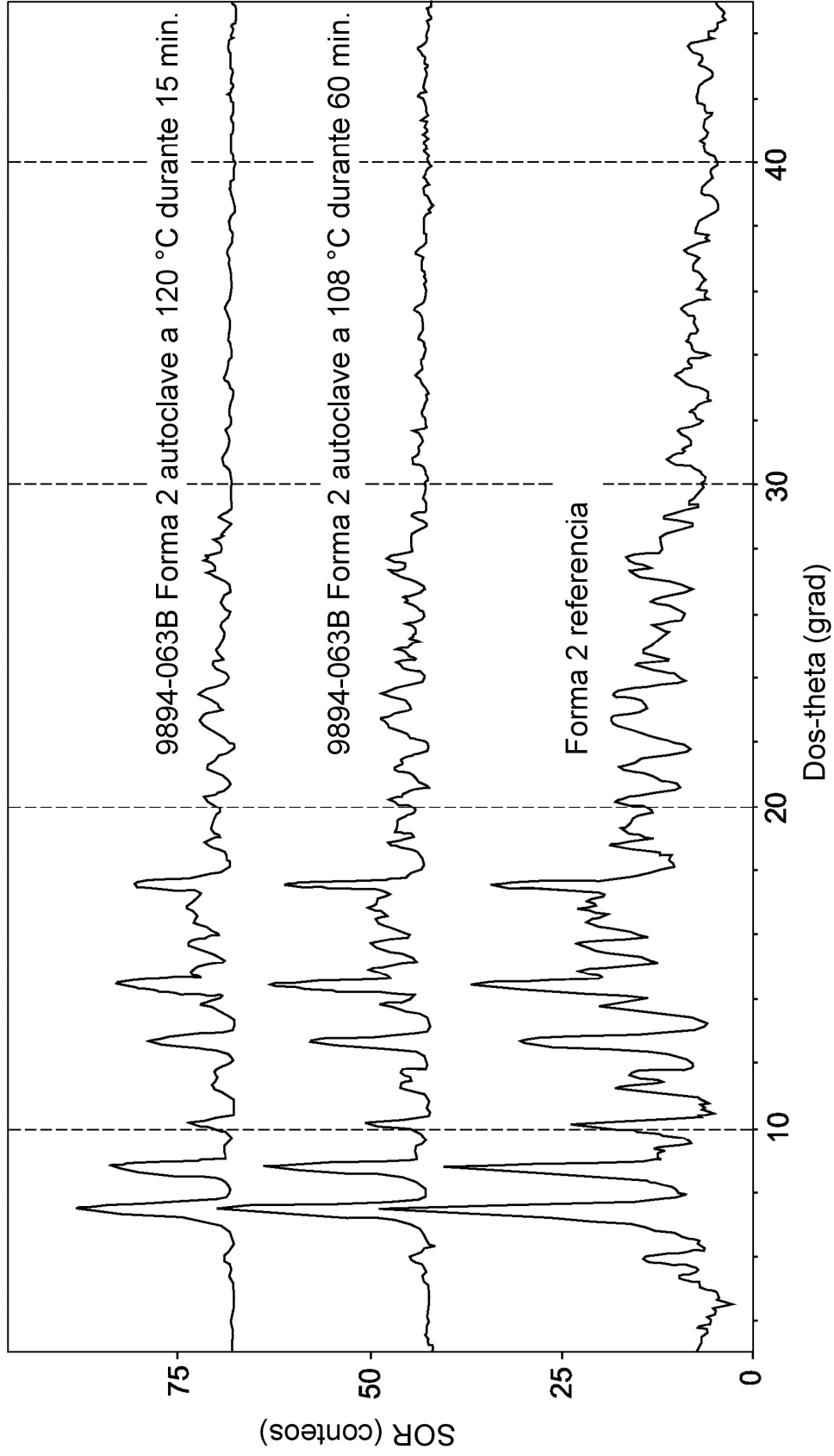


FIG. 3

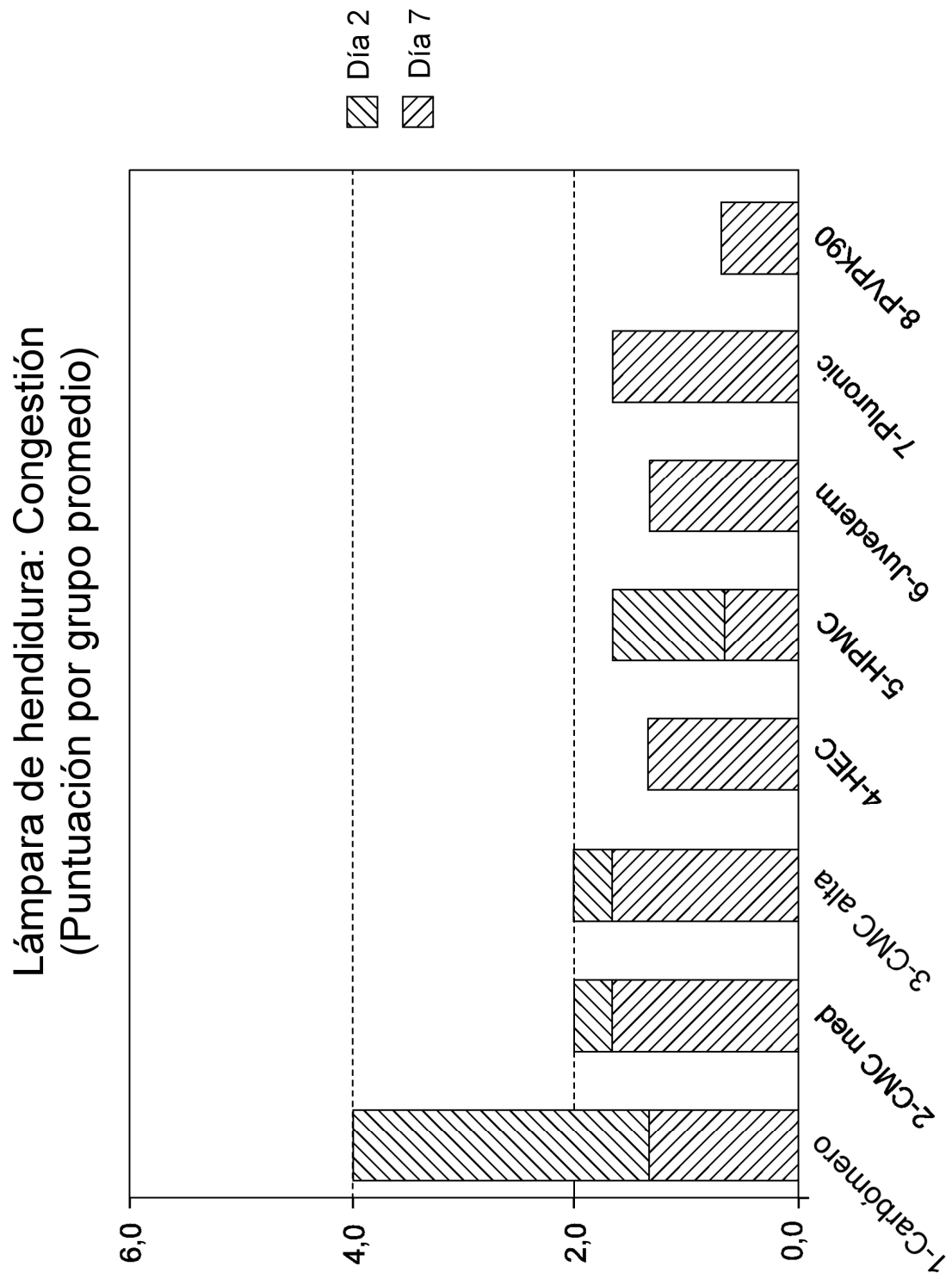
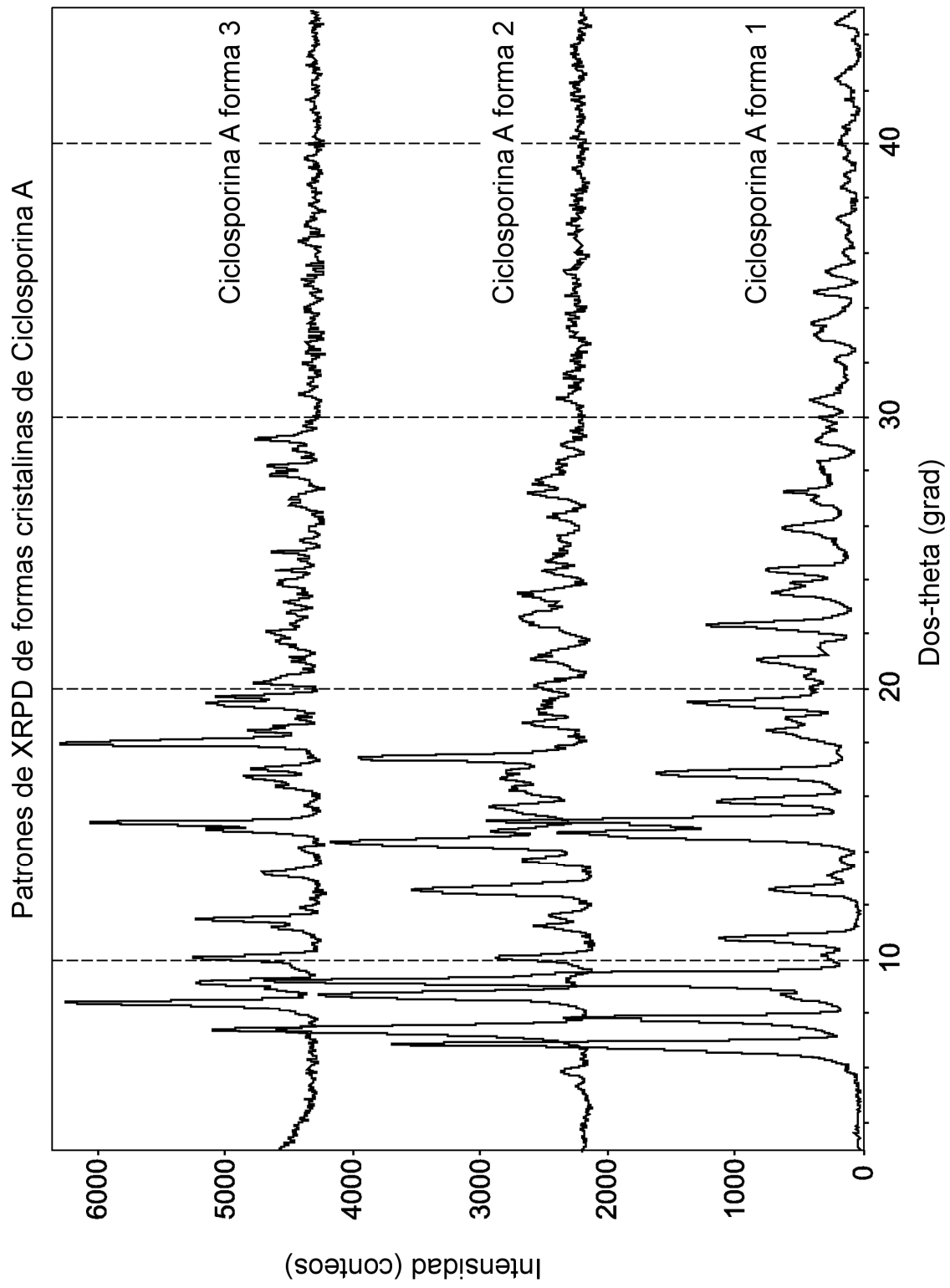


FIG. 4

**FIG. 5**

Patrón de XRPD de Ciclosporina A de forma 2

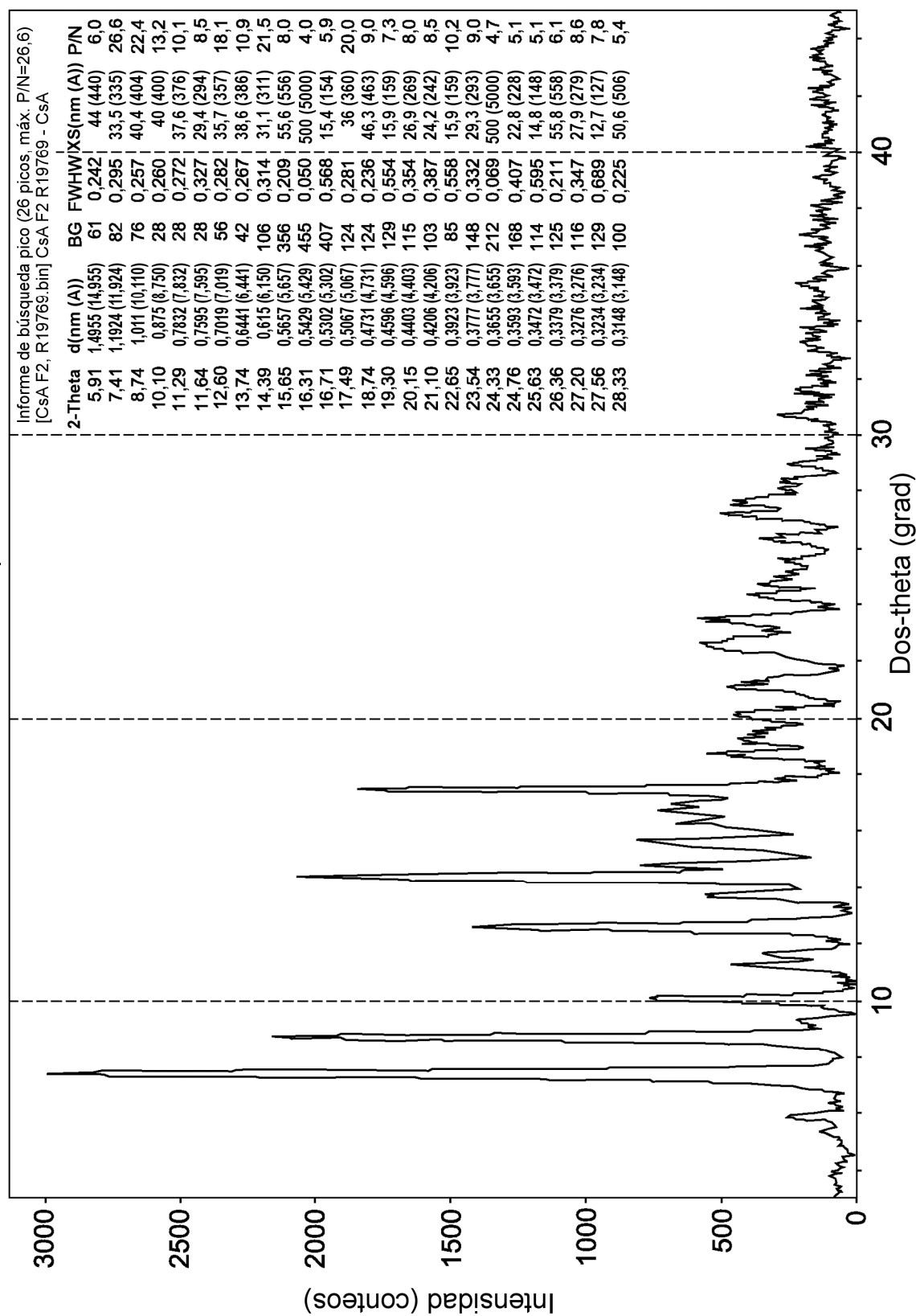
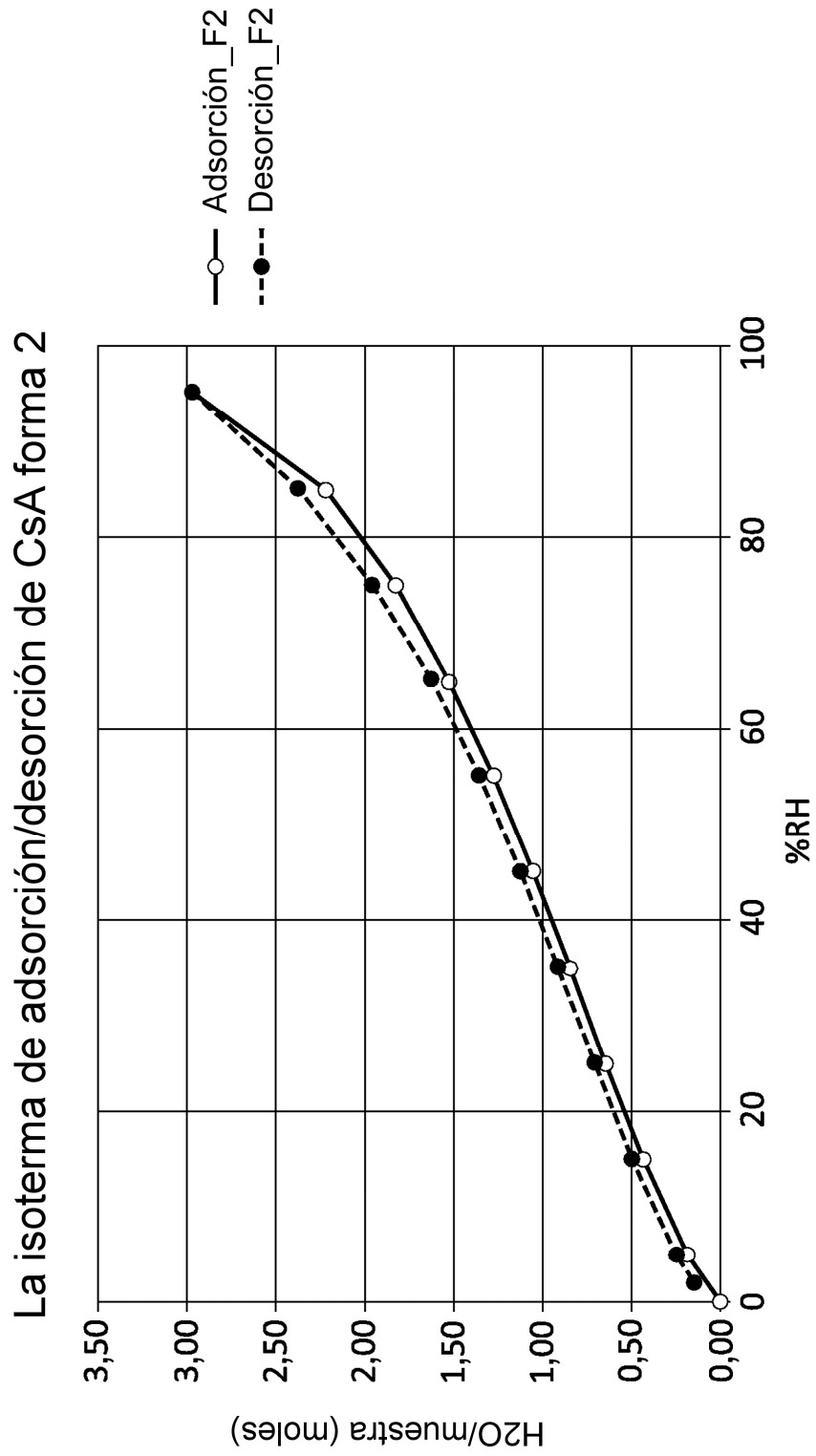


FIG. 6

**FIG. 7**

Muestra: CsA forma 2_R19769
 Tamaño: 0,0000 mg
 Método: CsA Solvías
 Comentario: SOL21689 -3, CSO# 219635

DSC

Archivo: C:\...\CsA Form 2_R19769_nonhermetic
 Operador: K. Wu
 Fecha de ejecución: 08 de noviembre de 2010 19:56
 Instrumento: DSC Q2000 V24 .4 Build 116

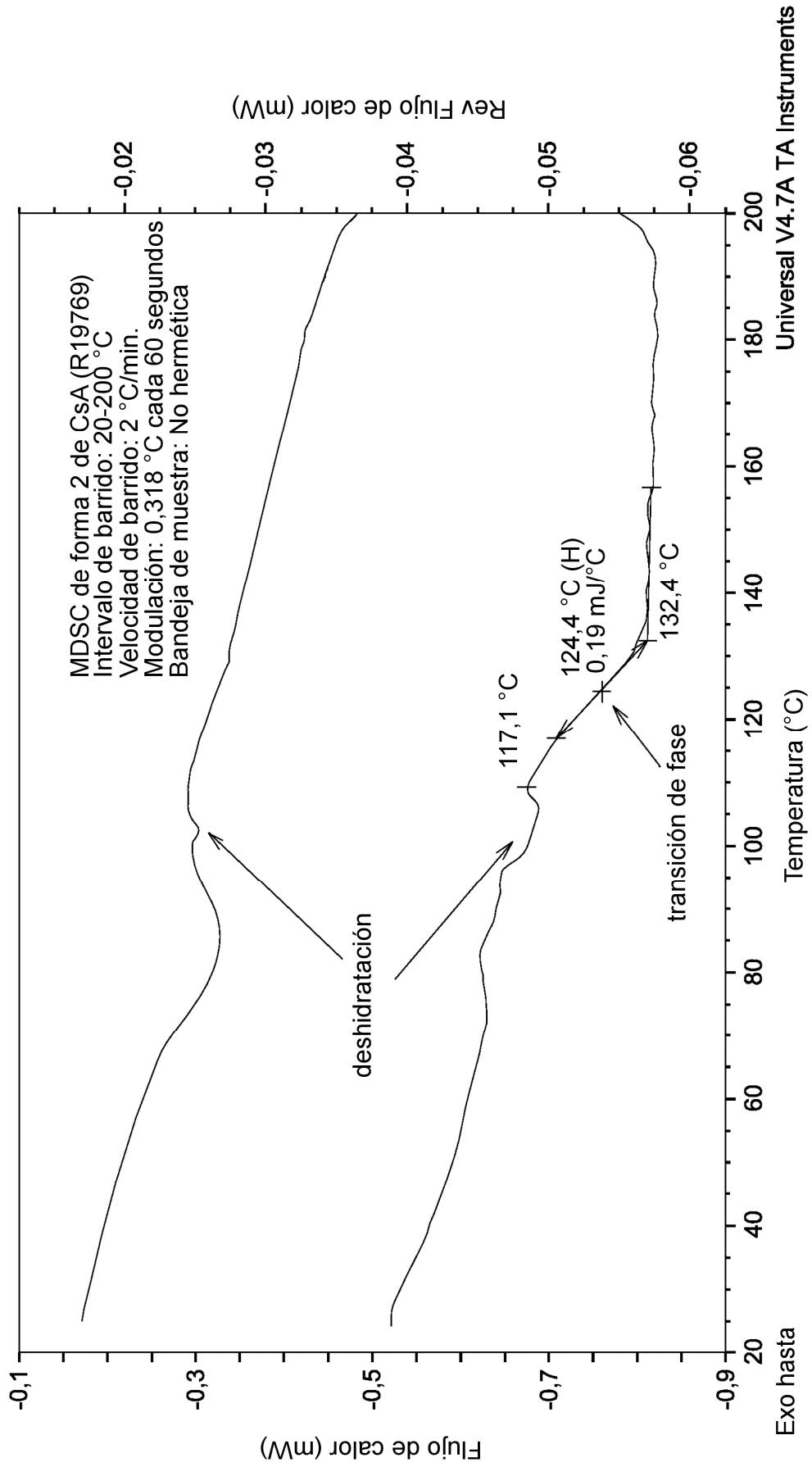


FIG. 8

Ocular global: Congestión (n=3, un ojo)

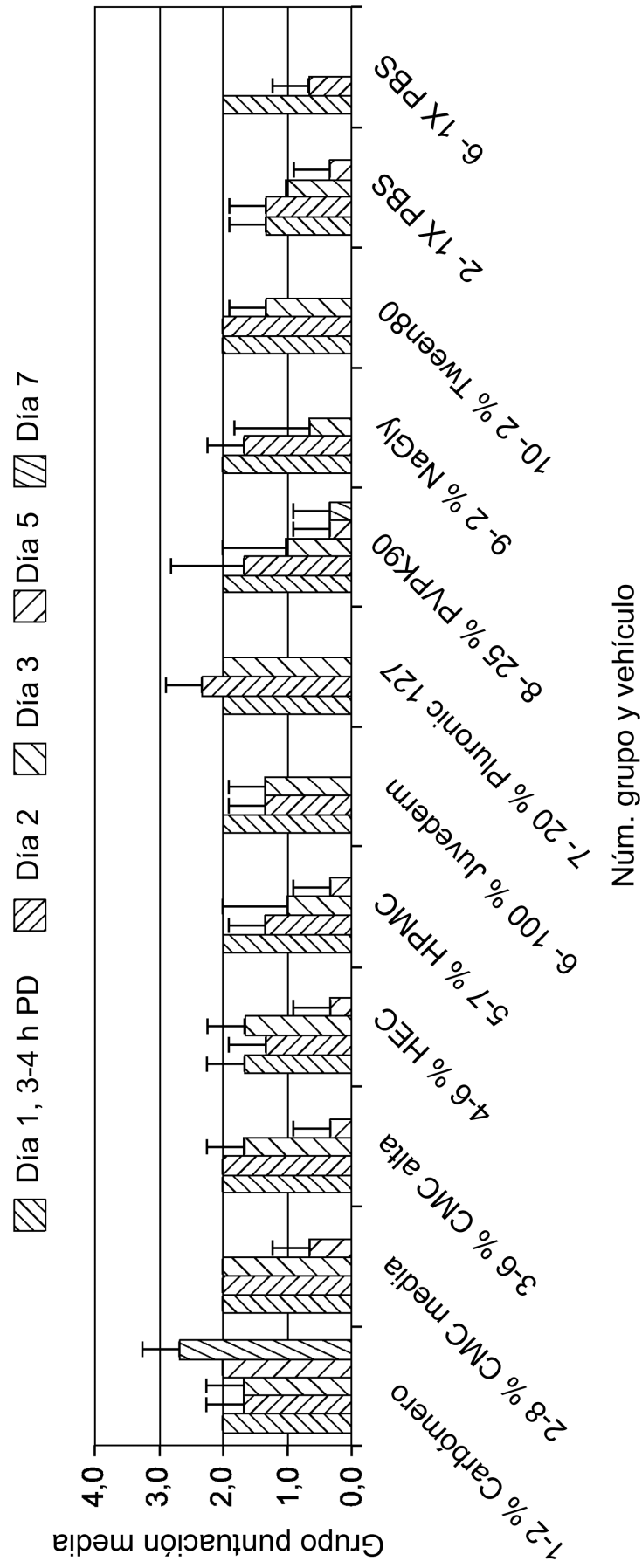


FIG. 9

Descarga/lagrimeo ocular global: (Puntuación por grupo promedio)



FIG. 10

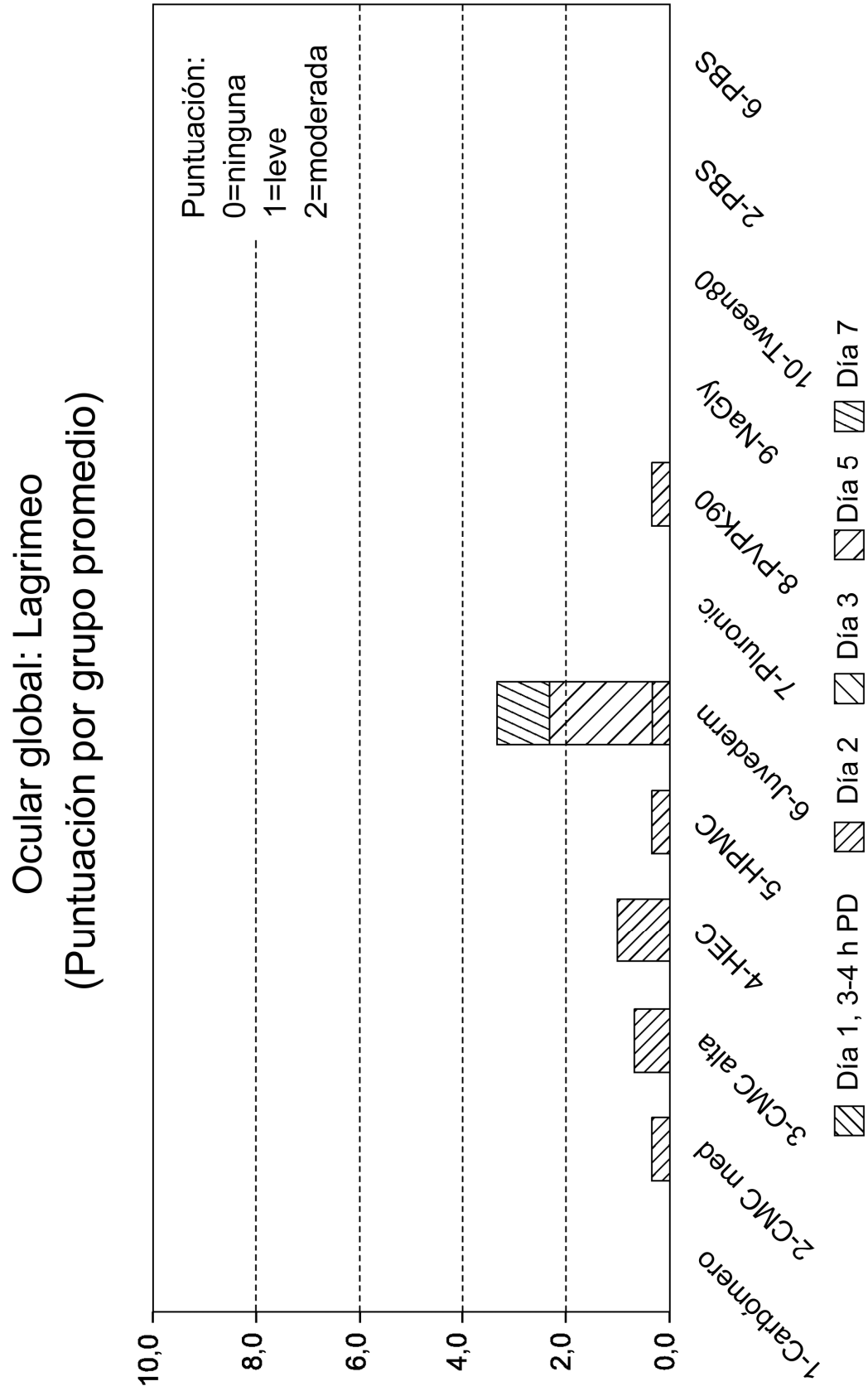


FIG. 11

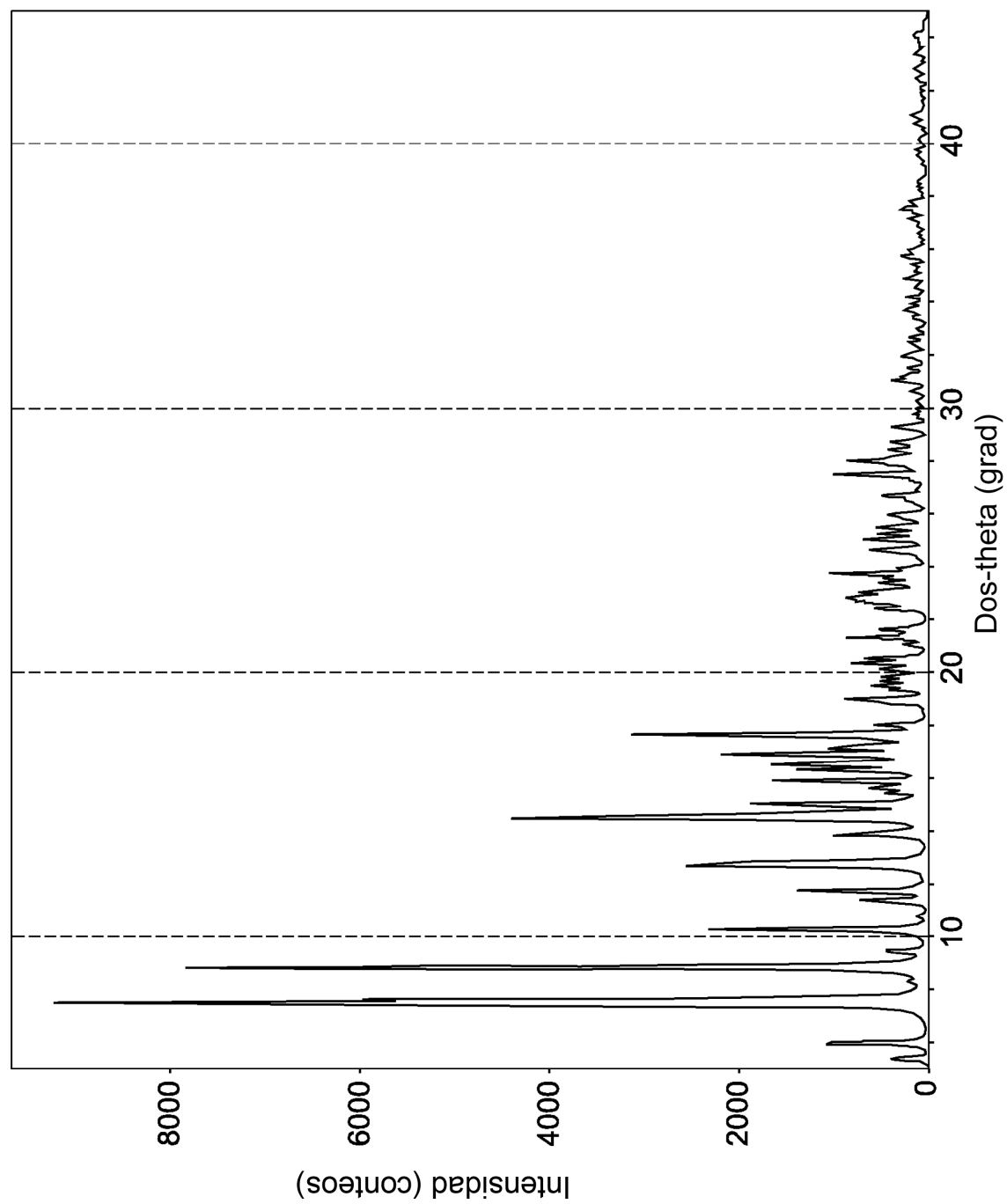


FIG. 12