

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 675 857**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.10.2009 PCT/EP2009/062821**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.04.2010 WO10037845**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2009 E 09783687 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 2349204**

54 Título: **Partículas inhalables que comprenden tiotropio**

30 Prioridad:

**02.10.2008 EP 08382040**  
**09.10.2008 US 104113 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**13.07.2018**

73 Titular/es:

**LABORATORIOS LICONSA, S.A. (100.0%)**  
**Gran Vía Carles III 98 Ed. Trade**  
**08028 Barcelona, ES**

72 Inventor/es:

**AMIGHI, KARIM y**  
**SERENO GUERRA, ANTONIO**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 675 857 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

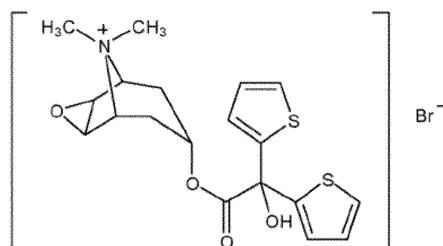
Partículas inhalables que comprenden tiotropio

- 5 La presente invención se refiere a partículas inhalables que comprenden una forma amorfa estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante, en la que estas partículas se mezclan con uno o más excipientes gruesos. También se refiere a una composición farmacéutica que los comprende, a un proceso para su preparación, y a su uso en el tratamiento del asma o de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

10 **Antecedentes**

El bromuro de tiotropio es un antagonista de los receptores muscarínicos con un efecto anticolinérgico muy eficaz utilizado como broncodilatador activo de larga duración. Se desveló por primera vez en la solicitud de patente europea EP 418716 y tiene la siguiente estructura química:

15



El bromuro de tiotropio se usa en el tratamiento de enfermedades respiratorias, en particular la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y el asma.

20

Se conocen diferentes sales de este producto (cloruro, bromuro, yoduro, etc.) así como diferentes formas cristalinas de las mismas.

- 25 Para el tratamiento de enfermedades respiratorias como el asma o la EPOC, es útil administrar la sustancia activa por inhalación. En comparación con otros inhaladores, los inhaladores de polvo seco (DPI) ofrecen flexibilidad en términos de rango de dosis nominal, que es la cantidad de sustancia activa que se puede administrar en una sola inhalación, lo que los hace especialmente interesantes como herramienta de administración. Por lo tanto, el uso de polvos inhalables que contienen sustancias activas para administrarse con un DPI es de particular importancia.

- 30 El principio activo debe ser inhalable para que pueda pasar a los pulmones; es decir, debe estar presente en partículas de tamaño de aproximadamente 1 a 10  $\mu\text{m}$ . Se pueden obtener partículas microfinas de este tamaño, por ejemplo, mediante micronización, precipitación controlada a partir de disolventes adecuados o mediante secado por pulverización si las condiciones del proceso se seleccionan, controlan y llevan a cabo adecuadamente.

- 35 Tradicionalmente, los polvos secos se han formulado como un fármaco micronizado mezclado con una partícula de soporte gruesa, habitualmente lactosa. También se han descrito en el estado de la técnica formulaciones de polvo seco de tiotropio micronizado mezclado con una partícula de soporte gruesa. Por ejemplo, el documento EP 1292281 describe un proceso de preparación que incluye la micronización que comprende varias etapas de mezclado de los excipientes. Sin embargo, la micronización es un método poco reproducible y muy afectado por una pequeña variabilidad en el material de partida. Además, se ha demostrado que dichas composiciones, que incluyen el medicamento comercializado de Boehringer Ingelheim, Spiriva®, muestran un bajo rendimiento en términos de dispersabilidad y fracción de partículas finas. Además, el proceso para su preparación muestra la dificultad de obtener mezclas homogéneas entre tiotropio, los portadores finos y los portadores gruesos, ya que se necesitan etapas de mezcla largas y múltiples. En otro ejemplo, el documento EP1508330 describe una cápsula que contiene tiotropio mezclado con un excipiente aceptable, preferiblemente contiene monohidrato de bromuro de tiotropio cristalino. Sin embargo, el agente estabilizante se mezcla mecánicamente con partículas de tiotropio amorfo, esto significa que no hay un contacto directo entre el agente estabilizante y el tiotropio amorfo.

- 50 Por lo tanto, existe la necesidad de mejorar composiciones de polvo seco inhalable de tiotropio que eviten las desventajas de las formulaciones de la técnica anterior y muestren mejoras con respecto a la homogeneidad de las mezclas de polvo, la fluidez del polvo y/o la dispersión del polvo y las propiedades aerodinámicas.

**Sumario de la invención**

- 55 Los inventores han encontrado una forma amorfa anhidra estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante que da lugar a composiciones en polvo inhalables que muestran un alto grado de homogeneidad y pequeñas fluctuaciones en las propiedades de dispersión. Estos factores son cruciales para garantizar que la proporción inhalable de sustancia activa se libere de forma reproducible en cantidades constantes y con la menor variabilidad

posible. Las composiciones de la invención también tienen propiedades de flujo mejoradas, una alta dispersabilidad y una Fracción de Partículas Finas (FPF) mejorada usando un inhalador de polvo seco apropiado, como se mostrará en los ejemplos.

- 5 Además, a diferencia de lo que ocurre en el caso de la preparación de partículas inhalables que contienen una forma cristalina, en la que se necesitan condiciones de proceso precisas y laboriosas para obtener la forma deseada, las partículas inhalables de la invención pueden obtenerse por un proceso simple y rápido ya que se encuentran en una forma amorfa.
- 10 Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a partículas inhalables que comprenden una forma anhidra estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante, que es lactosa, en la que la forma amorfa estabilizada de tiotropio con el agente estabilizante comprende una matriz en la que el tiotropio se dispersa en un estado molecular o en la que la forma amorfa estabilizada de tiotropio con el agente estabilizante comprende
- 15 tiotropio amorfo dispersado en la superficie del agente estabilizante, y en el que las partículas se mezclan con uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño medio de partícula de 15 a 250  $\mu\text{m}$ . Las partículas inhalables pueden comprender una matriz en la que el tiotropio está íntimamente disperso en un estado molecular, o tiotropio amorfo dispersado en la superficie del agente estabilizante, es decir, las partículas del agente estabilizante están recubiertas por una fina capa de tiotropio amorfo.
- 20 En fármacos como el tiotropio, que muestran una eficacia particularmente alta, solo se necesitan pequeñas cantidades del principio activo en cada dosis única para lograr el efecto terapéutico deseado. Como consecuencia, la sustancia activa debe diluirse con una o más sustancias farmacológicamente inactivas (excipientes adecuados) para obtener polvos fluidos. La dilución debe ser tal que la cantidad aplicada desde el inhalador de polvo contenga exactamente la dosis deseada. Estos excipientes farmacológicamente inactivos no solo se usan como diluyentes,
- 25 sino también por su capacidad para proporcionar buenas propiedades de fluidez a la composición en polvo, facilitando así el proceso de mezcla.

Un enfoque utilizado para potenciar la fluidez del polvo se refiere al uso de uno o más excipientes gruesos. Dichos excipientes gruesos usados como vehículos deben tener un tamaño de partícula que los haga no inhalables, ya que

30 las partículas microfinas tienden a mostrar una fuerte adhesión y cohesión que a su vez dan lugar a propiedades de flujo pobres y a la agregación de polvo. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, las partículas inhalables de la invención se mezclan con uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño medio de partícula de 15 a 250  $\mu\text{m}$ .

35 Por lo tanto, de acuerdo con la invención, las partículas inhalables que comprenden una forma amorfa estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante, que es lactosa, se mezclan con uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño medio de partícula de 15 a 250  $\mu\text{m}$ . Estas partículas también se denominarán en el presente documento partículas mezcladas con uno o más excipientes gruesos.

40 Se ha encontrado que la forma amorfa estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante de la presente invención también permite obtener formulaciones de polvo seco con una fluidez aceptable usando solo ingredientes finos. Como se explicará a continuación con más detalle, esto se puede lograr preparando partículas inhalables mediante un método de secado adecuado a partir de soluciones de tiotropio y un agente estabilizante a una dilución apropiada.

45 Las partículas inhalables de la presente invención como se define anteriormente se pueden administrar a un paciente que padece una enfermedad respiratoria en forma de composición farmacéutica apropiada. De este modo, otro aspecto de la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden las partículas inhalables de la presente invención como se define anteriormente. Estas composiciones se describirán

50 adicionalmente a continuación.

Las partículas inhalables de la invención pueden prepararse convenientemente mediante un método de secado apropiado a partir de una solución o suspensión de agente estabilizante de tiotropio. Por lo tanto, otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para preparar partículas inhalables que comprende las siguientes etapas:

- 55
- a) disolver o dispersar el agente estabilizante en un disolvente volátil miscible en agua que contiene opcionalmente agua, para formar una solución o una suspensión;
  - b) disolver una sal de tiotropio, o un solvato de la misma, o cualquier forma sólida de la misma, en un disolvente volátil miscible en agua que contiene opcionalmente agua;
  - 60 c) mezclar la solución de la etapa b) y la solución o suspensión de la etapa a);
  - d) secar por pulverización la solución/suspensión de la etapa c) para obtener las partículas deseadas; y
  - e) mezclar las partículas de la etapa d) con uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño medio de partícula de 15 a 250  $\mu\text{m}$ .

65 Como se ha descrito previamente, las composiciones de la invención son útiles para el tratamiento de ciertas enfermedades respiratorias. Por lo tanto, otro aspecto de la presente invención se refiere a las partículas inhalables

como se define previamente, para su uso en el tratamiento del asma o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Por lo tanto, este aspecto se refiere al uso de las partículas inhalables como se define previamente, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del asma o la EPOC, y también se puede formular como un método para el tratamiento del asma o la EPOC que comprende administrar una cantidad efectiva de las partículas inhalables previamente definidas de la invención, que incluyen las partículas inhalables sin excipiente grueso, y las partículas inhalables con uno o más excipientes gruesos, en un sujeto que lo necesita.

Estos aspectos de la presente invención se describirán adicionalmente en la sección de descripción detallada que sigue. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que el que se entiende comúnmente por un experto en la materia a la que pertenece esta invención. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, la palabra "comprender" y sus variaciones no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas.

### Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 muestra los patrones de PXRD de bromuro de tiotropio sin tratar (A) y bromuro de tiotropio secado por pulverización después de su almacenamiento durante 6 meses a 25 °C (B).

La Fig. 2 muestra los patrones de PXRD de polvo de lactosa-bromuro de tiotropio secados por pulverización obtenidos a partir de soluciones de etanol-agua justo después del secado por pulverización (A) y después de su almacenamiento durante 6 meses a 25 °C (B).

La Fig. 3 muestra imágenes de SEM para polvos secados por pulverización obtenidos a partir de tiotropio-lactosa en solución a diferentes aumentos.

La Fig. 4 muestra imágenes de SEM para polvos secados por pulverización obtenidos a partir de tiotropio-lactosa en suspensión a diferentes aumentos.

### Descripción detallada de la invención

De acuerdo con la invención, un primer aspecto se refiere a partículas inhalables que comprenden una forma amorfa anhidra estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante como se define anteriormente.

El término tiotropio se refiere a cualquier sal farmacéuticamente aceptable que comprende tiotropio como catión de amonio libre y un anión como contraión. Las sales de tiotropio no limitantes que se pueden usar dentro del alcance de la presente invención son aquellos compuestos que contienen, por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro, metanosulfonato, para-toluenosulfonato, benzenosulfonato o sulfato de metilo. De acuerdo con la invención, el tiotropio presente en la forma amorfa estabilizada es anhidro. En una realización preferida, las partículas inhalables de la invención comprenden una forma amorfa estabilizada de una sal de tiotropio con un agente estabilizante. En una realización más preferida, la sal de tiotropio es bromuro de tiotropio. El término base de tiotropio se refiere a tiotropio como catión de amonio libre.

El agente estabilizante como se describe en la presente memoria, que es lactosa, debe ser capaz de estabilizar la sustancia activa. La lactosa se usa en las composiciones de acuerdo con la invención para prevenir o ralentizar la transformación física (es decir, de una forma amorfa a una forma cristalina) y/o la degradación química (por ejemplo, por hidrólisis, oxidación o cualquier otro mecanismo de degradación) del tiotropio. Significa que la transformación física del tiotropio amorfo o su degradación química durante el almacenamiento (por ejemplo, a 25 °C/60 % de HR, 30 °C/65 % de HR o 40 °C/75 % de HR) es más lenta cuando las partículas inhalables contienen agente estabilizante, que es lactosa, y tiotropio amorfo en su composición en comparación con partículas inhalables que contienen solo tiotropio amorfo.

De acuerdo con la presente invención, el agente estabilizante es lactosa (anhidra o monohidrato).

Dentro del alcance de la invención, el término "amorfo" significa que la formulación en polvo contiene menos del 10 % de fracciones cristalinas.

El término "inhalable" significa que las partículas son adecuadas para la administración pulmonar. Las partículas inhalables se pueden dispersar e inhalar por medio de un inhalador, de modo que las partículas entren en los pulmones y puedan desarrollar una actividad sistémica opcionalmente a través de los alvéolos. En una realización de la invención, las partículas inhalables que comprenden la matriz amorfa de tiotropio y el agente estabilizante tienen un tamaño medio de partículas aerodinámicas de hasta 10 µm. En una realización preferida, el tamaño medio de partícula aerodinámica está en el intervalo de 0,5-6 µm.

En una realización preferida, el % de bromuro de tiotropio en peso referido al peso de bromuro de tiotropio y agente estabilizante está comprendido entre 0,1-10 %, preferiblemente entre 4-8 %.

En la presente invención, las partículas inhalables comprenden una forma amorfa estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante. El término "forma amorfa estabilizada de tiotropio" como se describe en la invención se refiere a las composiciones obtenidas por los procesos de producción usados en el alcance de esta invención para obtener partículas inhalables que contienen un agente estabilizante y tiotropio amorfo.

5 El término "forma amorfa estabilizada" incluye ambas partículas, en la que la forma amorfa estabilizada de tiotropio con el agente estabilizante comprende:

10 a) una matriz en la que el tiotropio está íntimamente disperso en un estado molecular, es decir, partículas inhalables obtenidas secando una solución que contiene tanto el agente estabilizante como el tiotropio; y b) tiotropio amorfo dispersado en la superficie del agente estabilizante, es decir, el agente estabilizante está recubierto por una capa fina de tiotropio amorfo, en ese caso las partículas inhalables se obtienen secando una suspensión del agente estabilizante que contiene tiotropio en solución).

15 En ambos casos, es necesario el contacto directo entre el agente estabilizante y el tiotropio amorfo (es decir, un contacto íntimo entre las moléculas del agente estabilizante y tiotropio, o un contacto íntimo entre las partículas del agente estabilizante y la capa de recubrimiento amorfo de tiotropio) para obtener una forma amorfa estabilizada de tiotropio. Significa que se obtiene una mejor estabilidad del tiotropio amorfo cuando las partículas inhalables se obtienen usando procesos de producción como se describe en esta invención, en comparación con procesos de producción basados en el uso de una etapa de mezcla solamente, en la que el agente estabilizante se mezcla mecánicamente con partículas de tiotropio amorfo (es decir, usando un mezclador apropiado para mezclar polvos farmacéuticos).

20 Con el fin de obtener composiciones de inhalación con buenas propiedades de flujo, es necesario mezclar las partículas inhalables que comprenden una forma amorfa estabilizada de tiotropio y un agente estabilizante con uno o más excipientes gruesos.

30 Por tanto, dependiendo de la relación agente estabilizante de tiotropio, cuando la forma amorfa estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante comprende una matriz en la que el tiotropio está íntimamente disperso en un estado molecular, las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan a partir de las partículas obtenidas después de aplicar el método de secado adecuado, mezcladas convenientemente con uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño medio de partícula de 15 a 250  $\mu\text{m}$ .

35 Cuando la forma amorfa estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante comprende tiotropio amorfo dispersado en la superficie del agente estabilizante, las composiciones farmacéuticas de la invención deben prepararse a partir de las partículas obtenidas después de aplicar el método de secado adecuado, en el que las partículas se mezclan con uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño medio de partícula de 15 a 250  $\mu\text{m}$ .

40 En una realización preferida de la invención, solo se usa un excipiente grueso y preferiblemente tiene un tamaño medio de partícula que varía de 50-150  $\mu\text{m}$ .

45 El agente estabilizante, que es lactosa, y los excipientes gruesos pueden estar basados en sustancias químicamente idénticas o diferentes. En una realización particular, el agente estabilizante y el excipiente grueso comprenden el mismo compuesto químico. En una realización preferida, el agente estabilizante, así como el excipiente grueso, comprenden lactosa, opcionalmente en forma de monohidrato.

Las composiciones farmacéuticas de la invención preferiblemente comprenden del 0,02 al 0,8 % de base de tiotropio.

50 A menos que se indique lo contrario en el presente documento, los porcentajes dados dentro del alcance de la presente invención son siempre porcentajes en peso.

55 Preferiblemente, las composiciones de la invención están en forma de cápsula para inhalación. La cápsula puede estar formada por diversos materiales, tales como gelatina, derivados de celulosa, almidón, derivados de almidón, quitosano y plásticos sintéticos. En una realización preferida, la cápsula está formada por derivados de celulosa. Los ejemplos no limitantes de dichos derivados son hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), metilcelulosa, hidroximetilcelulosa o hidroxietilcelulosa. En una realización más preferida de la invención, la cápsula de inhalación comprende HPMC. En la realización más preferida, las cápsulas de HPMC muestran una humedad residual baja (contenido de agua por debajo del 4 %).

60 Las partículas inhalables de la invención pueden prepararse a partir de una solución o una suspensión del agente estabilizante en un disolvente adecuado. Una ventaja del presente método es que las composiciones farmacéuticas de la invención dan valores de pH neutros después de la disolución en agua. Esto es muy interesante en términos de tolerancia pulmonar ya que los valores neutros de pH de los pulmones no deberían modificarse después de la inhalación.

65 En caso de partir de una solución de agente estabilizante, el agente estabilizante se disuelve en un disolvente miscible con agua que contiene agua (solución de la etapa a), y esta solución se mezcla con la solución obtenida de

tiotropio en el mismo disolvente (solución de la etapa b). En este caso, como será obvio para una persona experta en la técnica, estas etapas pueden llevarse a cabo en cualquier orden con el fin de obtener una solución que comprenda tiotropio y el agente estabilizante.

Después de aplicar el método de secado adecuado, las partículas resultantes obtenidas comprenden una matriz en la cual el tiotropio está íntimamente disperso en un estado molecular en el agente estabilizante (es decir, se forma una matriz de lactosa que contiene tiotropio) para obtener un efecto de estabilización eficiente sobre el principio activo en una forma amorfa.

Cuando las partículas inhalables de la invención se preparan a partir de una suspensión del agente estabilizante, las etapas a) y b) se llevan a cabo preferiblemente por separado, y más preferiblemente, el agente estabilizante se dispersa y homogeneiza primero (por ejemplo, usando homogeneización a alta velocidad o a alta presión) para obtener una suspensión homogénea del agente estabilizante, antes de añadir la solución del principio activo (solución de la etapa b). En este caso, después de aplicar el método de secado adecuado, las partículas resultantes comprenden tiotropio amorfo dispersado en la superficie de las partículas del agente estabilizante. En este caso, el agente estabilizante preferiblemente está en forma de partículas que tienen un tamaño de partícula medio de 1-9  $\mu\text{m}$ .

El sistema disolvente utilizado para la preparación de las partículas inhalables descritas anteriormente comprende un disolvente volátil miscible en agua que contiene opcionalmente agua. Como se ha explicado anteriormente, la presencia de agua da lugar a soluciones del agente estabilizante, mientras que su ausencia da lugar a suspensiones de dicho agente. En caso de que se use una solución del agente estabilizante, dependiendo de la cantidad del agente estabilizante usado, se debe añadir un disolvente miscible en agua apropiado para solubilizar totalmente el agente estabilizante. Por otro lado, el principio activo siempre se disuelve. Preferiblemente, el disolvente miscible en agua volátil es un alcohol ( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ). El término alcohol ( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ) se refiere a una cadena de alquilo lineal o ramificada que comprende de 1 a 4 átomos de carbono y uno o más grupos hidroxilo. Este término incluye, sin limitación, metanol, etanol, propanol, isopropanol y butanol. En una realización preferida de la invención, el disolvente de alcohol usado es etanol o isopropanol.

El método de secado utilizado es secado por pulverización. Este método permite contribuir a obtener un control preciso del tamaño medio de partícula y la distribución del tamaño de partícula, y también la mejora de las propiedades macroscópicas del polvo tales como la fluidez y la dispersabilidad. Un secador por pulverización típico permite la recuperación de un rango de tamaños de partícula de 0,5 a 30  $\mu\text{m}$ . La limitación más baja viene dada por la separación del ciclón utilizado: las partículas más pequeñas no se pueden separar más y van al filtro.

Los procesos descritos para la preparación de partículas inhalables tienen la ventaja de que evitan la micronización usando un proceso más reproducible, ya que la micronización es un método poco reproducible y altamente dependiente de las propiedades físicas del material de partida. En el caso de la presente invención, el material de partida (compuesto de tiotropio) puede estar en cualquier forma física, ya que en primer lugar se disuelve. De este modo, el compuesto de tiotropio de partida puede ser cualquier sal de tiotropio o un solvato de las mismas, o cualquier forma sólida de las mismas, incluyendo el racemato o cualquier enantiómero de las mismas o mezclas de las mismas.

Como se ha mencionado anteriormente, las partículas inhalables de la invención muestran una fracción de partículas finas mejorada. El término "fracción de partículas finas" (FPF) describe la parte inhalable de un polvo. La FPF es la dosis (expresada en % en peso) de partículas que tienen un diámetro aerodinámico inferior a 5  $\mu\text{m}$  en relación con la dosis nominal (dosis de partícula fina/dosis cargada x 100). La Dosis de Partículas Finas (DPF) puede determinarse por los métodos descritos en la USP y en la Farmacopea Europea para la evaluación aerodinámica de partículas finas. En polvo que sea bien dispersable, la FPF es superior al 20 %, preferiblemente superior al 30 %. El término "diámetro de partícula aerodinámico medio" también conocido como diámetro aerodinámico mediano másico (DAMM) indica el tamaño de partícula aerodinámico al cual el 50 % de las partículas del polvo tienen un diámetro aerodinámico más pequeño.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines ilustrativos, y no pretenden ser limitantes de la presente invención.

#### Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La determinación del contenido de tiotropio en las formulaciones secadas por pulverización y las mezclas finales de tiotropio-lactosa se llevó a cabo por HPLC.

El sistema HPLC consistió en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (serie HP 1200, tecnologías Agilent, Bélgica), equipado con una bomba cuaternaria, un muestreador automático y un detector UV de matriz de diodos a 238 nm. El sistema de separación era una columna C18 de fase inversa de acero inoxidable (5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula) de 125 mm x 4 mm (Alltima, Alltech, Bélgica). Se inyectaron muestras de 100  $\mu\text{l}$  de volumen. La

temperatura se ajustó a 35 °C y el caudal fue de 0,8 ml/min. El tiempo de ejecución total fue de 10 minutos.

- *Tampón:* KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mM ajustado a pH 4 con ácido o-fosfórico.
  - *Fase móvil:* 80 vol. de tampón de fosfato: 20 vol. de acetonitrilo.
- 5 – *Fase de dilución:* 75 vol. de agua: 25 vol. de metanol

En la tabla 1 se muestran las soluciones patrón que contienen tiotropio.

#### Soluciones patrón

10

S1: 2,5 mg de monohidrato de Br de tiotropio en 10 ml de metanol (= 200 µg/ml de base de tiotropio)  
S2: 1,0 ml de solución S1 en 25 ml de fase de dilución (= 8 µg/ml)

Tabla 1

Patrones	Vol S2 (ml)/Volumen total (ml)	Conc. de base de tiotropio (µg/ml)
1	0,250/100	0,02
2	0,250/50	0,04
3	0,200/20	0,08
4	0,400/20	0,16
5	1,0/20	0,40
6	2,0/20	0,80
7	4,0/20	1,60
8	5,0/20	2,00

15

#### Preparación de formulaciones de tiotropio estables mediante secado por pulverización

a) Preparación de partículas inhalables que comprenden bromuro de tiotropio y lactosa microfina (Lactochem, Borculo, tamaño medio de partícula de aproximadamente 8 µm)

20

Las formulaciones se prepararon, a escala de laboratorio, mediante secado por pulverización usando un Mini secador por pulverización Büchi B-191a (Büchi laboratory-Techniques, Suiza). Se prepararon diferentes soluciones y suspensiones en etanol o isopropanol que contenían o no cantidades diferentes de agua.

25

En primer lugar, la lactosa se disolvió o dispersó en el medio disolvente para obtener soluciones (en presencia de cantidades suficientes de agua) o suspensiones (en ausencia de agua). Luego, se disolvió bromuro de tiotropio en el medio disolvente y se mezclaron las soluciones o suspensión y solución obtenidas. En ausencia de agua, la lactosa se dispersó y se homogeneizó en primer lugar (por ejemplo, utilizando homogeneización a alta velocidad o a alta presión) para obtener una suspensión homogénea, antes de añadir la solución de tiotropio.

30

Las preparaciones se secaron luego por pulverización con agitación constante. Durante el secado por pulverización se usaron las siguientes condiciones: flujo de aire de pulverización, 800 l/h; flujo de aire de secado, 35 m<sup>3</sup>/h; velocidad de alimentación de la suspensión, 3,5-4,0 g/min; tamaño de la boquilla, 0,5 mm. La temperatura de entrada se estableció a 70 °C o 120 °C (en presencia de agua) y, en estas condiciones, la temperatura de salida varió entre 44° y 46 °C o 65 °C y 68 °C. El polvo resultante se sopó a través del separador de ciclón y se recogió en un recipiente. Los polvos se almacenaron en desecadores en diferentes condiciones de temperatura (25 °C, 40 °C y 60 °C).

35

Siguiendo este proceso, se obtuvieron los siguientes ejemplos:

40

#### Ejemplo 1: Solución de tiotropio - lactosa en etanol - agua

Etanol	100 g
Agua	100 g
Lactosa Microfina	4,480 g
Monohidrato de bromuro de tiotropio	0,360 g

#### Ejemplo 2: Solución de tiotropio - lactosa en isopropanol - agua

45

Isopropanol	100 g
Agua	100 g
Lactosa Microfina	4,480 g
Monohidrato de bromuro de tiotropio	0,360 g

Ejemplo 3: Suspensiones de tiotropio - lactosa en etanol

Etanol	200 g
Lactosa Microfina	4,480 g
Monohidrato de bromuro de tiotropio	0,360 g

Ejemplo 4: Suspensiones de tiotropio - lactosa en isopropanol

5

Isopropanol	200 g
Lactosa Microfina	4,480 g
Monohidrato de bromuro de tiotropio	0,360 g

Ejemplo 5: Solución de tiotropio - lactosa en etanol - agua

Etanol	100 g
Agua	100 g
Lactosa monohidratada de malla 200 (tamaño de partícula medio de aproximadamente 74 µm)	4,480 g
Monohidrato de bromuro de tiotropio	0,360 g

10 Ejemplo 6: Solución de tiotropio - lactosa en isopropanol - agua

Isopropanol	100 g
Agua	100 g
Lactosa monohidratada de malla 200 (tamaño de partícula medio de aproximadamente 74 µm)	4,480 g
Monohidrato de bromuro de tiotropio	0,360 g

Ejemplo 7: Solución de tiotropio - lactosa en etanol - agua

Etanol	500 g
Agua	500 g
Lactosa Microfina	88,02 g
Monohidrato de bromuro de tiotropio	0,360 g

15

b) Preparación de partículas inhalables obtenidas en la etapa a) mezcladas con un excipiente grueso: lactosa monohidratada de malla 200 (tamaño de partícula medio de aproximadamente 74 µm) o lactosa anhidra secada en rodillos (tamaño medio de partícula de aproximadamente 120 µm)

20 Para este fin, se usó una mezcladora de movimiento tridimensional bien conocida a escala de laboratorio: Turbula 2C (Bachofen AG, Suiza). Un recipiente de plástico de polietileno no reticulado de 50 ml se llenó hasta el 50 % de su volumen interno y la mezcla (aproximadamente 20 g) se realizó a velocidades de mezcla de 46,2 rpm.

25 Aproximadamente se añadió primero el 25 % de lactosa para recubrir las paredes de la taza del mezclador con el fin de reducir la adhesión adicional del fármaco. Luego se añadió el polvo secado por pulverización obtenido en la etapa a) y se mezcló manualmente con lactosa. Luego se añadió el resto de la lactosa y se llevó a cabo la mezcla durante aproximadamente 30 minutos.

30 El Ejemplo 1 se mezcló con el excipiente grueso (lactosa monohidratada y lactosa anhidra) para dar lugar a los lotes 1A (ejemplo 8) y 1B (ejemplo 9), respectivamente.

El Ejemplo 3 se mezcló con el excipiente grueso (lactosa monohidratada y lactosa anhidra) para dar lugar a los lotes 3A (ejemplo 10) y 3B (ejemplo 11), respectivamente.

Ejemplo 8: Operación de mezcla (Turbula) - lactosa monohidratada

35

Polvo secado por pulverización obtenido como en la etapa a) del Ejemplo 1	1,200 g
Lactosa monohidratada (74 µm, DMV)	20,810 g
Peso total	22,010 g

Ejemplo 9: Operación de mezcla (Turbula) - lactosa anhidra

Polvo secado por pulverización obtenido como en la etapa a) del Ejemplo 1	1,200 g
Lactosa anhidra (120 µm, DMV)	20,810 g
Peso total	22,010 g

Ejemplo 10: Operación de mezcla (Turbula) - lactosa monohidratada

Polvo secado por pulverización obtenido como en la etapa a) del Ejemplo 3	1,200 g
Lactosa monohidratada (74 µm, DMV)	20,810 g
Peso total	22,010 g

5 Ejemplo 11: Operación de mezcla (Turbula) - lactosa anhidra

Polvo secado por pulverización obtenido como en la etapa a) del Ejemplo 3	1,200 g
Lactosa anhidra (120 µm, DMV)	20,810 g
Peso total	22,010 g

Composición final unitaria de los ejemplos anteriores

Tiotropio (base)	18 µg
Lactosa monohidratada (agente estabilizante)	0,2775 mg
Lactosa monohidratada o anhidra (excipiente grueso)	5,2025 mg

10 En estos ejemplos, el contenido final de bromuro de tiotropio fue de aproximadamente el 0,39 % (alrededor del 0,33 % para la base de tiotropio) en peso en lo que se refiere a la composición total.

15 Difracción de rayos X en polvo (XRPD)

Los patrones de Difracción de Rayos X en Polvo (XRPD) se obtuvieron usando un Siemens Diffractometer D5000 (Siemens, Alemania), con una línea de Cu como fuente de radiación (WL1 = 1,5406 Å, WL2 = 1,54439 Å), y experimentos convencionales usando una tensión de 40 kV, una corriente de 40 mA y una velocidad de barrido de 0,02°/min en un rango de 2 θ a 2° a 70°.

20 En las Figs. 1A y 2A, el análisis de PXRD mostró que el proceso de secado por pulverización permitía transformar tanto una solución de bromuro de tiotropio solo como una solución de lactosa-bromuro de tiotropio, de acuerdo con la composición descrita en el ejemplo 1, en una forma amorfa. Sin embargo, como se muestra en la Fig. 1B, el bromuro de tiotropio secado por pulverización amorfo no era estable, ya que la forma amorfa se transformó en tiotropio cristalino durante el almacenamiento. Por el contrario, como se muestra en la Fig. 2B, la presencia de lactosa en los polvos secados por pulverización permite estabilizar el tiotropio como una forma amorfa de tiotropio-lactosa incluso después del almacenamiento.

30 Análisis del tamaño de partícula

El tamaño de partícula se midió mediante una técnica basada en la dispersión de luz láser. La distribución del tamaño de partícula volumétrica se midió con un difractor láser Malvern Mastersizer 2000® usando un sistema de muestreo en seco (Scirocco 2000, Malvern, RU) con un POE (Procedimiento operativo estándar) adecuado. La distribución del tamaño de partícula se caracteriza por el diámetro medio en volumen-masa (d(0,5)), es decir, el tamaño en micrómetros al que el 50 % de la muestra es más pequeño y el 50 % es mayor y el diámetro medio del volumen másico (D[4,3]). Los valores presentados son el promedio de al menos 3 determinaciones.

El análisis del tamaño de partícula mostró que ambas formulaciones secadas por pulverización obtenidas a partir de lactosa en solución (Ejemplo 1) y en suspensión (Ejemplo 3) presentaban propiedades de tamaño de partícula apropiadas para la administración al pulmón profundo.

45 De hecho, los diámetros medios en volumen d(0,5) para las formulaciones de solución y suspensión fueron de 2,9 µm y 3,0 µm respectivamente, y el diámetro medio en volumen D[4,3] para las mismas formulaciones fue de 10,3 µm y 10,5 µm, respectivamente. Además, más del 70 % de las partículas presentaban un tamaño de partícula inferior a 5,0 µm, que generalmente se considera el límite de tamaño para una buena penetración pulmonar.

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

50 La evaluación del tamaño de partícula y la morfología se logró mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), usando un microscopio JSM-610 (Jeol, Japón). Las muestras se dispersaron sobre una película delgada de una

resina epoxi de dos componentes y luego se recubrieron con una capa de platino. La aceleración durante la observación fue de 25 kV.

5 La Fig. 3 muestra imágenes de SEM para polvos secados por pulverización obtenidos a partir de tiotropio-lactosa en solución, de acuerdo con la composición descrita en el ejemplo 1 a diferentes aumentos.

La Fig. 4 muestra imágenes de SEM para polvos secados por pulverización obtenidos a partir de tiotropio-lactosa en suspensión, de acuerdo con la composición descrita en el ejemplo 3 a diferentes aumentos.

10 La morfología y la estructura superficial de las formulaciones analizadas por SEM mostraron que los polvos secados por pulverización consistían en aglomerados sueltos. El tamaño de los aglomerados variaba hasta aproximadamente 100-500  $\mu\text{m}$ . A mayores aumentos, podemos observar que estos aglomerados están compuestos de pequeñas partículas de aproximadamente el rango de micrómetros y que tienen una forma esférica más homogénea en el caso del polvo obtenido a partir de soluciones en lugar de a partir de suspensiones.

15 Evaluación de la homogeneidad de la distribución del fármaco en polvos secados por pulverización y en mezclas finales de tiotropio y lactosa

20 La homogeneidad de la distribución del fármaco se evaluó a partir de HPLC, usando el método descrito anteriormente.

25 Los resultados mostrados en la tabla 2 mostraron datos referidos a la muestra ponderada (dosis unitaria en cápsula), la concentración de tiotropio en solución inyectada a partir del análisis de HPLC, y las cantidades de tiotropio en las formulaciones secadas por pulverización expresadas en mg/g y en porcentaje. Estos datos muestran una distribución de fármaco relativamente homogénea para dos lotes secados por pulverización, que muestran contenidos de fármaco apropiados de aproximadamente el 7 % y el 6,7 % para soluciones secadas por pulverización que contienen etanol-agua e isopropanol-agua.

Tabla 2

	9	mg/l	mg/g	%
Ejemplo 1	0,00506	3,6076	71,2957	<b>7,1</b>
	0,00500	3,5169	70,3380	<b>7,0</b>
	0,00500	3,2894	65,7886	<b>6,6</b>
Ejemplo 2	0,00506	3,1509	62,2708	<b>6,2</b>
	0,00504	3,4112	67,6827	<b>6,8</b>
	0,00510	3,4286	67,2278	<b>6,7</b>

30 Evaluación aerodinámica *in vitro*

35 La distribución aerodinámica del tamaño de partícula para las nuevas formulaciones de tiotropio se determinó usando un Multi-Stage Liquid Impinger (MsLI). Se equipó un dispositivo de inhalación de polvo seco (Fantasmino®) con una cápsula de HPMC n.º 3 (Capsugel, Francia). El caudal se ajustó a una caída de presión de 4 kPa, como es típico para la inspiración de un paciente, lo que da como resultado un caudal de 100 l/min durante 2,4 segundos. Se tomaron cinco cápsulas cargadas con 5,5 mg de polvo (18  $\mu\text{g}$  de tiotropio) para cada prueba. La deposición de fármaco en el dispositivo, la garganta, las cuatro etapas y el filtro (etapa 5) se determinó mediante análisis de cromatografía líquida de alta presión (HPLC). En aras de la precisión, cada prueba se repitió tres veces.

40 La distribución aerodinámica del tamaño de partícula para el producto de referencia Spiriva® se determinó utilizando el MsLI con el dispositivo Handihaler® y que contiene cápsulas de gelatina. El caudal fue de 60 l/min durante 4 segundos.

45 Los resultados indicaron que la DPF, que corresponde aproximadamente a la deposición del fármaco en las etapas 3, 4 y el filtro (diámetros de corte de 5,27  $\mu\text{m}$ , 2,40  $\mu\text{m}$  y 1,32  $\mu\text{m}$ , respectivamente), varió dentro de un rango de 4,9  $\mu\text{g}$  (FPF del 27 %) y 6,4  $\mu\text{g}$  (FPF del 35 %) para las formulaciones desarrolladas. Estos resultados mostraron valores de DPF significativamente más altos en comparación con el producto de referencia. De hecho, el valor de DPF obtenido para Spiriva® fue de 1,6  $\mu\text{g}$  que corresponde a una FPF del 8,9 %.

50 Tabla 3

	Ejemplo 8		Ejemplo 9		Ejemplo 10		Spiriva	
	Media	D.T.	Media	D.T.	Media	D.T.	Media	D.T.
<b>Dispositivo</b>	1,34	0,1	2,48	1,7	1,56	0,8	6,20	0,8
<b>Garganta</b>	0,77	0,2	0,48	0,2	0,37	0,4	0,07	0,1
<b>1</b>	0,57	0,5	0,38	0,4	0,24	0,2	0,00	0,0
<b>2</b>	1,26	0,2	0,97	0,1	1,29	0,2	0,09	0,2
<b>3</b>	3,21	0,7	3,22	0,3	3,89	1,1	1,48	0,6

<b>4</b>	2,28	0,2	1,68	0,3	2,15	1,9	0,15	0,1
<b>Filtro</b>	0,46	0,1	0,21	0,0	0,60	0,1	0,00	0,0
<b>DPF</b>	<b>5,76</b>	<b>0,5</b>	<b>4,93</b>	<b>0,5</b>	<b>6,39</b>	<b>1,0</b>	<b>1,59</b>	<b>0,6</b>
<b>Recuperación</b>	<b>9,9</b>	<b>3,0</b>	<b>9,4</b>	<b>3,0</b>	<b>10,1</b>	<b>5,3</b>	<b>8,0</b>	<b>3,4</b>
<b>FPF</b>	<b>32,0</b>	<b>0,6</b>	<b>27,4</b>	<b>1,3</b>	<b>35,5</b>	<b>1,0</b>	<b>8,9</b>	<b>1,1</b>

#### Evaluación preliminar de la estabilidad de las nuevas formulaciones

- 5 Se colocaron tres formulaciones mixtas de monohidrato de lactosa-tiotropio grueso que presentaban homogeneidad, concretamente los ejemplos 8, 9 y 10, en recipientes bien cerrados y se almacenaron durante 15 días y 1 mes a 25 °C (temperatura ambiente), 40 °C y 60 °C. El contenido de tiotropio de las diferentes muestras se evaluó mediante análisis de HPLC como se describe a continuación en los diferentes tiempos de almacenamiento y se comparó con el del producto de referencia Spiriva®.
- 10 Los resultados obtenidos mostraron que los 3 lotes presentan una estabilidad aceptable hasta 30 días de almacenamiento a las 3 temperaturas de almacenamiento. El contenido de tiotropio de las nuevas formulaciones fue comparable al del producto de referencia.
- 15 En la tabla 4 se muestran los valores de estabilidad de diferentes formulaciones a los 30 días y a 25 °C, 40 °C y 60 °C. En particular, se proporciona una indicación sobre el porcentaje del contenido de tiotropio determinado por HPLC, así como los valores de desviación típica (DT).

Tabla 4

#### **Prueba de estabilidad a 25 °C**

<b>Tiempo (días)</b>	<b>Producto de referencia</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 8</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 9</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 10</b>	<b>D.T.</b>
<b>0</b>	98,2	10,2	102,8	24,9	102,2	16,1	103,8	16,1
<b>15</b>	96,5	4,6	96,1	5,5	101,3	9,2	100,7	7,8
<b>30</b>	111,1	4,1	104,2	9,0	95,0	6,0	-	-

#### **Prueba de estabilidad a 40 °C**

<b>Tiempo (días)</b>	<b>Producto de referencia</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 8</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 9</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 10</b>	<b>D.T.</b>
<b>0</b>	98,2	10,2	102,8	24,9	102,2	16,1	103,8	16,1
<b>15</b>	95,1	0,2	97,9	9,8	103,2	3,9	108,4	35,1
<b>30</b>	96,9	14,4	106,2	2,9	102,8	3,4	-	-

#### **Prueba de estabilidad a 60 °C**

<b>Tiempo (días)</b>	<b>Producto de referencia</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 8</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 9</b>	<b>D.T.</b>	<b>Ejemplo 10</b>	<b>D.T.</b>
<b>0</b>	98,2	10,2	102,8	24,9	102,2	16,1	103,8	16,1
<b>15</b>	91,3	2,1	102,3	14,1	96,9	7,5	117,6	19,3
<b>30</b>	93,7	3,1	102,5	8,0	115,5	6,3	-	-

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Partículas inhalables que comprenden una forma amorfa anhidra estabilizada de tiotropio con un agente estabilizante, que es lactosa, en donde la forma amorfa estabilizada de tiotropio con el agente estabilizante comprende una matriz en la que el tiotropio se dispersa en un estado molecular o en donde la forma amorfa estabilizada de tiotropio con el agente estabilizante comprende tiotropio amorfo dispersado en la superficie del agente estabilizante, y en donde las partículas están mezcladas con uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño medio de partícula de 15 a 250 µm.
- 10 2. Partículas inhalables de acuerdo con la reivindicación 1, en las que el tiotropio comprende bromuro de tiotropio.
3. Partículas inhalables de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, que tienen un tamaño medio de partículas aerodinámicas de hasta 10 µm.
- 15 4. Partículas inhalables de acuerdo con la reivindicación 1, en las que el excipiente grueso es lactosa.
5. Una composición farmacéutica que comprende partículas inhalables de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4.
- 20 6. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el contenido de base de tiotropio es del 0,02 al 0,8 %.
7. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-6, en forma de una cápsula para inhalación.
- 25 8. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la cápsula comprende hidroxipropilmetilcelulosa.
- 30 9. Un proceso para preparar partículas inhalables de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende las siguientes etapas:
- 35 a) disolver o dispersar el agente estabilizante en un disolvente volátil miscible en agua que contiene opcionalmente agua para formar una solución o una suspensión;
- b) disolver una sal de tiotropio, o un solvato de la misma, o cualquier forma sólida de la misma, en un disolvente volátil miscible en agua que contiene opcionalmente agua;
- c) mezclar la solución de la etapa b) y la solución o la suspensión de la etapa a);
- d) secar por pulverización la solución/suspensión de la etapa c) para obtener las partículas deseadas; y
- 40 e) mezclar las partículas de la etapa d) con uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño medio de partícula de 15 a 250 µm.
10. El proceso de la reivindicación 9, en el que cuando en la etapa a) se forma una suspensión, el disolvente utilizado no contiene agua y el agente estabilizante está en forma de partículas que tienen un tamaño medio de partícula de 1-9 µm.
- 45 11. Las partículas inhalables como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en el tratamiento de asma o de enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

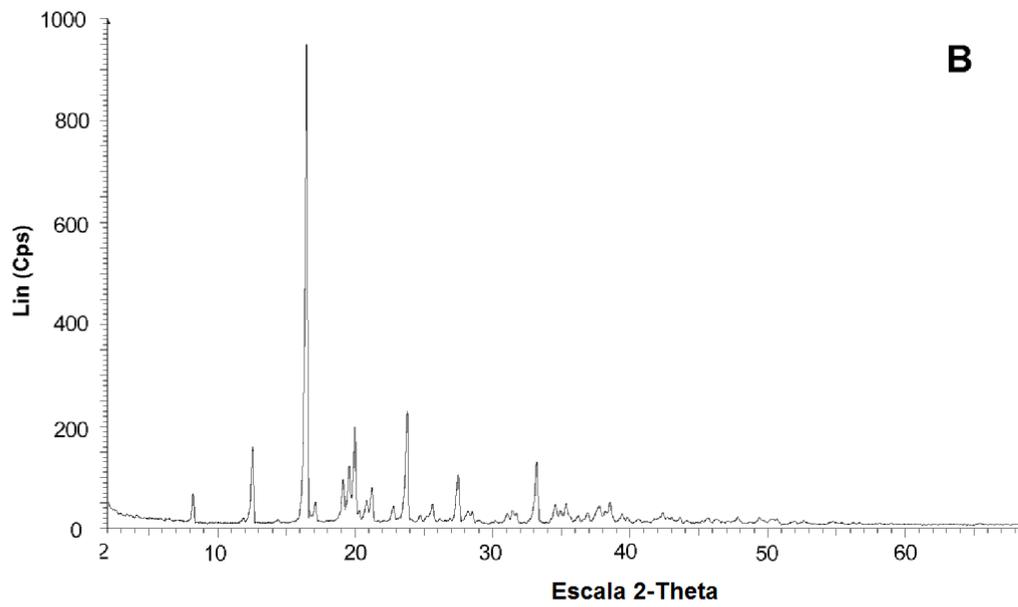
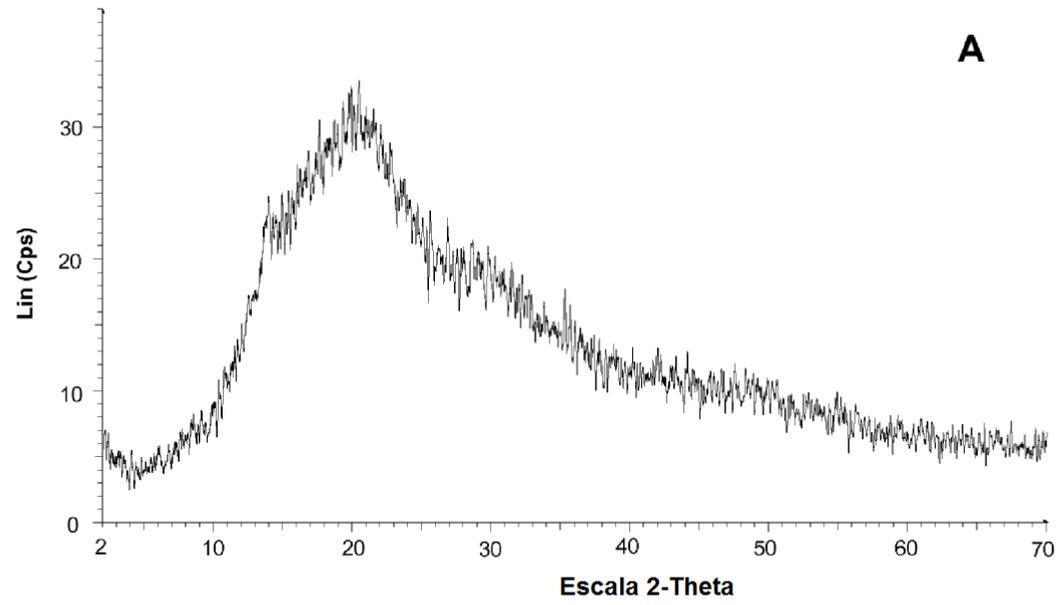


FIG. 1

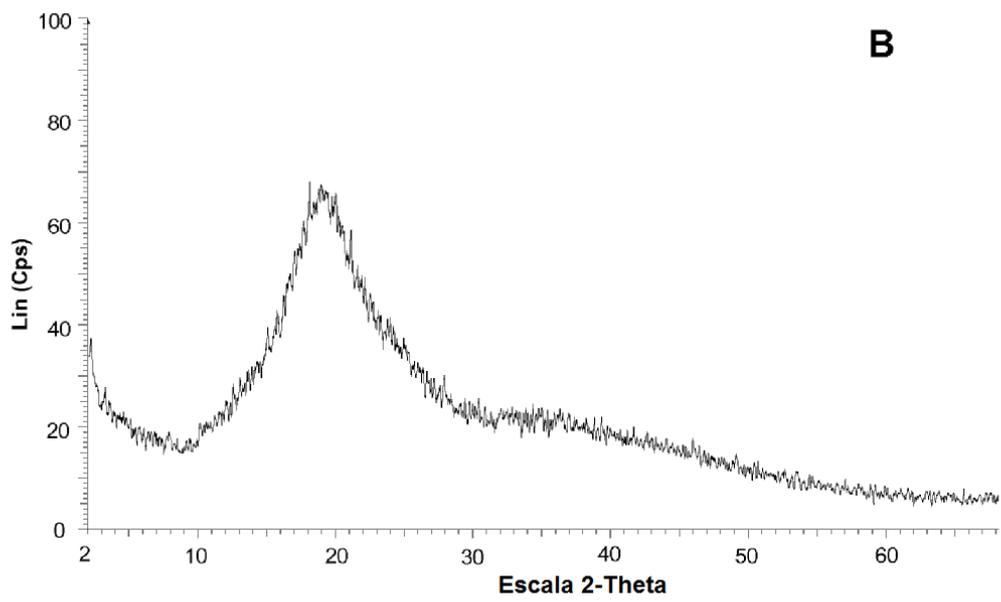
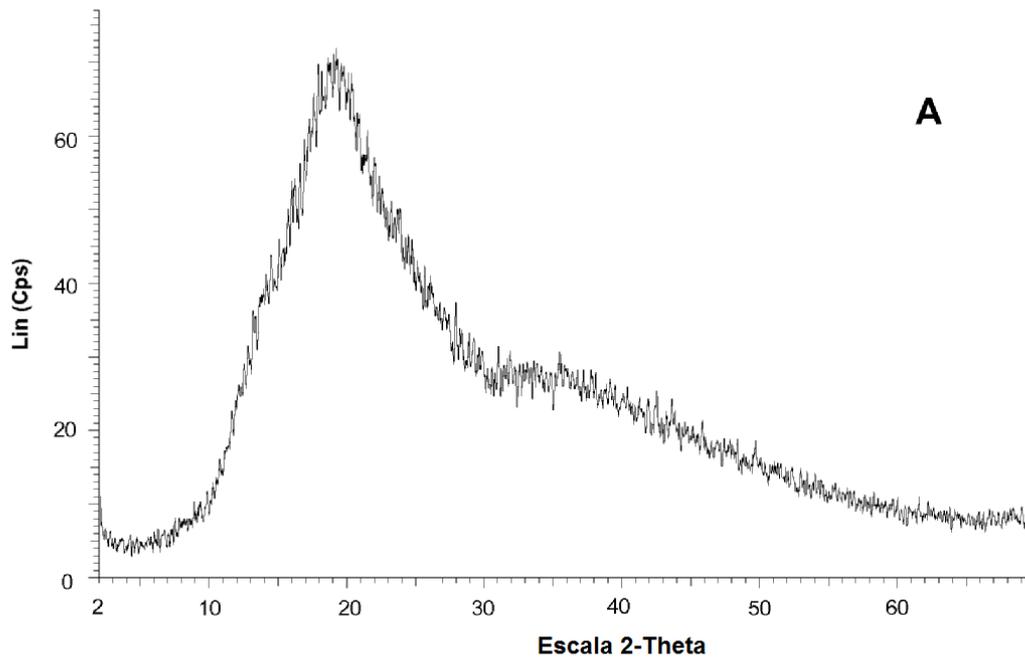


FIG. 2

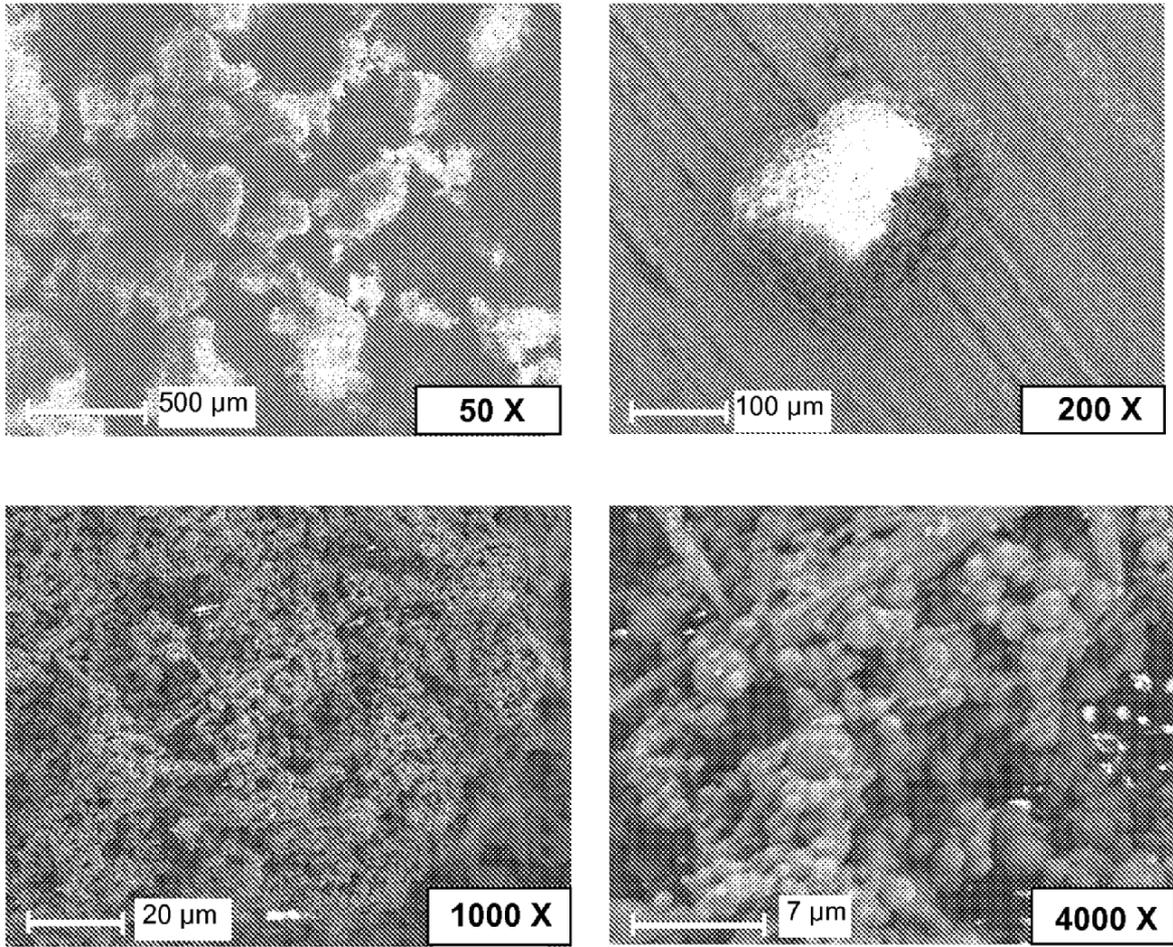


FIG. 3

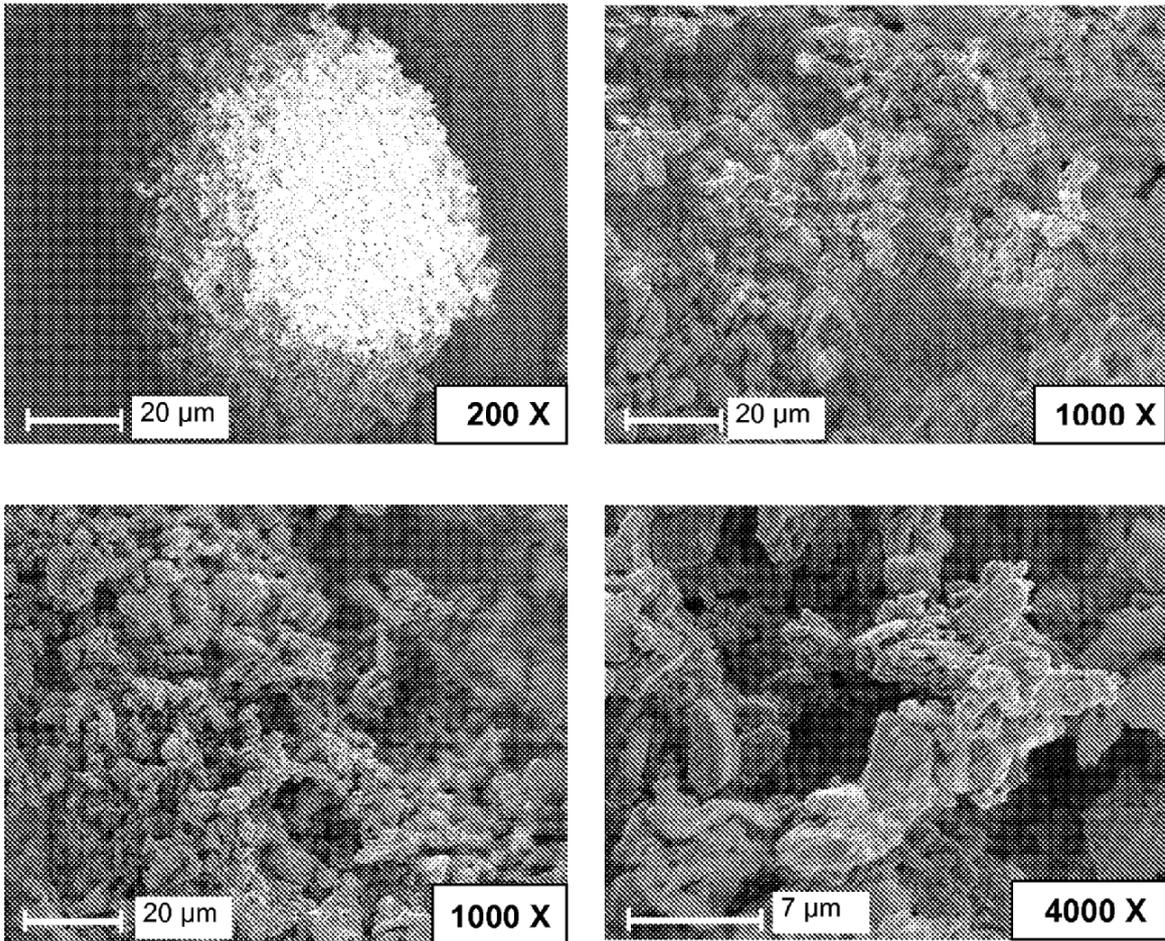


FIG. 4