

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 713 326**

51 Int. Cl.:

A61K 9/107	(2006.01)
A61K 47/44	(2007.01)
A61K 47/26	(2006.01)
A61K 47/10	(2007.01)
A61K 47/14	(2007.01)
A61K 38/13	(2006.01)
A61P 27/02	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.05.2014 PCT/KR2014/004489**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.11.2014 WO14189251**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2014 E 14801762 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018 EP 3000474**

54 Título: **Composición de gotas oftálmicas de nanoemulsión que contiene ciclosporina y método de preparación de la misma**

30 Prioridad:

20.05.2013 KR 20130056561
13.03.2014 KR 20140029939

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.05.2019

73 Titular/es:

TAEJOON PHARM. CO., LTD. (100.0%)
8 Daesagwan-ro 31-gil Yongsan-gu
Seoul 140-887, KR

72 Inventor/es:

LEE, JOON YOUB;
SHIN, YOUN JAE y
RYU, SANG-ROK

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 713 326 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

Composición de gotas oftálmicas de nanoemulsión que contiene ciclosporina y método de preparación de la misma

5 [Campo técnico]

La presente divulgación se refiere a una composición de nanoemulsión oftálmica y un método de preparación de la misma que aumenta la solubilidad de la ciclosporina como ingrediente activo y mejora la estabilidad de la composición oftálmica mezclando ciclosporina, un solvente no acuoso, un emulsionante y un solvente acuoso, y el uso de la composición en un método de prevención o tratamiento de enfermedades oculares.

[Técnica antecedente]

15 Un fármaco inmunosupresor es un medicamento usado para la terapia inmunosupresora mediante la prevención o inhibición de la inmunorreactividad anormal. El fármaco inmunosupresor se está usando actualmente como agente terapéutico para diversas enfermedades, incluido el rechazo del trasplante después del trasplante de órganos y tejidos; enfermedad intestinal inflamatoria tal como la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn; artritis reumatoide; síndrome de Behcets; dermatosis inflamatoria o alérgica, tal como la psoriasis o la dermatitis atópica; enfermedad respiratoria inflamatoria o alérgica, tal como enfermedad pulmonar obstructiva crónica o asma; lupus eritematoso sistémico; esclerodermia; síndrome de Sjogren; y síndrome del ojo seco entre otros.

25 El síndrome de Sjogren es una enfermedad inflamatoria crónica de la glándula exocrina y, específicamente, se caracteriza por la disminución de la generación de saliva y desgarro a través de la destrucción de los tejidos normales de la glándula salival y la glándula lagrimal. La causa del síndrome de Sjogren no se ha revelado por completo, pero los factores genéticos, tal como los antecedentes familiares, los virus, las citocinas y los anticuerpos autoinmunes, se reportan como las causas del síndrome de Sjogren. Actualmente, la ciclosporina, que es un fármaco inmunosupresor, se usa para tratar el síndrome de Sjogren, y los fármacos antiinflamatorios no esteroides o esteroides se usan junto con la ciclosporina cuando el síntoma es grave.

30 Los pacientes con síndrome de ojo seco o queratoconjuntivitis sicca (KCS) inmunitaria generalmente se quejan de dolor, sequedad, sensación de cuerpo extraño y sensación de escozor en los ojos. Adicionalmente, es incómodo abrir los ojos porque los ojos se fatigan con facilidad y, de este modo, se sienten cómodos cuando los ojos están cerrados y los síntomas son graves cuando están abiertos. Los ojos estaban ligeramente inyectados de sangre en apariencia externa y los pacientes se quejan de dolor de cabeza cuando los síntomas son graves. Este síndrome del ojo seco se produce debido a la deficiencia de lágrimas causada por la generación insuficiente y la evaporación excesiva de las lágrimas, el desequilibrio de los componentes de las lágrimas, la inflamación del ojo o el daño en las células epiteliales intraoculares. Dentro de los fármacos actuales, son representativos un suplemento para el síndrome del ojo seco (por ejemplo, lágrimas artificiales) que mejora temporalmente la sequedad y la sensación de cuerpo extraño y la ciclosporina como agente terapéutico que aumenta la secreción de lágrimas a través del efecto inmunosupresor en el ojo seco.

45 Las ciclosporinas son polipéptidos que constan de 11 aminoácidos y presentan una potente actividad inmunosupresora al inhibir la proliferación y diferenciación de las células T. La Patente de los Estados Unidos No. 4,839,342 describe la actividad inmunosupresora de la ciclosporina, así como la revelación de que las ciclosporinas son fármacos efectivos para tratar la queratoconjuntivitis sicca (KCS) inmune.

El sirolimus, el tacrolimus y sus derivados distintos de las ciclosporinas se conocen como preparaciones oftálmicas.

50 Las ciclosporinas tienen una estructura cíclica que comprende siete aminoácidos N-metilados y cuatro aminoácidos no-N-metilados, y hay ciclosporina A, ciclosporina B, ciclosporina C, ciclosporina D y ciclosporina G entre otras según la estructura del residuo de aminoácido constituyente, y en la práctica, la ciclosporina A, de la cual la actividad farmacológica y los casos clínicos se revelan más que el resto, se estudia más ampliamente. La atracción intramolecular de las ciclosporinas es fuerte y la interacción con la molécula de agua es relativamente difícil y, de este modo, las ciclosporinas son fármacos poco solubles en agua que apenas se disuelven en agua. La solubilidad en agua de las ciclosporinas se conoce como de aproximadamente 20 µg/ml a 30 µg/ml, y es muy difícil preparar una composición de medicamento soluble en agua con ciclosporina que tenga una solubilidad en agua tan baja.

60 Restasis™, que actualmente se vende como una composición oftálmica de ciclosporina, es una emulsión opaca de color lechoso y tiene características de inducción de sensación de ardor acompañada de inyección conjuntival, prurito, visión borrosa y sensación de cuerpo extraño cuando se administra a los ojos. Por lo tanto, el propósito de diseñar una preparación oftálmica de tipo emulsión que contenga la ciclosporina poco soluble en agua como ingrediente activo es mejorar de manera estable la solubilidad en agua de la ciclosporina y minimizar los síntomas desagradables de la administración oftálmica al mejorar la irritación, la sensación de cuerpo extraño y la sensación de ardor, dolor, hiperemia, visión borrosa y prurito.

65

Las emulsiones oftálmicas existentes generalmente contienen 2 o más ingredientes inmiscibles en una única composición, y de este modo es común formar 2 fases separadas en una composición.

5 Termodinámicamente, la emulsión se encuentra en estado inestable y tiende a separarse en diversas fases a través de vías tales como la floculación, la sedimentación, la formación de cremas, la maduración de ostwald y la coalescencia, entre otras. Las investigaciones sobre la nanoemulsión en las que su tamaño de partícula se reduce al tamaño nanométrico se han realizado activamente para resolver la inestabilidad de la emulsión. En términos de un procedimiento de preparación, las emulsiones conocidas, tales como Restasis™, se preparan usando un aparato de tipo agitador de alta velocidad o un aparato de tipo cizalla de alta velocidad, tal como un homogeneizador de alta presión o un microfluidizador que proporciona gran fuerza física a las composiciones, mientras que la preparación de la emulsión.

10 Como se describe en la Publicación de la Patente Coreana No. 10-2008-0030828, este procedimiento de preparación requiere grandes instalaciones de fabricación y grandes gastos, y difícilmente se aplica a ingredientes sensibles al calor debido a la elevación sustancial de la temperatura causada por las energías entregadas a la emulsión durante la fabricación. También, la emulsión de ciclosporina preparada mediante este procedimiento se floculó rápidamente debido al tamaño desigual de la gota de aceite y, de este modo, el procedimiento de formación de crema se acelera y afecta la estabilidad a largo plazo. Además, existe una dificultad para asegurar una calidad uniforme para cada lote de fabricación porque la distribución del tamaño de partícula en una fase dispersa es relativamente amplia.

20 Los documentos US 2007/027072 y CN 101 244 256 describen formulaciones oftálmicas de ciclosporina.

[Referencia de la técnica anterior]

25 [Referencia de patentes]

Patente de los Estados Unidos No. 5,660,858

Publicación Internacional No. WO1995/31211

30 Patente Coreana No. 10-1008189

Patente de los Estados Unidos No. 2007/027072

35 Patente China No. CN 101 244 256

[Resumen de la invención]

40 [Problema técnico]

Los inventores de la presente divulgación confirmaron que la solubilidad de la ciclosporina aumenta, que el tamaño de partícula promedio se forma en el intervalo de 1 nm a 100 nm y que el tamaño de partícula máximo se forma en 220 nm o menos, y la penetrancia y la eficacia se pueden mejorar y la estabilidad fisicoquímica, la irritación, la visión borrosa y la sensación de cuerpo extraño se pueden mejorar eficazmente al administrar oftálmicamente el producto final de la nanoemulsión en el caso de preparar la nanoemulsión oftálmica mezclando adecuadamente los ingredientes de la nanoemulsión mientras se realiza una investigación sobre la nanoemulsión oftálmica que puede mejorar la solubilidad de la ciclosporina como ingrediente activo, y de acuerdo con lo anterior completó la presente divulgación.

50 Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición de nanoemulsión oftálmica que comprende:

- ciclosporina en una cantidad de 0.02 - 0.3% p/v basándose en la cantidad total de la composición;

55 - aceite de ricino en la cantidad de 8 veces o más de la cantidad de ciclosporina a 2.5% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición;

- uno o más emulsionantes hidrófilos seleccionados de un grupo que consiste en aceite de ricino polioxil 35, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitán y ésteres de ácidos grasos de polioxietileno;

60 - uno o más emulsionantes hidrófobos seleccionados de un grupo que consiste en ésteres de ácidos grasos de sorbitán, ésteres de ácidos grasos de glicerina, dietilenglicol monoetil éter, polietilenglicoles, propilenglicol y ésteres de propilenglicol de ácidos grasos; y

- un solvente acuoso.

65 La presente divulgación también proporciona composiciones de nanoemulsión oftálmicas que tienen un intervalo de tamaño de partícula promedio de 1 nm a 100 nm.

La presente divulgación también proporciona la nanoemulsión oftálmica para uso en un método de prevención o tratamiento de enfermedades oftálmicas.

[Solución al problema]

- 5 La presente divulgación proporciona nanoemulsión oftálmica como se define en las reivindicaciones.
- 10 Las composiciones de nanoemulsión oftálmicas de la presente divulgación pueden prepararse mezclando adecuadamente los ingredientes, y está disponible la filtración estéril, aumenta la solubilidad de la ciclosporina y mejora la estabilidad debido a que su tamaño promedio de partículas (glóbulos) se forma a 200 nm o menos o dentro del intervalo de 1 nm a 100 nm y la distribución del tamaño de partícula es estrecha.
- 15 La 'ciclosporina' es un ingrediente activo de las composiciones de nanoemulsión oftálmicas y puede incluir ciclosporina A, derivados de ciclosporina A, ciclosporina B, ciclosporina C, ciclosporina D o sus mezclas de los mismos, entre otros, y preferiblemente la ciclosporina puede ser ciclosporina A o sus derivados de los mismos.
- 20 La ciclosporina puede estar contenida en una cantidad terapéuticamente eficaz para mejorar el síndrome del ojo seco y está contenida en un 0.02 a 0.3% p/v basándose en el total de composiciones de nanoemulsión oftálmicas para los fines de la presente divulgación.
- 25 Con respecto a la preparación de una preparación oftálmica, se describe una composición en la que se usa un surfactante tal como aceites de ricino polioxietilados y ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitán entre otros para prevenir la precipitación de ciclosporina en los ojos después de la administración de una gota para los ojos, pero también se conocen deméritos de que la composición oftálmica existiría en estado de emulsión opaca de color lechoso al usar esta composición y, de acuerdo con lo anterior, inducir visión borrosa en la etapa inicial de administración. Por lo tanto, las composiciones de nanoemulsión oftálmicas se preparan a través de la presente divulgación seleccionando adecuadamente el solvente no acuoso, el emulsionante hidrófilo y el emulsionante hidrófobo para resolver los problemas anteriores.
- 30 El 'solvente no acuoso' es aceite de ricino y está disponible comercialmente con el nombre de producto de aceite de ricino (fabricado por ITHO oil chem., Japón). El aceite de ricino disminuye la evaporación de lágrimas en la superficie ocular y tiene una capacidad de propagación superior en comparación con otros aceites, y de este modo el aceite de ricino es útil para tratar el síndrome del ojo seco, tal como una disfunción de la glándula de meibomiana en la glándula lagrimal, entre otros. Sin embargo, la composición oftálmica que comprende el solvente no acuoso, tal como el aceite de ricino, entre otros, puede inducir dolores que incluyen una irritación oftálmica y trastornos visuales.
- 35 Por lo tanto, es deseable usar el solvente no acuoso (esto es, aceite de ricino entre otros) para la presente divulgación en una concentración mínima por la cual la ciclosporina se puede disolver adecuadamente y las reacciones adversas se pueden minimizar. Al usar el solvente no acuoso en concentración mínima, la cantidad de emulsionante también se puede minimizar, lo que se usa para estabilizar una fase oleosa, por lo tanto, está disponible para proporcionar las composiciones de nanoemulsión oftálmicas más seguras en comparación con las emulsiones de ciclosporina en el mercado. La cantidad de solvente no acuoso puede ser de 0.01 a 10.0% p/v, 0.1 a 5.0% p/v, y preferiblemente 0.1 a 2.5% p/v basándose en la cantidad total de la composición.
- 40 La cantidad de aceite de ricino puede ser 8 veces o más de la cantidad de ciclosporina como ingrediente activo hasta 2.5% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición. La composición de nanoemulsión más estable se forma cuando la cantidad de aceite de ricino (esto es, el solvente no acuoso) es 8 veces o más de la cantidad de ciclosporina a 2.5% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición, por lo que esta cantidad es deseable preparar la composición de nanoemulsión estable de la presente divulgación.
- 45 Las composiciones de nanoemulsión de la presente divulgación comprenden uno o más emulsionantes hidrófilos y uno o más hidrófobos que ayudan a la emulsificación del solvente no acuoso en el solvente acuoso. Se pueden seleccionar uno o más emulsionantes considerando la proporción de los valores del Balance Hidrófilo-Lipófilo (en lo que sigue, HLB) de cada emulsionante dependiendo de un valor HLB requerido del solvente no acuoso, preferiblemente dependiendo del valor HLB requerido del aceite de ricino. Se pueden seleccionar uno o más emulsionantes de un grupo de emulsionantes hidrófilos en los que el valor HLB es al menos 8, específicamente 10 o más, y de un grupo de emulsionantes hidrófobos en los que el valor HLB es menor que 8, específicamente 6 o menos.
- 50 El emulsionante hidrófilo se selecciona del grupo que consiste en aceite de ricino polioxil 35, éster de ácido graso de polioxietileno sorbitán y éster de ácido graso de polioxietileno. El aceite de ricino polioxil 35 y el éster de ácido graso de polioxietileno sorbitán preferido, monooleato de polioxietileno sorbitán, se venden en el mercado bajo el nombre de producto de Cremophor EL™ o ELP™ (BASF) y Polisorbato 80 (NOF corporation). La cantidad de emulsionante hidrófilo puede ser de 0.01 a 10.0% p/v, de 0.01 a 7.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición y más preferiblemente de 0.1 a 5.0% p/v.
- 60
- 65

La cantidad de aceite de ricino polioxil 35 es preferiblemente al menos 1.6 veces o más de la cantidad de aceite de ricino (esto es, el solvente no acuoso) a 5.0% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición. También, es deseable que la cantidad de aceite de ricino polioxil 35 sea al menos 12.8 veces la cantidad de ciclosporina (esto es, ingrediente activo) a 5.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición. Una nanoemulsión estable con un tamaño de partícula promedio de 1 nm a 100 nm se puede preparar fácilmente con los contenidos indicados anteriormente y mostrar la mejor sensación por instilación ocular debido a que el emulsionante hidrófilo está contenido en 5.0% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición.

El emulsionante hidrófobo se selecciona del grupo que consiste en ésteres de ácidos grasos de sorbitán, ésteres de ácidos grasos de glicerina, dietilenglicol monoetil éter, polietilenglicoles, propilenglicoles y ésteres de propilenglicol de ácidos grasos. Específicamente, los emulsionantes hidrófobos preferidos son polietilenglicoles (PEG), propilenglicol, ésteres de ácidos grasos de sorbitán y dietilenglicol monoetil éter, que se venden en el mercado como nombres de productos: Super Refined PEG 300™, Super Refined PEG 400™, Super Refined PEG 600™(Croda), Propylene Glycol(Merck), Span 20, Span 80(Croda) y Transcutol P(Gattefosse), respectivamente. La cantidad de dicho emulsionante hidrófobo puede ser de 0.01 a 7.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición, y preferiblemente puede ser de 0.1 a 5.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición. Adicionalmente, el emulsionante hidrófobo puede ser polietilenglicol, propilenglicol y dietilenglicol monoetil éter, y la cantidad de estos puede ser al menos 0.1% p/v o más basándose en la cantidad total de la composición, y es preferible que esté contenido en 3 veces o menos que la cantidad del emulsionante hidrófilo, que preferiblemente sería aceite de ricino hidrogenado con polioxietileno. También, en este caso, lo más preferible es que no supere el 5.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición. Es más preferible que el emulsionante hidrófobo esté contenido al menos en un 0.1% p/v o más basándose en la cantidad total de la composición para preparar una composición estable de nanoemulsión, y es preferible que el emulsionante hidrófobo esté contenido 3 veces o menos que la cantidad del emulsionante hidrófilo, preferiblemente aceite de ricino hidrogenado con polioxietileno y 5.0% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición para lograr una sensación superior por instilación ocular.

El solvente acuoso de la presente divulgación es un ingrediente adecuado para la preparación de preparaciones oftálmicas, y puede ser agua purificada estéril, solución salina y agua para inyección.

Además, la presente divulgación puede comprender además un estabilizante en la composición de nanoemulsión oftálmica. Las estabilidades fisicoquímicas de la composición de nanoemulsión oftálmica de la presente divulgación se pueden mejorar más con la inclusión adicional del estabilizante. El estabilizante puede proporcionar viscosidad a través de la reticulación de la gota de aceite de la nanoemulsión formando una cierta estructura de unión a través de la hidratación en el solvente acuoso, y puede actuar como estabilizante físico de la nanoemulsión. El estabilizante puede comprender compuestos a base de celulosa que incluyen carboximetilcelulosa (CMC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) e hidroxietilcelulosa (HEC) entre otros; compuestos a base de polivinilo que incluyen alcohol polivinílico (PVA) y polivinilpirrolidona (PVP) entre otros; compuestos de base de acrílico incluyendo carbómero entre otros; compuestos a base de goma incluyendo goma gellan y goma xantana entre otros; polisacáridos que incluyen ácido hialurónico (HA), hialuronato de sodio, alginato de sodio y dextrano entre otros; o sus combinaciones aleatorias de los mismos. Adicionalmente, el estabilizante puede ser al menos uno seleccionado de un grupo que consiste en carboximetilcelulosa, goma de xantano, ácido hialurónico (HA) e hialuronato de sodio.

Por lo tanto, la composición de la presente divulgación puede comprender ciclosporina, el solvente no acuoso, el emulsionante hidrófilo, el emulsionante hidrófobo, el estabilizante y el solvente acuoso.

La cantidad del estabilizante puede ser de 0.001 - 10.0 % p/v, 0.01 - 5.0 % p/v, y preferiblemente 0.01 - 2.0 % p/v basándose en la cantidad total de la composición.

Además, las composiciones de nanoemulsión oftálmicas de la presente divulgación pueden comprender además modificadores de pH, agentes de isotonización, conservantes y agentes reguladores, entre otros.

El agente de ajuste del pH puede ser hidróxido de sodio y ácido clorhídrico, entre otros, y se puede usar para obtener un valor de pH adecuado mediante la adición de una cantidad necesaria a través de métodos conocidos en la técnica.

El agente de isotonización puede ser al menos uno seleccionado de un grupo que consiste en glicerol, manitol, sorbitol, cloruro de sodio, cloruro de potasio, ácido bórico y bórax, y la cantidad de agente de isotonización puede estar en el intervalo de 0.01 - 10.0 % p/v basándose en la cantidad total de la composición, y se puede usar en 0.1 - 3.0% p/v.

El conservante de la presente divulgación puede ser compuestos de amonio cuaternario que incluyen cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cloruro de cetalconio y policuaternio-1 (por ejemplo, Polyquad®) entre otros; compuestos basados en guanidina que incluyen PHMB y clorohexidina, entre otros; clorobutanol; conservantes a base de mercurio que incluyen timerosal, acetato de fenil mercurio y nitrato fenilmercurio, entre otros; y conservantes oxidativos que incluyen complejos de oxicluro estabilizados (por ejemplo, Purite®) y alquilos del ácido p-oxibenzoico (por ejemplo, metil (PM) del ácido p-oxibenzoico) entre otros.

5 El agente regulador de la presente divulgación puede ser cualquier agente regulador que se use para gotas oculares sin ninguna restricción. Existe una solución reguladora de acetato, una solución reguladora de citrato, una solución reguladora de fosfato (por ejemplo, fosfato de sodio o su hidrato, y fosfato de dihidrógeno de sodio o su hidrato) y una solución reguladora de borato tal como el ácido bórico o su sal, entre otros, pero sin limitarse a estos. Los expertos en la técnica pueden seleccionar adecuadamente la cantidad de agente regulador y añadirlo en 0.001 - 10% p/v, preferiblemente 0.01 – 5.0% p/v, y más preferiblemente 0.1 – 2.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición.

10 Además, es preferible que el tamaño de partícula de las composiciones de nanoemulsión oftálmicas de la presente divulgación sea 220 nm o menos, y el tamaño de partícula en las composiciones puede ser de 0 nm a 220 nm, y de 0.3 nm a 220 nm.

15 Adicionalmente, la presente divulgación proporciona una nanoemulsión oftálmica para uso en un método de prevención o tratamiento de enfermedades oftálmicas que comprenden la administración en el ojo de la composición de nanoemulsión oftálmica a pacientes.

20 Las enfermedades oftálmicas pueden ser enfermedades intrínsecas o extrínsecas debido a una lesión externa o al uso de lentes de contacto duras, y preferiblemente la enfermedad oftálmica puede ser el síndrome de Sjogren o el síndrome del ojo seco, y más preferiblemente, la enfermedad oftálmica puede ser el síndrome del ojo seco.

25 Adicionalmente, la presente divulgación proporciona un método de preparación de la composición de nanoemulsión oftálmica que tiene un tamaño de partícula promedio de 1 nm - 100 nm que comprende: preparar una mezcla agitando ciclosporina, el solvente no acuoso, el emulsionante hidrófilo, el emulsionante hidrófobo y el solvente acuoso

30 Específicamente, la presente divulgación proporciona un método de preparación de la composición de nanoemulsión oftálmica que tiene un tamaño de partícula promedio de 1 nm - 100 nm que comprende: preparar la mezcla disolviendo ciclosporina (esto es, ingrediente activo) en el solvente no acuoso, añadiendo el emulsionante hidrófilo, el emulsionante hidrófobo y el solvente acuoso para la composición disuelta, y agitando el mismo.

35 En la preparación anterior de dicha mezcla, el método de preparación puede comprender además la disolución adicional del estabilizante o el agente isotonzante en el solvente acuoso, agitación del mismo con la mezcla preparada y control de su escala de pH.

40 Según el método de preparación de la presente divulgación, la nanoemulsión que tiene un tamaño de partícula promedio de 1 nm - 100 nm se puede formar porque los ingredientes se mezclan adecuadamente; una filtración de esterilización común mediante el uso de un filtro de 0.22 μ m está disponible sin usar un aparato de tipo agitador de alta velocidad existente o un aparato de tipo de cizallamiento de alta velocidad tal como un homogeneizador de alta presión o un microfluidizador debido a que se prepara la composición de nanoemulsión oftálmica que tiene un tamaño de partícula máximo de 220 nm o menos; y el costo de preparar dicha composición de nanoemulsión oftálmica que tiene un tamaño de partícula de 220 nm o menos es bajo.

45 La composición de nanoemulsión preparada a través de la presente divulgación tiene efectos superiores tales como poca irritación, sensación de cuerpo extraño y visión borrosa entre otros, y libera ciclosporina A (esto es, ingrediente activo) con una tasa apropiada en el ensayo de liberación de membrana de celulosa que evalúa la liberación de fármacos.

50 La composición de nanoemulsión preparada a través de la presente divulgación se puede usar eficazmente para tratar el síndrome del ojo seco porque los irritantes inapropiados de los pacientes y la sensación de cuerpo extraño mejoran, además de presentar un alto efecto de tratamiento en el tratamiento del síndrome del ojo seco cuando se usa dicha composición de nanoemulsión como una composición oftálmica para la administración ocular y la composición de nanoemulsión aumentarían la secreción de lágrimas y el tiempo de retención de la película de lágrimas. También, se espera que la cantidad de residuos de ciclosporina A en el tejido ocular sea alta después de la administración de la composición de nanoemulsión.

55 [Efecto ventajoso]

60 La composición de nanoemulsión oftálmica de la presente divulgación tiene un tamaño de partícula promedio de 200 nm o menos, preferiblemente de 100 nm o menos, y la distribución de partículas se caracteriza por ser estrecha. Por lo tanto, la composición de nanoemulsión oftálmica de la presente divulgación se puede usar eficazmente para la composición oftálmica porque la filtración esterilizante está disponible, la estabilidad mejora y el efecto de mejorar la sensación de cuerpo extraño y la visión borrosa es clínicamente superior.

65 [Breve descripción de los dibujos]

La figura 1 ilustra una distribución confirmada del tamaño de partícula de la composición de nanoemulsión oftálmica del Ejemplo 33 y las gotas oftálmicas Restasis™.

5 La figura 2 ilustra una estabilidad de distribución confirmada de las composiciones de nanoemulsión oftálmicas de los ejemplos 62 y 63, la emulsión y la suspensión a través del índice de estabilidad de turbiscan (TSI).

La figura 3 es un gráfico que muestra los valores promedio medidos de la sensación de ardor y la sensación de cuerpo extraño del Ejemplo 62 y la Restasis™, que es un fármaco de control a través de la prueba de la sensación de gota en los ojos.

10 [Descripción de las realizaciones]

La presente divulgación se describirá más detalladamente en lo que sigue con referencia a los ejemplos que se acompañan. Sin embargo, los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la presente invención, y la presente invención no está limitada por los siguientes ejemplos.

Ejemplo experimental 1. Preparación de la nanoemulsión y medición de un tamaño de partícula promedio de la misma según el tipo y la variación del contenido del solvente no acuoso.

20 Las composiciones de nanoemulsión se prepararon con diferentes cantidades de aceite de ricino, labrafac lipophile WL 1349 o miglyol 812, y luego se midió su tamaño de partícula promedio. A continuación se proporciona un método específico para preparar la composición de nanoemulsión. La ciclosporina A y el solvente no acuoso se mezclaron en la cantidad indicada en la tabla 1 a continuación y se disolvieron completamente a 600 - 800 rpm y 70 °C usando un agitador (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific). Se preparó una fase oleosa añadiendo los emulsionantes hidrófilos e hidrófobos con los contenidos indicados en la tabla 1 a la solución mezclada preparada anteriormente y mezclando suficientemente agitando los mismos. La solución preparada se enfrió a temperatura ambiente y la fase oleosa se colocó en el solvente acuoso para lavar la fase oleosa varias veces, y luego se agitó a 400 - 500 rpm y temperatura ambiente usando el agitador (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific). El solvente acuoso se añadió hasta que el volumen final fue de 100 mL después de 30 minutos o más de agitación. La nanoemulsión formó voluntariamente una fase homogénea estable a través del sistema de administración de fármacos auto nanoemulsionantes (SNEDDS). El tamaño de la partícula de la nanoemulsión oftálmica preparada mediante el método anterior se midió usando el Zetasizer (Malvern Instruments, Inglaterra), que es un aparato para medir los tamaños de partículas, y la constitución y el tamaño de partícula promedio medido (nm) de la composición de nanoemulsión preparada se muestra en la tabla 1. Los Ejemplos 4-15 no están dentro del alcance de las reivindicaciones.

[Tabla 1]

Ingrediente	Ejemplo														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Ingrediente activo (% p/v)	0.05	0.03	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.03	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.03
Solvente no acuoso (% p/v)	0.42	0.25	0.84												
		2		2	1.8	1.8	1.8	2	1.2						
										0.75	0.66	0.66	0.66	0.75	0.45
Emulsionante hidrófilo (% p/v)								1.6	0.8					1.6	0.8
	1	1	4.8	2.4	2.4	1.6	1.6			2.4	2.4	1.6	1.6		
Emulsionante hidrófobo (% p/v)	0.4	0.3	0.8	0.6	0.4	0.4		0.4	0.2	0.6	0.4	0.4		0.4	0.2
	0.3	0.2	0.6		0.3	0.3					0.3	0.3			
Solvente acuoso	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	0.4	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s
Tamaño de partícula promedio	41.05	31.04	35.29	45.92	48.33	58.51	54.21	76.15	73.25	30.72	32.76	42.16	44.8	62.95	60.31

5 Todos los tamaños de partícula de las composiciones de nanoemulsión en los ejemplos 1 a 15 se mostraron como 220 nm o menos en su máximo, y como se muestra en la tabla 1 anterior, se confirmó que el tamaño de partícula promedio era de 100 nm o menos en particular y se prepararon composiciones de nanoemulsión transparentes. Se puede determinar que la nanoemulsión que incluye ciclosporina como ingrediente activo tiene un tamaño de partícula apropiado cuando el tamaño máximo de partícula es 220 nm o menos, y de este modo se confirmó que la composición de nanoemulsión oftálmica que tiene un tamaño de partícula promedio muy pequeño se puede preparar según Las composiciones de la presente divulgación. En particular, los ejemplos 1 a 3 mostraron un efecto superior en la formación de la nanoemulsión donde los tamaños de partícula promedio fueron 41.05, 31.04 y 35.29 nm mientras que los ejemplos consistieron en incluir aceite de ricino con una cantidad relativamente baja de 0.42, 0.25 y 10 0.84 % p/v en comparación con los otros solventes no acuosos (esto es, labrafac y miglyol 812) y, de acuerdo con lo anterior, consistía en que el emulsionante tenía un bajo contenido. Cuando se considera que el solvente no acuoso puede producir irritación con la administración ocular, el aceite de ricino tiene la ventaja de que puede minimizar la irritación causada por un componente de aceite en las composiciones oftálmicas, y de este modo se confirmó que el aceite de ricino es uno de los solventes no acuosos preferidos para la composición de nanoemulsión oftálmica.

15 Ejemplo experimental 2. Preparación de la nanoemulsión y medición de un tamaño de partícula promedio de la misma según el tipo y variando de la cantidad del emulsionante.

20 La composición de nanoemulsión de los ejemplos 16 a 36 se preparó mediante el mismo método explicado en el ejemplo experimental 1 mediante el uso de aceite de ricino con el solvente no acuoso, y una cantidad variable de aceite de ricino y el tipo y la cantidad del emulsionante. La constitución y la cantidad de la composición de nanoemulsión preparada se muestran en la tabla 2 a continuación.

25 Los ejemplos 35 y 36 no están dentro del alcance de las reivindicaciones.

[Tabla 2]

Ingrediente		Ejemplo																							
Ingrediente activo (% p/v)		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36			
Ciclopina		0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.03	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.03	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05			
Solvente no acuoso (% p/v)		0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.25	0.84	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.25	0.84	0.42	0.42	0.42	0.42			
Emulsionante hidrófilo (% p/v)		1.6	0.4	1.4	0.8	0.8	0.4	1.6														0.8			
	Polisorbato80																								
	Cremophor BRP								2.4	1.6	1.2	1.6	2.4	1.6	2.4	1.6	1.2	4.8	2.4	1.8		2.4			
	Span 80	0.4	0.1				0.1	0.4	0.6	0.4	0.8														
	Span 20			0.6																					
	Polietilenglicol 300											0.4	0.6												
	Polietilenglicol 400				0.2									0.4	0.6		0.3	1.2	0.4	0.4					
	Propilenglicol																		0.3	0.3					
	Trenacul P					0.2										0.4									
Solvente acuoso	Agua purificada	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5			
Tamaño de partícula promedio		73.52	84.3	59.18	67.64	67.21	61.94	73.46	30.11	43.41	48.5	49.26	40.38	41.5	19.53	25.04	39.62	25.5	31.6	32.25	118.3	98.52			

5 Como se muestra en la tabla 2, se confirmó que el tamaño de partícula promedio de la composición de nanoemulsión en los ejemplos 16 a 34 era de 100 nm o menos, y que su distribución de tamaño de partícula era muy estrecha. Por lo tanto, se confirmó que la composición de nanoemulsión oftálmica que tiene un tamaño de partícula promedio de 100 nm o menos y una distribución estrecha de partículas se puede preparar al mezclar ciclosporina, aceite de ricino, el emulsionante hidrófilo, el emulsionante hidrófobo y el solvente acuoso con la constitución anterior.

10 En la tabla 2, los ejemplos 35 y 36 son las composiciones preparadas usando solo el emulsionante hidrófilo, excepto el emulsionante hidrófobo y, de acuerdo con lo anterior, se formó una emulsión opaca que tiene una amplia distribución del tamaño de partícula, y en especial, se confirmó que el ejemplo 36 tenía muy inadecuada distribución de partículas debido a su distribución de tamaño de partícula fue de 17.02 a 382.5 nm. Por lo tanto, se confirmó que la combinación del emulsionante hidrófilo y el emulsionante hidrófobo se prefiere para preparar la nanoemulsión que tiene un tamaño de partícula y una distribución de partículas apropiados.

15 Es importante tener una distribución de tamaño de partícula apropiada para preparar la composición oftálmica y, de este modo, la distribución de tamaño de partícula del ejemplo 33 que se preparó mediante el método de la presente divulgación se comparó con la de las gotas oftálmicas Restasis™ disponible comercialmente.

20 El resultado de la comparación se ilustra en la figura 1.

Como se ilustra en la figura 1, la composición según la presente divulgación (Ejemplo 33) tenía una distribución de tamaño de partícula muy estrecha de 8.721 - 43.82 nm, mientras que la de las gotas oftálmicas Restasis™ fue muy amplia de 21.04 - 712.4 nm.

25 Es decir, se confirmó que tanto la composición de nanoemulsión de la presente divulgación puede formar una composición más apropiada para la preparación de la composición oftálmica en comparación con las gotas oftálmicas Restasis™ y que la filtración de esterilización usando un filtro de 0.22 μm estaba disponible debido al tamaño máximo de partícula de la composición de nanoemulsión de la presente divulgación como 220 nm o menos.

30 Ejemplo experimental 3. Contenido óptimo de los ingredientes de la composición de nanoemulsión.

35 Se confirmó que la formación de la nanoemulsión dependiendo de la variación de la cantidad de cada ingrediente determina la cantidad relativa del solvente no acuoso, el emulsionante hidrófilo y el emulsionante hidrófobo que son apropiados para la preparación de la composición de nanoemulsión oftálmica de ciclosporina de la presente divulgación.

3.1 Contenido del solvente no acuoso.

40 La composición se preparó usando el mismo método explicado en el ejemplo experimental 1 con contenidos fijos de ciclosporina, el emulsionante hidrófilo y el emulsionante hidrófobo y una cantidad variada de aceite de ricino a 2.5, 3.0 y 3.5% p/v, y se confirmó la formación de la nanoemulsión.

El resultado se muestra en la tabla 3 a continuación.

45 Las composiciones en la segunda y en la tercera columna no están dentro del alcance de las reivindicaciones.

[Tabla 3]

Ciclosporina	0.05g	0.05g	0.05g
Aceite de ricino	2.5g	3.0 g	3.5g
Cremorphor ELP	5.0g	5.0g	5.0g
PEG 400	2.0g	2.0g	2.0g
Agua para inyección	c.s → 100ml	c.s → 100ml	c.s →100ml
Tamaño de partícula promedio (nm)	45.75	105.0	N/A

50 Como se muestra en la tabla 3, la formación de la nanoemulsión superior con un tamaño de partícula de 45.75 nm se confirmó cuando comprendía el 2.5% p/v de aceite de ricino basándose en la cantidad total de la composición, pero el tamaño de partícula se incrementó al aumentar la cantidad de aceite de ricino a 3.0 % p/v y el tamaño de partícula no pudieron medirse al aumentar la cantidad de aceite de ricino hasta 3.5% p/v. Es decir, se confirmó que se prefería que el aceite de ricino (esto es, el solvente no acuoso) estuviera contenido 8 veces o más de ciclosporina (esto es, ingrediente activo) para preparar la composición de nanoemulsión de la presente divulgación, y se prefirió

que la cantidad máxima de aceite de ricino en una composición que incluye surfactante hidrofílico hasta 5% p/v sea de 2.5% p/v o menos.

3.2 Cantidad de emulsionante.

5 El emulsionante hidrófilo y el emulsionante hidrófobo son ingredientes necesarios para formar la nanoemulsión, pero estos incurren en una disminución de la sensación por instilación ocular cuando están contenidos en exceso, y la nanoemulsión no puede formarse cuando no está suficientemente contenida, y de este modo es importante seleccionar una cantidad adecuada de emulsionante hidrófilo y emulsionante hidrófobo. Por lo tanto, la cantidad del emulsionante hidrófilo y el emulsionante hidrófobo que son necesarios para preparar la composición de nanoemulsión oftálmica de la presente divulgación se confirmó a través de un experimento comparativo. La cantidad de aceite de ricino (esto es, el solvente no acuoso) se ajustó para que fuera 8 veces o más de la cantidad de ciclosporina, y la preparación se llevó a cabo en las mismas condiciones para el ejemplo experimental 1, constituyendo el cremophor ELP como el emulsionante hidrófilo y PEG 400 como el emulsionante hidrófobo. Cada contenido y resultado de la formación de nanoemulsión a partir de los mismos se muestra en la tabla 4 a continuación.

[Tabla 4]

Ingrediente	1	2	3	4	5
Ciclosporina	0.05g	0.05g	0.05g	0.05g	0.03g
Aceite de ricino	0.42g	0.42g	0.42g	0.42g	0.25g
Cremophor ELP	1.8g	1.8g	0.6g	0.4g	0.4g
Polietilenglicol 400	2.0g	5.0g	2.0g	2.5g	0.1g
Agua para inyección	c.s → 100ml	c.s → 100ml	c.s → 100ml	c.s → 100ml	c.s → 100ml
Tamaño de partícula promedio (nm)	22.96	27.25	74.53	127.9	48.67
Nota	-	-	- Distribución amplia de partículas – Formación de composición opaca	-	-

20 Como se muestra en la tabla 4, la nanoemulsión que tiene un tamaño de partícula promedio de 100 nm o menos se formó en todas las composiciones, incluido el cremophor ELP (esto es, el emulsionante hidrófilo) 1.6 veces o más de la cantidad de aceite de ricino o incluyendo el PEG 400. (esto es, el emulsionante hidrófobo) en un máximo de 3 veces o menos de la cantidad del emulsionante hidrófilo, pero confirmó que la formación de la nanoemulsión en la composición en la que la cantidad de Cremophor ELP es menos que 1.6 veces la cantidad de aceite de ricino y la cantidad de PEG 400 (esto es, el emulsionante hidrófobo) excedió 3 veces la cantidad de cremophor ELP (esto es, el emulsionante hidrófilo) fue relativamente difícil. Adicionalmente, la nanoemulsión se formó pero no pudo mantener su fase debido a la baja estabilidad cuando se contenía el emulsionante hidrófobo en menos de 0.1% p/v basándose en la cantidad total de la composición. La sensación desagradable por instilación ocular empeora cuando cada cantidad de emulsionante hidrófilo y el emulsionante hidrófobo superó el 5% p/v basándose en la cantidad total de la composición, y de este modo se confirmó que es más preferible incluir el emulsionante hidrófilo 1.6 veces como mínimo de la cantidad de aceite de ricino (esto es, solvente no acuoso) a 5% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición, e incluir el emulsionante hidrófobo 0.1% p/v basándose en la cantidad total de la composición a 3 veces o menos de la cantidad del emulsionante hidrófilo y 5% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición para preparar la composición de nanoemulsión que tiene una sensación superior por instilación y estabilidad ocular.

Ejemplo experimental 4. Composición de nanoemulsión añadida con estabilizante

40 Como se confirma en los ejemplos experimentales 1 a 3, la composición de nanoemulsión que tiene un tamaño de partícula promedio de 100 nm o menos se puede preparar solo añadiendo ciclosporina, el solvente no acuoso, el emulsionante hidrófilo y el emulsionante hidrófobo. Adicionalmente, el estabilizante se puede añadir selectivamente para preparar la composición de nanoemulsión oftálmica para mejorar la estabilidad porque es importante el mantenimiento estable del tamaño de partícula después de la preparación de la composición de nanoemulsión oftálmica. Por lo tanto, se confirmó si el tamaño de partícula de la nanoemulsión se puede mantener cuando se añade el estabilizante, y la estabilidad del mismo.

4.1 Preparación de la composición de nanoemulsión con estabilizante añadido y su tamaño de partícula promedio

5 Específicamente, las composiciones de nanoemulsión se prepararon según los contenidos indicados en la tabla 5 a continuación. El estabilizante y el agente isotonzante se hidrataron en el solvente acuoso y su pH se ajustó a 7.2 mediante el uso de NaOH y HCl. La fase oleosa se preparó usando el mismo método del ejemplo experimental 1 en el que la ciclosporina, el solvente no acuoso y el emulsionante de los contenidos indicados en la tabla 5 se disolvieron completamente, se colocó en el solvente acuoso y se agitó con el agitador (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific) en condiciones de 400 - 500 rpm y temperatura ambiente. La fase única se formó a través del sistema de administración de fármacos auto nanoemulsionantes (SNEDDS) como ejemplo experimental 1. El tamaño de partícula de la composición de nanoemulsión preparada se midió de la misma manera que en el ejemplo experimental 1. Cada tamaño de partícula promedio de la nanoemulsión se mostró en la tabla 5 a continuación.

10

[Tabla 5]

Ingrediente		Ejemplo											
		37	38	39	40	41	42	43	44				
Ingrediente activo (% p/v)	Ciclosporina	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Solvente no acuoso (% p/v)	Aceite de ricino	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
Emulsionante (% p/v)	Creomorph ELP	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
	Polietilenglicol 400	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Estabilizante (% p/v)	Hialuronato de sodio	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Alginato de sodio	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hidroxipropilmetilcelulosa	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Polivinilpirrolidona	-	-	-	1.2	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hidroxietilcelulosa	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol polivinílico	-	-	-	-	-	1.4	-	-	-	-	-	-
	Goma xantana	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-
	Carboximetil celulosa de sodio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5
	Agente de isotonicación (% v/v)	Glicerol	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
	Agente de ajuste de pH	NaOH, HCl	c.s → 7.2	c.s → 1.2	c.s → 7.2								
Solvente acuoso	Agua purificada (ml)	C.S											
	Tamaño de partícula promedio	28.15	25.62	61.75	40.41	60.33	41.03	33.93	33.15				

5 Como se muestra en la tabla 5, la composición de nanoemulsión que tiene un tamaño promedio de 100 nm o menos se formó incluso con la adición del estabilizante y se puede confirmar que su distribución de tamaño de partícula de la composición preparada era estrecha. De acuerdo con lo anterior, se confirmó que el tamaño de partícula preferido y la distribución de tamaño de partícula de la presente divulgación se pueden mantener incluso si adicionalmente comprenden el estabilizante.

4.2 Evaluación de la estabilidad térmica de la composición de nanoemulsión.

10 Las composiciones de nanoemulsión se prepararon con el mismo contenido indicado en la tabla 6 a continuación usando el mismo método para el ejemplo experimental 4 (1). Para evaluar las estabilidades fisicoquímicas de la composición de nanoemulsión, se analizaron la cantidad de ciclosporina y el tamaño de partícula promedio de la composición de nanoemulsión mientras se almacenaba la composición de nanoemulsión durante 2 semanas a alta temperatura de 70 ± 2 °C. La cantidad de ciclosporina se midió por cromatografía, el sistema de cromatografía líquida de ultra presión ACQUITY (UPLC) (Waters Asia Ltd., 396 Alexandra Road # 04-06 BP Tower, Singapur 119954),
15 bajo las condiciones de análisis que se indican en la tabla 7 a continuación.

[Tabla 6]

Ingrediente		Ejemplo																
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Ingrediente activo (% p/v)	Ciclosporina	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Solvente no acuoso (% p/v)	Aceite de ricino	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
Emulsionante (% p/v)	Cremorphor ELP	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
	Polietilenglicol 400	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
	Propilenglicol							0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Estabilizante (% p/v)	Hialuronato de sodio	0.1							0.1									
	Polivinilpirrolidona			1.8						1.8					1.8			
	Alginato de sodio				0.2						0.2							
	Carboximetilcelulosa de sodio					0.5						0.5				0.5		0.2
Agente Isotonizante (%v/v)	Alcohol polivinílico						1.4						1.4					
	Goma xantana													0.1	0.1			0.2
Agente de ajuste de pH	NaOH, HCl	2	2	2	2	2	2	2	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
Solvente acuoso	Agua purificada (ml)	c.s →7.2																

[Tabla 7]

Condiciones analíticas de la UPLC.	
Columna	Columna UPLC 1HSS T3.8 μm 2.1 X 100 mm
Longitud de onda del detector UV	210 nm
Temperatura de la columna	75 °C
Temperatura de la muestra	25 °C
Velocidad de flujo	0.250 ml/min
Volumen de inyección	5 μl
Tiempo de ejecución	20 min
Fase móvil	Acetonitrilo (ACN) : agua = 68:32

5 Los resultados de la medición del contenido (%) de ciclosporina y el tamaño de partícula promedio (nm) en la composición de nanoemulsión, que se almacenaron durante 2 semanas a alta temperatura, se muestran en la tabla 8 a continuación.

[Tabla 8]

ítem	Duración (semana)	Ejemplo																
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Contenido	0	101.97	102	101.66	98.32	99.91	98.32	101.87	100.6	100.36	101.7	100.91	101.64	100.76	101.4	100.35	102.24	102.24
	1	97.17	103.8	103.55	100.7	103.3	101.1	97.85	98.02	97.08	100.1	99.45	99.93	97.03	99.58	99.6	98.7	98.7
	2	92.96	99.93	102.47	96.83	94.64	96.83	90.32	91.86	98.73	96.93	98.18	94.64	91.15	98.04	100.5	99.26	99.26
Tamaño	0	17.85	30.59	25.41	24.06	33.15	36.11	18.53	32.64	30.14	23.19	32.44	37.8	25.04	41.85	38.38	48.13	36.88
	1	30.12	27.9	28.26	24.34	35.15	50.85	21.02	34.57	31.66	23.55	34.54	46.91	31.81	42.39	35.98	44.33	34.08
	2	50.04	23.92	29.86	23.63	33.66	50.8	53.06	34.29	38.84	27.79	35.31	51.53	54.98	42.5	36.27	44.19	38.62

Como se muestra en la tabla 8, el contenido de ciclosporina en los ejemplos 45 a 61 fue apropiado para los criterios de ensayo (90 - 110%) y mantuvo el tamaño de partícula promedio inicial de 100 nm o menos a una temperatura alta de 70 ± 2 °C, incluso después de 2 semanas. Los contenidos de ciclosporina en los ejemplos 45, 51 y 57 en los que no se añadió el estabilizante fueron todos iguales o superiores al 90% y confirmaron que el tamaño de partícula se mantuvo como 100 nm o menos, pero en el resto de los ejemplos en los que el estabilizante se añadió, se confirmó que el contenido de la tasa de disminución de la ciclosporina y la variación del tamaño de partícula eran muy bajos. Por lo tanto, se confirmó que la composición de nanoemulsión de la presente divulgación puede mantener sus estabilidades fisicoquímicas a altas temperaturas, y especialmente, las estabilidades fisicoquímicas se podrían mejorar aún más cuando se añade el estabilizante.

Ejemplo experimental 5. Evaluación de la estabilidad de la composición de nanoemulsión.

5.1 Evaluación de la estabilidad a largo plazo de la composición de nanoemulsión

Para usar como la composición oftálmica, la estabilidad fisicoquímica a largo plazo debe asegurarse bajo condiciones de almacenamiento acelerado (40 ± 2 °C, 25% HR o menos), que es una condición que puede confirmar la estabilidad de la muestra como los datos de estabilidad a corto plazo de 6 meses para la autorización antes de la prueba de estabilidad fisicoquímica a largo plazo a temperatura ambiente (25 ± 2 °C, 40 ± 5 % HR) y de 24 a 36 meses. Por lo tanto, las composiciones de nanoemulsión de los ejemplos 45 a 61 se almacenaron durante 6 meses a temperatura ambiente y la condición de almacenamiento acelerado, y el contenido de ciclosporina y el tamaño de partícula de la composición de nanoemulsión se midieron a los 0, 3 y 6 meses. Un método para medir el contenido de ciclosporina y el tamaño de partícula fue equivalente al ejemplo experimental 3.

Los resultados de lo anterior se muestran en las tablas 9 y 10 a continuación.

Como se muestra en las tablas 9 y 10, las composiciones de nanoemulsión de los ejemplos 45 a 61 se confirmaron como muy estables en condiciones de temperatura ambiente en la tabla 9 y la condición acelerada en la tabla 10 debido a la baja variación de contenido y tamaño de partícula a largo plazo.

[Tabla 9]

Ítem	Duración (mes)	Ejemplo																
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Contenido	0	101.97	102.0	101.66	98.32	99.91	98.32	101.87	100.6	100.36	101.7	100.91	101.64	100.76	101.4	100.35	102.24	102.24
	3	96.08	103.43	101.37	99.45	100.63	100.56	96.24	102.57	101.36	100.64	101.17	102.74	96.07	103.89	103.60	104.26	102.68
	6	96.33	103.26	101.49	101.85	104.24	103.62	98.84	104.22	102.57	101.08	104.85	102.23	99.37	103.51	104.58	105.97	100.18
Tamaño	0	17.85	30.59	25.41	24.06	33.15	36.11	18.53	32.64	30.14	23.19	32.44	37.8	25.04	41.85	38.38	48.13	36.88
	3	21.08	31.44	26.97	24.24	35.44	45.79	18.62	32.96	31.20	25.77	32.75	44.30	19.19	41.90	50.55	36.68	39.26
	6	20.88	31.14	26.52	24.20	35.25	45.66	18.63	33.05	31.20	22.16	32.36	44.46	19.64	48.30	52.81	36.47	41.18

[Tabla 10]

ítem	Duración (mes)	Ejemplo																
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Contenido	0	101.97	102.0	101.66	98.32	99.91	98.32	101.87	100.6	100.36	101.7	100.91	101.64	100.76	101.4	100.35	102.24	102.24
	3	102.27	99.79	100.47	101.39	103.49	101.97	105.02	96.70	100.28	99.10	105.87	106.93	106.18	99.27	100.60	104.49	104.62
	6	102.86	100.87	102.21	102.01	101.95	102.31	102.01	102.54	101.87	99.95	102.18	103.35	107.29	102.39	104.02	103.43	99.84
Tamaño	0	17.85	30.59	25.41	24.06	33.15	36.11	18.53	32.64	30.14	23.19	32.44	37.8	25.04	41.85	38.38	48.13	36.88
	3	31.99	41.36	41.45	34.02	54.54	74.07	29.10	48.86	47.68	31.80	60.35	71.25	23.77	44.96	58.16	41.02	40.46
	6	31.47	40.70	40.88	33.80	54.79	73.64	29.20	49.81	47.56	31.62	58.92	71.62	23.78	45.39	55.42	41.15	43.02

5.2 Evaluación de una estabilidad de distribución de la composición de nanoemulsión.

Con el fin de evaluar la estabilidad a largo plazo de la composición de nanoemulsión en comparación con una emulsión y una suspensión, se llevó a cabo un ensayo de estabilidad de la dispersión usando el Turbiscan (Turbiscan Aging Station, Formulaction, Francia) según el manual del fabricante. Las constituciones de la composición de nanoemulsión, la emulsión y la suspensión usadas en el ensayo se muestran en la tabla 11 a continuación y la composición de nanoemulsión se prepararon usando el mismo método que en el ejemplo experimental 4 (1). El método de preparación de la emulsión es el siguiente: el estabilizante y el agente isotonzante de la tabla 11 se hidrataron en el solvente acuoso y su pH se ajustó a 7.2 mediante el uso de NaOH y HCl. La fase oleosa se preparó disolviendo completamente la ciclosporina, el solvente no acuoso y el emulsionante en el contenido indicado en la tabla 11 a través del mismo método del ejemplo experimental 1. La fase oleosa preparada se puso en el solvente acuoso y se agitó a 400 - 500 rpm y a temperatura ambiente usando el agitador (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific). Se emulsionó usando un agitador de alta velocidad (Homomixer T-Basic 25, IKA™) en un rango de velocidad de 9000 - 17500 rpm, y la emulsión se preparó mediante un procedimiento de eliminación de burbujas y un procedimiento de enfriamiento a temperatura ambiente. La suspensión de este ejemplo se preparó a través de los siguientes métodos: el estabilizante y el agente isotonzante de la tabla 11 se hidrataron en el solvente acuoso y su pH se ajustó a 7.2 usando NaOH y HCl. La ciclosporina y el emulsionante en el contenido indicado en la tabla 11 se colocaron en el solvente acuoso y se agitaron a 400 - 500 rpm y temperatura ambiente usando el agitador (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific) durante 10 minutos. Se dispersó usando el agitador de alta velocidad (Homomixer T-Basic 25, IKA™) en un rango de velocidad de 9000 a 13500 rpm, y la suspensión se preparó mediante el procedimiento de eliminación de burbujas y el procedimiento de enfriamiento a temperatura ambiente.

[Tabla 11]

Ingrediente (% p/v)		Ejemplo		Emulsión	Suspensión
		62	63		
Ingrediente activo	Ciclosporina	0.05	0.05	0.05	0.05
Solvente no acuoso	Aceite de ricino	0.42	0.42	1.26	-
Emulsionante	Cremorphor ELP	1.8	1.8	-	-
	Polisorbato 80	-	-	1.0	1.0
	Polietilenglicol 400	0.4	0.4	-	-
	Propilenglicol	0.3	0.3	-	-
Estabilizante	Carboximetilcelulosa de sodio	0.1	1.0	-	0.5
	Goma xantana	0.1	0.6	0.6	0.3
Agente regulador	Ácido bórico	0.2	1.0	-	-
Agente Isotonizante	Glicerol	1.7	0.3	2.2	2.2
Agente de ajuste de pH	NaOH	c.s →7.2	c.s →7.2	c.s →7.2	c.s →7.2
Solvente acuoso	Agua purificada (ml)	c.s	c.s	c.s	c.s

La variación de la estabilidad de la dispersión según el tiempo a cierta temperatura se puede medir al usar el Turbiscan, y de este modo la estabilidad de la dispersión se midió a 50 °C de conformidad con el manual del fabricante. En detalle, la composición de nanoemulsión, la emulsión y la suspensión se agitaron y se inyectaron al Turbiscan, respectivamente, se dejó reposar a una temperatura de 50 °C, durante 48 horas, y se observó el patrón de variación de cada muestra según el índice de estabilidad del turbiscan (TSI) obtenido, que fue medido por el Turbiscan.

Los resultados de TSI de los ejemplos 62 y 63 se ilustran en la figura 2.

Como se ilustra en la figura 2, el valor TSI de la composición de nanoemulsión después de 48 horas fueron 9.2 (Ejemplo 62) y 10.6 (Ejemplo 63). Estos valores de TSI eran muy bajos en comparación con los de la emulsión (esto es, 62.4) y la suspensión (esto es, 93.8) que se midieron en las mismas condiciones. De acuerdo con lo anterior, se confirmó que la estabilidad de la composición de nanoemulsión preparada era notablemente superior a las emulsiones o suspensiones existentes.

Ejemplo experimental 6. Prueba de liberación de fármaco in vitro de la composición de nanoemulsión

Para confirmar si la composición de nanoemulsión preparada libera ciclosporina A (esto es, ingrediente activo) con una tasa apropiada, se realizó un ensayo in vitro de liberación de membrana de celulosa que evalúa la liberación de fármacos. Las constituciones de la composición de nanoemulsión para este ensayo fueron idénticas a las de los ejemplos 62 y 63 en el ejemplo experimental 5 (2), y se prepararon por el mismo método al ejemplo experimental 4 (1). El Restasis™ disponible comercialmente se usó como un fármaco de control.

En detalle, la membrana (membrana de éster de celulosa de 100 kDa) se cortó al tamaño apropiado y se empapó durante una hora en una solución media (70% de MeOH + 30% de solución salina equilibrada (BSS)). El medio preparado en vasos de precipitados del mismo tamaño se dispensó como 100 ml, y se colocaron barras magnéticas en la misma forma y tamaño en cada vaso de precipitados. Los extremos opuestos de las membranas se doblaron y se sellaron con barras de sellado, y la composición de nanoemulsión y el fármaco de control se colocaron dentro de las membranas respectivamente, e insertaron las membranas que contenían el fármaco en los vasos de precipitados a la misma altura mientras las membranas estaban completamente sumergidas en los vasos de precipitados, pero no en contacto con las barras magnéticas. La agitación se llevó a cabo al mismo tiempo a una velocidad idéntica de 150 rpm. Las muestras se obtuvieron a intervalos de tiempo apropiados y se midió la cantidad de ciclosporina mediante la prueba de contenido a través de la UPLC de la misma manera que en el ejemplo experimental 4 (2).

Como resultado de la prueba de liberación del fármaco, se confirmó que las composiciones de nanoemulsión de los ejemplos 62 y 63 generalmente mantenían una concentración constante del fármaco después de aproximadamente 5 horas desde el inicio de la prueba y alcanzaban la concentración en estado estacionario (C_{ss}). De acuerdo con lo anterior, el punto final de la prueba de liberación de fármaco se estableció en 6 horas después del inicio de la prueba. La concentración del fármaco en el ejemplo 62 se confirmó como 52.0% a través de la medición después de 5 horas, y se mostró como 54.2% después de 6 horas (esto es, el punto final). Esta concentración de fármaco fue muy similar al 55.3% (5 horas) y al 56.3% (6 horas) que eran la concentración del fármaco de control (esto es, Restasis™), y así se confirmó que la composición de nanoemulsión preparada era una composición apropiada para gotas oftálmicas.

Ejemplo experimental 7. Evaluación de la irritación ocular de la composición de nanoemulsión

Se llevó a cabo una evaluación de la irritación ocular para probar la sensación por instilación ocular usando la composición del ejemplo 62 dentro de las composiciones de nanoemulsión preparadas. Se administraron 30 µl de la composición de nanoemulsión del ejemplo 62 a ambos ojos de 40 adultos sanos, y se evaluaron y calificaron la sensación de ardor y la sensación de cuerpo extraño en los ojos de cada persona según las escalas en la tabla 12 a continuación. Se utilizó Restasis™ como fármaco de control.

[Tabla 12]

Escala	Sensación de ardor	Sensación de cuerpo extraño
0	Sin prurito, muy suave	Sin sensación de cuerpo extraño, sin sensación viscosa
1-2	Poco prurito (picazón)	Poca sensación de cuerpo extraño y viscosidad
3-4	Prurito (escozor)	Continua sensación de cuerpo extraño acompañando poco dolor, fuerte sensación de viscosidad
5	Sensación inmediata de irritación y muy incómoda	Sensación y viscosidad de cuerpo extraño de larga duración con dolor intenso

Los resultados se muestran en la tabla 13 y la figura 3.

[Tabla 13]

Sujeto	Sensación de ardor		Sensación de cuerpo extraño	
	Ejemplo 62	Restasis™	Ejemplo 62	Restasis™
1	0	4	0	4
2	1	3	1	3
3	1	0	1	0
4	2	2	0	2
5	2	0	1	0

ES 2 713 326 T3

Sujeto	Sensación de ardor		Sensación de cuerpo extraño	
	Ejemplo 62	Restasis™	Ejemplo 62	Restasis™
6	2	4	1	3
7	3	2	0	0
8	2	0	1.5	1
9	2	1	0	0
10	1	0	0	0
11	0	0	1	1
12	1	3	0	0
13	0	2	0	0
14	0	1	0	0
15	2	1	0	2
16	0	0	2	2
17	2	1	1	1
18	0	3	0	0
19	1	3	1	2
20	0	0	0	0
21	3	2	3	1
22	1	3	3	1
23	1	0	2	0
24	0	3	0	0
25	0	1	0	0
26	1	4	0	4
27	0	0	2	1
28	3	4	1	1
29	0	0	1	0
30	0	2	0	2
31	4.5	3.5	3	3
32	0	1	0	1
33	0	1	6	0
34	3	4	2	1
35	0	2	1	1
36	1	2	0	1
37	3	2	0	1
38	0	2	1	1
39	0	1	0	1
40	0	2	1	1
Total	42.5	69.5	30.5	42
Promedio	1.1	1.7	0.8	1.1

5 Como se muestra en la tabla 13 y la figura 3, la nanoemulsión oftálmica del ejemplo 62 mostró puntuaciones promedio 1.1 de sensación de ardor y 0.8 de sensación de cuerpo extraño que fueron más bajas que las del medicamento de control Restasis™ (esto es, 1.7 de sensación de ardor y 1.1 de sensación de cuerpo extraño). Es decir, se confirmó que la nanoemulsión oftálmica era una composición que muestra una sensación más mejorada por instilación ocular en comparación con la Restasis™ existente.

[Aplicabilidad industrial]

10 La composición de nanoemulsión oftálmica según la presente divulgación se caracteriza por tener un tamaño de partícula promedio de 200 nm o menos, preferiblemente de 100 nm o menos y tener una distribución estrecha de partículas, y de este modo la filtración con esterilización está disponible, la estabilidad se puede mejorar y tiene un efecto superior en la mejora clínica de la sensación de cuerpo extraño y alteración visual. Por lo tanto, la composición de nanoemulsión oftálmica de la presente divulgación se puede usar eficazmente como una
15 composición oftálmica.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de nanoemulsión oftálmica que comprende:

- 5 ciclosporina en la cantidad de 0.02 - 0.3% p/v basándose en la cantidad total de la composición;
- aceite de ricino en la cantidad de 8 veces o más de la cantidad de ciclosporina a 2.5% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición;
- 10 uno o más emulsionantes hidrófilos seleccionados de un grupo que consiste en aceite de ricino polioxil 35, ésteres de ácidos grasos de polioxietilen sorbitán y ésteres de ácidos grasos de polioxietileno;
- uno o más emulsionantes hidrófobos seleccionados de un grupo que consiste en ésteres de ácidos grasos de sorbitán, ésteres de ácidos grasos de glicerina, dietilenglicol monoetil éter, polietilenglicoles, propilenglicol y ésteres de propilenglicol de ácidos grasos; y
- 15 un solvente acuoso.

2. La composición de nanoemulsión oftálmica según la reivindicación 1, en la que el emulsionante hidrófilo es el

20 aceite de ricino polioxil 35 y

la cantidad de emulsionante hidrófilo es 1.6 veces o más de la cantidad de aceite de ricino a 5.0% p/v o menos basándose en la cantidad total de la composición.

3. La composición de nanoemulsión oftálmica según la reivindicación 2, en la que el emulsionante hidrófobo es al menos uno seleccionado de un grupo que consiste en los polietilenglicoles, el propilenglicol y el dietilenglicol monoetil éter, y

25

la cantidad de emulsionante hidrófobo es 0.1 % p/v o más basándose en la cantidad total de la composición a 3 veces o menos basado en la cantidad del emulsionante hidrófilo.

30

4. La composición de nanoemulsión oftálmica según la reivindicación 1, en la que:

el emulsionante hidrófilo es el aceite de ricino polioxil 35 y la cantidad del emulsionante hidrófilo es 12.8 veces o más de la cantidad de ciclosporina a 5.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición; y el emulsionante hidrófobo es al menos uno seleccionado de un grupo que consiste en polietilenglicoles, el propilenglicol y el dietilenglicol monoetil éter, y la cantidad de emulsionante hidrófobo es 0.1% p/v a 5.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición.

35

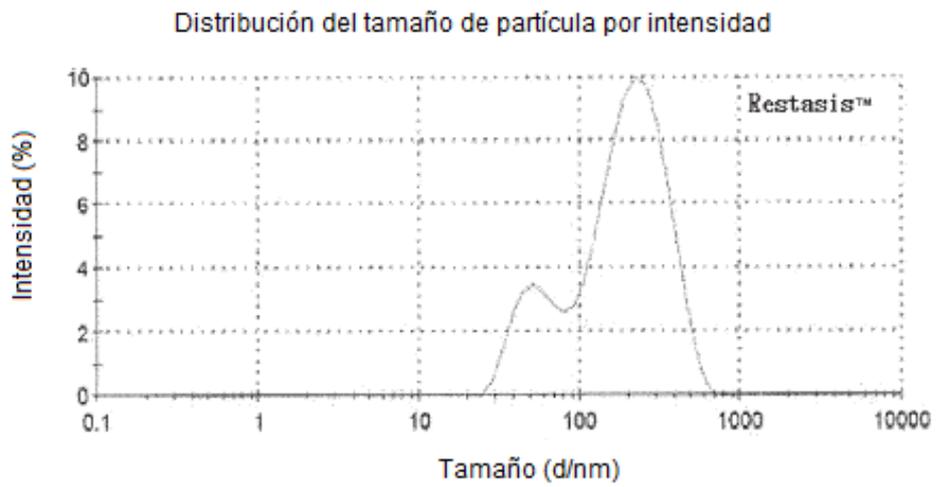
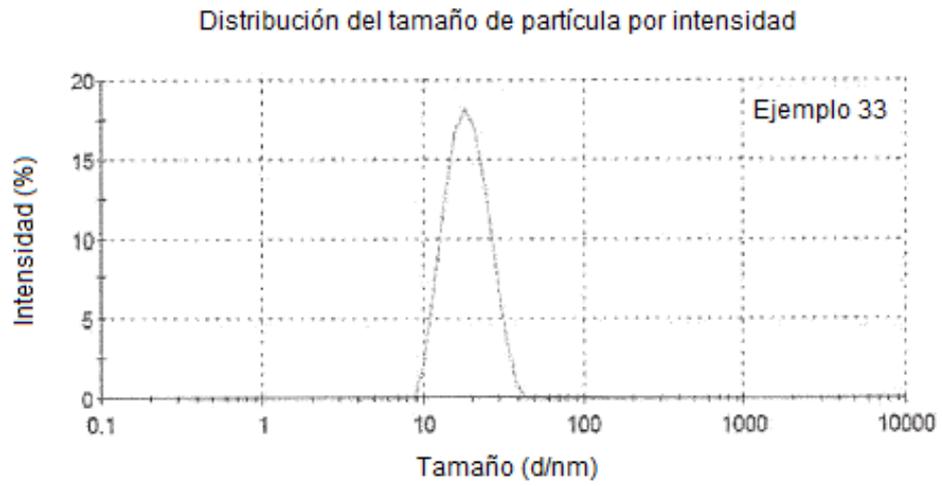
5. La composición de nanoemulsión oftálmica según la reivindicación 1, en la que la composición de nanoemulsión oftálmica comprende además uno o más estabilizantes seleccionados de un grupo que consiste en carboximetilcelulosa (CMC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxietilcelulosa (HEC), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), carbómero, goma gellan, goma xantana, ácido hialurónico (HA), hialuronato de sodio, alginato de sodio y dextrano.

40

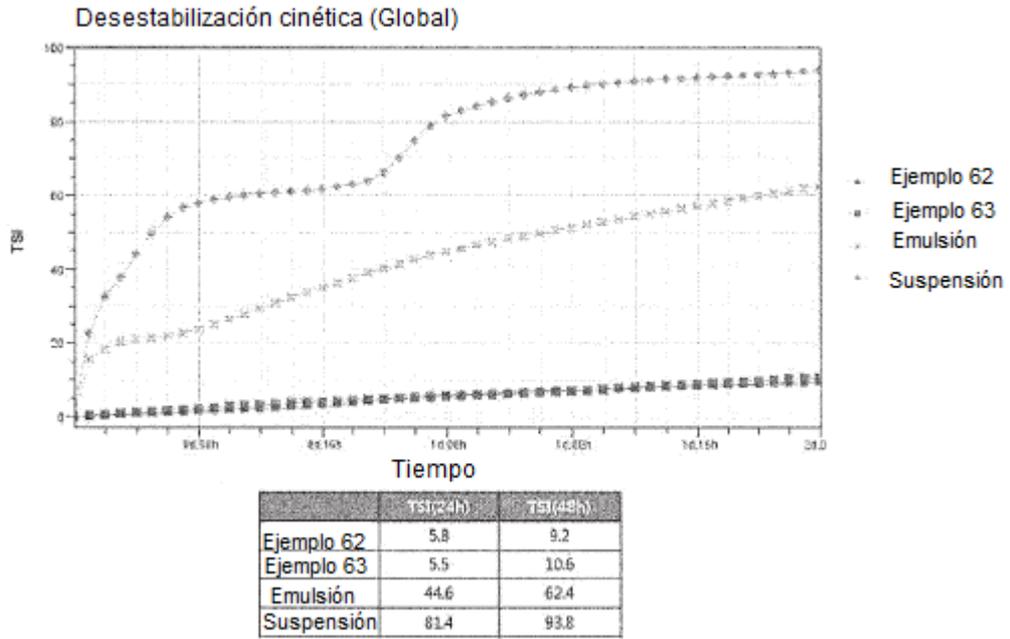
45

6. La composición de nanoemulsión oftálmica según la reivindicación 5, en la que la cantidad del estabilizante es de 0.01 a 2.0% p/v basándose en la cantidad total de la composición.

[FIG. 1]



[FIG. 2]



[FIG. 3]

