(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 718 455**

(51) Int. CI.:

A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 47/18 (2007.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.03.2003 PCT/US2003/08537**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2003 WO03079885**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2003 E 03723779 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019 EP 1487411**

(54) Título: **Formulaciones terapéuticas sostenidas inhalables**

(30) Prioridad:

20.03.2002 US 366479 P
20.03.2002 US 366449 P
20.03.2002 US 366354 P
20.03.2002 US 366470 P
20.03.2002 US 366487 P
20.03.2002 US 366440 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.07.2019

(73) Titular/es:

CIVITAS THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
190 Everett Ave.
Chelsea, MA 02150, US

(72) Inventor/es:

BASU, SUJIT, K.;
CAPONETTI, GIOVANNI;
CLARK, ROBERT y
ELBERT, KATHARINA, J.

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

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

Formulaciones terapéuticas sostenidas inhalables

Antecedentes de la invención

La administración pulmonar de agentes bioactivos terapéuticos, diagnósticos o profilácticos proporciona una atractiva alternativa a otros modos de administración, tales como, por ejemplo, la administración oral, transdérmica y parenteral. Típicamente, la administración pulmonar puede completarse sin necesidad de intervención médica (es decir, se encuentra disponible la autoadministración); se evita el dolor asociado frecuentemente a la terapia de inyección. En determinados casos, la cantidad de degradación enzimática y mediada por el pH del agente bioactivo, frecuentemente observada con las terapias orales, puede reducirse significativamente. Además, los pulmones proporcionan una superficie mucosal grande para la absorción de fármaco y no existe ningún efecto de metabolismo hepático en el primer paso. Además, se ha demostrado que la biodisponibilidad elevada de muchas moléculas, por ejemplo macromoléculas, puede conseguirse mediante la administración pulmonar. Típicamente, el pulmón profundo, o los alveolos, es la diana primaria de los agentes bioactivos inhalados, en particular para agentes que requieren la administración sistémica.

La cinética de liberación o perfil de liberación de un agente bioactivo en la circulación local y/o sistémica es una consideración clave en la mayoría de terapias, incluyendo las que utilizan la administración pulmonar. Muchas enfermedades o condiciones requieren la administración de un nivel constante o sostenida de un agente bioactivo para proporcionar una terapia eficaz. Típicamente, esto puede conseguirse mediante un régimen de múltiples dosis o mediante la utilización de un sistema que libere el medicamento de manera sostenida.

Sin embargo, la administración de agentes bioactivos en el sistema pulmonar típicamente resulta en la liberación rápida del agente tras la administración. Por ejemplo, la patente US nº 5.997.848, de Patton et al., describe la rápida absorción de la insulina tras la administración de una formulación de polvos secos mediante administración pulmonar. El nivel de insulina máximo se alcanzó en aproximadamente 30 minutos en primates y en aproximadamente 20 minutos en sujetos humanos. Además, Heinemann, Traut y Heise enseñan en Diabetic Medicine 14:63-72, 1997, que el inicio de la acción de la insulina inhalada, evaluada por la tasa de infusión de glucosa en voluntarios sanos, era rápido, alcanzándose una acción semimáxima en aproximadamente 30 minutos.

De esta manera, existe una necesidad de formulaciones adecuadas para la inhalación que comprendan agentes bioactivos y en los que el agente bioactivo de la formulación se libere de una manera sostenida a la circulación sistémica y/o local.

Otros aerosoles para la administración de agentes terapéuticos en el tracto respiratorio han sido descritos, por ejemplo Adjei A. y Garren J., Pharm. Res. 7:565-569, 1990, y Zanen P. y Lamm J.-W.J., Int. J. Pharm. 114:111-115, 1995. El tracto respiratorio comprende las vías respiratorias superiores, incluyendo la orofaringe y la laringe, seguido de las vías respiratorias inferiores, que incluyen la tráquea, seguido de bifurcaciones en los bronquios y bronquiolos. Las vías respiratorias superiores e inferiores se denominan vías respiratorias conductoras. Los bronquiolos terminales seguidamente se dividen en bronquiolos respiratorios, que seguidamente conducen a la zona respiratoria final, los alveolos, o pulmón profundo, tal como se describe en Gonda I., "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract," in Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 6:273-313, 1990.

Los aerosoles inhalados se han utilizado para el tratamiento de trastornos pulmonares locales, incluyendo el asma y la fibrosis quística (Anderson, Am. Rev. Respir. Dis. 140:1317-1324, 1989). El bromuro de ipratropio y el xinafoato de salmeterol son dos agentes que se prescriben actualmente para el tratamiento de trastornos pulmonares.

El bromuro de ipratropio es un broncodilatador anticolinérgico descrito químicamente como 8-azoniabiciclo (3.2.1)-octano, 3-(3-hidroxi-1-oxo-2-fenilpropoxi)-8-metil-8-(1-metiletil)-, bromuro, monohidrato (endo,syn)-, (+/-)-, y se encuentra disponible comercialmente como aerosol para inhalación Atrovent® (Boehringer Ingelheim). El atrovent está indicado actualmente como broncodilatador para el tratamiento de mantenimiento del broncoespasmo asociado a la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), incluyendo el enfisema y la bronquitis crónica.

La dosis inicial habitual de Atrovent® es de dos inhalaciones (18 µg de bromuro de ipratropio en cada inhalación) cuatro veces al día. Los pacientes pueden tomar inhalaciones adicionales según se requiera, hasta 12 inhalaciones en un día. Estudios controlados de noventa días en pacientes con broncoespasmo asociado a EPOC mostraron una mejora de la función pulmonar (es decir, una mejora de 15%[3] de VEF_1 y $FEF_{25-75\%}$) tras el tratamiento con Atrovent® que se inició en 15 minutos, alcanzó un pico en 1 a 2 horas y persistió durante 3 a 4 horas en la mayoría de pacientes y durante hasta 6 horas en algunos pacientes. (Physician's Desk Reference, 55a ed. 962-963 (2001)).

La función pulmonar de un sujeto puede evaluarse tal como lo lleva a cabo el experto en la materia. La capacidad vital forzada (CVF) es una medida del volumen máximo de aire que un sujeto puede espirar tras la inspiración máxima. El volumen espiratorio forzado en un segundo (VEF_1) es el volumen de aire que se espira en el primer segundo de una

medición de CVF. El flujo espiratorio forzado 25-75% ($FEF_{25-75\%}$) es el caudal medio durante la mitad intermedia de la maniobra espiratoria forzada de una medición de CVF.

El salmeterol es un broncodilatador agonista $beta_2$-adrenérgico de acción prolongada descrito químicamente como 4-hidroxi-a^1-[[[6-(4-fenilbutoxi)hexil]amino]metil]-1,3-bencenodimetanol, 1-hidroxi-2-naftalenocarboxilato (xinafoato de salmeterol). Comercialmente, el xinafoato de salmeterol se encuentra disponible como aerosol para inhalación Serevent® y como polvos para inhalación Serevent® Diskus® (GlaxoSmithKline). El aerosol para inhalación Serevent® está actualmente indicado para el tratamiento de mantenimiento del asma, para la prevención del broncoespasmo en pacientes con enfermedad de las vías respiratorias reversible y para el tratamiento de mantenimiento del broncoespasmo asociado a enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), incluyendo enfisema y bronquitis crónica. Serevent® Diskus® está actualmente indicado para el tratamiento de mantenimiento del asma, para la prevención del broncoespasmo en pacientes con enfermedad de las vías respiratorias reversible y para la prevención del broncoespasmo inducido por el ejercicio.

La dosis habitual para adultos de aerosol para inhalación Serevent® es de 2 inhalaciones (21 µg de base salmeterol en cada inhalación) dos veces al día (separadas por aproximadamente 12 horas). La dosis habitual para adultos de Serevent® Diskus® es una inhalación (50 µg de salmeterol) dos veces al día (separadas por aproximadamente 12 horas). Los ensayos clínicos mostraron que el tiempo hasta la aparición de broncodilatación eficaz (es decir, 15%[3] de mejora de VEF_1) era de 10 a 20 minutos tras la administración de aerosol para inhalación Serevent®. La mediana de tiempo hasta la aparición de broncodilatación eficaz (es decir, una mejora de 15%[3] del VEF1) era de 30 a 48 minutos tras la administración de una dosis de 50 µg de Serevent® Diskus®. Ambas formulaciones mostraron una mejora máxima de VEF_1 (volumen espiratorio forzado en un segundo), generalmente dentro de 180 minutos y una mejora clínicamente significativa continua durante 12 horas en la mayoría de pacientes. (Physician's Desk Reference, 55a ed. 1464-1471 (2001)).

Un estudio de largo plazo de la combinación de salmeterol e ipratropio en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) observó que en comparación con salmeterol solo, la combinación de salmeterol con ipratropio mostraba la mayor mejora de volumen espiratorio forzado en un segundo (VEF1) y conductancia de las vías respiratorias específica (Van Noord, et al., Eur. Respir. J. 15:878, 2000). Todas las medicaciones se inhalaron a partir de un inhalador de dosis medida (IDM) incorporado a una cámara de aerosol Volumatic® (GlaxoWellcome, Reino Unido).

El documento nºWO 01/76601 da a conocer formulaciones que combinan salmeterol micronizado e ipratropio en masa combinado con lactosa. Los polvos combinados están destinados a la administración con Rotahaler, Diskhaler o inhalador Diskus (todas marcas comerciales de GlaxoGroup Ltd.).

Sin embargo, las estrategias de administración pulmonar de fármaco, tales como las indicadas anteriormente, poseen muchas limitaciones, incluyendo la pérdida excesiva de fármaco inhalado en la cavidad orofaríngea (con frecuencia superior a 80%), poco control del sitio de deposición, falta de reproducibilidad de resultados terapéuticos debido a variaciones en los patrones de respiración, frecuente absorción excesivamente rápida de fármaco, que potencialmente resulta en efectos tóxicos locales y potencial de eliminación rápida mediante fagocitosis por macrófagos pulmonares.

En la técnica anterior, el documento nº WO01/13891 da a conocer partículas no poliméricas para la administración pulmonar, que comprende sulfato de albuterol, DPPC y leucina.

Existe una necesidad de una composición farmacéutica de polvos secos, especialmente una con una distribución de tamaños de partícula más homogénea y capaz de ser administrada sin mezcla adicional, para la administración pulmonar de salmeterol e ipratropio. Además, existe una necesidad de una composición farmacéutica de polvos secos que comprenda salmeterol e ipratropio que permite la administración simplificada y eficiente en el sistema pulmonar, tal como la administración de una o dos veces al día. También existe una necesidad de composiciones farmacéuticas de polvos secos que comprendan salmeterol e ipratropio que sean capaces de resistir las tensiones ambientales de las actividades cotidianas, manteniendo simultáneamente una estabilidad física y química deseable, así como una duración de acción deseable.

Descripción resumida de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona partículas no poliméricas para la administración parenteral de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico, comprendiendo las partículas:

(a) un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico,
(b) leucina, en la que la leucina se encuentra presente en las partículas en una cantidad de por lo menos 46 por ciento en peso, y
(c) un fosfolípido o combinación de fosfolípidos, en la que el fosfolípido o combinación de fosfolípidos se encuentra presente en las partículas en una cantidad de 1 a 46 por ciento en peso,

Presentando dichas partículas una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3, en la que la densidad compactada se determina utilizando el método de densidad en masa y densidad compactada USP.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona la utilización de partículas no poliméricas del primer aspecto en la preparación de un medicamento para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona partículas no poliméricas del primer aspecto para la utilización en un método para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico.

Las características preferentes de la invención se proporcionan en las reivindicaciones dependientes en la presente memoria.

Cualesquiera referencias en la descripción a métodos de tratamiento se refieren a las partículas de la presente invención para la utilización en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

La presente invención se basa, en parte, en el inesperado resultado de que las partículas para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico que comprende un fosfolípido y una cantidad suficiente de leucina pueden producir un efecto sostenido del agente. Específicamente, las partículas para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico que comprende un fosfolípido o combinación de fosfolípidos, en el que el fosfolípido o combinación de fosfolípidos se encuentra presente en las partículas en una cantidad de aproximadamente 1 a 46 por ciento en peso, y leucina, en la que la leucina se encuentra presente en las partículas en una cantidad de por lo menos 46 por ciento en peso, y en la que las partículas presentan una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3, pueden contribuir a un efecto sostenido del agente. Las partículas que comprenden por lo menos 46 por ciento en peso de leucina pero que no contienen fosfolípidos no muestran estas mismas propiedades de efecto sostenido. Las partículas de la presente invención descritas en la presente memoria pueden comprender bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol como agentes terapéuticos. Los términos “salmeterol” y “xinafoato de salmeterol” se utilizan intercambiablemente en la presente memoria. Los términos “ipratropio” y “bromuro de ipratropio” se utilizan intercambiablemente en la presente memoria.

Las partículas no poliméricas de la presente invención son capaces de extender la duración de la liberación del agente a partir de la partícula.

Las partículas de la presente invención son “aerodinámicamente ligeras”.

Tal como se describen en la presente memoria, “aerodinámicamente ligero” se refiere a partículas que presentan una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3. En una realización, las partículas presentan una densidad compactada inferior a 0,25 g/cm^3. Las partículas de la invención presentan un tamaño preferente, p.ej., una mediana en volumen de diámetro geométrico (MVDG) de por lo menos 1 micra (µm). En una realización, la MVDG es de 1 µm a 30 µm, o cualquier subintervalo comprendido entre 1 µm y 30 µm, por ejemplo, aunque sin limitación, entre 5 µm y 30 µm, o entre 10 µm y 30 µm. Por ejemplo, las partículas presentan un MVDG comprendido entre 1 µm y 10 µm, o entre 3 µm y 7 µm, o entre 5 µm y 15 µm, o entre 9 µm y 30 µm. Las partículas presentan una mediana de diámetro, un diámetro de la mediana de la masa (DMM), un diámetro de envolvente de la mediana de la masa (DEMM) o un diámetro geométrico de la mediana de la masa (DGMM) de por lo menos 1 µm, por ejemplo de 5 µm o de aproximadamente 10 µm o superior. Por ejemplo, las partículas presentan un DGMM superior a 1 µm y hasta 30 µm, o cualquier subintervalo comprendido entre 1 µm y 30 µm, por ejemplo, aunque sin limitación, entre 5 µm y 30 µm, o entre 10 µm y 30 µm. En todavía otra realización, las partículas de la invención presentan un diámetro aerodinámico de entre 1 y 5 µm.

Un objetivo de la presente invención es crear composiciones farmacéuticas de polvos secos capaces de administrar cantidades eficaces de agentes bioactivos en el sistema pulmonar de un sujeto que requiere tratamiento, profilaxis o diagnóstico.

Otro objetivo es simplificar la preparación de un producto de fármaco de combinación que contenga agentes bioactivos.

Otro objetivo es optimizar la cantidad de agentes bioactivos que deben administrarse en el sistema pulmonar para conseguir un tratamiento, profilaxis o diagnóstico eficaz.

Otro objetivo es proporciona una terapia eficaz en un paciente que requiere agentes bioactivos, minimizando simultáneamente la aparición de efectos secundarios no deseados.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un mecanismo para administrar un agente bioactivo o múltiples agentes bioactivos en el mismo sitio local en los pulmones.

Otro objetivo es mejorar las opciones de tratamiento para sujetos que requieren agentes bioactivos, por ejemplo mediante la reducción de la frecuencia de administración o mediante la extensión de la duración de la acción de cualquiera de las agentes o de ambos.

Todavía otro objetivo de la presente invención es crear composiciones farmacéuticas de polvos secos que comprenden agentes bioactivos capaces de resistir las tensiones ambientales, tales como la tensión térmica, de las actividades cotidianas.

Breve descripción de los dibujos

Lo anterior y otros objetivos, características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la descripción más particular siguiente de realizaciones preferentes de la invención.

La figura 1 es un gráfico que muestra el índice de broncoconstricción (PenH) frente al tiempo, en horas, para la broncoprotección proporcionada por tres formulaciones de partículas que comprenden albuterol en un modelo de cobaya de hipersensibilidad de las vías respiratorias.

La figura 2 es un gráfico de concentración de albuterol en el plasma sanguíneo, en ng de albuterol/ml, frente al tiempo, en horas, para un estudio farmacocinético in vivo de tres formulaciones de partículas en ratas Sprague-Dawley.

La figura 3 es un gráfico que demuestra la influencia de la composición que comprende albuterol sobre la reducción del diámetro de masa media de partícula, como porcentaje de reducción del tamaño inicial, durante el tiempo, en minutos, bajo condiciones de hidratación total.

La figura 4 es una isoterma de sorción de humedad de sorción dinámica de vapor (SDV) para partículas que contienen DPPC, DSPC, leucina, bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol (formulación A de las Tablas I a IX).

La figura 5 es una isoterma de sorción de humedad de SDV para partículas que contienen DPPC, DSPG, leucina, bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol (formulación B de las Tablas I a IX).

La figura 6 es una isoterma de sorción de humedad de SDV para partículas que contienen leucina, bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol (formulación C de las Tablas I a IX).

La figura 7 es una isoterma de sorción de humedad de SDV para partículas que contienen leucina, manitol, bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol (formulación D de las Tablas I a IX).

La figura 8 es una isoterma de sorción de humedad de SDV para partículas que contienen MSPC, DMPE, leucina, bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol (formulación E de las Tablas I a IX).

La figura 9 es un gráfico que resume un estudio de 12 horas de broncoprotección en un modelo de cobaya de hipersensibilidad de las vías respiratorias para diez formulaciones de partículas (formulaciones A, B, C, D, E, F, H, I, J, K de las Tablas I y III), salmeterol/lactosa y placebo.

La figura 10 es un gráfico de índice de broncoconstricción (PenH) frente al tiempo, en horas, para un estudio multipunto de broncoprotección en un modelo de cobaya de hipersensibilidad de las vías respiratorias para cinco formulaciones de partículas (formulaciones A, B, C, D, E de la Tabla I) y salmeterol/lactosa (SXLac).

La figura 11 es un gráfico del porcentaje del índice de broncoconstricción de línea base frente al tiempo, en horas, para un estudio multipunto de broncoprotección en un modelo de cobaya de hipersensibilidad de las vías respiratorias para cinco formulaciones de partículas (formulaciones A, B, C, D y E de la Tabla I) y salmeterol/lactosa (SXLac).

Descripción detallada de la invención

A continuación, se proporciona una descripción de realizaciones preferentes de la invención.

En términos generales, la presente invención se refiere a partículas para la administración de uno o más agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos en el sistema pulmonar. La presente invención se basa, en parte, en el inesperado resultado de que las partículas para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico que comprende un fosfolípido y una cantidad suficiente de leucina pueden producir un efecto sostenido del agente.

Son agentes adecuados los corticoesteroides, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, beclometasona, budesónido, ciclesónido, flunisólido, fluticasona, mometasoma, roflepónido, triamcinalona, salmeterol, xinafoato de salmeterol, terbutalina; agonistas beta-2, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, albuterol, bitolterol, fenoterol, formoterol, isoetarina, isoproterenol, metaproterenol, pirbuterol; anticolinérgicos, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, bromuro de ipratropio, tiatropio, Ba679BR y trospio.

Además, las combinaciones de cualquier clase con cualquier otra clase (o uno de las tres clases) resultan adecuadas para el tratamiento del asma y/o la EPOC. Estas combinaciones son combinaciones de agonistas beta-2 y corticoesteroides, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, salmeterol y beclometasona, salmeterol y fluticasona, salmeterol y budesónido, salmeterol y mometasona, salmeterol y roflepónido, formoterol y budesónido, formoterol y fluticasona, formoterol y mometasona, formoterol y roflepónido, formoterol y beclometasona; combinaciones de beta-2 y anticolinérgicos, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, albuterol y bromuro de ipratropio, salmeterol y bromuro de ipratropio, formoterol y tiatropio, fenoterol y bromuro de ipratropio, albuterol y trospio, bitolterol y trospio, fenoterol y trospio, formoterol y trospio, isoetarina y trospio, isoproterenol y trospio, metaproterenol y trospio, pirbuterol y trospio; y combinaciones de corticosteroide y anticolinérgico, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, budeónisod y tiatropio, fluticasona y tiatropio, mometasona y tiatropio, roflepónido y tiatropio, beclometasona y trospio, budesónido y trospio, ciclesónido y trospio, flunisólido y trospio, fluticasona y trospio, mometasona y trospio, roflepónido y trospio, triamcinalona y trospio, salmeterol y trospio, terbutalina y trospio.

El experto en la materia entenderá que las sales farmacéuticamente aceptables de los agentes anteriores resultan adecuadas en la práctica de la invención. Tal como se utiliza en la presente memoria, una “sal farmacéuticamente aceptable” del compuesto dado a conocer es un producto que contiene un enlace iónico resultado de la reacción del compuesto con un ácido o una base, adecuado para la administración en un sujeto. Por ejemplo, una sal de ácido de un compuesto que contiene una amina u otro grupo básico puede obtenerse mediante la reacción del compuesto con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido acético, ácido perclórico y similares. Los compuestos con un grupo de amonio cuaternario contienen además un contraión, tal como cloruro, bromuro, yoduro, acetato, perclorato y similares. Entre otros ejemplos de dichas sales se incluyen hidrocloruros, hidrobromuros, sulfatos, metanosulfonatos, nitratos, maleatos, acetatos, citratos, fumaratos, tartratos (p.ej., (+)-tartratos, (-)-tartratos o mezclas de los mismos, incluyendo mezclas racémicas), succinatos, benzoatos y sales con aminoácidos, tales como ácido glutámico. También pueden formarse sales con bases orgánicas adecuadas en el caso de que el compuesto comprenda un grupo funcional ácido, tal como -COOH o SO_3H. Entre dichas bases adecuadas para la formación de una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable con compuestos se incluyen bases orgánicas que son no tóxicas y suficientemente fuertes para formar sales. Dichas bases orgánicas son bien conocidas en la técnica y entre ellas pueden incluirse aminoácidos, tales como arginina y lisina, mono-, di- y tri-etanolamina, colina, mono-, di- y tri-alquilamina, tal como metilamina, dimetilamina y trimetilamina, guanidina, N-bencilfenetilamina, N-metilglucosamina, N-metilpiperazina, morfolina, etilendiamina, tris(hidroximetil)aminometano y similares.

Las partículas de la invención, en lo sucesivo denominadas “partículas” o “polvos” también son preferentemente biodegradables y biocompatibles, y opcionalmente son capaces de afectar a la biodegradabilidad y/o a la tasa de administración de los agentes coadministrados. Además de un agente, preferentemente un agente bioactivo, las partículas pueden incluir además una diversidad de materiales. Pueden utilizarse materiales tanto inorgánicos como orgánicos. Entre los materiales adecuados pueden incluirse, aunque sin limitarse a ellos, lípidos, ácidos grasos, sales inorgánicas, aminoácidos, polietilenglicol, precirol, trehalosa, manitol, lactosa y maltodextrina. Las composiciones de partículas preferentes se describen adicionalmente después.

La presente invención presenta numerosas ventajas. Por ejemplo, la práctica de la presente invención permite la administración pulmonar de una sola dosis de partículas que comprende un agente o agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos en un paciente que necesita tratamiento, profilaxis o diagnóstico.

La presente invención se refiere de manera general a la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico. En una realización, las partículas presentan la forma de unos polvos secos adecuados para la inhalación.

En una realización, se administra una cantidad eficaz de uno o más agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos en el sistema pulmonar, por ejemplo mediante un inhalador de polvos secos (IPS), con alta eficiencia. La utilización de un IPS con las formulaciones de polvos dadas a conocer en la presente memoria incrementa la eficiencia, minimiza el fármaco malgastado y reduce el coste global. Debido a que la frecuencia de las dosis puede reducirse mediante el método de administración que posibilitan los polvos secos, se espera que pueda mejorarse el cumplimiento del paciente de los protocolos de tratamiento. Además, las propiedades potenciadoras de las partículas mismas pueden resultar en una ventaja de la dosis, donde el efecto deseado se consigue con una cantidad reducida de agente o agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos. En otra realización, se administra una cantidad eficaz mediante un inhalador de polvos secos (IPS), por ejemplo, un Rotahaler, Diskhaler o inhalador Diskus, en el que una única dosis comprende un único receptáculo, tal como una cápsula o blíster, o una dosis comprende más de un receptáculo. El agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico para la acción sistémica o local puede liberarse de una manera sostenida. Además, el agente puede liberarse a partir de las partículas de una manera controlada.

Por ejemplo, las partículas pueden diseñarse para que posean un perfil de liberación sostenida. Este perfil de liberación sostenida puede proporcionar una residencia prolongada de uno o más del agente o agentes administrados en el pulmón e incrementar el tiempo en que se encuentran presentes niveles terapéuticos de uno o más agentes en el medio local o en la circulación sistémica.

En una realización preferente, las partículas poseen características de aerosol que permiten la administración eficaz de las partículas en el sistema respiratorio sin la utilización de propelentes. Por ejemplo, las partículas pueden evaluarse para el rendimiento del aerosol basándose en características tales como el diámetro geométrico, el diámetro aerodinámico, la densidad compactada y la fracción de partículas finas.

El diámetro de las partículas, por ejemplo, su MVDG, puede medirse utilizando un instrumento de detección de zona eléctrica, tal como un Multisizer IIe (Coulter Electronic, Luton, Beds, Inglaterra) o un instrumento de difracción láser, tal como HELOS (Sympatec, Princeton, NJ). Otros instrumentos para medir el diámetro geométrico de las partículas son bien conocidos de la técnica. El diámetro de las partículas en una muestra variará según factores tales como la composición de partículas y los métodos de síntesis. La distribución de tamaños de partículas en una muestra puede seleccionarse para permitir el depósito óptimo dentro de los sitios diana en el tracto respiratorio.

Las partículas de la presente invención pueden fabricarse o separarse, por ejemplo, mediante filtración o

centrifugación, proporcionando una muestra de partículas con una distribución de tamaños preseleccionada. Por ejemplo, más de aproximadamente 30, 50, 70 o 80% de las partículas en una muestra pueden presentar un diámetro de por lo menos aproximadamente 1 µm, por ejemplo aproximadamente 5 µm. El intervalo seleccionado dentro del que debe caer un determinado porcentaje de las partículas puede ser de aproximadamente 1 µm a 30 µm, o cualquier subintervalo comprendido entre aproximadamente 1 µm y 30 µm, por ejemplo, aunque sin limitación, entre aproximadamente 5 y 30 µm, u opcionalmente entre aproximadamente 5 y 15 µm. Opcionalmente, también puede fabricarse una muestra de partículas en la que por lo menos aproximadamente 90% u opcionalmente aproximadamente 95% o 99% de las partículas, presentan un diámetro dentro del intervalo seleccionado. Un intervalo intercuartil de la muestra de partículas puede ser 2 µm, con un diámetro medio de, por ejemplo entre aproximadamente 7,5 y 13,5 µm. De esta manera, por ejemplo, por lo menos aproximadamente 30% a 40% de las partículas pueden presentar diámetros dentro del intervalo seleccionado. Preferentemente, dichos porcentajes de partículas presentan diámetros dentro de un intervalo de 1 µm, por ejemplo entre 6 y 7, 10 y 11, 13 y 14 o 14 y 15 µm.

En una realización, las partículas de la presente invención son capaces de liberar un agente de una manera sostenida. De esta manera, se dice que las partículas poseen propiedades de liberación sostenida. La expresión “liberación sostenida” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un incremento del periodo de tiempo durante el que se libera un agente a partir de una partícula de la presente invención en comparación con un control apropiado, tal como, por ejemplo, en comparación con el periodo de tiempo durante el que se libera un agente a partir de una partícula que no comprende un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico, un fosfolípido o combinación de fosfolípidos, en el que el fosfolípido o combinación de fosfolípidos se encuentra presente en las partículas en una cantidad de entre aproximadamente 1 y 46 por ciento en peso, y leucina, en el que la leucina se encuentra presente en las partículas en una cantidad de por lo menos 46 por ciento en peso. Por ejemplo, una liberación sostenida de albuterol a partir de las partículas de la presente invención puede ser una liberación que muestra broncoprotección in vivo hasta por lo menos 4 horas después de la administración, tal como aproximadamente 5 a 6 horas o más. La expresión “liberación sostenida” tal como se utiliza en la presente memoria también puede referirse a una reducción de la disponibilidad, o estallido, de agente típicamente observada poco después de la administración. Por ejemplo, “liberación sostenida” puede referirse a una reducción de la disponibilidad de un agente en la primera hora después de la administración, con frecuencia denominada liberación inicial elevada o “burst”. Mediante el control del burst, el cumplimiento y confort del paciente pueden incrementarse mediante no sólo la reducción de la frecuencia de administración sino también proporcionando una terapia que resulte más apto para los pacientes.

La expresión “liberación sostenida” tal como se utiliza en la presente memoria puede referirse además a una cantidad más elevada de fármaco retenido o remanente en las partículas después de la liberación rápida inicial en comparación con un control apropiado. La “liberación sostenida” también es conocida por el experto en la materia como “liberación modificada”, “liberación prolongada” o “liberación prolongada”. La “liberación sostenida”, tal como se utiliza en la presente memoria, también comprende “acción sostenida” o “efecto sostenido”. “Acción sostenida” y “efecto sostenido” tal como se utilizan estas expresiones en la presente memoria, pueden referirse a un incremento del periodo de tiempo durante el que un agente realiza su actividad terapéutica, profiláctica o diagnóstica en comparación con un control apropiado. La expresión “acción sostenida” también es conocida por el experto en la materia como “acción prolongada” o “acción ampliada”.

Sin restringirse a ninguna teoría en particular, el Solicitante cree que el efecto sostenido proporcionado por las partículas de la presente invención puede verse influido, entre otros factores, por la tasa de liberación de fármaco a partir de las partículas. Las tasas de liberación de fármaco pueden describirse en términos de la semivida de liberación de un agente bioactivo a partir de una formulación. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “semivida” se refiere al tiempo requerido para liberar el 50% de la carga de fármaco inicial contenida en las partículas. En una realización, las partículas de la presente invención presentan una semivida de liberación de un agente a partir de las partículas superior a aproximadamente 1 hora.
Las tasas de liberación de fármaco también pueden describirse en términos de constantes de liberación. La constante de liberación de primer orden puede expresarse utilizando una de las ecuaciones siguientes:

$$M\,pw\,(t) = M\,(\infty) * (e^{-k*t}) \qquad (1)$$

o

$$M\,(t) = M\,(\infty) * (1 - e^{-k*t}) \qquad (2)$$

en la que k es la constante de liberación de primer orden. M (∞) es la masa total de fármaco en el sistema de administración de fármaco, p.ej., los polvos secos, y M pw (t) es la masa de fármaco que queda en los polvos secos en el tiempo t. M (t) es la cantidad de masa de fármaco liberada a partir de los polvos secos en el tiempo t. La relación puede expresarse como:

$$M\,(\infty) = M\,pw\,(t) + M\,(t) \qquad (3)$$

Las ecuaciones (1), (2) y (3) pueden expresarse en cantidad (es decir, masa) de fármaco liberado o concentración de fármaco liberado en un volumen especificado de medio de liberación.

Por ejemplo, la ecuación (2) puede expresarse como:

$$C(t) = C(\infty) * (1 - e^{-k*t}) \quad (4)$$

en la que k es la constante de liberación de primer orden. C (∞) es la concentración teórica máxima de fármaco en el medio de liberación, y C (t) es la concentración de fármaco que se libera a partir de los polvos secos al medio de liberación en el tiempo t.

La 'semivida' o $t_{50\%}$ para una cinética de liberación de primer orden viene dada por la bien conocida ecuación:

$$t_{50\%} = 0{,}693 / k \quad (5)$$

Las velocidades de liberación de fármaco en términos de constante de liberación de primer orden y t50% pueden calcularse utilizando las ecuaciones siguientes:

$$k = -\ln(M\,pw(t) / M(\infty)) / t \quad (6)$$

o

$$k = -\ln(M(\infty) - M(t)) / M(\infty) / t \quad (7)$$

En una realización preferente, las partículas de la invención presentan propiedades de liberación de fármaco prolongada en comparación con el perfil farmacocinético/farmacodinámico del fármaco administrado solo o en formulaciones convencionales, tal como por vía intravenosa.

Además, también se ha encontrado, inesperadamente, que las partículas que comprenden un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico; un fosfolípido o combinación de fosfolípidos, en el que el fosfolípido o combinación de fosfolípidos se encuentra presente en las partículas en una cantidad de aproximadamente 1 a 46 por ciento en peso, y leucina, en el que la leucina se encuentra presente en las partículas en una cantidad de por lo menos 46 por ciento en peso, muestra una reducción controlada y gradual deseable de su tamaño con el tiempo, en dispersión en solución isotónica a 37ºC. El fosfolípido o combinación de fosfolípidos puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad comprendida entre aproximadamente 1 y 46 por ciento en peso. Más comúnmente, el fosfolípido o combinación de fosfolípidos puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad comprendida entre aproximadamente 10 y 46 por ciento en peso.

Las partículas de la presente invención comprenden un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico, también denominado en la presente memoria "agentes bioactivos", "agentes", "medicamentos" o "fármacos". Pueden utilizarse agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos o combinaciones de los mismos. Pueden utilizarse fármacos hidrofílicos, así como fármacos hidrofóbicos. Opcionalmente, los agentes en las partículas pueden encontrarse presentes en forma de una sal.

Entre los agentes bioactivos adecuados se incluyen fármacos de acción tanto local como también sistémica. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, compuestos inorgánicos y orgánicos sintéticos, proteínas y péptidos, polisacáridos y otros azúcares, lípidos, y secuencias de ácidos nucleicos de ADN y ARN con actividades terapéuticas, profilácticas o diagnósticas. Entre las secuencias de ácidos nucleicos se incluyen genes, moléculas antisentido que pueden, por ejemplo, unirse a ADN complementario para inhibir la transcripción, y ribozimas. Los agentes pueden presentar una diversidad de actividades biológicas, tales como agentes vasoactivos, agentes neuroactivos, hormonas, anticoagulantes, agentes inmunomoduladores, agentes citotóxicos, agentes profilácticos, antibióticos, antivíricos, moléculas antisentido, antígenos, agentes antineoplásicos y anticuerpos. En algunos casos, las proteínas pueden ser anticuerpos o antígenos que, de otro modo, deberían administrarse mediante inyección para inducir una respuesta apropiada. Pueden utilizarse compuestos con un amplio abanico de pesos moleculares, por ejemplo compuestos con una masa entre 100 y 500.000 gramos o más por mol.
Se define que las proteínas consisten en 100 residuos aminoácidos o más; los péptidos presentan menos de 100 residuos aminoácidos. A menos que se indique lo contrario, el término "proteína" se refiere tanto a proteínas como a péptidos. Entre los ejemplos se incluye insulina, otras hormonas y anticuerpos. También pueden administrarse polisacáridos, tales como heparina.

Las partículas pueden incluir un agente bioactivo para la administración local en el pulmón, tales como agentes para el tratamiento de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfisema, o fibrosis quística, o para el tratamiento sistémico. Por ejemplo, pueden administrarse genes para el tratamiento de enfermedades, tales como fibrosis quística, al igual que agonistas beta, esteroides, anticolinérgicos y modificadores de leucotrieno para el asma.

Entre otros agentes terapéuticos específicos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, insulina, calcitonina, hormona liberadora de hormona luteinizante (“LHRH”, por sus siglas en inglés) o hormona liberadora de gonadotropina, factor estimulante de colonias de granulocitos (“G-CSF”, por sus siglas en inglés), péptido relacionado con la hormona paratiroidea, somatostatina, testosterona, progesterona, estradiol, nicotina, fentanilo, noretisterona, clonidina, escopolamina, salicilato, cromolín sódico, salmeterol, formeterol, sulfato de estrona y diazepam.

Aquellos agentes terapéuticos que presentan carga, tales como la mayoría de proteínas, incluyendo la insulina, pueden administrarse como un complejo entre el agente terapéutico cargado y una molécula de carga contraria. Preferentemente, la molécula de carga contraria es un lípido cargado o una proteína de carga contraria.

Las partículas pueden incluir cualquiera de entre una diversidad de agentes diagnósticos para administrar local o sistémicamente los agentes tras la administración en un paciente. Puede incorporarse cualquier gas biocompatible o farmacológicamente aceptable en las partículas o atraparlo en los poros de las partículas utilizando tecnología conocida por el experto en la materia. El término gas se refiere a cualquier compuesto que es gas o es capaz de formar gas a la temperatura a la que debe llevarse a cabo la obtención de imágenes. En una realización, la retención de gas en las partículas se mejora mediante la formación de una barrera impermeable a los gases en torno a las partículas. Dichas barreras son bien conocidas por el experto en la materia.

Entre otros agentes de obtención de imágenes que pueden utilizarse se incluyen agentes disponibles comercialmente utilizados en tomografía de emisión de positrones (TEP), tomografía axial computerizada (TAC), tomografía computerizada de emisión monofotónica, radiografías, fluoroscopia y obtención de imágenes de resonancia magnética (IRM).

Entre los ejemplos de materiales adecuados para la utilización como agentes de contraste en IRM se incluyen los quelatos de gadolinio disponibles actualmente, tales como ácido dietilén-triamina-pentaacético (DTPA) y gadopentotato de dimeglumina, así como hierro, magnesio, manganeso, cobre, cromo, tecnecio, europio y otros agentes radioactivos de obtención de imágenes.

Entre los ejemplos de materiales útiles para TAC y radiografías se incluyen materiales a base de yodo para la administración intravenosa, tales como monómeros iónicos tipificados por diatrizoato y yotalamato, monómeros no iónicos, tales como yopamidol, isohexol e yoversol; dímeros no iónicos, tales como iotrol y iodixanol, y dímeros iónicos, por ejemplo loxagalato.
Los agentes diagnósticos pueden detectarse utilizando técnicas estándares disponibles en la técnica y equipos disponibles comercialmente.

La cantidad de uno o más agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos presente en las partículas pueden estar comprendidas entre aproximadamente 0,1 y 40 por ciento en peso. También pueden encontrarse presentes en las partículas combinaciones de agentes. En una realización, la cantidad de uno o más agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos presente en las partículas es de aproximadamente 1 a 25 por ciento en peso, tal como de aproximadamente 15 a 25 por ciento en peso. En otra realización, la cantidad de uno o más agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos presente en las partículas es de aproximadamente 5 a 10 por ciento en peso, por ejemplo de aproximadamente 8 por ciento en peso.

Las partículas y composiciones respirables que comprenden las partículas de la invención comprenden un fosfolípido o una combinación de fosfolípidos. Entre los ejemplos de fosfolípidos adecuados se incluyen, entre otros, los indicados y descritos en la solicitud de patente US nº US2001/0036481 (09/792.869), titulada "Modulation of Release From Dry Powder Formulations", presentada el 23 de febrero, 2001, que es una continuación en parte de la solicitud de patente US nº 09/644.736, titulada "Modulation Of Release From Dry Powder Formulations", presentada el 23 de agosto, 2000, que es una continuación en parte de la solicitud de patente US nº 60/150.742, titulada "Modulation of Release From Dry Powder Formulations by Controlling Matrix Transition", presentada el 25 de agosto, 1999. Entre otros fosfolípidos se incluyen fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilgliceroles, fosfatidilserinas, fosfatidilinositoles y combinaciones de los mismos. Entre los ejemplos específicos de fosfolípidos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-distearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1-miristoil,-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MSPC), 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DSPG), 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), o cualquier combinación de los mismos. Otros fosfolípidos son conocidos por el experto en la materia. En una realización preferente, los fosfolípidos son endógenos al pulmón.

El fosfolípido o combinación de fosfolípidos puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad comprendida entre aproximadamente 1 y 46 por ciento en peso. Más comúnmente, el fosfolípido o combinación de fosfolípidos puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad comprendida entre aproximadamente 10 y 46 por ciento en peso. En una realización, el contenido total de fosfolípidos es de aproximadamente 35 a 46 por ciento en peso. En otra realización, el contenido total de fosfolípidos es de aproximadamente 46 por ciento en peso. En todavía otra realización, el contenido total de fosfolípidos puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad comprendida entre aproximadamente 10 y 60 por ciento en peso.

En otra realización de la invención, los fosfolípidos o combinaciones de los mismos se seleccionan para proporcionar propiedades de liberación controlada a las partículas altamente dispersables. La temperatura de transición de fases de un fosfolípido específico puede ser inferior, aproximadamente igual o superior a la temperatura corporal fisiológica del paciente. Mediante la selección de fosfolípidos o combinaciones de fosfolípidos según su temperatura de transición de fase, las partículas pueden adaptarse para que presenten propiedades de liberación controlada. Por ejemplo, mediante la administración de partículas que incluyen un fosfolípido o combinación de fosfolípidos que presentan una temperatura de transición de fase superior a la temperatura corporal del paciente, la liberación de un agente, tal como albuterol, puede enlentecerse. Por otra parte, puede obtenerse una liberación rápida mediante la inclusión en las partículas de fosfolípidos con temperaturas de transición más bajas.

Se describen partículas que presentan propiedades de liberación controlada y métodos de modulación de la liberación de un agente biológicamente activo en la solicitud de patente US nº US2001/0036481 (09/792.869), titulada "Modulation of Release From Dry Powder Formulations", presentada el 23 de febrero, 2001, que es una continuación en parte de la solicitud de patente US nº 09/644.736, titulada "Modulation Of Release From Dry Powder Formulations", presentada el 23 de agosto, 2000, que es una continuación en parte de la solicitud de patente US nº 60/150.742, titulada "Modulation of Release From Dry Powder Formulations by Controlling Matrix Transition", presentada el 25 de agosto, 1999.

También puede utilizarse el diámetro aerodinámico de las partículas para caracterizar el rendimiento de aerosol de una composición. En una realización, las partículas presentan un diámetro aerodinámico de la mediana de la masa (MMAD, por sus siglas en inglés) de aproximadamente 1 a 5 µm. En otra realización, las partículas presentan una MMAD de aproximadamente 1 a 3 µm. En otra realización, las partículas presentan una MMAD de aproximadamente 1 a 4 µm. En todavía otra realización, las partículas presentan una MMAD de aproximadamente 3 a 5 µm.

El diámetro aerodinámico puede determinarse experimentalmente utilizando mediciones de tiempo de vuelo (TDV). Por ejemplo, puede utilizarse un instrumento tal como el analizador de tamaños de partícula Aerosizer DSP modelo 3225 (Amherst Process Instrument, Inc., Amherst, MA) para medir el diámetro aerodinámico. El Aerosizer mide el tiempo que tardan las partículas individuales en pasar entre dos haces láser fijos. El instrumento posteriormente utiliza estos datos de TDV para resolver un equilibrio de fuerzas sobre las partículas y el diámetro aerodinámico se determina basándose en la relación:

$$d_{\text{aer}} \propto d \sqrt{\rho}$$

donde d_{aer} es el diámetro aerodinámico de la partícula; d es el diámetro de la partícula, y es la densidad de partículas.

El diámetro aerodinámico también puede determinarse experimentalmente mediante la utilización de un método de sedimentación gravitacional, en el que el tiempo para que un conjunto de partículas sedimente a una distancia determinada se utiliza para inferir directamente el diámetro aerodinámico de las partículas. Son métodos indirectos para medir el diámetro aerodinámico de la mediana de la masa, el impactador de cascada Andersen y el impactador en líquido de múltiples etapas (ILME). Los métodos e instrumentos para medir el diámetro aerodinámico de partícula son bien conocidos en la técnica.

Puede utilizarse la fracción de partículas finas como un modo para caracterizar el rendimiento de aerosol de unos polvos dispersados. La fracción de partículas finas describe la distribución de tamaños de las partículas en suspensión en el aire. El análisis gravimétrico, utilizando impactadores de cascada, es un método para medir la distribución de tamaños, o la fracción de partículas finas, de las partículas en suspensión en el aire. El impactador de cascada Andersen (ICA) es un impactador de ocho etapas que puede separar aerosoles en nueve fracciones diferentes basándose en el tamaño aerodinámico. Los cortes de tamaño de cada etapa dependen del caudal al que se opera el ICA.

En una realización, también se utiliza un ICA colapsado de dos etapas para medir la fracción de partículas finas. El ICA colapsado de dos etapas consiste en únicamente las dos etapas superiores del ICA de ocho etapas y permite la recolección de dos fracciones de polvos separadas. El ICA está constituido de múltiples etapas que consisten en una serie de boquillas y una superficie de impacto. En cada etapa, un flujo de aerosol pasa por las boquillas e impacta en la superficie. Las partículas en el flujo de aerosol con una inercia suficientemente grandes impactarán en la placa. Las partículas de menor tamaño, que no presentan suficiente inercia para impactar sobre la placa, permanecerán en el flujo de aerosol y serán arrastradas a la etapa siguiente. Cada etapa sucesiva del ICA presenta una velocidad más elevada del aerosol en las boquillas de manera que pueden recolectarse partículas más pequeñas en cada etapa sucesiva.

En una realización, las partículas de la invención se caracterizan por una fracción de partículas finas. Se utiliza un impactador de cascada Andersen colapsado de dos etapas para determinar la fracción de partículas finas. Específicamente, se calibra un ICA colapsado de dos etapas para que la fracción de polvos que se recolecta en la etapa uno esté compuesto de partículas con un diámetro aerodinámico inferior a 5,6 µm y superior a 3,4 µm. La

fracción de polvos que pasan la etapa uno y se depositan sobre un filtro de recolección está compuesta, de esta manera, de partículas con un diámetro aerodinámico inferior a 3,4 µm. El flujo de aire a dicha calibración es de aproximadamente 60 l/min.

Las expresiones “FPF” (<5,6) y “fracción de partículas finas, inferiores a 5,6 µm”, tal como se utilizan en la presente memoria, se refieren a la fracción de una muestra de partículas que presenta un diámetro aerodinámico inferior a 5,6 µm. La FPF(<5,6) puede determinarse mediante la división de la masa de partículas depositada sobre la etapa una y sobre el filtro de recolección de un ICA colapsado de dos etapas, por la masa de las partículas pesadas en una cápsula para la administración en el instrumento.

Las expresiones “FPF” (<3,4) y “fracción de partículas finas, inferiores a 3,4 µm”, tal como se utilizan en la presente memoria, se refieren a la fracción de una muestra de partículas que presenta un diámetro aerodinámico inferior a 3,4 µm. La FPF(<3,4) puede determinarse mediante la división de la masa de partículas depositada sobre el filtro de recolección de un ICA colapsado de dos etapas, por la masa de las partículas pesadas en una cápsula para la administración en el instrumento.

Se ha demostrado que la FPF(<5,6) se correlaciona con la fracción de los polvos que es capaz de llegar a los pulmones del paciente, mientras que se ha demostrado que la FPF(<3,4) se correlaciona con la fracción de los polvos que alcanza el pulmón profundo del paciente. Estas correlaciones proporcionan un indicador cuantitativo que puede utilizarse para la optimización de las partículas.

El impactador en líquido de múltiples etapas (ILME) es otro dispositivo que puede utilizarse para medir la fracción de partículas finas. El ILME opera bajo los mismos principios que el impactador de cascada Andersen, aunque en lugar de ocho etapas, el ILME presenta cinco. Adicionalmente, tal como se utiliza en una realización, cada etapa del ILME consiste en una frita de vidrio humectada con etanol en lugar de una placa sólida. La etapa humectada se utiliza para evitar el rebote y rearrastre, que puede producirse al utilizar un ICA.

En una realización, una masa de partículas de la invención presenta una FPF(<5,6) de por lo menos aproximadamente 40%. En una realización preferente, una masa de partículas de la invención presenta una FPF(<5,6) superior a aproximadamente 50%. Todavía más preferentemente, una masa de partículas presenta una FPF(<5,6) superior a aproximadamente 60%. En otra realización, las partículas presentan una FPF(<3,4) superior a aproximadamente 10%, por ejemplo una FPF(<3,4) superior a aproximadamente 20%.

En la invención, las partículas presentan una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3. Las partículas con una densidad compactada inferior a aproximadamente 0,4 g/cm^3, se denominan en la presente memoria “aerodinámicamente ligeras”. En otra realización, las partículas presentan una densidad compactada inferior a aproximadamente 0,3 g/cm^3, inferior a aproximadamente 0,25 g/cm^3 o inferior a aproximadamente 0,2 g/cm^3. En todavía otra realización, las partículas presentan una densidad compactada inferior a aproximadamente 0,1 g/cm^3. La densidad compactada es una medida de la densidad de masa de envolvente que caracteriza una partícula. La densidad de masa de envolvente de una partícula de una forma estadísticamente isotrópica se define como la masa de la partícula dividido por el volumen mínimo de envolvente esférico dentro del cual puede estar encerrada. Entre las características que pueden contribuir a una densidad compactada baja se incluyen una textura superficial irregular y una estructura porosa.

La densidad compactada puede medirse mediante la utilización de instrumentos conocidos por el experto en la materia, tales como el analizador de densidad compactada controlado por microprocesador de doble plataforma (Vankel, NC) o un instrumento GeoPyc™ (Micrometrics Instrument Corp., Norcross, GA). La densidad compactada puede determinarse utilizando el método de USP Bulk Density and Tapped Density, convención de la Farmacopea estadounidense, Rockville, MD, 10º suplemento, 4950-4951, 1999.

Las condiciones del procedimiento, así como la eficiencia del inhalador, en particular con respecto a la dispersabilidad, pueden contribuir al tamaño de las partículas que pueden administrarse en el sistema pulmonar. Pueden fabricarse partículas aerodinámicamente ligeras y después separarse, por ejemplo, mediante filtración o centrifugación, proporcionando una muestra de partículas con una distribución de tamaños preseleccionada.

Las partículas aerodinámicamente ligeras con una densidad compactada inferior a aproximadamente 0,4 g/cm^3, mediana de diámetro de por lo menos aproximadamente 5 µm y un diámetro aerodinámico de aproximadamente 1 a 5 µm, preferentemente de aproximadamente 1 a 3 µm, son más capaces de escapar a la deposición inercial y gravitacional en la región orofaríngea, y son enviadas a las vías respiratorias o al pulmón profundo. La utilización de partículas más grandes y porosas resulta ventajosa, ya que son capaces de aerosolizarse más fácilmente que las partículas de aerosol más pequeñas y densas, tales como las utilizadas actualmente para las terapias por inhalación.

En comparación con partículas más pequeñas relativamente densas, las partículas más grandes aerodinámicamente liberas, preferentemente con una mediana de diámetro de por lo menos aproximadamente 5 micras, potencialmente también pueden evitar con mayor éxito la endocitosis fagocítica por macrófagos alveolares y el lavado de los pulmones, debido a la exclusión por tamaño de las partículas del espacio citosólico de los fagocitos. La fagocitosis de partículas

por los macrófagos alveolares se reduce drásticamente a medida que se incrementa el diámetro de las partículas más allá de aproximadamente 3 micras. Kawaguchi, H. et al., Biomaterials 7: 61-66, 1986; Krenis, L.J. y Strauss, B., Proc. Soc. Exp. Med. 107: 748-750, 1961; and Rudt, S. y Muller, R.H., J. Contr. Rel. 22: 263-272, 1992). Para partículas de forma estadísticamente isotrópica, tales como las esferas con superficies rugosas, el volumen de envolvente de la partícula es aproximadamente equivalente al volumen de espacio citosólico requerido dentro de un macrófago para la fagocitosis completa de la partícula.

Las partículas aerodinámicamente liberas son capaces, de esta manera, de una liberación a más largo plazo de un agente encapsulado en los pulmones. Tras la inhalación, las partículas biodegradables aerodinámicamente ligeras pueden depositarse en los pulmones y posteriormente experimentar una degradación lenta y liberación del fármaco sin que la mayoría de las partículas resulte fagocitada por los macrófagos alveolares. El fármaco puede administrarse de manera relativamente lenta al líquido alveolar y a una velocidad controlada al torrente sanguíneo, minimizando posibles respuestas tóxicas de las células expuestas a una concentración excesivamente elevada del fármaco. De esta manera, las partículas aerodinámicamente ligeras resultan altamente adecuadas para las terapias por inhalación, en particular en aplicaciones de liberación controlada.

Las partículas pueden fabricarse con el material, rugosidad superficial, diámetro y densidad compactada apropiados para la administración localizada en regiones seleccionadas del tracto respiratorio, tales como el pulmón profundo o las vías respiratorias superiores o centrales. En una realización, las partículas son amorfas. En otra realización, las partículas son sustancialmente amorfas. En una realización, las partículas son parcial a sustancialmente cristalinas. En otra realización, la leucina es cristalina y uno o más ingredientes bioactivos son amorfos. A título de ejemplo, puede utilizarse una densidad más elevada o partículas más grandes para la administración en las vías respiratorias superiores, o una mezcla de partículas de tamaño variable en una muestra, con la condición de que pueda administrarse el mismo agente terapéutico o un agente terapéutico diferente con diana en regiones diferentes del pulmón en una administración. Las partículas con un diámetro aerodinámico comprendido entre aproximadamente 3 y 5 µm resultan preferentes para la administración en las vías respiratorias centrales y superiores. Las partículas con un diámetro aerodinámico comprendido entre aproximadamente 1 y 3 µm resultan preferentes para la administración en el pulmón profundo.

El impacto inercial y la sedimentación gravitacional de los aerosoles son mecanismos de deposición predominantes en las vías respiratorias y acinos pulmonares durante las condiciones normales de respiración (Edwards, D.A., J. Aerosol Sci., 26: 293-317, 1995). La importancia de ambos mecanismos de deposición se incrementa en proporción a la masa de los aerosoles y no al volumen (o envolvente) de las partículas. Debido a que el sitio de deposición del aerosol en los pulmones está determinado por la masa del aerosol (es decir, por lo menos para partículas de diámetro aerodinámico medio superior a aproximadamente 1 µm), la reducción de la densidad compactada mediante el incremento de las irregularidades superficiales de las partículas y la porosidad de las partículas permite la administración de volúmenes de envolvente de partícula más grandes en los pulmones, con independencia de todos los demás parámetros físicos.

Las partículas de baja densidad compactada presentan un diámetro aerodinámico pequeño en comparación con el diámetro de envolvente esférica real. El diámetro aerodinámico, d_{aer}, se relaciona con el diámetro de la envolvente esférica, d (Gonda, I., "Physico-chemical principles in aerosol delivery", en: Topics in Pharmaceutical Sciences, 1991 (eds. D.J.A. Crommelin y K.K. Midha), pp. 95-117, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1992)), mediante la fórmula:

$$d_{\text{aer}} \propto d\sqrt{\text{r}}$$

donde la densidad de la masa de envolvente, ρ, se expresa en unidades de g/cm^3. La deposición máxima de partículas de aerosol monodisperso en la región alveolar del pulmón humano (~60%) se produce para un diámetro aerodinámico de aproximadamente d_{aer}≈3 µm (Heyder, J., et al., J. Aerosol Sci. 17: 811-825, 1986). Debido a la reducida densidad de masa de envolvente, el diámetro real, d, de las partículas aerodinámicamente ligeras que comprenden unos polvos inhalados monodispersos que muestran una deposición máxima en el pulmón profundo, es:

$$d \propto 3/\sqrt{\text{r}} \ (\text{where } \rho < 1 \text{ g/cm}^3);$$

donde d en todos los casos es superior a aproximadamente 3 µm. Por ejemplo, las partículas aerodinámicamente ligeras que muestran una densidad de masa de envolvente, r = 0,1 g/cm^3, muestran una deposición máxima para partículas con diámetros de envolvente de hasta 9,5 µm. El tamaño de partícula incrementado reduce las fuerzas de adhesión interpartícula (Visser, J., Powder Technology, 58: 1-10). De esta manera, un tamaño grande de partícula incrementa la eficiencia de la aerosolización al pulmón profundo para partículas de baja densidad de masa de envolvente, además de contribuir a reducir las pérdidas fagocíticas.

El diámetro aerodinámico se calcula para proporciona la máxima deposición dentro de los pulmones, anteriormente alcanzada mediante la utilización de partículas muy pequeñas, de diámetro inferior a aproximadamente 5 µm, preferentemente de aproximadamente 1 a 3 µm, que después experimentan fagocitosis. La selección de partículas

que presentan un diámetro mayor, pero que son suficientemente ligeras (por lo tanto caracterizadas como “aerodinámicamente ligeras”), resulta en una administración equivalente en los pulmones, aunque las partículas de tamaño mayor no resultan fagocitadas. Puede obtenerse una administración mejorada mediante la utilización de partículas con una superficie rugosa o desigual respecto a aquellas con una superficie lisa.

La densidad de masa y las relaciones entre densidad de masa, diámetro medio y diámetro aerodinámico se comentan en la solicitud de patente US nº 08/655.570, presentada el 24 de mayo de 1996.

En una realización preferente, las partículas de la invención pueden caracterizarse por su estabilidad en estado sólido. La estabilidad en estado sólido de las partículas puede ser un indicador de la estabilidad física global. La estabilidad física puede afectar a importantes características de una composición farmacéutica, incluyendo la vida útil, las condiciones de almacenamiento apropiadas, los medios aceptables para la administración y la eficiencia de la administración. La estabilidad en estado sólido puede evaluarse utilizando técnicas bien conocidas. Son técnicas particularmente útiles, la calorimetría diferencial de barrido (CDB), la sorción dinámica de vapor (SDV), la difracción de rayos X (DRX) y los ensayos de estrés térmico.

En una realización preferente, las partículas de la invención demuestran estabilidad física al exponerlas a la humedad. La estabilidad física con la exposición a la humedad puede evaluarse utilizando la sorción dinámica de vapor (SDV). Utilizando la SDV, se generan isotermas de sorción de humedad mediante la exposición de un material a un flujo de gas humidificado. La incorporación de agua por el material se mide gravimétricamente. El aparato DVS-1000 de Surface Measurement Systems (London, Reino Unido) es un ejemplo de un sistema comercial de SDV.

En una realización, las partículas muestran una higroscopicidad de los polvos relativamente baja. La higroscopicidad de los polvos puede examinarse mediante la utilización de SDV. Por ejemplo, los polvos pueden exponerse a un flujo de aire húmedo que gradualmente se incrementa de 20% a 90% de humedad relativa (HR) durante 1,5 horas. La ganancia de peso máxima de los polvos durante dicho incremento gradual puede ser indicativa de higroscopicidad de los polvos. En una realización, los polvos de la invención muestran menos de aproximadamente 8% de incorporación de agua al exponerlos a aire húmedo durante un incremento gradual hasta aproximadamente 90% de HR. En una realización preferente, los polvos de la invención muestran menos de aproximadamente 6% de incorporación de agua al exponerlos a aire húmedo durante un incremento gradual hasta aproximadamente 90% de HR. Todavía más preferentemente, los polvos de la invención muestran menos de aproximadamente 4% de incorporación de agua al exponerlos a aire húmedo durante un incremento gradual hasta aproximadamente 90% de HR.

En otra realización, las partículas resisten los cambios físicos irreversibles que se producen en los polvos como resultado de la exposición a la humedad. La SDV puede utilizarse para evaluar los cambios físicos irreversibles causados por la humedad. Por ejemplo, los polvos pueden exponerse a un flujo de aire húmedo que gradualmente se incremente de 20% a 90% de HR, se reduzca gradualmente de 90% a 20% de HR, se mantenga a 20% de HR, se incremente gradualmente de 20% a 90% de HR y después nuevamente se reduzca gradualmente de 90% a 20% de HR. Las diferencias entre la ganancia de peso máxima durante el primer incremento gradual hasta 90% de HR y la ganancia de peso máxima durante el segundo incremento gradual hasta 90% de HR pueden indicar cambios físicos irreversibles en los polvos.

Los cambios más comunes que se producen en los polvos debido a la sorción de agua son conversiones amorfo-cristalino. Sin restringirse a ninguna teoría en particular, se cree que, debido a que las regiones de fase amorfa tienden a absorber más agua que las regiones de fase cristalina, una ganancia máxima reducida de porcentaje en peso durante el segundo incremento gradual de esta manera indica la presencia de una cantidad reducida de fase amorfa en los polvos.

En una realización preferente, las partículas de la presente invención muestran diferencias pequeñas o nulas de incorporación máxima de agua durante el ciclado de humedad. De esta manera, en una realización preferente, las partículas de la presente invención poseen una fase amorfa que es estable con la exposición a la humedad, una fase cristalina, una fase semicristalina o una combinación de las mismas. Preferentemente, las partículas de la presente invención muestran diferencias de ganancia máxima de peso inferiores a aproximadamente 1% al someterlas a ciclado repetido de humedad hasta aproximadamente 90% de HR. Todavía más preferentemente, las partículas de la presente invención muestran diferencias de ganancia máxima de peso inferiores a aproximadamente 0,5% al someterlas a ciclado repetido de humedad hasta aproximadamente 90% de HR.

En una realización preferente, las partículas de la invención muestran pocos o ningún cambio de cristalinidad al exponerlas a aire con 75% de humedad relativa. Tal como es bien conocido de la técnica, los cambios de cristalinidad en los polvos pueden evaluarse utilizando una técnica tal como la difracción de rayos X (DRX).

La estabilidad en estado sólido de los polvos también puede evaluarse mediante el análisis de las transiciones térmicas. Las transiciones térmicas pueden medirse utilizando la calorimetría diferencial de barrido (CDB). En una realización preferente, las partículas de la invención presentan temperaturas de transición de fase, p.ej., temperatura de fusión (T_m), temperatura de cristalización (T_c), o temperatura de transición vítrea (T_g), que son de aproximadamente 40°C, superiores a aproximadamente 60°C, o todavía más preferentemente superiores a aproximadamente 100°C.

Las partículas con temperaturas de transición vítrea de por lo menos aproximadamente 50ºC resultan preferentes para garantizar una estabilidad de los polvos tras el rellenado y sellado del receptáculo de los polvos, a fin de garantizar la estabilidad de los polvos al exponer los polvos a condiciones ambientales de tensión (p.ej., la exposición a temperaturas de almacenamiento o transporte elevadas) y de reducir el potencial de inestabilidad química.

En una realización, las partículas de la invención son capaces de resistir tensiones térmicas de hasta aproximadamente 55ºC hasta un máximo de aproximadamente seis horas. La capacidad de unos polvos de resistir tensión térmica puede medirse, por ejemplo, sometiendo unos polvos a temperaturas elevadas y midiendo posteriormente la fracción de partículas finas de los polvos. Puede utilizarse un instrumento tal como un impactador de cascada Andersen para medir la fracción de partículas finas.

En una realización, una masa de partículas sometidas a temperaturas de hasta aproximadamente 45ºC durante hasta aproximadamente seis horas muestran una FPF(<5,6) que varía entre FPF(<5,6) de una masa de partículas similares mantenidas a temperatura ambiente en menos de aproximadamente 25%. En una realización preferente, una masa de partículas, mantenida a una temperatura de por lo menos aproximadamente 45ºC durante seis horas, presenta una FPF(<5,6) que varía entre la FPF(<5,6) de una masa de partículas similares mantenida a temperatura ambiente en menos de aproximadamente 15%.

En otra realización, una masa de partículas sometida a temperaturas de hasta aproximadamente 55ºC durante hasta aproximadamente seis horas muestran una FPF(<5,6) que varía entre FPF(<5,6) de una masa de partículas similares mantenidas a temperatura ambiente en menos de aproximadamente 25%. En una realización preferente, una masa de partículas, mantenida a una temperatura de por lo menos aproximadamente 55ºC durante seis horas, presenta una FPF(<5,6) que varía entre la FPF(<5,6) de una masa de partículas similares mantenida a temperatura ambiente en menos de aproximadamente 20%.

En una realización, las partículas de la invención pueden caracterizarse por la estabilidad química de los agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos que comprenden las partículas. Sin restringirse a ninguna teoría en particular, se cree que varios factores pueden influir sobre la estabilidad química de un agente constituyente. Estos factores pueden incluir materiales que comprenden las partículas, la estabilidad del agente mismo, interacciones entre el agente y los excipientes, y las interacciones entre los agentes. La estabilidad química de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico constituyente puede afectar a importantes características de una composición farmacéutica, incluyendo la vida útil, las condiciones de almacenamiento apropiadas, medios aceptables para la administración, compatibilidad biológica y eficacia del agente. La estabilidad química puede evaluarse utilizando técnicas bien conocidas. Un ejemplo de una técnica que puede utilizarse para evaluar la estabilidad química es cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa de fase inversa (HPLC).

En una realización preferente, las partículas de la invención no muestran una degradación sustancial del ipratropio o salmeterol (es decir, la concentración de impurezas es inferior a aproximadamente 5% de las impurezas totales en peso) tras el almacenamiento, a aproximadamente 15% de HR o selladas en un envase a aproximadamente 75% de HR, a temperaturas de hasta aproximadamente 40% durante hasta aproximadamente tres meses.

Las partículas de la presente invención comprenden uno o más agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos. Los agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos también se denomina en la presente memoria “agentes bioactivos”, “medicamentos” o “fármacos”. El agente o combinación de agentes puede ser capaz de poseer una carga neta global. En una realización preferente, los agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos son el bromuro de ipratropio y el xinafoato de salmeterol.

En una realización, la presente invención proporciona partículas para la administración de fármaco por el sistema pulmonar que comprenden entre aproximadamente 5 y 10 por ciento en peso de xinafoato de salmeterol; entre aproximadamente 4 y 15 por ciento en peso de bromuro de ipratropio; entre aproximadamente 2 y 8 por ciento en peso de 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC); entre aproximadamente 1 y 8 por ciento en peso de 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC), y entre aproximadamente 60 y 80 por ciento de leucina, presentando las partículas una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3.

En una realización, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente en una concentración de aproximadamente 5 a 8 por ciento en peso. Preferentemente, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 6 por ciento en peso. En otra realización, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 10 a 15 por ciento en peso. En otra, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 12 a 14 por ciento en peso. Preferentemente, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 13 por ciento en peso.

En otra realización, se encuentra presente 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC) a una concentración de aproximadamente 5 a 8 por ciento en peso. Preferentemente, DPPC se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 5 por ciento en peso. En otra realización, se encuentra presente 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfoclina (DSPC) a una concentración de aproximadamente 5 a 8 por ciento en peso. Preferentemente, DPCC se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 5 por ciento en peso. En otra realización, la leucina se

encuentra presente a una concentración de aproximadamente 70 a 80 por ciento en peso. Preferentemente, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 71 por ciento en peso.

En una realización preferente, la proporción en peso de leucina a 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC) a 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC) es de aproximadamente 72 a 5 a 5. En algunas realizaciones, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio puede ser de aproximadamente 2:1 a 1:5, tal como, por ejemplo, 3:2, 1:1, 1:2, 1:3 o 1:5. Preferentemente, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio es de aproximadamente 3:2 a 1:2, o de aproximadamente 1,5 a 0,5.

En otra realización, la presente invención proporciona partículas para la administración de fármaco por el sistema pulmonar que comprenden entre aproximadamente 5 y 10 por ciento en peso de xinafoato de salmeterol; entre aproximadamente 4 y 15 por ciento en peso de bromuro de ipratropio; entre aproximadamente 2 y 8 por ciento en peso de 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC), y entre aproximadamente 68 y8 8 por ciento en peso de leucina, presentando las partículas una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3.

En una realización preferente, la proporción en peso de 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina (DPPC) a leucina es de aproximadamente 5 a 76. En algunas realizaciones, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio puede ser de aproximadamente 2:1 a 1:5, tal como, por ejemplo, 3:2, 1:1, 1:2, 1:3 o 1:5. Preferentemente, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio es de aproximadamente 3:2 a 1:2, o de aproximadamente 1,5 a 0,5.

En una realización preferente, las partículas comprenden aproximadamente 6 por ciento en peso de xinafoato de salmeterol, aproximadamente 13 por ciento en peso de bromuro de ipratropio, aproximadamente 5 por ciento en peso de 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC) y aproximadamente 76 por ciento en peso de leucina.

En la presente memoria se dan a conocer partículas para la administración de fármaco por el sistema pulmonar y un método de terapia que comprende administrar en el tracto respiratorio de un paciente que necesita tratamiento, profilaxis o diagnóstico, una cantidad eficaz de partículas, en la que las partículas comprenden aproximadamente 5 a 10 por ciento en peso de xinafoato de salmeterol, aproximadamente 4 a 15 por ciento en peso de bromuro de ipratropio, aproximadamente 5 a 15 por ciento en peso de 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC), aproximadamente 20 a 40 por ciento en peso de 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DSPG) y aproximadamente 30 a 60 por ciento en peso de leucina.

En una realización, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente en una concentración de aproximadamente 5 a 8 por ciento en peso. Preferentemente, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 6 por ciento en peso. En otra realización, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 10 a 15 por ciento en peso. En otra, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 12 a 14 por ciento en peso. Preferentemente, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 13 por ciento en peso.

En otra realización, se encuentra presente 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC) a una concentración de aproximadamente 9 a 14 por ciento en peso o de aproximadamente 10 a 13 por ciento en peso. Preferentemente, DPPC se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 11 por ciento en peso. En otra realización, se encuentra presente 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DSPG) a una concentración de aproximadamente 27 a 37 por ciento en peso o de aproximadamente 29 a 37 por ciento en peso. Preferentemente, DSPG se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 32 por ciento en peso. En otra realización, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 35 a 45 por ciento en peso, o de aproximadamente 35 a 43 por ciento en peso. Preferentemente, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 38 por ciento en peso.

En una realización preferente, la proporción en peso de leucina a 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC) a 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DSPG) es de aproximadamente 42 a 12 a 35. En algunas realizaciones, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio puede ser de aproximadamente 2:1 a 1:5, tal como, por ejemplo, 3:2, 1:1, 1:2, 1:3 o 1:5. Preferentemente, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio es de aproximadamente 3:2 a 1:2, o de aproximadamente 1,5 a 0,5.

En la presente memoria se dan a conocer partículas para la administración de fármaco por el sistema pulmonar y un método de terapia que comprende administrar en el tracto respiratorio de un paciente que necesita tratamiento, profilaxis o diagnóstico, una cantidad eficaz de partículas, en la que las partículas comprenden aproximadamente 5 a 10 por ciento en peso de xinafoato de salmeterol, aproximadamente 4 a 15 por ciento en peso de bromuro de ipratropio, aproximadamente 10 a 20 por ciento en peso de 1-miristoil-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MSPC), aproximadamente 20 a 40 por ciento en peso de 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE), y aproximadamente 35 a 60 por ciento en peso de leucina.

En una realización, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente en una concentración de aproximadamente 5 a 8 por ciento en peso. Preferentemente, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente a una concentración de

aproximadamente 6 por ciento en peso. En otra realización, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 10 a 15 por ciento en peso. En otra, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 12 a 14 por ciento en peso. Preferentemente, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 13 por ciento en peso.

En otra realización, se encuentra presente 1-miristoil-*sn*-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MSPC) a una concentración de aproximadamente 10 a 15 por ciento en peso o de aproximadamente 10 a 13 por ciento en peso. Preferentemente, MSPC se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 11 por ciento en peso. En otra realización, se encuentra presente 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE) a una concentración de aproximadamente 30 a 40 por ciento o de aproximadamente 31 a 39 por ciento en peso. Preferentemente, DMPE se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 34 por ciento en peso. En otra realización, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 30 a 40 por ciento en peso, o de aproximadamente 33 a 40 por ciento en peso. Preferentemente, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 36 por ciento en peso.

En una realización preferente, la proporción en peso de leucina a 1-miristoil-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MSPC) a 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE) es de aproximadamente 39 a 12 a 37. En algunas realizaciones, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio puede ser de aproximadamente 2:1 a 1:5, tal como, por ejemplo, 3:2, 1:1, 1:2, 1:3 o 1:5. Preferentemente, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio es de aproximadamente 3:2 a 1:2, o de aproximadamente 1,5 a 0,5.

En la presente memoria se dan a conocer partículas para la administración de fármaco por el sistema pulmonar y un método de terapia que comprende administrar en el tracto respiratorio de un paciente que necesita de tratamiento, profilaxis o diagnóstico, una cantidad eficaz de partículas en la que las partículas comprenden aproximadamente 5 a 10 por ciento en peso de xinafoato de salmeterol, aproximadamente 4 a 15 por ciento en peso de bromuro de ipratropio y aproximadamente 75 a 91 por ciento en peso de leucina.

En una realización, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente en una concentración de aproximadamente 5 a 8 por ciento en peso. Preferentemente, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 6 por ciento en peso. En otra realización, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 10 a 15 por ciento en peso. En otra, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 12 a 14 por ciento en peso. Preferentemente, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 13 por ciento en peso.

En otra realización, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 75 a 85 por ciento en peso. En otra realización, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 79 a 83 por ciento en peso. Preferentemente, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 81 por ciento en peso.

En algunas realizaciones, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio puede ser de aproximadamente 2:1 a 1:5, tal como, por ejemplo, 3:2, 1:1, 1:2, 1:3 o 1:5. Preferentemente, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio es de aproximadamente 3:2 a 1:2, o de aproximadamente 1,5 a 0,5.

En la presente memoria se dan a conocer partículas para la administración de fármaco por el sistema pulmonar y un método de terapia que comprende administrar en el tracto respiratorio de un paciente que necesita de tratamiento, profilaxis o diagnóstico, una cantidad eficaz de partículas en la que las partículas comprenden aproximadamente 5 a 10 por ciento en peso de xinafoato de salmeterol, aproximadamente 4 a 15 por ciento en peso de bromuro de ipratropio, aproximadamente 2 a 10 por ciento en peso de manitol, y aproximadamente 65 a 85 por ciento en peso de leucina.

En una realización, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente en una concentración de aproximadamente 5 a 8 por ciento en peso. Preferentemente, el xinafoato de salmeterol se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 6 por ciento en peso. En otra realización, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 10 a 15 por ciento en peso. En otra, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 12 a 14 por ciento en peso. Preferentemente, el bromuro de ipratropio se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 13 por ciento en peso.

En otra realización, el manitol se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 5 a 9 por ciento en peso, o de aproximadamente 6 a 9 por ciento en peso. Preferentemente, el manitol se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 7 por ciento en peso. En otra realización, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 70 a 80 por ciento en peso. Preferentemente, la leucina se encuentra presente a una concentración de aproximadamente 74 por ciento en peso.

En una realización preferente, la proporción en peso de leucina a manitol es de aproximadamente 10 a 1. En algunas realizaciones, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio puede ser de aproximadamente 2:1 a 1:5, tal como, por ejemplo, 3:2, 1:1, 1:2, 1:3 o 1:5. Preferentemente, la proporción en peso de xinafoato de salmeterol a bromuro de ipratropio es de aproximadamente 3:2 a 1:2, o de aproximadamente 1,5 a 0,5.

En la presente memoria se dan a conocer partículas que comprenden uno o más aminoácidos. Resultan preferentes los aminoácidos hidrofóbicos. Las partículas comprenden el aminoácido leucina. Entre otros aminoácidos adecuados se incluyen aminoácidos hidrofóbicos naturales y no naturales. Entre los aminoácidos no naturales se incluyen, por ejemplo, los beta-aminoácidos. Pueden utilizarse ambas configuraciones, D y L, y configuraciones racémicas, de los aminoácidos hidrofóbicos. Entre los aminoácidos hidrofóbicos adecuados pueden incluirse además análogos de aminoácidos. Tal como se utiliza en la presente memoria, un análogo de aminoácido incluye la configuración D o L de un aminoácido con la fórmula siguiente: -NH-CHR-CO-, en la que R es un grupo alifático, un grupo alifático sustituido, un grupo bencilo, un grupo bencilo sustituido, un grupo aromático o un grupo aromático sustituido y en el que R no corresponde a la cadena lateral de un aminoácido natural. Tal como se utiliza en la presente memoria, entre los grupos alifáticos se incluyen hidrocarburos C1-C8 de cadena lineal, ramificados o cíclicos completamente saturados, que contienen uno o dos heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno o azufre, y/o que contienen una o más unidades de desaturación. Entre los grupos aromáticos se incluyen grupos aromáticos carbocíclicos, tales como fenilo y naftilo, y grupos aromáticos heterocíclicos, tales como imidazolilo, indolilo, tienilo, furanilo, piridilo, piranilo, oxazolilo, benzotienilo, benzofuranilo, quinolinilo, isoquinolinilo y acridinilo.

Entre los sustituyentes adecuados en un grupo alifático, aromático o bencilo se incluyen -OH, halógeno (p.ej., -Br, -Cl, -I y -F), -O(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido), -CN, -NO_2, -COOH, -NH_2, -NH(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido), -N(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido)$_2$, -COO(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido), -$CONH_2$, -CONH(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido), -SH, -S(grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, aromático o aromático sustituido) y -NH-C(=NH)-NH_2. Un grupo bencílico o aromático sustituido también puede presentar un grupo alifático o alifático sustituido como sustituyente. Un grupo alifático sustituido también puede presentar un grupo bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido como sustituyente Un grupo alifático sustituido, aromático sustituido o bencilo sustituido puede presentar uno o más sustituyentes. La modificación de un sustituyente aminoácido puede incrementar, por ejemplo, la lipofilicidad o hidrofobicidad de aminoácidos naturales que son hidrofílicos.

Pueden obtenerse comercialmente varios aminoácidos, análogos de aminoácidos y sales de los mismos adecuados. Otros pueden sintetizarse mediante métodos conocidos de la técnica. Se describen técnicas sintéticas en, por ejemplo, Greene y Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, capítulos 5 y 7, 1991.

La hidrofobicidad se define generalmente con respecto a la división de un aminoácido entre un solvente no polar y agua. Los aminoácidos hidrofóbicos son aquellos ácidos que muestran una preferencia por el solvente no polar. La hidrofobicidad relativa de los aminoácidos puede expresarse en una escala de hidrofobicidad en la que la glicina presenta el valor 0,5. En dicha escala, los aminoácidos que presentan una preferencia por agua poseen valores inferiores a 0,5 y aquellos con una preferencia por solventes no polares poseen un valor superior a 0,5. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “aminoácido hidrofóbico” se refiere a un aminoácido que, en la escala de hidrofobicidad, presenta un valor superior o igual a 0,5, en otras palabras, presenta una tendencia a dividirse en el ácido no polar que es por lo menos igual al de la glicina.

Entre los ejemplos de aminoácidos que pueden utilizarse se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, glicina, prolina, alanina, cisteína, metionina, valina, leucina, tirosina, isoleucina, fenilalanina y triptófano. Entre los aminoácidos hidrofóbicos preferentes se incluyen leucina, isoleucina, alanina, valina, fenilalanina y glicina. También pueden utilizarse combinaciones de aminoácidos hidrofóbicos. Además, también pueden utilizarse combinaciones de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos (preferentemente divididos en agua), en donde la combinación global es hidrofóbica.

El aminoácido puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad de por lo menos 10 por ciento en peso. Preferentemente, el aminoácido es la leucina y se encuentra presente en las partículas en una cantidad comprendida entre aproximadamente 30 (no según la invención) y 91 por ciento en peso. La sal de un aminoácido hidrofóbico puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad de por lo menos 10 por ciento en peso. Preferentemente, una sal de leucina se encuentra presente en las partículas en una cantidad comprendida entre aproximadamente 30 (no según la invención) y 91 por ciento en peso. En la invención, las partículas presentan una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3.

En la presente invención, las partículas comprenden por lo menos 46 por ciento en peso de leucina. En algunas realizaciones, las partículas comprenden aproximadamente 80 a 95 por ciento en peso de leucina, aproximadamente 65 a 80 por ciento en peso de leucina o aproximadamente 50 a 65 por ciento en peso de leucina. En una realización, las partículas comprenden aproximadamente 46 a 50 por ciento en peso de leucina. En todavía otra realización, las partículas comprenden aproximadamente 46 por ciento en peso de leucina.

En una realización preferente, las partículas se secan por pulverización y comprenden el aminoácido hidrofóbico leucina. Sin restringirse a ninguna teoría en particular, se cree que, debido a su hidrofobicidad y baja solubilidad en agua, los aminoácidos hidrofóbicos, tales como la leucina, facilitan la formación de una cáscara durante el procedimiento de secado al utilizar un cosolvente de etanol:agua. Se cree además que los aminoácidos pueden alterar

el comportamiento de fases de cualesquiera fosfolípidos presentes, de manera que facilitan la formación de una cáscara durante el procedimiento de secado.

Los métodos de formación y administración de partículas que incluyen un aminoácido se describen en la patente US nº 6586008 (solicitud nº 09/382.959), presentada el 25 de agosto, 1999, titulada "Use of Simple Amino Acids to Form Porous Particles During Spray Drying".

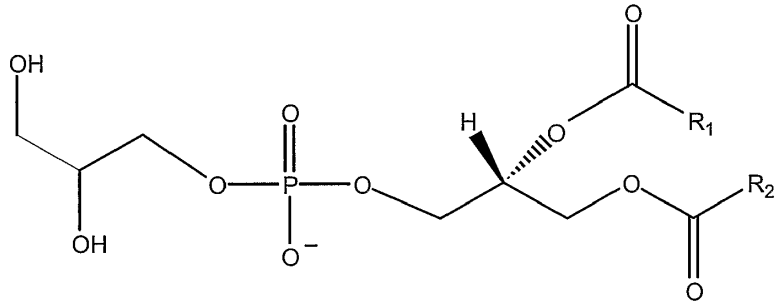
El fosfolípido o combinación de fosfolípidos puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad comprendida entre aproximadamente 1 y 46 por ciento en peso.

Las partículas de la presente invención pueden comprender un fosfolípido cargado. La expresión “fosfolípido cargado”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a fosfolípidos que son capaces de poseer una carga neta global. La carga del fosfolípido puede ser negativa o positiva. El fosfolípido puede seleccionarse para que presente una carga contraria a la de un agente terapéutico, diagnóstico o profiláctico al asociar el fosfolípido y el agente. Preferentemente, el fosfolípido es endógeno al pulmón o puede ser metabolizado tras la administración en un fosfolípido endógeno de pulmón. Pueden utilizarse combinaciones de fosfolípidos cargados. La combinación de fosfolípidos cargados también puede presentar una carga neta global contraria a la del agente terapéutico, diagnóstico o profiláctico tras la asociación. Sin restringirse a ninguna teoría en particular, los Solicitantes creen, por ejemplo, que el ipratropio, al presentar una carga positiva, se asocia con la combinación de DSPG y DPPC, que presenta una carga neta negativa.

En una realización, la asociación de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico y un lípido de carga contraria puede resultar del acomplejamiento iónico. En otra realización, la asociación de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico y un lípido de carga contraria puede resultar de enlaces de hidrógeno. En todavía una realización adicional, la asociación de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico y un lípido de carga contraria puede resultar de una combinación de acomplejamiento iónico y enlaces de hidrógeno.

El fosfolípido cargado puede ser un lípido de carga negativa, tal como 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)].

Los fosfolípidos 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] puede representarse mediante la fórmula I:



en la que R_1 y R_2 son, cada uno independientemente, un grupo alifático que presenta aproximadamente 3 a 24 átomos de carbono, preferentemente entre aproximadamente 10 y 20 átomos de carbono.

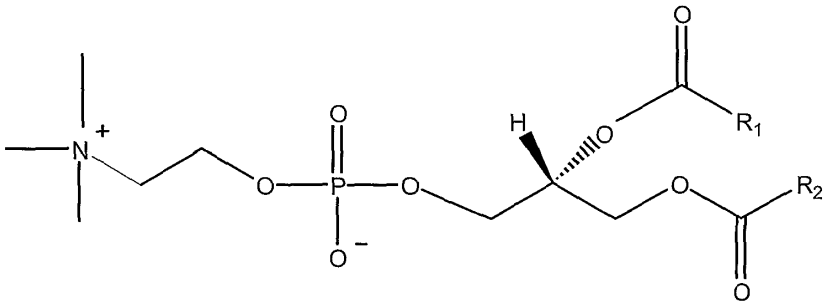
La expresión “grupo alifático” tal como se utiliza en la presente memoria en referencia a las fórmulas I-IV, se refiere a hidrocarburos C_1-C_{24} de cadena lineal, ramificados o cíclicos sustituidos o no sustituidos, que pueden estar completamente saturados, que pueden contener uno o más heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno o azufre, y/o que pueden contener una o más unidades de insaturación.

Entre los sustituyentes adecuados en un grupo alifático se incluyen -OH, halógeno (p.ej., -Br, -Cl, -I y -F) -O(alifático, sustituido), -CN, -NO_2, -COOH, -NH_2, -NH(grupo alifático, alifático sustituido), -N(grupo alifático, grupo alifático sustituido)$_2$, -COO(grupo alifático, grupo alifático sustituido), -$CONH_2$, -CONH(alifático, grupo alifático sustituido), -SH, -S(alifático, grupo alifático sustituido) y -NH-C(=NH)-NH_2. Un grupo alifático sustituido también puede presentar un grupo bencilo, bencilo sustituido, arilo (p.ej., fenilo, naftilo o piridilo) o grupo arilo sustituido como sustituyente Un alifático sustituido puede presentar uno o más sustituyentes.

Entre los ejemplos específicos de este tipo de fosfolípido cargado negativamente se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DSPG); 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DMPG); 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DPPG); 1,2-dilauroil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DLPG) y 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DOPG).

Las partículas de la invención pueden comprender además fosfolípidos que son zwiteriónicos y, por lo tanto, que no poseen una carga neta global. Dichos lípidos pueden ayudar a proporcionar partículas con las características apropiadas para la inhalación. Entre tales fosfolípidos adecuados para la utilización en la invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfocolina y 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina.

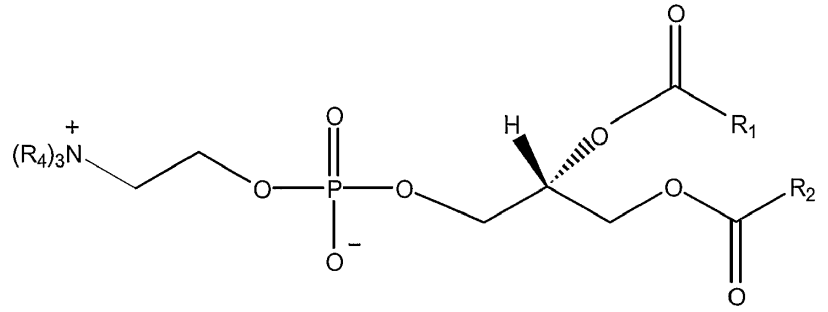
Los fosfolípidos 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfocolina pueden representarse mediante la fórmula II:



en la que R_1 y R_2 son, cada uno independientemente, un grupo alifático que presenta aproximadamente 3 a 24 átomos de carbono, preferentemente entre aproximadamente 10 y 20 átomos de carbono.

Entre los ejemplos específicos de fosfolípidos 1,2-diacil-sn-glicero-3-fosfocolina se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-distearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1,2-dilaureoil-*sn*-3-glicero-fosfocolina (DLPC), 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DMPC) y 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DOPC).

Los fosfolípidos 1,2-diacil-*sn*-glicero-3-fosfoalcanolamina pueden representarse mediante la fórmula III:

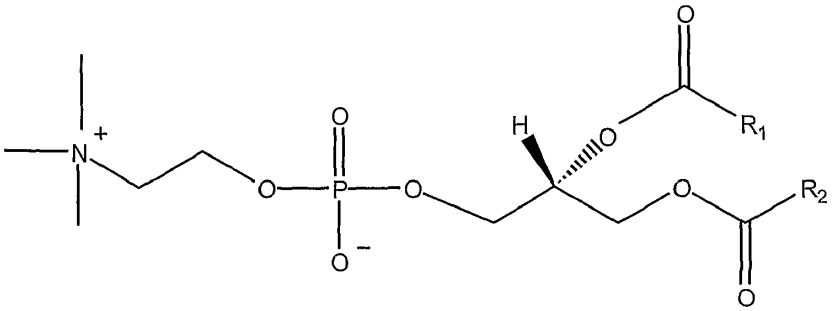


en la que R_1 y R_2 son, cada uno independientemente, un grupo alifático con aproximadamente 3 a 24 átomos de carbono, preferentemente con aproximadamente 10 a 20 átomos de carbono, y R_4 es, independientemente, hidrógeno o un grupo alifático con aproximadamente 1 a 6 átomos de carbono.

Entre los ejemplos específicos de este tipo de fosfolípido se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-etanolamine(DPPE), 1,2-dimiristoil-*sn*-glicero-3 -fosfoetanolamina(DMPE), 1,2-distearoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina(DSPE), 1,2-dilauroil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DLPE) y 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE).

Las partículas de la presente invención pueden comprender un fosfolípido asimétrico, tal como una 1-acil, 2-acil-*sn*-glicero-3-fosfocolina.

Los fosfolípidos 1-acil, 2-acil-*sn*-glicero-3-fosfocolina pueden representarse mediante la fórmula IV:



en la que R_1 y R_2 son, cada uno independientemente, un grupo alifático con aproximadamente 3 a 24 átomos de carbono, y en el que los grupos alifáticos presentados por R_1 y R_2 presentan diferentes longitudes de cadena de carbonos. Preferentemente, R_1 y R_2 presentan entre aproximadamente 10 y 20 átomos de carbono.

Entre los ejemplos específicos de este tipo de fosfolípido se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 1-palmitoil-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (PSPC), 1-estearoil-2-palmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (SPPC), 1-estearoil-2-miristoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (SMPC), 1-miristoil-2-estearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MSPC), 1-miristoil-2-palmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (MPPC) y 1-palmitoil-2-miristoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (PMPC).

Los "fosfolípidos asimétricos" también son conocidos por el experto en la materia como fosfolípidos de "cadena mixta" o "cadena no idéntica".

Las partículas de la presente invención pueden comprender combinaciones de fosfolípidos asimétricos, combinaciones de fosfolípidos simétricos o combinaciones de fosfolípidos asimétricos y simétricos. En una realización preferente, las partículas comprenden un fosfolípido asimétrico y un fosfolípido simétrico.

En una realización preferente de la presente invención, las partículas comprenden fosfolípidos asimétricos con cadenas acilo individuales que se encuentran naturalmente presentes en el pulmón. Las partículas que comprenden fosfolípidos disaturados resultan preferentes respecto a partículas que comprenden fosfolípidos mono- o di-insaturados.

Sin restringirse a ninguna teoría en particular, los Solicitantes creen que las partículas que contienen fosfolípidos asimétricos pueden poseer un empaquetamiento y/o partición únicos del agente o agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos constituyentes y resultar en el atrapado o encapsulado del fármaco. Se cree que la liberación del fármaco y la posterior asimilación de la carga de fármaco a partir de la formulación de aerosol será más lenta si el fármaco se encuentra atrapado o encapsulado y no simplemente asociado a la superficie. Los Solicitantes creen que para las moléculas de fármaco atrapadas o encapsuladas, la disponibilidad del agente en el medio de disolución o líquidos de revestimiento fisiológicos no sólo está determinada por la solubilidad del fármaco sino también por la disolución de las partículas y/o la difusión de moléculas de fármaco a partir de la matriz de partículas. En contraste, se cree que en las partículas en las que las moléculas de fármaco están asociadas principalmente a la superficie, la disponibilidad de las moléculas de fármaco está limitada principalmente por la solubilidad del fármaco. En consecuencia, el atrapado o encapsulado del fármaco en la matriz de partículas puede enlentecer la liberación y posterior asimilación del fármaco.

Las partículas que comprenden fosfolípidos asimétricos se describen en el documento nº WO2003/072080, que reivindica prioridad de la solicitud de patente US nº 60/359.466, titulada "Sustained Release Formulations Utilizing Asymmetric Phospholipids", presentada el 22 de febrero, 2002.

En una realización, las partículas pueden incluir además otros materiales, tales como, por ejemplo, sales tampón, colesterol, dextrano, polisacáridos, lactosa, trehalosa, sacarosa, manitol, maltodextrina, ciclodextrinas, proteínas, péptidos, polipéptidos, ácidos grasos, ésteres de ácido graso, compuestos inorgánicos, fosfatos, lípidos, polietilenglicol, precirol y polímeros.

Las partículas y composiciones respirables que comprenden las partículas de la invención pueden incluir opcionalmente un tensioactivo, tal como un tensioactivo que es endógeno al pulmón. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "tensioactivo" se refiere a cualquier agente que se adsorbe preferentemente a una interfaz entre dos fases inmiscibles, tal como la interfaz entre agua y una solución de polímero orgánico, una interfaz de agua/aire o una interfaz de solvente orgánico/aire. Los tensioactivos generalmente poseen una fracción hidrofílica y una fracción lipofílica, de manera que, al adsorberse a micropartículas, tienden a presentar fracciones al medio externo que no atraen particular recubiertas de manera similar, reduciendo de esta manera la aglomeración de las partículas. Los tensioactivos pulmonares tanto naturales como sintéticos se encuentran comprendidos en el alcance de la invención.

Además de tensioactivos pulmonares, tales como, por ejemplo, los fosfolípidos comentados anteriormente, entre los tensioactivos adecuados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, hexadecano; alcoholes grasos, tales como polietilenglicol (PEG), éter polioxietilén-9-laurílico, un ácido graso activo en superficie, tal como ácido palmítico o ácido oleico, glicocolato, surfactina, un poloxámero, un éster de ácido graso-sorbitán, tal como trioleato de sorbitán (Span 85) y tiloxapol.

Un tensioactivo puede encontrarse presente en las partículas en una cantidad de aproximadamente 1 aproximadamente 46 por ciento en peso. En una realización alternativa, un tensioactivo puede encontrarse presente en una cantidad de 2 a 90 por ciento en peso. En una realización, aproximadamente 10 a 40 por ciento en peso. En otra realización, se encuentra presente un tensioactivo en las partículas en una cantidad de aproximadamente 20 a 46 por ciento en peso.

Los métodos de preparación y administración de partículas que son aerodinámicamente ligeras e incluyen tensioactivos y, en particular, fosfolípidos, se dan a conocer en la patente US nº 5.855.913, publicada el 5 de enero de 1999, de Hanes et al., y en la patente US nº 5.985.309, publicada el 16 de noviembre de 1999, de Edwards et al.

Pueden prepararse partículas altamente dispersables adecuadas para la utilización en la invención utilizando la

evaporación de solventes de emulsión simple o de doble emulsión, secado por pulverización, extracción con solvente, evaporación de solvente, separación de fases, coacervación simple y compleja, polimerización interfacial, dióxido de carbono (CO_2) supercrítico y otros métodos bien conocidos por el experto ordinario en la materia. Las partículas pueden prepararse utilizando métodos de preparación de microesferas o microcápsulas conocidos de la técnica, con la condición de que las condiciones se optimicen para formar partículas con las propiedades aerodinámicas deseadas (p.ej., un diámetro aerodinámico particular) o se lleven a cabo etapas adicionales para seleccionar partículas con la densidad y diámetro suficientes para proporcionar las partículas con un diámetro aerodinámico de aproximadamente 1 a 5 µm, preferentemente de aproximadamente 1 a 3 µm.

En el caso de que las partículas preparadas mediante cualquiera de los métodos anteriores presente un intervalo de tamaños fuera del intervalo deseado, las partículas pueden dimensionarse, por ejemplo, utilizando un tamiz, y separarse adicionalmente según densidad utilizando técnicas conocidas por el experto en la materia.

Las partículas preferentemente se secan por pulverización. Las técnicas de secado por pulverización adecuadas se describen en, por ejemplo, K. Masters, en: “Spray Drying Handbook”, John Wiley & Sons, New York, 1984. Generalmente, durante el secado por pulverización, se utiliza el calor procedente de un gas caliente, tal como aire o nitrógeno caliente, para evaporar un solvente a partir de gotas formadas mediante atomización de una alimentación continua de líquido.

Puede utilizarse un solvente orgánico o un solvente acuoso-orgánico para formar una alimentación para el secado por pulverización de las partículas de la presente invención.

Entre los solventes orgánicos adecuados que pueden utilizarse se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, alcoholes, tales como, por ejemplo, etanol, metanol, propanol, isopropanol, butanol y otros. Entre otros solventes orgánicos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, perfluorocarburos, diclorometano, cloroformo, éter, acetato de etilo, éter metil terc-butílico y otros.

Entre los cosolventes que pueden utilizarse se incluyen un solvente acuoso y un solvente orgánico, tal como, aunque sin limitación, los solventes orgánicos indicados anteriormente. Entre los solventes acuosos se incluyen agua y soluciones tamponadas. En una realización, resulta preferente un solvente de etanol/agua con una proporción de solución de etanol a solución de agua comprendida entre aproximadamente 70:30 y aproximadamente 30:70 en volumen.

La mezcla puede presentar un pH neutro, ácido o alcalino. Opcionalmente, puede añadirse un tampón del pH al solvente o cosolvente o a la mezcla formada. Preferentemente, el pH puede estar comprendido entre aproximadamente 5 y 8.

En una realización, los componentes partículas solubles orgánicos se disuelven en una fase orgánica y los componentes partículas solubles en agua se disuelven en una fase acuosa. Las soluciones se calientan según resulte necesario para garantizar la solubilidad. En una realización preferente, los componentes partículas solubles en etanol se disuelven en una fase de etanol y los componentes partículas solubles en agua se disuelven en una fase acuosa.

En una realización, las soluciones que contienen componentes partículas se combinan o se mezclan antes del secado por pulverización. Por ejemplo, las soluciones pueden mezclarse en masa antes de alimentarlas al secador por pulverización. En una realización, las soluciones se combinan o mezclan de manera que la solución resultante presente una concentración de sólidos disueltos totales de aproximadamente 1 g por l de solución resultante. Preferentemente, la concentración de sólidos disueltos es superior a aproximadamente 1 g por l de solución resultante, por ejemplo de aproximadamente 5, 10 o 15 g por l de solución. En otra realización, se combinan o mezclan soluciones que contienen componentes partículas utilizando un dispositivo mezclador estático antes del secado por pulverización.

Puede prepararse un componente hidrofílico y un componente hidrofóbico. Los componentes hidrofóbico e hidrofílico seguidamente se combinan en un mezclador estático para formar una combinación. La combinación se atomiza para producir gotas, que se secan para formar partículas secas. En un aspecto preferente del presente método, la etapa de atomización se lleva a cabo inmediatamente después de combinar los componentes en el mezclador estático. En otro aspecto preferente del presente método, el componente hidrofílico comprende un agente activo, incluyendo, aunque sin limitación, los agentes adecuados a los que se ha hecho referencia anteriormente.

En la presente memoria se da a conocer un método para preparar una composición de polvos secos. En dicho método, se preparan primer y segundo componentes, en el que uno o ambos comprenden un agente activo. El primer y segundo componentes se combinan en un mezclador estático para formar una combinación. En una realización, el primer y segundo componentes son física y/o químicamente incompatibles entre sí. En un aspecto, el primer y segundo componentes son tales que la combinación de los mismos causa degradación en uno de los componentes. En otro aspecto, un material presente en el primer componente es incompatible con un material presente en el segundo componente. La combinación se atomiza para producir gotas, que se secan para formar partículas secas. En un aspecto preferente de dicho método, el primer componente comprende un agente activo y uno o más excipientes

disueltos en un solvente acuoso, y el segundo componente comprende un agente activo y uno o más excipientes disueltos en un solvente orgánico.

En la presente memoria se da a conocer un método para preparar una composición de polvos secos. En dicho método, se prepara una primera fase que comprende agua, bromuro de ipratropio, leucina y, opcionalmente, manitol. Se prepara una segunda fase que comprende xinafoato de salmeterol, uno o más fosfolípidos y etanol. Una o ambas soluciones pueden calentarse separadamente según se requiera para garantizar la solubilidad de sus componentes. Ambas soluciones se calientan para garantizar la solubilidad de sus componentes. La primera y segunda fases se combinan en un mezclador estático para formar una combinación. La combinación se atomiza para producir gotas, que se secan para formar partículas secas.

Alternativamente, en dicho método se prepara una primera fase que comprende agua, sulfato de albuterol, leucina y, opcionalmente, sacarosa. Se prepara una segunda fase que comprende uno o más fosfolípidos y etanol.

El aparato utilizado para la práctica de dicho método puede incluir un mezclador estático (p.ej., un mezclador estático tal como se describe más completamente en la patente US nº 4.511.258, u otros mezcladores estáticos adecuados tales como, aunque sin limitación, el modelo 1/4-21 fabricado por Koflo Corporation), con un extremo de entrada y un extremo de salida. El mezclador estático es operativo para combinar un componente acuoso con un componente orgánico, formando una combinación. Se proporcionan medios para transportar el componente acuoso y el componente orgánico al extremo de entrada del mezclador estático. En un aspecto preferente, los componentes acuoso y orgánico se transportan al mezclador estático a sustancialmente la misma velocidad. Un atomizador se encuentra en comunicación de fluidos con el extremo de salida del mezclador estático para atomizar la combinación en gotas. Las gotas se secan en un secador, formando partículas secas.

El aparato puede incluir además un medidor de partículas geométrico que determina el diámetro geométrico de las partículas secas y un medidor de partículas aerodinámico que determina el diámetro aerodinámico de las partículas secas.

Los métodos y aparatos adecuados para formar partículas de la presente invención se comentan en la solicitud de patente US titulada "Method and Apparatus for Producing Dry Particles", presentada concurrentemente con la presente, bajo el nº de expediente 00166.0115-US01, que es una continuación en parte de la solicitud de patente US nº US2003-0180283 (10/101.563) titulada "Method and Apparatus for Producing Dry Particles", presentada el 20 de marzo, 2002 con el nº de expediente 00166.0115-US00. Los métodos y aparatos adecuados para formar partículas de la presente invención se comentan en la solicitud de patente PCT presentada concurrentemente con la presente invención, nº de expediente 0016.0115-WO01.

Las soluciones de secado por pulverización preparadas tal como se ha indicado anteriormente se alimentan a un recipiente de secado. Por ejemplo, puede utilizarse una boquilla o un atomizador rotatorio para distribuir las soluciones en el recipiente de secado. En una realización preferente, se utiliza un atomizador rotatorio, tal como un atomizador rotatorio de paletas. Por ejemplo, puede utilizarse un atomizador rotatorio con una rueda de 4 o 24 paletas. Un ejemplo de un secador de pulverización adecuado que utiliza atomización rotatoria es el secador por pulverización Mobile Minor, fabricado por Niro, Inc. (Dinamarca).

Las condiciones reales de secado por pulverización variarán dependiendo en parte de la composición de la solución de secado por pulverización y de los caudales de material. En algunas realizaciones, la temperatura de entrada en el secador por pulverización es de aproximadamente 100ºC a 200ºC. En algunas realizaciones, la temperatura de entrada es de aproximadamente 110ºC a 160ºC.

La temperatura de salida del secador de pulverización variará dependiendo de factores tales como la temperatura de alimentación y las propiedades de los materiales que se secan. En una realización, la temperatura de salida es de aproximadamente 35ºC a 80ºC. En otra realización, la temperatura de salida es de aproximadamente 45ºC a 70ºC, tal como, por ejemplo, de aproximadamente 45ºC a 65ºC o de aproximadamente 60ºC a 70ºC.

Las partículas de la presente invención pueden utilizarse en un método para la administración pulmonar de un agente terapéutico, diagnóstico o profiláctico, comprendiendo el método la administración de una cantidad eficaz de partículas en el tracto respiratorio de una persona que necesita de tratamiento, profilaxis o diagnóstico. Las partículas de la invención pueden utilizarse para proporcionar una administración sistémica o local controlada de agentes terapéuticos, profilácticos o diagnósticos en el tracto respiratorio mediante aerosolización. La administración de las partículas en el pulmón mediante aerosolización permite la administración en el pulmón profundo de aerosoles terapéuticos de diámetro relativamente grande, por ejemplo superior a aproximadamente 3 µm o superior a aproximadamente 5 µm de mediana de diámetro. Las partículas porosas o aerodinámicamente ligeras, con un tamaño geométrico (o diámetro medio) en el intervalo de aproximadamente 5 a 30 µm, y densidad compactada inferior a aproximadamente 0,4 g/cm^3, de manera que poseen un diámetro aerodinámico de aproximadamente 1 a 3 µm se ha demostrado que muestran propiedades ideales para la administración en el pulmón profundo. Los diámetros aerodinámicos más grandes, comprendidos, por ejemplo, entre aproximadamente 3 y 5 µm resultan preferentes, sin embargo, para la administración en las vías respiratorias centrales y superiores.

Las partículas pueden fabricarse con una textura superficial rugosa para reducir la aglomeración de las partículas y mejorar la fluidez de los polvos. Las partículas secas por pulverización presentan propiedades de aerosolización mejoradas. Las partículas secas por pulverización pueden fabricarse con características que potencian la aerosolización mediante dispositivos inhaladores de polvos secos y conducen a una deposición reducida en la boca, garganta y dispositivo inhalador.

La expresión “cantidad eficaz”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a la cantidad de agente necesaria para conseguir el efecto o eficacia terapéutico, profiláctico o diagnóstico deseado. Las cantidades eficaces reales de fármaco pueden variar según el fármaco específico o combinación del mismo que se utiliza, la composición particular formulada, el modo de administración y la edad, peso, condición del paciente y gravedad de los síntomas o condición bajo tratamiento. Las dosis de un paciente particular pueden ser determinadas por el experto ordinario en la materia utilizando consideraciones convencionales, por ejemplo mediante un protocolo farmacológico apropiado.

Las partículas de la invención pueden utilizarse en composiciones adecuadas para la administración de fármaco por el sistema pulmonar. Por ejemplo, entre dichas composiciones pueden incluirse las partículas y un portador farmacéuticamente aceptable para la administración en un paciente, preferentemente para la administración mediante inhalación. Las partículas pueden coadministrarse con partículas portadores de mayor tamaño, no incluyendo un agente terapéutico, poseyendo este último un diámetro de la mediana de masa comprendido, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 50 a 100 µm. Las partículas pueden administrarse solas o en cualquier portador farmacéuticamente aceptable apropiado, tal como un líquido, por ejemplo solución salina, o unos polvos, para la administración en el sistema respiratorio.

Las partículas, que comprenden agentes adecuados denominados anteriormente, se administran en el tracto respiratorio de un paciente que necesita tratamiento, profilaxis o diagnóstico. La administración de partículas en el sistema respiratorio puede ser por medios tales como los conocidos de la técnica. Por ejemplo, pueden administrarse partículas a partir de un dispositivo de inhalación. En una realización preferente, las partículas se administran en forma de unos polvos secos mediante un inhalador de polvos secos (IPS). También pueden utilizarse inhaladores de dosis medida (IDM), nebulizadores o técnicas de instilación.

Las partículas y/o composiciones que comprenden las partículas de la invención, que pueden encerrarse en un receptáculo pueden administrarse en el tracto respiratorio de un sujeto. Tal como se indica en la presente memoria, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a administrar las partículas de la invención, así como a administrar composiciones respirables que comprenden las partículas de la invención. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “receptáculo” incluye, aunque sin limitación, por ejemplo, una cápsula, blíster, pocillo de recipiente cubierto con película, cámara y otros medios adecuados de almacenamiento de partículas, unos polvos o una composición respirable en un dispositivo de inhalación conocido por el experto en la materia.

En una realización preferente, el receptáculo se utiliza en un inhalador de polvos secos. Entre los ejemplos de inhaladores de polvos secos que pueden utilizarse en los métodos de la invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, los inhaladores dados a conocer en las patentes US nº 4.995.385 y nº 4.069.819, Spinhaler® (Fisons, Loughborough, Reino Unido), Rotahaler® (GlaxoSmithKline, Research Triangle Technology Park, North Carolina), FlowCaps® (Hovione, Loures, Portugal), Inhalator® (Boehringer-Ingelheim, Alemania), Aerolizer® (Novartis, Suiza), Diskhaler (GlaxoSmithKline, RTP, NC), Diskus® (GlaxoSmithKline, RTP, NC) y otros conocidos por el experto en la materia. En una realización, el inhalador utilizado se describe en la solicitud de patente US nº US20040011360 (09/835.302), titulada "Inhalation Device and Method", presentada el 16 de abril, 2001.

En la presente memoria se dan a conocer receptáculos que son cápsulas, por ejemplo cápsulas diseñadas con un tamaño de cápsula particular, tal como tamaño 2. Pueden obtenerse cápsulas adecuadas, por ejemplo, de Shionogi (Rockville, MD). La invención se refiere además a receptáculos que son blísters. Los blísters pueden obtenerse, por ejemplo, de Hueck Foils (Wall, NJ). Otros receptáculos y otros volúmenes de los mismos adecuados para la utilización en la presente invención son conocidos por el experto en la materia.

El receptáculo encierra o almacena partículas y/o composiciones respirables que comprenden partículas. Las partículas y/o composiciones respirables que comprenden partículas pueden presentar la forma de unos polvos. El receptáculo se llena con partículas y/o composiciones que comprenden partículas, tal como es conocido de la técnica.

Por ejemplo, pueden utilizarse tecnologías de rellenado o consolidación al vacío. Generalmente, el llenado del receptáculo con polvos puede llevarse a cabo mediante métodos conocidos de la técnica. Las partículas, polvos o composición respirable que se encierra o almacena en un receptáculo puede presentar una masa de por lo menos aproximadamente 1,0 mg. La masa de las partículas o composiciones respirables almacenadas o encerradas en el receptáculo puede ser de por lo menos aproximadamente 5,0 mg. Alternativamente, se almacenan o encierran aproximadamente 1 a 10 miligramos o aproximadamente 1 a 5 miligramos. La masa de las partículas o composiciones respirables almacenadas o encerradas en el receptáculo puede ser de hasta aproximadamente 20, 25, 30 o 50 miligramos. El receptáculo y los inhaladores se utilizan en el intervalo recomendado de temperaturas, de aproximadamente 5ºC a 35ºC y a una humedad relativa de aproximadamente 15% a 85%.

El receptáculo puede encerrar una masa de partículas, especialmente una masa de partículas altamente dispersables tal como se describen en la presente memoria. La masa de partículas comprende una dosis nominal de un agente. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “dosis nominal” se refiere a la masa total de un agente que se encuentra presente en la masa de partículas en el receptáculo y representa la cantidad máxima de agente disponible para la administración en una sola inspiración.

Las partículas y/o composiciones respirables que comprenden partículas se almacenan o encierran en el receptáculo y se administran en el tracto respiratorio de un sujeto. Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos “administración” o “administrar” partículas y/o composiciones respirables se refieren a introducir partículas en el tracto respiratorio de un sujeto.

Tal como se indica en la presente memoria, en una realización, la invención se refiere a una composición respirable que comprende partículas portadoras y un agente. En la presente memoria se describe un método de administración de una composición respirable que comprende partículas portadoras y un agente. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “partícula portadora” se refiere a partículas que pueden comprender o no un agente y ayudar en la administración de un agente en el sistema respiratorio de un sujeto, por ejemplo mediante el incremento de la estabilidad, dispersabilidad, aerosolización, consistencia y/o características de carga de un agente. Resulta evidente que, en determinadas realizaciones, las partículas de la invención son partículas portadoras que son capaces de ser administradas en el tracto respiratorio de un sujeto.

Se entiende que las partículas y/o composiciones respirables que comprenden las partículas de la invención que pueden administrarse en el tracto respiratorio de un sujeto también pueden incluir opcionalmente portadores farmacéuticamente aceptables, tal como son bien conocidos de la técnica. La expresión “portador farmacéuticamente aceptable” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un portador que puede administrarse en el sistema respiratorio de un paciente sin ningún efecto toxicológico adverso significativo. Entre los portadores farmacéuticamente aceptables apropiados se incluyen los utilizados típicamente para la terapia de inhalación (p.ej., lactosa) y entre ellos se incluyen portadores farmacéuticamente aceptables en forma de un líquido (p.ej., solución salina) o unos polvos (p.ej., unos polvos particulados). El portador farmacéuticamente aceptable puede comprender partículas que presentan un diámetro medio comprendido entre aproximadamente 50 y 200 µm y en particular partículas de lactosa en dicho intervalo. Se entiende que el experto en la materia podrá determinar fácilmente los portadores farmacéuticamente aceptables apropiados para la utilización en la administración, acompañando y/o coadministrando las partículas de la invención.

Las partículas y/o composiciones respirables que comprenden partículas, pueden administrarse en una sola etapa activada por inspiración. Tal como se utiliza en la presente memoria, las expresiones “activada por inspiración” y “accionada por inspiración” se utilizan intercambiablemente. Tal como se utiliza en la presente memoria, “una sola etapa activada por inspiración” se refiere a que las partículas se dispersan y se inhalan en una etapa. Por ejemplo, en los dispositivos de una sola inhalación activados por inspiración, la energía de la inhalación por el sujeto dispersa las partículas y las aspira hacia el interior de la cavidad oral o nasofaríngea. Entre los inhaladores adecuados que son inhaladores accionados por una sola inspiración que pueden utilizarse en los métodos de la invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, los inhaladores de polvos secos dados a conocer en las patentes US nº 4.995.385 y nº 4.069.819, Spinhaler® (Fisons, Loughborough, Reino Unido), Rotahaler® (GlaxoSmithKline, Research Triangle Technology Park, North Carolina), FlowCaps® (Hovione, Loures, Portugal), Inhalator® (Boehringer-Ingelheim, Alemania), Aerolizer® (Novartis, Suiza), Diskhaler (GlaxoSmithKline, RTP, NC), Diskus® (GlaxoSmithKline, RTP, NC) y otros conocidos por el experto en la materia. El inhalador utilizado puede ser el descrito en la solicitud de patente US nº US20040011360 (09/835.302), titulada "Inhalation Device and Method", presentada el 16 de abril, 2001.

La administración “en una sola inspiración” puede incluir no sólo la administración activada por una sola inspiración, sino también la administración durante la que en primer lugar se dispersan partículas, composiciones respirables o polvos, seguido de la inhalación o inspiración de las partículas, composiciones respirables o polvos dispersados. En el último modo de administración, energía adicional, aparte de la energía suministrada por la inhalación por el sujeto, dispersa las partículas. Un ejemplo de un inhalador de una sola inspiración que utiliza energía aparte de la energía generada por la inhalación por el paciente es el dispositivo descrito en la patente US nº 5.997.848, de Patton et al., el 7 de diciembre de 1999.

El receptáculo que encierra las partículas, composiciones respirables que comprenden partículas o polvos que pueden vaciarse en una sola etapa activada por inspiración. El receptáculo que encierra las partículas puede variarse en una sola inhalación. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “vaciado” se refiere a que por lo menos 50% de la masa de partículas encerrada en el receptáculo es emitida a partir del inhalador durante la administración de las partículas en el sistema respiratorio del sujeto. Esto también se denomina “dosis emitida”. La masa de una dosis emitida variará según el sistema de administración utilizado. La dosis emitida puede variar entre aproximadamente 50% y 90% de la masa de partículas encerrada en el receptáculo. Alternativamente, se emite más de 50%, 60%, 70%, 80% o 90% de la masa de partículas encerrada en el receptáculo.

La administración en el sistema pulmonar de partículas en una sola etapa activada por inspiración se potencia

mediante la utilización de partículas que se dispersan a energías relativamente bajas, tales como, por ejemplo, a energías típicamente suministradas por la inhalación del sujeto. Dichas energías se denominan en la presente memoria “bajas”. Tal como se utiliza en la presente memoria, “administración de baja energía” se refiere a la administración en la que la energía aplicada para dispersar e inhalar las partículas se encuentra en el intervalo típicamente suministrado por un sujeto durante la inhalación.

Un método para administrar un agente en el sistema pulmonar se describe en la solicitud de patente US nº US20090068274 (09/878.146), titulada "Highly Efficient Delivery of a Large Therapeutic Mass Aerosol," presentada el 8 de junio, 2001.

Las partículas administradas preferentemente son altamente dispersables. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “altamente dispersable” referida a partículas o polvos se refiere a partículas o polvos que pueden dispersarse con un dispersador de polvos secos RODOS (o técnica equivalente), de manera que a aproximadamente 1 bar, las partículas de los polvos secos se emiten a partir del orificio RODOS con diámetros geométricos, medidos mediante un sistema de difracción láser HELOS u otro, que son inferiores a aproximadamente 1,5 veces el tamaño de partícula geométrico según se mide a 4 bar. Los polvos altamente dispersables presentan una baja tendencia a aglomerarse, agregarse o aglutinarse y/o, si se aglomeran, agregan o aglutinan, se dispersan o desaglomeran fácilmente al ser emitidas por un inhalador y ser aspiradas por el sujeto. Típicamente, las partículas altamente dispersables adecuadas en los métodos dados a conocer en la presente memoria muestran una agregación muy baja en comparación con los polvos micronizados estándares, que presentan diámetros aerodinámicos similares y que resultan adecuados para la administración en el sistema pulmonar. Entre las propiedades que potencian la dispersabilidad se incluyen, por ejemplo, la carga de las partículas, la rugosidad superficial, la química superficial y los diámetros geométricos relativamente grandes. En una realización, debido a que las fuerzas de atracción entre partículas de los polvos (para una masa de polvos constante) varían en relación inversa al cuadrado del diámetro geométrico y la fuerza de cizalla experimentada por una partícula se incrementa con el cuadrado del diámetro geométrico, la facilidad de dispersión de unos polvos es del orden de la inversa del diámetro geométrico elevada a la cuarta potencia. El tamaño de partícula incrementado reduce las fuerzas de adhesión interpartícula (Visser, J., Powder Technology, 58:1-10, 1989). De esta manera, un tamaño de partícula grande, con independencia de todos los demás factores, incrementa la eficiencia de la aerosolización en los pulmones para partículas de baja densidad de masa de envolvente. Una irregularidad superficial y rugosidad incrementadas también potencian la dispersabilidad de las partículas. La rugosidad superficial puede expresarse, por ejemplo, mediante la rugosidad.

Las partículas de la invención pueden viajar a través de las vías respiratorias superiores (por ejemplo la orofaringe y la largine), las vías respiratorias inferiores, que incluyen la tráquea seguido de bifurcaciones en los bronquios y bronquiolos, y por los bronquiolos terminales que a su vez se dividen en bronquiolos respiratorios, hasta llegar a la zona respiratoria final, los alveolos o pulmón profundo. La mayor parte de la masa de las partículas puede depositarse en el pulmón profundo. La administración puede ser principalmente en las vías respiratorias centrales. Alternativamente, la administración es en las vías respiratorias superiores.

Las partículas que comprenden bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol pueden administrarse en el paciente para el tratamiento, profilaxis o diagnóstico de un trastorno pulmonar, tal como, por ejemplo, una condición asociada a la obstrucción reversible de las vías respiratorias. Las partículas pueden administrarse para el tratamiento, profilaxis o diagnóstico de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), incluyendo, aunque sin limitación, el enfisema o la bronquitis crónica. Alternativamente, las partículas pueden administrarse para el tratamiento, profilaxis o diagnóstico del asma o un trastorno relacionado con el asma.

El término “dosis” de un agente se refiere a aquella cantidad que proporciona un efecto terapéutico, profiláctico o diagnóstico en un régimen de administración. Una dosis puede consistir en más de un accionamiento de un dispositivo inhalador. El número de accionamientos de un dispositivo inhalador por un paciente no resulta crucial para la invención y puede ser modificado por el médico que supervisa la administración.

La dosis de aerosol, las formulaciones y los sistemas de administración pueden seleccionarse para una aplicación terapéutica particular, tal como se indica en, por ejemplo, Gonda, I., "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract", en: Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6: 273-313, 1990, y en Moren, "Aerosol dosage forms and formulations", en: Aerosols in Medicine. Principles, Diagnosis and Therapy, Moren et al., Eds, Esevier, Amsterdam, 1985.

Ejemplos

Para los Ejemplos 1 a 5, las formulaciones A a D se encuentran en las Tablas 1 a 4. Las formulaciones B, C y D no son de acuerdo con la invención.

Ejemplo 1

Producción de partículas

Las formulaciones de partículas, tal como se indica en la Tabla 1, se prepararon mediante secado por pulverización. Las pre-soluciones de secado por pulverización se prepararon de la manera siguiente. Se disolvieron los componentes de las partículas en solventes apropiados para garantizar la solubilidad. La Tabla 2 indica la masa de cada componente de partícula disuelto en cada solvente respectivo. Se disolvieron leucina y sacarosa, en caso de hallarse presentes, en 300 ml de agua. A continuación se disolvió sulfato de abuterol en la solución acuosa. Se disolvió DPPC y/o DSPC en 700 ml de etanol. A continuación, se calentaron separadamente ambas soluciones a 50ºC. Seguidamente la fase acuosa se mezcló en la fase orgánica, formando una pre-solución de secado por pulverización con un volumen total de aproximadamente 1 l y una concentración de sólidos disueltos de 1 g/l. Estas mezclas de cosolvente eran transparentes a 50ºC.

Se obtuvieron los fosfolípidos de Avanti Polar Lipids, Inc. (Alabaster, AL). Se obtuvieron sulfato de albuterol y leucina de Spectrum Quality Products, Inc. (Gardena, CA).

A continuación, la solución se secó por pulverización para producir polvos secos. Se utilizó un secador por pulverización portátil Niro Atomizer (Niro, Inc., Columbs, MD). Aire comprimido de presión variable (1 a 5 bar) impulsaba un atomizador rotatorio de 4 paletas, girando a aproximadamente 47.000 rpm, situado en la parte superior del secador. La alimentación de líquido a un caudal de 70 ml/min se bombeó continuamente con una bomba peristáltica al atomizador. Se utilizó gas nitrógeno seco como medio de secado. Se midió la temperatura tanto a la entrada como a la salida. La temperatura a la entrada se controló manualmente y se fijó en aproximadamente 110ºC. La temperatura a la salida está determinada por factores tales como la temperatura de entrada y las tasas de alimentación de gas y líquido, entre otros factores. La temperatura a la salida generalmente variaba entre aproximadamente 44ºC y 48ºC. Se incorporó fuertemente un recipiente a un ciclón para recoger el producto de polvos.

Tabla 1: formulaciones de ejemplo

Formulación	Composición (porcentaje en peso)
A	Leucina (46%); DPPC (46%); sulfato de albuterol (8%)
B	Leucina (16%); DPPC (36%); DSPC (38%); sulfato de albuterol (8%)
C	Leucina (46%); DPPC (76%); sulfato de albuterol (8%)
D	Leucina (76%); Sacarosa (16%); sulfato de albuterol (8%)

Tabla 2: pre-composición de solución de secado por pulverización

Formulación	componentes de solución en etanol		Componentes de solución acuosa		
	DPPC	DSPC	Leucina	Sulfato de albuterol	Sacarosa
A	460 mg	--	460 mg	80 mg	--
B	380 mg	380 mg	160 mg	80 mg	--
C	760 mg	--	160 mg	80 mg	--
D	--	--	760 mg	80 mg	160 mg

Ejemplo 2

Se determinó el diámetro aerodinámico de la mediana de la masa, el diámetro geométrico de la mediana volumétrica y la densidad compactada de las partículas producidas en el Ejemplo 1.

El diámetro aerodinámico de la mediana de la masa (MMAD) de las partículas se determinó utilizando un Aerosizer/Aerodisperser (instrumento Amherst Process, Amherst, MA). Se introdujeron aproximadamente 2 mg de formulación de polvos en el Aerodisperser y se determinó el tamaño aerodinámico mediante mediciones de tiempo de vuelo.

Se midió el diámetro geométrico de la mediana en volumen (VMGD) de las partículas utilizando un dispersador de polvos secos RODOS (Sympatec, Princeton, NJ) junto con un difractómetro láser HELOS (Sympatec). Se introdujeron polvos por la entrada del RODOS y se aerosolizaron mediante fuerzas de cizalla generadas por un flujo de aire comprimido regulado a 2 bar. A continuación, la nube de aerosol se aspiró hacia la zona de mediciones del HELOS, en donde se dispersó la luz procedente de un haz láser y se produjo un patrón de difracción de Fraunhofer que se utilizó para inferir la distribución de tamaños de partícula y para determinar el valor de la mediana.

En la Tabla 3, a continuación, se muestra el diámetro aerodinámico de la mediana de la masa, el diámetro geométrico de la mediana volumétrica y la densidad compactada para cada una de las formulaciones producidas en el Ejemplo 1. Los polvos producidos eran respirables, tal como indican las características físicas de los polvos mostradas en la Tabla 3.

Tabla 3: datos de caracterización de las partículas

Formulación	VGMD (µm)	MMAD (µm)	Densidad compactada (g/cm^3)
A	7,89	2,19	0,077
B	5,77	2,01	0,121
C	11,96	2,64	0,049
D	7,76	2,37	0,093

Ejemplo 3

Se prepararon polvos con las composiciones indicadas en la Tabla 1, formulaciones A, B y D, mediante el método del Ejemplo 1. A continuación, estas partículas se sometieron a ensayo para la protección frente a la broncoconstricción tras el reto broncoprovocador con metacolina en un modelo de cobaya de hipersensibilidad de las vías respiratorias.

Se obtuvieron cobayas Hartley macho adultos jóvenes de ElmHill Breeding Laboratories, Inc. (Chemsford, MA). En el tiempo de utilización, los animales pesaban entre 330 y 393 g (peso medio: 351 ± 5 g (S.E.M.)).

Se administró una dosis nominal de 25 microgramos de sulfato de albuterol en los animales mediante administración intratraqueal de 312 microgramos de polvos secos. Se administraron en cuatro animales tres formulaciones de polvos (es decir, n=4 por cada tipo de polvos).

Los polvos se administraron en los pulmones de animales anestesiados mediante una técnica de insuflado utilizando un dispositivo de insuflado Penn-Century (Philadelphia, PA). Los animales se seleccionaron aleatoriamente de la población de ensayo para cada tratamiento. Utilizando un laringoscopio, el tubo de administración del insuflador se insertó por la orofaringe y dentro de la tráquea hasta que la punta del tubo llegase a aproximadamente un centímetro de la carina (primera birfurcación). Se utilizó un bolo de 3 ml para activar los dispositivos de Penn-Century y administrar los polvos a partir del cilindro de dosificación. Se repitió este bolo de aire tres veces durante un total de tres descargas por dosis de polvos con el fin de reducir o eliminar los residuos de polvos en la cámara de muestras. A continuación, se devolvieron los animales a sus jaulas y se observaron hasta que se recuperaron de la anestesia; posteriormente se evaluó la broncoprotección.

Se utilizó un sistema de pletismografía de cuerpo completo sin restricciones BUXCO (BUXCO Electronics Inc., Sharon, CT) con software personalizado para evaluar los cambios de función pulmonar. Se evaluó la hipersensibilidad de las vías respiratorias en animales normales frente a metacolina nebulizada (750 µg/ml solubilizados en solución salina; Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) utilizando el sistema BUXCO antes de la administración (es decir, como evaluación de la hipersensibilidad de las vías respiratorias de línea base) y también 2, 6, 10 y 24 horas después de la administración de las partículas. El índice de broncoconstricción (PenH), un indicador basado en el flujo de resistencia de las vías respiratorias, se utilizó como indicador de broncoprotección. Un incremento significativo de este valor indica broncoconstricción significativa, mientras que el bloqueo de este incremento en respuesta a metacolina indica broncoprotección.

La figura 1 muestra los resultados del ensayo in vivo en cobayas de tres formulaciones de polvos secos que contenían cantidades variables de leucina y fosfolípidos y 8 por ciento en peso de sulfato de albuterol. Inesperadamente, la formulación A, que contenía 46 por ciento en peso de cada uno de leucina y DPPC, demostró una broncoprotección prolongada, con un valor del índice de broncoconstricción (PenH) más bajo registrado 6 horas después del tratamiento.

La formulación B, que contenía 16 por ciento en peso de leucina y 76 por ciento en peso de fosfolípidos, y la fórmula D, que contenía 76 por ciento en peso de leucina y 16 por ciento en peso de sacarosa, mostraron duraciones más cortas de broncoprotección, y a las 6 horas del tratamiento, sus valores de PenH respectivos eran más altos que los de la formulación A.

De esta manera, los datos demuestran que las partículas que contienen una combinación de fosfolípidos con una cantidad suficiente de leucina, tal como por lo menos 46 por ciento en peso de leucina, poseen características de liberación controlada mejoradas y también que una fracción significativa de leucina, en la que el otro excipiente es sacarosa, no conduce a una liberación controlada de albuterol (es decir, en comparación con partículas que contienen fosfolípidos).

Ejemplo 4

Se prepararon polvos con las composiciones indicadas en la Tabla 1, formulaciones A, B y D, mediante el método del Ejemplo 1. A continuación, se evaluaron estas partículas in vivo para los perfiles farmacocinéticos.

Se obtuvieron ratas Sprague-Dawley macho de Taconic Farms (Germantown, NY). En el momento de la utilización, los animales pesaban 317 g de promedio (± 6 g S.E.M.).

Se administró una dosis nominal de 25 microgramos de sulfato de albuterol en los animales mediante administración

intratraqueal de 312 microgramos de polvos secos. Se administraron en cinco a seis ratas cada una de las tres formulaciones de polvos (es decir, n=5-6 por cada tipo de polvos).

Los polvos se administraron en los pulmones utilizando un dispositivo insuflador para ratas (PennCentury, Philadelphia, PA). La cantidad de polvos se transfirió a la cámara de muestra del insuflador. A continuación, el tubo de administración del insuflador se insertó en la boca hasta la tráquea y se hizo avanzar hasta que la punta del tubo se encontrase aproximadamente a un centímetro de la carina (primera bifurcación). El volumen de aire utilizado para administrar los polvos de la cámara de muestra del insuflador era de 3 ml, administrados a partir de una jeringa de 10 ml. Con el fin de maximizar la administración de los polvos en la rata, se recargó y descargó la jeringa dos veces más, hasta un total de tres descargas de aire por dosis de polvos.

Se introdujeron catéteres en las venas yugulares de las ratas el día antes de la administración. En los tiempos de muestreo, se extrajeron muestras de sangre de los catéteres de la vena yugular. El muestreo se llevó a cabo antes de la administración (predosis) y también 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración. A continuación, se analizó el plasma para la concentración de albuterol mediante ensayo de inmunosorción ligada a enzima (ELISA) (Neogen Corp., Lexington, KY).

Las concentraciones plasmáticas de albuterol durante el tiempo para cada una de las formulaciones se muestran en la figura 2. La Tabla 4 contiene las áreas bajo la curva (AUC) calculadas a partir de los datos de la figura 2; la concentración plasmática máxima de albuterol, C_{max}, y el tiempo hasta la concentración plasmática máxima de albuterol, T_{max}. Una AUC más elevada y/o una T_{max} más elevada indican una liberación sostenida del albuterol.

Tabla 4: curva de área bajo la concentración plasmática de albuterol vs. tiempo de la figura 2.

Formulación	Área bajo la curva	T_{MAX} (min)	C_{MAX} (ng/ml)
A	51,5 ± 11,8	35	36,6 ± 10,8
B	32,7 ± 2,0	25	28,6 ± 28
D	40,5 ± 8,7	25	25,6 ± 6,2

Los datos de la figura 2 y la Tabla 4 demuestran que: (1) las partículas que contienen una combinación de fosfolípido con una cantidad suficiente de leucina, tal como por lo menos 46 por ciento en peso de leucina, poseen características mejoradas de liberación controlada, y (2) una fracción significativa de leucina en el caso de que el otro componente sea sacarosa en lugar de fosfolípido no conduce a una liberación controlada.

Ejemplo 5

Se prepararon polvos con las composiciones indicadas en la Tabla 1, formulaciones A, C y D, mediante el método del Ejemplo 1. A continuación, se sometieron a ensayo estas partículas para reducción del diámetro medio en masa en solución isotónica a fin de determinar la influencia de la composición sobre la integridad física de las partículas bajo condiciones de hidratación completa.

Se dispersó aproximadamente 1 miligramo de partículas en aproximadamente 20 ml de solución isotónica a 37ºC. Se utilizó un contador Coulter Multisizer 3 (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA) para medir la distribución de tamaños de partícula en varios puntos temporales. El porcentaje de reducción del diámetro inicial de la mediana de masa de las partículas durante el tiempo se muestra en la figura 3.

Tal como se muestra en la figura 3, las partículas que contienen fosfolípidos y leucina pueden experimentar una cinética diferente de reducción del tamaño según su composición. Inesperadamente, las partículas de la formulación A, que contienen 46 por ciento en peso de leucina y 46 por ciento en peso de DPPC, mostraron una reducción más controlada y gradual de su tamaño que las partículas de la formulación C, que contenía 16 por ciento en peso de leucina y 76 por ciento en peso de DPPC. Las partículas de la formulación D, que contenían 76 por ciento en peso de leucina y 16 por ciento en peso de sacarosa, mostraron la reducción de tamaño más drástica a lo largo de la duración del experimento.

Para los Ejemplos 6 a 12, posteriormente, las formulaciones A a K comprendían bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol, tal como se muestra en las Tablas I a IX. Las partículas para la administración pulmonar de bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol se produjeron para identificar aquellas formulaciones que maximizaban la estabilidad química, física y de estado sólido, manteniendo simultáneamente la biodisponibilidad pulmonar deseada de estos agentes. Las partículas se evaluaron en tres niveles secuenciales de ensayos, con una reducción del número de formulaciones sometidas a ensayo en cada nivel. Las formulaciones se pasaron por un procedimiento de selección basado en el comportamiento relativo dentro de cada nivel de ensayo. La Tabla I muestra cinco formulaciones que maximizan la estabilidad química, física y de estado sólido, manteniendo simultáneamente la biodisponibilidad pulmonar deseada.

Observar que las denominaciones de formulación (p.ej., A, B, etc.) se utilizan consistentemente a lo largo de los

Ejemplos 6 a 12 para denominar las mismas composiciones de partículas. Las formulaciones B, C, D, E, F, G, I, J y K no son de acuerdo con la invención.

Tabla I: Cinco formulaciones que muestran una estabilidad química, física y de estado sólido maximizada.

Formulación	Clase de formulación	Composición
A	III	DPPC (10%); DSPC (10%); Leucina (68%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
B	V	DPPC (12%); DSPG (35%); Leucina (41%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
C	VII	Leucina (88%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
D	VII	Leucina (80%); Manitol (8%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
E	IV	MSPC (12%); DMPE (37%); Leucina (39%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)

Todos los porcentajes son (p/p de sólidos totales).

Ejemplo 6

Producción de partículas (polvos)

Se disolvió bromuro de ipratropio (IpBr), xinafoato de salmeterol (SX) y excipientes seleccionados en agua, etanol o una mezcla de agua/etanol. Los solventes se seleccionaron para optimizar la solubilidad de los componentes de la formulación. Generalmente, se disolvieron componentes solubles en etanol (p.ej., DPPC, MSPC y xinafoato de salmeterol) y la solución se calentó según resultase necesario para la solubilización (p.ej., hasta aproximadamente 40 a 50ºC). Los componentes solubles en agua (p.ej., leucina, manitol, citrato sódico, cloruro de calcio y bromuro de ipratropio) se disolvieron en agua. Las soluciones acuosas que contenían citrato sódico y cloruro de calcio se tamponaron a un pH de aproximadamente 7,0. Inmediatamente antes del secado por pulverización, las pre-soluciones de secado por pulverización se formaron mediante la mezcla de la solución de etanol y la solución acuosa. Las soluciones se combinaron en una relación 30:70 (v/v) de solución de etanol y solución acuosa para las soluciones que no contenían fosfolípidos y en una relación 60:40 o 70:30 (v/v) de solución de etanol a solución acuosa para las soluciones que contenían fosfolípidos. Las pre-soluciones de secado por pulverización de etanol/agua contenían aproximadamente 1 gramo de sólidos disueltos por litro de solución total. Estas soluciones se mantuvieron entre 20 y 50ºC (según resultase necesario para garantizar la solubilidad) antes de la producción de los polvos.

Las formulaciones de solución se agruparon en 9 clases, tal como se muestra en la Tabla II. Cada formulación contenía lípidos y/o excipientes seleccionados de entre los mostrados en la Tabla II. Cada una de las formulaciones representaba una combinación única de materiales o una proporción única de materiales.

Tabla II: Clases de formulación con posibles composiciones de lípidos y excipientes.

Clase	Lípidos	Excipientes
I	DPPC, DSPC	Citrato sódico*, cloruro de calcio*, leucina
II	DPPC, DSPC, DMPE, DPPE	Lactosa, leucina
III	DPPC, DSPC	Trehalosa, Leucina*
IV	MSPC*, DSPC, DMPE	Leucina*
V	DPPC, DSPC, DPPE, DMPE + (DSPG o DPPG)*	cloruro de calcio, leucina
VI	DPPC, DSPC, DMPE	Precirol*, Leucina*
VII	Ninguno	Azúcares, polietilenglicol, leucina*
VIII	DPPC, DMPE, DSPG	Maltodextrina*
IX	DPPC* + DSPC*	Ninguno
* Materiales utilizados en cada formulación de su clase respectiva.		

Las concentraciones de bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol se mantuvieron constantes en 5% y 7% (p/p de sólidos totales), respectivamente, en cada formulación de las clases I a VIII. Las formulaciones de clase IX se produjeron con diferentes cargas de xinafoato de salmeterol y de bromuro de ipratropio, específicamente, se examinó una carga de xinafoato de salmeterol de aproximadamente 4 a 7% (p/p de sólidos totales) y una carga de bromuro de ipratropio de aproximadamente 4 a 13% (p/p de sólidos totales).

Las soluciones tal como se habían preparado anteriormente se secaron por pulverización utilizando un secador por pulverización Mobile Minor (Niro, Inc., Columbus, MD). Se utilizaron dos atomizadores rotatorios diferentes para producir las gotas. Se utilizó una rueda atomizadora de 4 o 24 paletas, girando a aproximadamente 34.000 a 48.000 rpm para distribuir las soluciones en el secador. La tasa de alimentación de solución era de aproximadamente 60 a 75

ml por minuto. Las temperaturas de entrada del secador por pulverización eran de entre 110ºC y 160ºC. Las temperaturas de salida eran de entre 45ºC y 55ºC.

Los polvos se recogieron en un sistema de atrapado ciclónico. Antes del análisis, todos los polvos se almacenaron bajo condiciones controladas de temperatura y humedad (es decir, 23ºC y 15% de humedad relativa).

La Tabla III muestra seis formulaciones de polvos preparadas para la comparación con el rendimiento de las formulaciones de la Tabla I.

Tabla III: seis formulaciones IpBr/SX para el análisis comparativo

Formulación	Clase de formulación	Composición
F	II	DMPE (44%); Leucina (44%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
G	IV	MSPC (24,5%); DSPC (24,5%); Leucina (39%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
H	VIII	Leucina (63%); Maltodextrina M100 (15%); DMPE (10%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
I	V	DPPE (24%); DSPG (24%); Leucina (40%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
J	III	DSPC (55%); Leucina (33%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)
K	II	DPPE (11%); DMPE (33%); Leucina (44%); bromuro de ipratropio (5%); xinafoato de salmeterol (7%)

Todos los porcentajes son (p/p de sólidos totales).

Ejemplo 7

Las partículas del Ejemplo 6 se evaluaron para el rendimiento del aerosol en el primer nivel de ensayos. Las partículas aerodinámicamente ligeras pueden proporcionar una administración más eficaz de un agente terapéutico en el sistema pulmonar que las partículas convencionales. Las partículas aerodinámicamente ligeras pueden incluir las que presentan un diámetro medio de entre aproximadamente 5 y 30 µm y un diámetro aerodinámico de entre aproximadamente 1 y 5 µm. Cada una de las formulaciones se evaluó para el rendimiento del aerosol basándose en el diámetro geométrico medio volumétrico (VMGD), diámetro aerodinámico de la masa media (MMAD) y fracción de partículas finas (FPF).

a) Diámetro geométrico

Se determinó el diámetro geométrico medio volumétrico (VMGD) de cada polvo bajo dos condiciones de cizalla, es decir, a 1 bar y a 2 bar, utilizando un sistema de dispersión de luz láser de ángulo bajo-dispersor de cizalla variable. Para medir VMGD se utilizó un difractómetro láser HELOS junto con un dispersor de polvos secos RODOS, ambos fabricados por Sympatec Inc. (Princeton, NJ). Se introdujeron los polvos por la entrada del RODOS y se aerosolizaron mediante fuerzas de cizalla generadas por un flujo de aire comprimido regulado a una presión específica (1 o 2 bar). A continuación, se aspiró la nube de aerosol hacia el interior de la zona de mediciones del HELOS, donde se dispersó la luz procedente de un haz láser y se produjo un patrón de difracción de Fraunhofer que se utilizó para inferir la distribución de tamaños de partícula y para determinar el diámetro geométrico medio.

Las formulaciones presentaban VMGD medidos de entre 4,7 y 27,3 µm. Todas las formulaciones presentaban VMGD medidos a 1 bar de entre 5,3 y 27,3 µm. La totalidad excepto dos de las formulaciones presentaban VMGD medidos a 2 bar de entre 5,1 y 19,2 µm.

b) Diámetro aerodinámico

Se determinó el diámetro aerodinámico de la masa media (MMAD) utilizando un analizador de tamaños de partícula Aerosizer DSP modelo 3225 (Amherst Process Instrument, Inc., Amherst, MA). Se introdujeron aproximadamente 2 mg de polvos en la taza de dispersión para la introducción en el Aerosizer. A continuación, el Aerosizer utilizó las mediciones de tiempo de vuelo para determinar el diámetro aerodinámico de las partículas de los polvos. Se fijó la densidad de las partículas en un arbitrario 1 g/cm^3, aunque exclusivamente para los fines de estas mediciones.

Las formulaciones presentaban MMAD medidos de entre 2,3 y 5,4 µm. La totalidad excepto una de las formulaciones presentaba un MMAD medido de entre 2,3 y 4,1 µm.

c) Fracción de partículas finas

Se midió la fracción de partículas finas (FPF) utilizando un impactador de cascada Thermo-Andersen reducido con dos etapas. Se introdujeron diez miligramos medidos de polvos en una cápsula de hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) de tamaño 2. Los polvos se dispersaron utilizando un inhalador de polvos secos de una sola etapa accionado por inspiración que se hizo funcionar a 60 l/min durante 2 segundos. Las etapas se seleccionaron para recoger partículas de un diámetro de corte eficaz (ECD) de (1) entre 5,6 µm y 3,4 µm, y (2) menos de 3,4 µm y se dotaron de un material de filtro poroso para recoger los polvos depositados. La masa depositada en cada etapa se determinó gravimétricamente. Se llevaron a cabo tres tandas de réplica para cada muestra y se promediaron los valores. A continuación, se expresó FPF como fracción de la masa total cargada en la cápsula.

Cada una de las formulaciones de partículas presentó una FPF medida (<5,6) de entre 0,22 y 0,71 y una FPF (<3,4) de entre 0,10 y 0,41.

El diámetro geométrico medio volumétrico, el diámetro aerodinámico de la masa media y la fracción de partículas finas para las cinco formulaciones de la Tabla I se muestran en la Tabla IV, a continuación.

Tabla IV: rendimiento del aerosol de formulaciones de partículas seleccionadas

Formulación	VMGD (a una cizalla de 1 bar) (µm)	VMGD (a una cizalla de 2 bar) (µm)	MMAD (µm)	FPF (<5,6 µm)	FPF (<3,4 µm)
A	7,23	6,35	2,57	0,71	0,30
B	7,83	6,94	3,11	0,56	0,20
C	6,45	5,88	2,78	0,58	0,23
D	6,38	6,09	2,64	0,63	0,30
E	8,78	6,85	2,96	0,66	0,30

Ejemplo 8

También se evaluaron las formulaciones de polvos del Ejemplo 6 en el primer nivel de ensayos de estabilidad de estado sólido como indicador de estabilidad física. Se sondeó la estructura de estado sólido utilizando la sorción dinámica de vapor (DVS) y la calorimetría diferencial de barrido (DSC).

a) Sorción dinámica de vapor

Se utilizó la sorción dinámica de vapor para determinar las características de incorporación de agua de las formulaciones de polvos. Se utilizó un instrumento DVS-1000 de Surface Measurement Systems (London, Reino Unido) para todos los experimentos de sorción de vapor. Todos los experimentos utilizando 200 sccm de flujo de gas. La temperatura se mantuvo constante a 25ºC. Se utilizaron aproximadamente 10 a 15 mg de polvos para cada experimento. Los experimentos se llevaron a cabo en modo de doble rampa utilizando el protocolo siguiente:

Etapa 1 - mantenimiento de los polvos bajo 20% de humedad relativa (HR) durante 0,5 horas.
Etapa 2 - incremento de la humedad hasta 90% de HR durante 1,5 horas.
Etapa 3 - reducción de la humedad de nuevo a 20% de HR durante 1,5 horas.
Etapa 4 - mantenimiento de la muestra bajo 20% de HR durante 0,5 horas.
Etapa 5 - repetición de las etapas 2 a 4 y después parada.

Se utilizaron los tres puntos de datos siguientes como indicador de la respuesta de los polvos a la exposición a la humedad: (I) porcentaje máximo de ganancia de peso (es decir, ganancia de agua) durante la primera rampa hasta 90% de HR (DVS%1), (ii) % de ganancia/pérdida de peso al final de la etapa de mantenimiento entre rampas (es decir, al final de la etapa 4) (DVS%2) e (iii) porcentaje máximo de ganancia de peso (es decir, ganancia de agua) durante la segunda rampa hasta 90% de HR (DVS%3). El porcentaje máximo de ganancia de peso durante la primera rampa hasta 90% de HR (DVS%1) se utilizó como indicador de higroscopicidad relativa de los polvos. Las diferencias entre DVS%1 y DVS%3 se utilizaron como indicador de los cambios irreversibles producidos en los polvos como resultado de la exposición a humedades elevadas.

El intervalo de incorporación de agua es bastante amplio. Los valores de incorporación de agua para las diversas formulaciones estaban comprendidos entre aproximadamente 1% de incorporación de agua en el límite del ensayo, hasta aproximadamente 20% de incorporación de agua. Las formulaciones de clase I mostraron la incorporación de agua más elevada. Varias formulaciones, incluyendo muchas formulaciones de clase I, mostraron una histéresis significativa con el ciclado repetido de humedad. La mayoría de formulaciones, incluyendo la mayoría de las de clase II, IV, VII y VIII y todas las de las clases III, V y VI, sin embargo, mostraron poco o ningún efecto de histéresis.

La Tabla V muestra varias formulaciones que muestran características de incorporación de agua aceptables. Cada una de estas formulaciones presentaba una incorporación inicial de agua baja (DVS%1) y mostró un efecto de

histéresis bajo o nulo con el ciclado repetido de humedad. El ensayo indica que resulta posible producir una partícula porosa grande con salmeterol y bromuro de ipratropio que presentará muy poca tendencia a absorber humedad al exponerla a la humedad.

Tabla V: formulaciones que muestran características de incorporación de agua aceptables

Formulación	Clase	Composición	DVS%1	DVS%2	DVS%3
A	III	DPPC/DSPC/Leucina/IB/SX	4,2	0,0	4,1
B	V	DPPC/DSPG/Leucina/IB/SX	7,1	0,0	7,1
C	VII	Leucina/IB/SX	1,9	0,0	1,9
D	VII	Leucina/Manitol/IB/SX	2,1	0,0	2,1
E	IV	MSPC/DMPE/Leucina/IB/S X	3,9	-0,1	3,6
F	II	DMPE/Leucina/IB/SX	2,7	0,0	2,6
G	IV	MSPC/DSPC/Leucina/IB/SX	7,6	0,1	7,4
H	VIII	Leucina/Maltodextrina/DMPE /IB/SX	4,7	0,3	4,5
I	V	DPPE/DSPG/Leucina/IB/SX	6,0	0,0	6,0
J	III	DSPC/Leucina/IB/SX	7,5	0,0	7,4
K	II	DPPE/DMPE/Leucina/IB/SX	3,3	-0,2	3,1
SX= xinafoato de salmeterol; IB= bromuro de ipratropio					

Las partículas que contenían los mismos componentes y proporciones de lípidos que la formulación A mostraron una incorporación de agua reducida en la medida que se reducía el contenido de fosfolípidos y se incrementaba la concentración de aminoácidos. En general, las partículas de las clases VII y VIII mostraron una incorporación de agua más baja que las formulaciones que contenían niveles moderados a altos de fosfolípidos tradicionales, tales como DPPC o DSPC.

Los resultados de escaneo de DVS para las formulaciones A a E se muestran en las figuras 5 a 8.

b) Calorimetría diferencial de barrido

Se utilizó la calorimetría diferencial de barrido para monitorizar sucesos térmicos durante el incremento gradual de la temperatura de las partículas para la mayoría de las formulaciones de polvos secos. Los estudios de DSC se llevaron a cabo con el fin de conocer mejor las propiedades térmicas de las matrices que se utilizaron para los diferentes grupos de formulaciones.

Se llevó a cabo la DSC utilizando un calorímetro diferencial de barrido (TA Instruments, New Castle, DE). Se utilizó el metal indio como estándar de calibración. Las muestras para DSC se sellaron herméticamente en cápsulas de DSC de aluminio. Para todos los barridos, las muestras se equilibraron a 25ºC, se mantuvieron isotérmicamente durante 1 min y se calentaron a una tasa de 10ºC/min hasta una temperatura final de 100ºC. Se determinó que la temperatura de transición, T_m, era la temperatura en el máximo de señal para un cambio de flujo térmico.

La Tabla VI muestra la temperatura de transición, T_m, para las partículas de cada una de las clases de formulación que mostraba transiciones de fase. Observar que la mayoría de formulaciones de clase VII y VIII no mostraba transiciones de fase en el intervalo de temperaturas analizado. La Tabla VII muestra una temperatura de transición para algunas de las formulaciones de partículas evaluadas. Tal como se muestra en la Tabla VII, todas las formulaciones A a K mostraban transiciones de fase en el intervalo de temperaturas examinado, presentaba temperaturas de transición superiores a 50ºC, con la mayoría superiores a 60ºC.

Tabla VI: intervalos de temperatura de transición de DSC según clase de formulación

Clase	Temperatura de transición (ºC)	
	Baja	Alta
I	56,03	63,78
II	44,47	85,91
III	48,05	69,46
IV	54,94	79,02
V	65,27	77,52
VI	61,36	84,81

Tabla VII: formulaciones que mostraban propiedades térmicas aceptables

Formulación	Clase	Composición	Temperatura de transición (ºC)
A	III	DPPC/DSPC/Leucina/IB/SX	64,35

B	V	DPPC/DSPG/Leucina/IB/SX	77,31
C	VII	Leucina/IB/SX	Sin transiciones (25-100ºC)
D	VII	Leucina/Manitol/IB/SX	Sin transiciones (25-100ºC)
E	IV	MSPC/DMPE/Leucina/IB/SX	79,02
F	II	DMPE/Leucina/IB/SX	81,32
G	IV	MSPC/DSPC/Leucina/IB/SX	56,96
H	VIII	Leucina/Maltodextrina/DMPE /IB/SX	Sin transiciones (25-100ºC)
I	V	DPPE/DSPG/Leucina/IB/SX	77,52
J	III	DSPC/Leucina/IB/SX	65,40
K	II	DPPE/DMPE/Leucina/IB/SX	82,30
SX= xinafoato de salmeterol; IB= bromuro de ipratropio			

Ejemplo 9

Se evaluaron las formulaciones de partículas de las Tablas I y III para la capacidad de resistir los cambios físicos en el segundo nivel de ensayos. Se evaluaron formulaciones de polvos en términos de las fracciones de partículas finas después de los ensayos de estrés térmico. Se depositaron diez miligramos de cada formulación de polvos en cápsulas de HPMC de tamaño 2. A continuación, estas cápsulas llenas se introdujeron en bolsas desecadas y en un horno de baja humedad, aproximadamente 15% de humedad relativa, a 45ºC o a 55ºC durante seis horas. Tras las seis horas de estrés térmico, las cápsulas se llevaron a una sala de humedad controlada, a aproximadamente 30% de humedad relativa, donde se dejó que las partículas se enfriasen hasta la temperatura ambiente durante aproximadamente media hora. A continuación, se midieron las fracciones de partículas finas utilizando un ACI de dos etapas tal como se indica en el Ejemplo 7(c). Se midió la fracción de partículas finas tres veces para cada formulación mantenida a cada temperatura (es decir, 45ºC o 55ºC) y también para partículas mantenidas a temperatura ambiente.

Las Tablas VIII y IX muestran las fracciones medias de partículas finas (FPF) medidas tras los ensayos de estrés térmico y sus desviaciones estándares relativas (RSD). Las Tablas VII y VIII muestran la FPF(<5,6) y FPF(<3,4), respectivamente, para partículas mantenidas a temperatura ambiente, a 45ºC y a 55ºC durante un periodo de seis horas.

Tabla VIII: fracción de partículas finas (FPF) inferiores a 5,6 µm

Formulación	$FPFT_{amb}$ (<5,6 µm) (RSD)		FPF a 45°C (<5,6 µm) (RSD)		FPF a 55°C (<5,6 µm) (RSD)	
A	0,618	(1,6%)	0,574	(9,94%)	0,710	(1,5%)
B	0,504	(3,2%)	0,507	(1,23%)	0,400	(5,26%)
C	0,504	(7,6%)	0,552	(6,63%)	0,602	(3,8%)
D	0,667	(10,96%)	0,707	(5,92%)	0,684	(1,3%)
E	0,567	(4,1%)	0,589	(4,26%)	0,502	(1,27%)
F	0,478	(7,6%)	0,499	(1,15%)	0,456	(4,0%)
G	0,632	(5,83%)	0,526	(1,22%)	0,645	(5,5%)
H	0,460	(11,3%)	0,603	(5,0%)	0,544	(11,1%)
I	0,539	(2,80%)	0,477	(2,18%)	0,294	(4,06%)
J	0,588	(2,8%)	0,457	(8,8%)	0,200	(n=1)
K	0,432	(11,5%)	0,518	(5,1%)	0,473	(4,22%)

Tabla IX: fracción de partículas finas (FPF) inferiores a 3,4 µm

Formulación	$FPFT_{amb}$ (<3,4 µm) (RSD)	FPF a 45 °C (<3,4 µm) (RSD)	FPF a 55 °C (<3,4 µm) (RSD)
A	0,227 (3,1%)	0,203 (13,4%)	0,265 (13,8%)
B	0,189 (7,9%)	0,170 (8,58%)	0,142 (0,034%)
C	0,256 (15,9%)	0,240 (13,4%)	0,291 (15,8%)
D	0,363 (17,6%)	0,400 (2,74%)	0,368 (4,4%)
E	0,240 (3,7%)	0,243 (8,34%)	0,203 (3,44 %)
F	0,213 (5,7%)	0,175 (0,559%)	0,210 (3,9%)
G	0,329 (8,05%)	0,209 (4,36%)	0,269 (5,9%)
H	0,181 (7,46%)	0,276 (9,1%)	0,232 (7,2%)
I	0,229 (4,5%)	0,189 (1,58%)	0,121 (12,53%)
J	0,282 (5,7%)	0,227 (7,9%)	0,140 (n=1)
K	0,156 (17,0%)	0,190 (8,2%)	0,175 (4,20%)

Las formulaciones I y J no emitieron completamente desde las cápsulas tras el estrés térmico a 55ºC. Estas formulaciones esencialmente fallaron según los criterios de ensayo de estrés térmico, ya que su fracción de partículas finas respectiva cayó después del estrés térmico. Todas las demás formulaciones después del estrés térmico se

comportaron de manera similar a las partículas mantenidas a temperatura ambiente, aunque algunas fracciones de partículas finas se incrementaron o se redujeron ligeramente después del estrés térmico. Se cree que algunas FPF se incrementaron tras el estrés térmico debido a la eliminación de cantidades residuales de agua mediante el calentamiento.

Los resultados de este ensayo indican que la selección de excipientes puede presentar un impacto sobre la capacidad de una formulación de resistir temperaturas elevadas sin afectar a las características del aerosol.

Ejemplo 10

También se sometieron a ensayo partículas en el segundo nivel para protección frente a la broncoconstricción tras un reto broncoprovocador de metacolina en un modelo de cobaya de hipersensibilidad de las vías respiratorias. Para la evaluación in vivo se seleccionaron varios polvos que contenían bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol y se produjeron tal como en el Ejemplo 6. La broncoprotección proporcionada por los polvos del Ejemplo 6 se comparó con la de un placebo de control aerodinámicamente ligero y también al de polvos secos Serevent® mezclados con lactosa micronizada. Se evaluó la broncoprotección en un único punto temporal, 12 horas después del tratamiento.

Las formulaciones de polvos secos y tratamientos de control se administraron en animales anestesiados mediante insuflado intratraqueal. Se administró xinafoato de salmeterol solo o bromuro de ipratropio y xinafoato de salmeterol en combinación, para la utilización en los estudios in vivo, mediante insuflado a una dosis nominal de 1 µg de fármaco activo. Para facilitar la administración con el dispositivo de insuflado, los polvos que debían someterse a ensayo se combinaron con unos polvos de placebo aerodinámicamente ligeros para una masa de administración total de 2 mg. Las partículas de placebo aerodinámicamente ligeras consistentes en 35% de DPPC, 35% de DSPC y 30% de leucina se prepararon mediante secado por pulverización mediante métodos similares a los del Ejemplo 6. Todos los polvos en masa se almacenaron en una sala seca bajo condiciones controladas de temperatura y humedad (70ºF, 30% de H.R.) antes de pesarlos. Cada una de las dosis de ensayo combinadas se pesó en cápsulas individuales de HPMC de tamaño 2 almacenadas desecadas hasta la administración, momento en que los polvos se transfirieron de la cápsula al dispositivo de insuflado para la administración.

Una dosis nominal de 1 µg de salmeterol en una forma de polvos secos disponible comercialmente (carga de salmeterol de 0,4%) se insufló en cobayas como control positivo. El control positivo se obtuvo directamente de blísters que contenían polvos en un dispositivo de aerosol de inhalación de polvos secos Serevent® almacenado a temperatura ambiente. Los polvos secos de salmeterol/lactosa (carga de salmeterol de 0,4%) se combinaron con polvos de placebo de lactosa micronizada hasta alcanzar una dosis nominal de 1 µg de salmeterol. Dos miligramos de esta mezcla se introdujeron en cápsulas individuales de HPMC de tamaño 2 almacenadas desecadas hasta la administración, momento en que los polvos se transfirieron de la cápsula al dispositivo de insuflado para la administración.

Se obtuvieron cobayas Hartley macho adultos jóvenes de ElmHill Breeding Laboratories, Inc. (Chemsford, MA). En el tiempo de utilización, los animales pesaban entre 314 y 413 g (peso medio: 351 ± 2,6 g (S.E.M.)).

Los polvos se administraron en los pulmones de animales anestesiados mediante una técnica de insuflado utilizando un dispositivo de insuflado Penn-Century (Philadelphia, PA). Los animales se seleccionaron aleatoriamente de la población de ensayo para cada tratamiento. Utilizando un laringoscopio, el tubo de administración del insuflador se insertó por la orofaringe y dentro de la tráquea hasta que la punta del tubo llegase a aproximadamente un centímetro de la carina (primera bifurcación). Se utilizó un bolo de 3 ml para activar los dispositivos de Penn-Century y administrar los polvos a partir del cilindro de dosificación. Se repitió este bolo de aire tres veces durante un total de tres descargas por dosis de polvos con el fin de reducir o eliminar los residuos de polvos en la cámara de muestras. A continuación, se devolvieron los animales a sus jaulas y se observaron hasta que se recuperaron de la anestesia; posteriormente se evaluó la broncoprotección.

Se utilizó un sistema de pletismografía de cuerpo completo sin restricciones BUXCO (BUXCO Electronics Inc., Sharon, CT) con software personalizado para evaluar los cambios de función pulmonar. Se evaluó la hipersensibilidad de las vías respiratorias en animales normales frente a metacolina nebulizada (750 µg/ml solubilizados en solución salina; Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) utilizando el sistema BUXCO antes de la administración (es decir, como evaluación de la hipersensibilidad de las vías respiratorias de línea base) y también a las 12 horas después de la administración de las partículas. El índice de broncoconstricción (PenH), un indicador basado en el flujo de resistencia de las vías respiratorias, se utilizó como indicador de broncoprotección. Un incremento significativo de este valor indica broncoconstricción significativa, mientras que el bloqueo de este incremento en respuesta a metacolina indica broncoprotección.

La figura 9 muestra los resultados del estudio de 12 horas como porcentaje del índice de broncoconstricción (PenH) de línea base a las 12 horas de la administración de partículas en los sujetos animales (n=6 a 8 por grupo). Se indica la significancia estadística (P) para cada polvo de ensayo.

Ejemplo 11

Se evaluaron las formulaciones de partículas para la estabilidad de estado sólido en el tercer nivel de ensayos. Se llevó a cabo difracción de rayos X (XRD) de las formulaciones antes y después de la exposición durante 24 horas a 75% de humedad relativa. Se llevó a cabo la XRD en el intervalo de 2 a 50ºC a razón de 1ºC/min bajo purga de N_2. La mayoría de formulaciones mostraron pocos o ningún cambio de cristalinidad después de la exposición. Sin embargo, la formulación E mostró un pequeño porcentaje de cambio en los resultados de dispersión después de la exposición prolongada a humedad elevada, probablemente debido a la recristalización del contenido de fármaco amorfo.

Ejemplo 12

En los ensayos de nivel 3, las formulaciones de partículas producidas tal como en el Ejemplo 6 se sometieron a un estudio de múltiples puntos temporales de broncoprotección en un modelo de cobaya de hipersensibilidad de las vías respiratorias. Se seleccionaron varias formulaciones de partículas en el estudio de punto temporal único de 12 horas (Ejemplo 10) para la evaluación en un estudio multipunto, más amplio, que observaba la respuesta de los animales hasta y más allá de las 2 horas. Los métodos de preparación y administración de los polvos fueron los mismos que en el Ejemplo 10. Los animales de ensayo se seleccionaron aleatoriamente para el tratamiento y se dividieron en ocho grupos de ensayo. Los ensayos de función pulmonar tras el tratamiento con las formulaciones de polvos secos se produjeron en múltiples puntos temporales, que incluían 2, 12, 16, 20, 24, 48 y 72 horas después del tratamiento.

Los gráficos de PenH compilado y % de PenH durante el tiempo se proporcionan en las figuras 10 y 11. Todas las formulaciones mostraron una broncoprotección significativamente superior hasta por lo menos las 12 horas en comparación con el control positivo de salmeterol/lactosa. Además, las formulaciones B, D y E mostraron una broncoprotección significativamente superior hasta por lo menos las 16 horas en comparación con el control.

Aunque la presente invención se ha mostrado y descrito particularmente en referencia a realizaciones preferentes de la misma, el experto en la materia entenderá que pueden realizarse en la misma diversos cambios de forma y detalle sin apartarse del alcance de la invención comprendida en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Partículas no poliméricas para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico, comprendiendo las partículas:

(a) un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico,
(b) leucina, en la que la leucina se encuentra presente en las partículas en una cantidad de por lo menos 46 por ciento en peso, y
(c) un fosfolípido o combinación de fosfolípidos, en la que el fosfolípido o combinación de fosfolípidos se encuentra presente en las partículas en una cantidad de 1 a 46 por ciento en peso,

Presentando dichas partículas una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3, en la que la densidad compactada se determina utilizando el método de densidad en masa y densidad compactada USP.

2. Partículas según la reivindicación 1, en donde las partículas presentan una densidad compactada inferior o igual a 0,3 g/cm^3.

3. Partículas según la reivindicación 1, en donde las partículas presentan una densidad compactada inferior o igual a 0,2 g/cm^3.

4. Partículas según la reivindicación 1, en donde las partículas presentan una densidad compactada inferior o igual a 0,1 g/cm^3.

5. Partículas según la reivindicación 1, en donde las partículas presentan una densidad compactada inferior o igual a 0,05 g/cm^3.

6. Partículas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde las partículas presentan un diámetro geométrico medio de 5 a 30 µm.

7. Partículas según la reivindicación 6, en donde las partículas presentan un diámetro geométrico medio de 9 a 30 µm.

8. Partículas según las reivindicaciones 1 a 7, en donde las partículas presentan un diámetro aerodinámico de 1 a 5 µm.

9. Partículas según la reivindicación 8, en donde las partículas presentan un diámetro aerodinámico de 1 a 3 µm.

10. Partículas según la reivindicación 8, en donde las partículas presentan un diámetro aerodinámico de 3 a 5 µm.

11. Partículas según la reivindicación 1, que comprenden además un compuesto seleccionado del grupo que consiste en polisacáridos, azúcares, aminoácidos, proteínas, lípidos, tensioactivos, colesterol, ácidos grasos, ésteres de ácido graso, sales tampón y cualquier combinación de los mismos.

12. Partículas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde las partículas comprenden 5 a 10 por ciento en peso del agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico.

13. Partículas según la reivindicación 12, en donde las partículas comprenden 8 por ciento en peso del agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico.

14. Partículas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, 12 y 13, en las que el agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico es albuterol o una sal del mismo, o salmeterol o una sal del mismo, o estrona o una sal de la misma.

15. Partículas según la reivindicación 1, en las que el agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico es una proteína o péptido.

16. Partículas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en las que el agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico es hidrofílico, o en las que el agente es hidrofóbico.

17. Partículas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, 12 a 14 y 16, en las que las partículas comprenden 46 por ciento en peso de fosfolípido o combinación de fosfolípidos.

18. Partículas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, 12 a 14, 16 y 17, en las que las partículas comprenden un fosfolípido seleccionado del grupo que consiste en 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina

(DPPC), 1,2-diestearoil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina (DSPC), 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DSPG) y 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-[fosfo-*rac*-(1-glicerol)] (DPPG).

19. Partículas según la reivindicación 18, en las que el fosfolípido es 1,2-dipalmitoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (DPPC).

20. Partículas según las reivindicaciones 1 a 19, en las que las partículas son para la liberación sostenida del agente terapéutico, diagnóstico o profiláctico.

21. Partículas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en las que las partículas producen un efecto sostenido del agente terapéutico, diagnóstico o profiláctico.

22. Partículas no poliméricas para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1, comprendiendo las partículas 8 por ciento en peso de sulfato de albuterol, 46 por ciento en peso de 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPPC) y 46 por ciento en peso de leucina, presentando dichas partículas una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3.

23. Utilización de partículas no poliméricas según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 en la preparación de un medicamento para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico.

24. Utilización según la reivindicación 23, en la que el medicamento está destinado a la administración principalmente en el pulmón profundo, o en las vías respiratorias centrales, o en las vías respiratorias pequeñas, o en las vías respiratorias superiores.

25. Utilización según la reivindicación 23, en la que el medicamento está destinado a la administración mediante un inhalador de polvos secos.

26. Utilización según la reivindicación 23, en la que las partículas comprenden:

8 por ciento en peso de sulfato de albuterol,
46 por ciento en peso de 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina (DPPC), y
46 por ciento en peso de leucina,

presentando dichas partículas una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3, en las que el medicamento está destinado a la administración pulmonar.

27. Partículas no poliméricas según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 para la utilización en un método para la administración pulmonar de un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico.

28. Partículas para la utilización según la reivindicación 27, en las que la administración es principalmente en el pulmón profundo, o en las vías respiratorias centrales, o en las vías respiratorias pequeñas, o en las vías respiratorias superiores.

29. Partículas para la utilización según la reivindicación 27, en las que las partículas son para la administración mediante un inhalador de polvos secos.

30. Partículas para la utilización según la reivindicación 27, en las que las partículas comprenden:

8 por ciento en peso de sulfato de albuterol,
46 por ciento en peso de 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina (DPPC) y
46 por ciento en peso de leucina,

presentando dichas partículas una densidad compactada inferior a 0,4 g/cm^3.

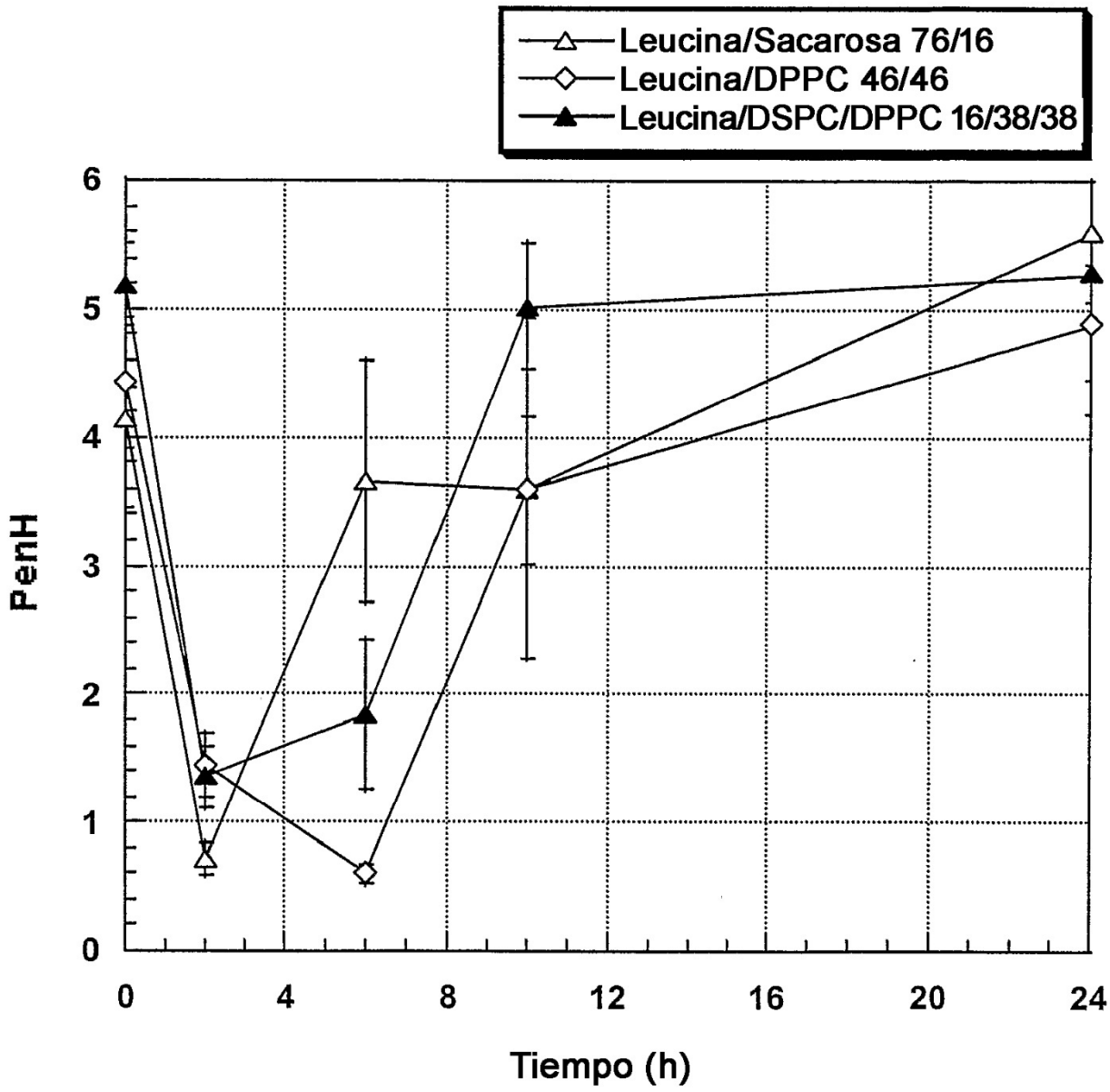

Leucina/Sacarosa 76/16
Leucina/DPPC 46/46
Leucina/DSPC/DPPC 16/38/38
PenH
Tiempo (h)
0
1
2
3
4
5
6
0
4
8
12
16
20
24

Figura 1

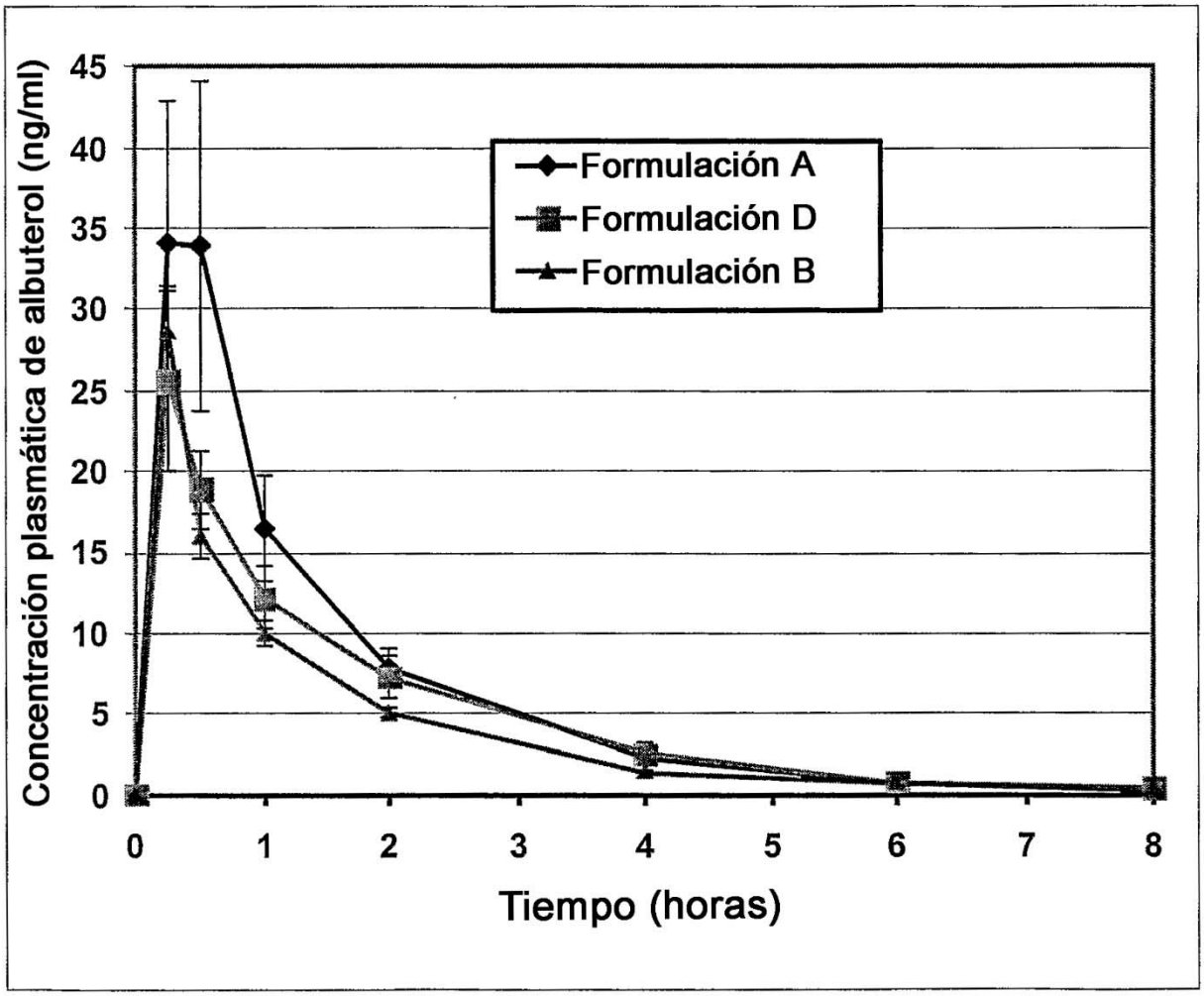

Concentración plasmática de albuterol (ng/ml)
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Tiempo (horas)
Formulación A
Formulación D
Formulación B

Figura 2

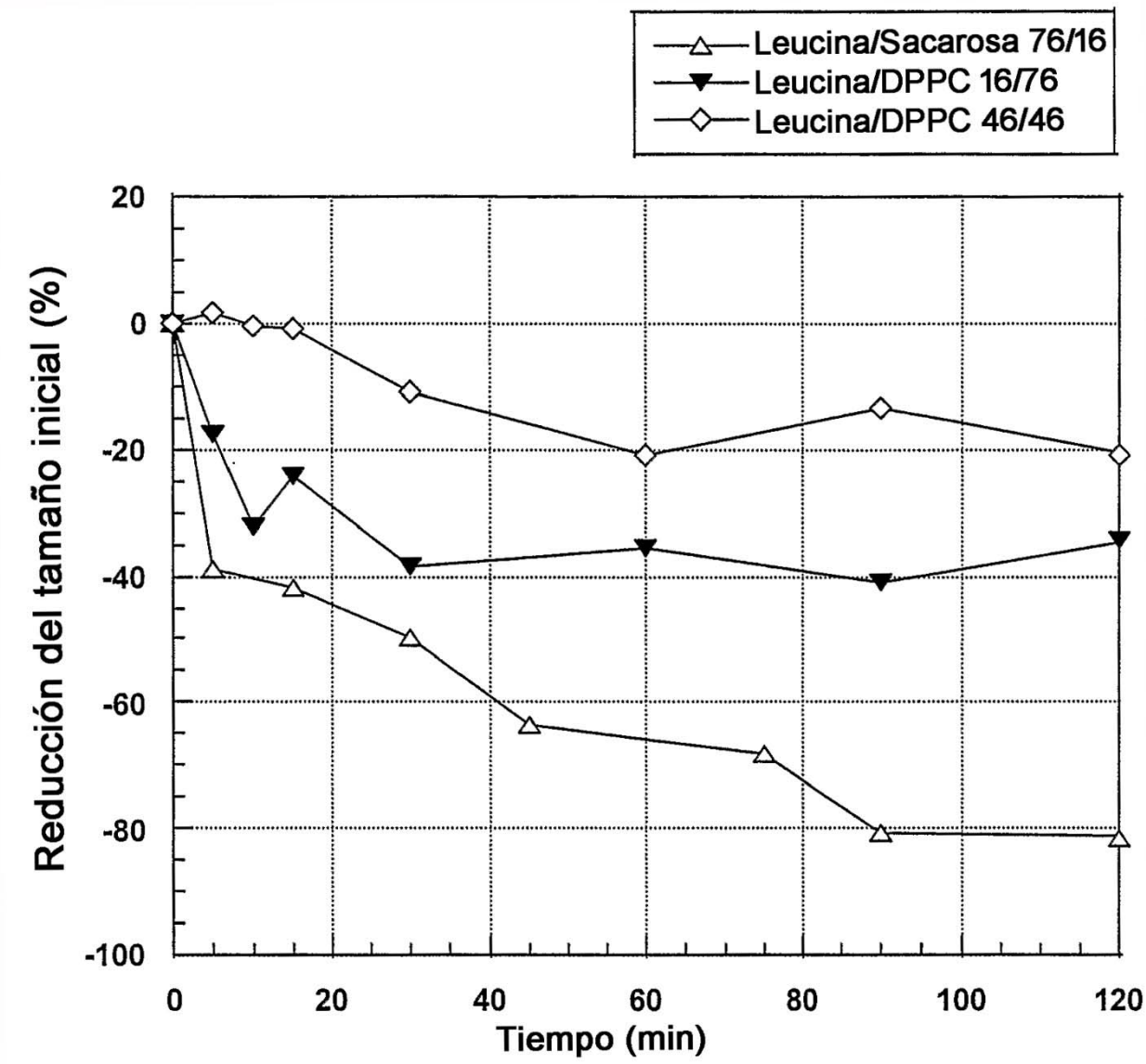

Leucina/Sacarosa 76/16
Leucina/DPPC 16/76
Leucina/DPPC 46/46
Reducción del tamaño inicial (%)
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
20
40
60
80
100
120
Tiempo (min)

Figura 3

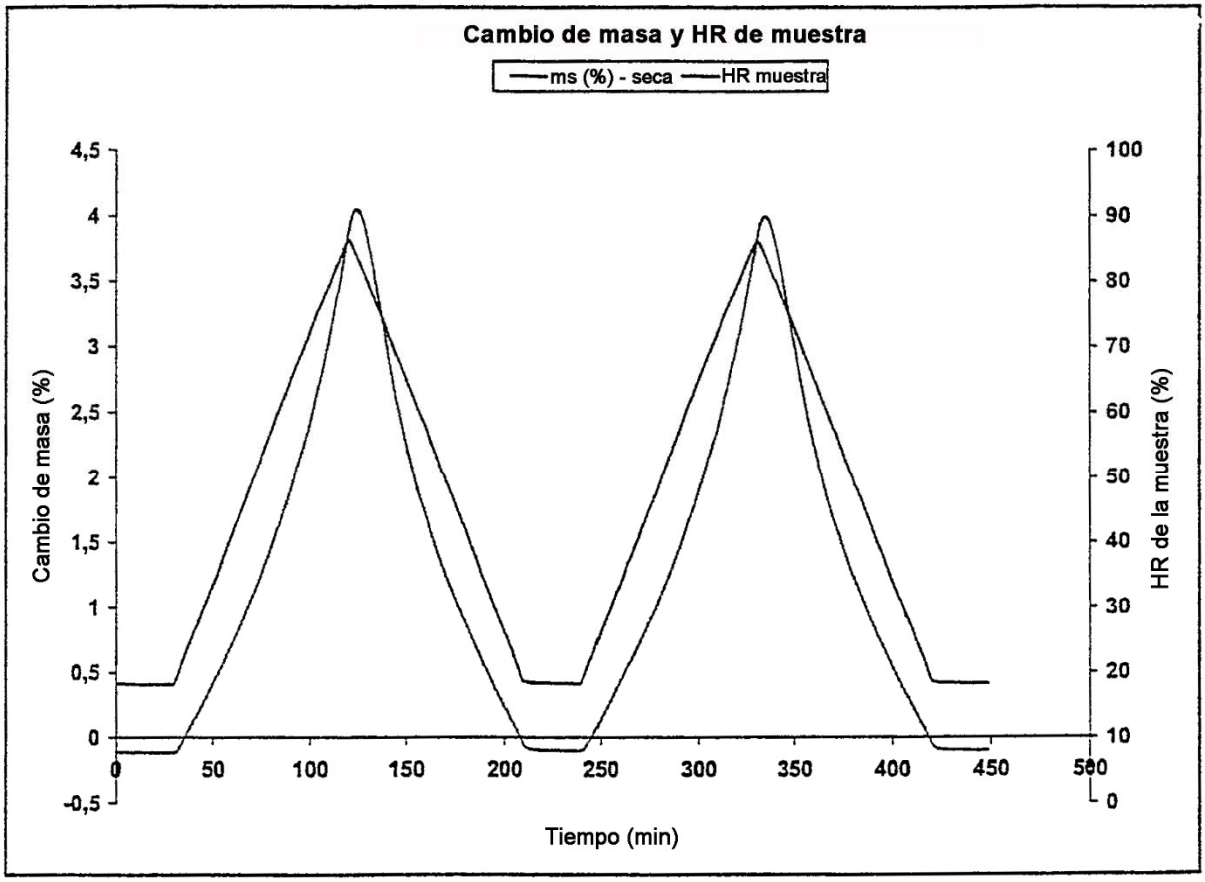

Cambio de masa y HR de muestra
ms (%) - seca
HR muestra
Cambio de masa (%)
HR de la muestra (%)
Tiempo (min)
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
-0,5
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500

Figura 4

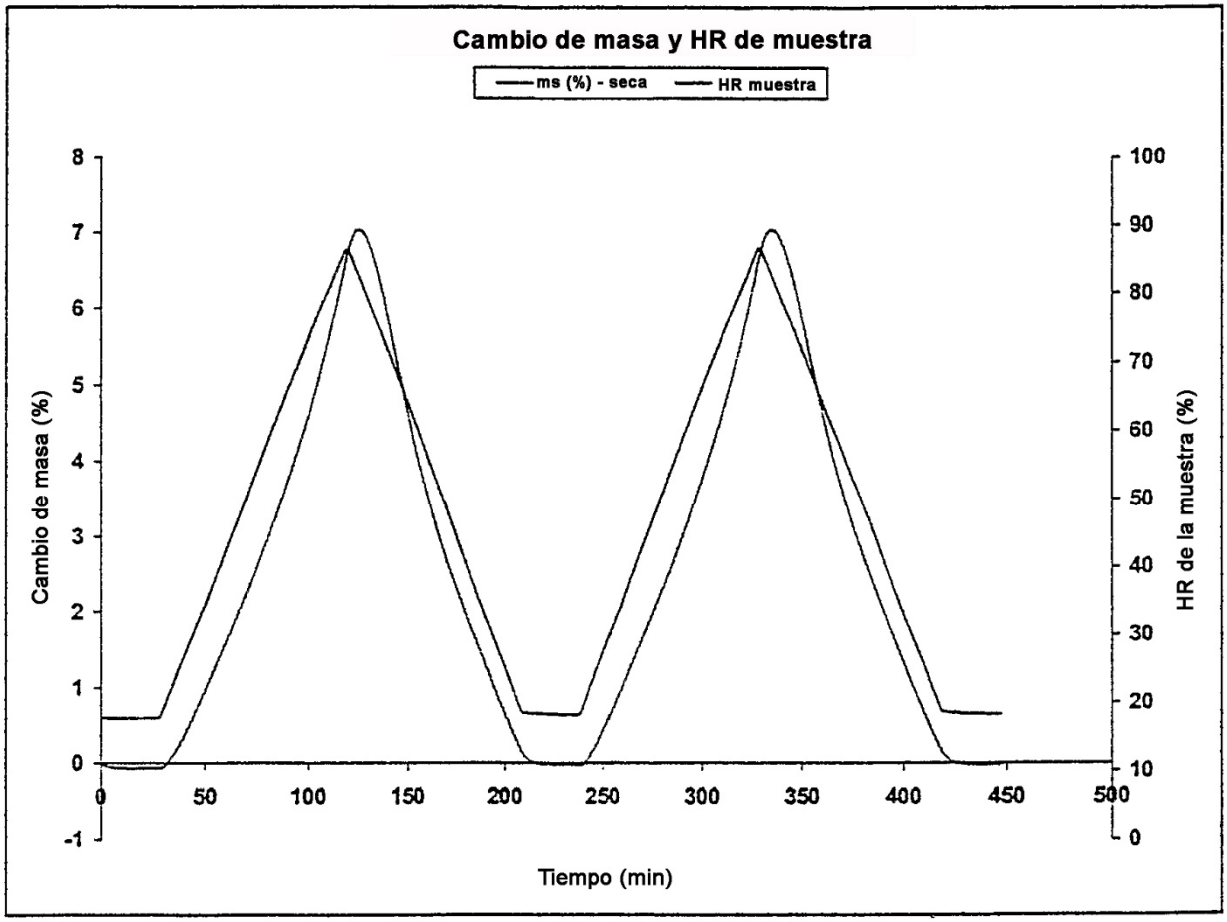

Cambio de masa y HR de muestra
ms (%) - seca
HR muestra
Cambio de masa (%)
HR de la muestra (%)
Tiempo (min)
8
7
6
5
4
3
2
1
0
-1
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500

Figura 5

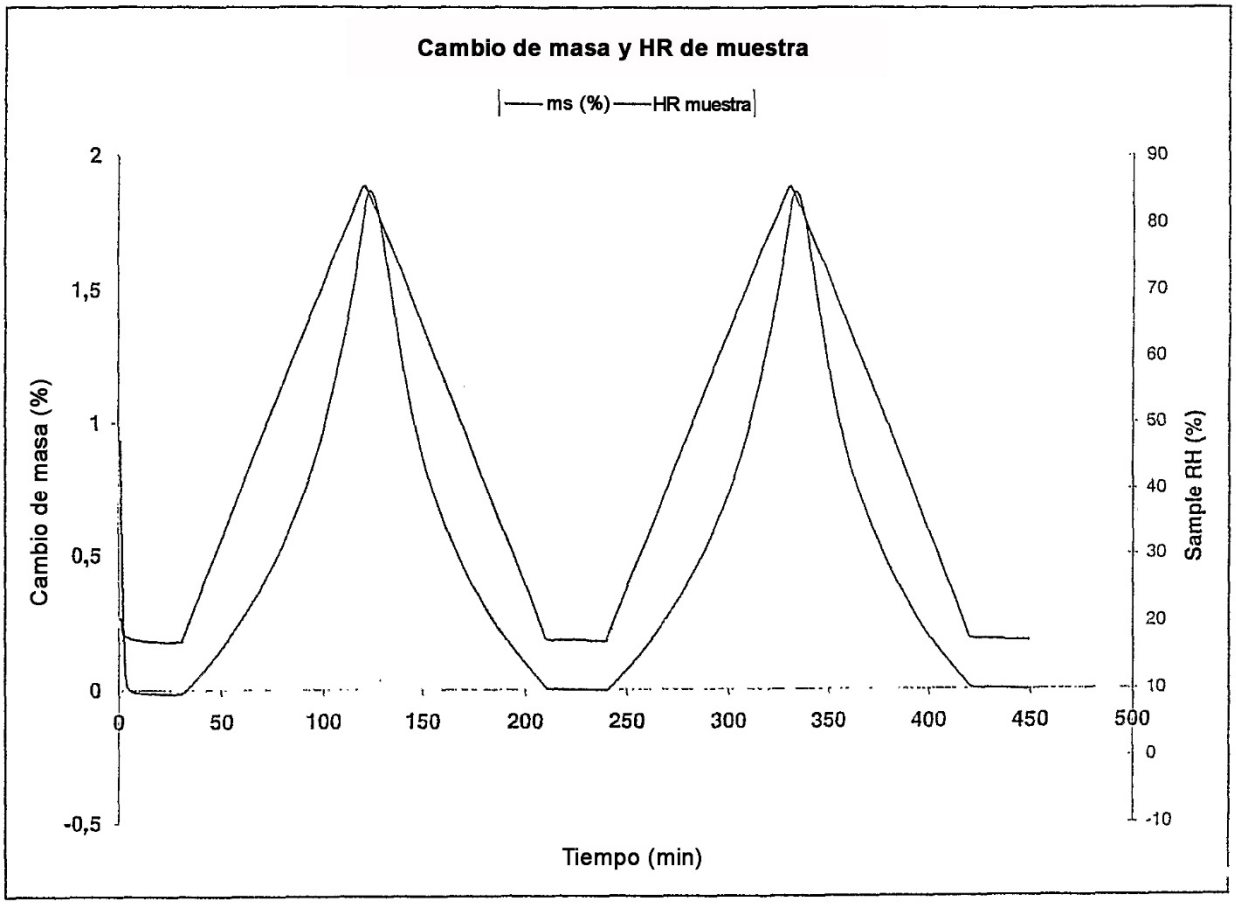

Cambio de masa y HR de muestra
ms (%)
HR muestra
Cambio de masa (%)
Sample RH (%)
Tiempo (min)
2
1,5
1
0,5
0
-0,5
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500

Figura 6

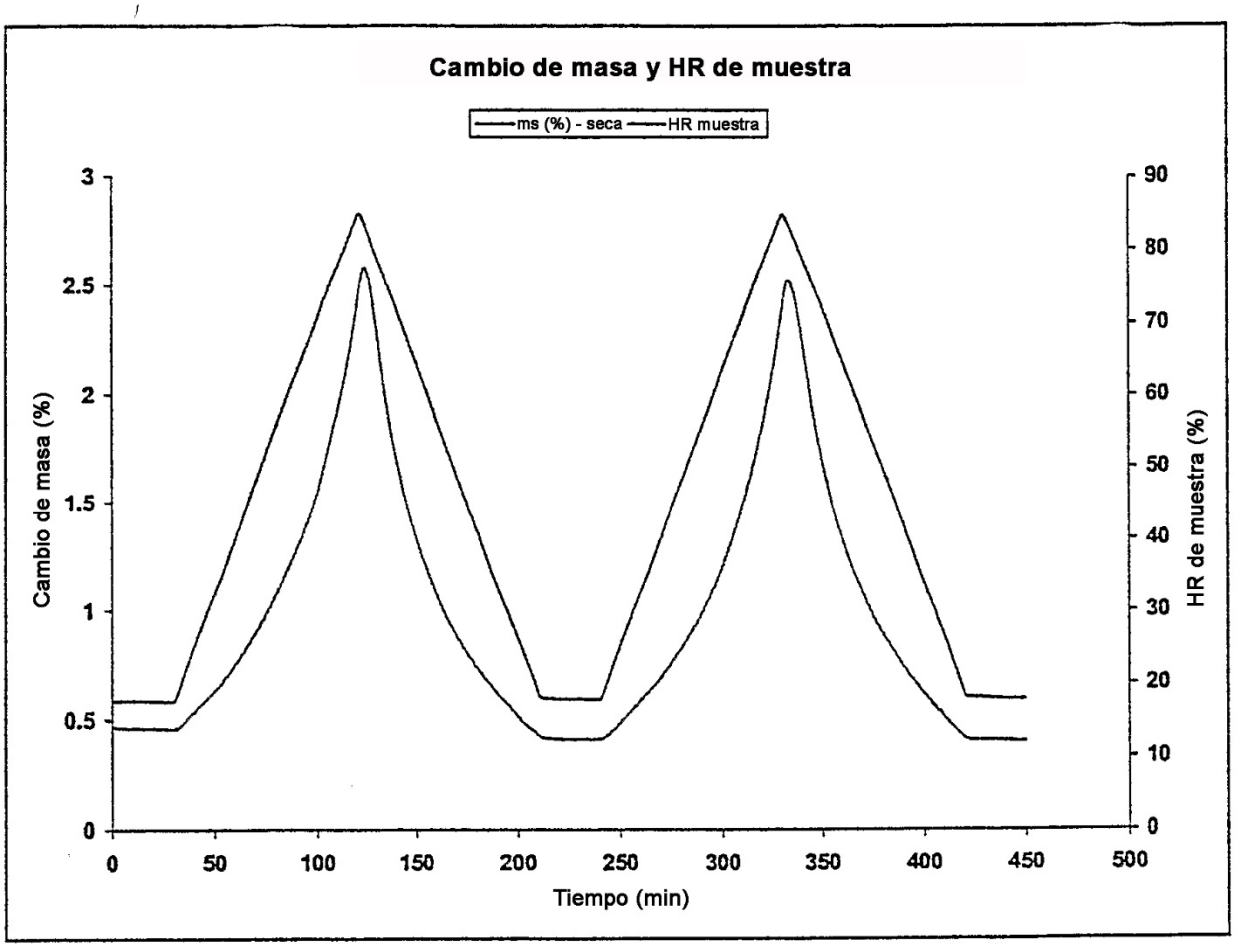

Cambio de masa y HR de muestra
ms (%) - seca
HR muestra
Cambio de masa (%)
HR de muestra (%)
Tiempo (min)
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500

Figura 7

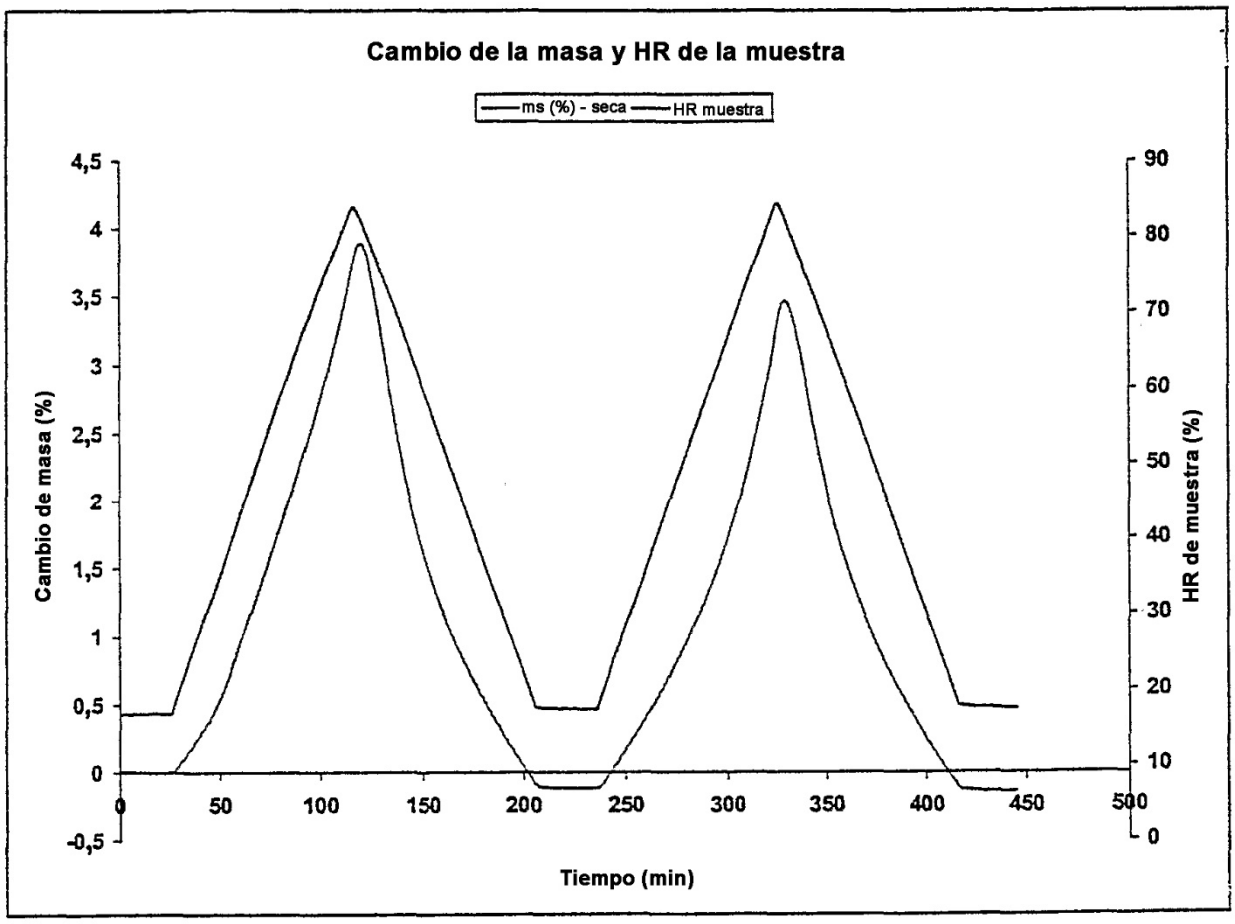

Cambio de la masa y HR de la muestra
ms (%) - seca
HR muestra
Cambio de masa (%)
HR de muestra (%)
Tiempo (min)
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
-0,5
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500

Figura 8

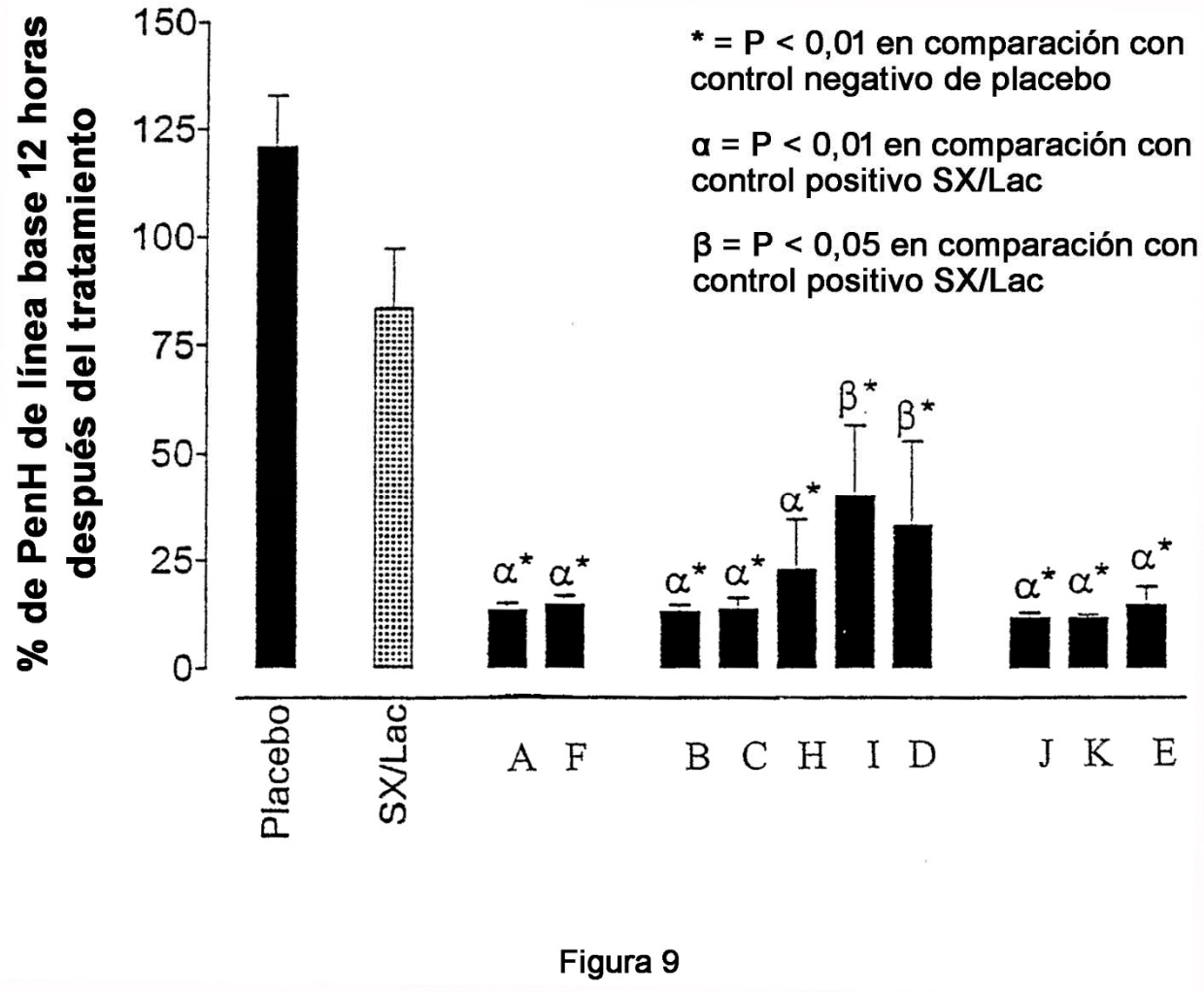

% de PenH de línea base 12 horas después del tratamiento
150
125
100
75
50
25
0
* = P < 0,01 en comparación con control negativo de placebo
α = P < 0,01 en comparación con control positivo SX/Lac
β = P < 0,05 en comparación con control positivo SX/Lac
Placebo
SX/Lac
A F B C H I D J K E

Figura 9

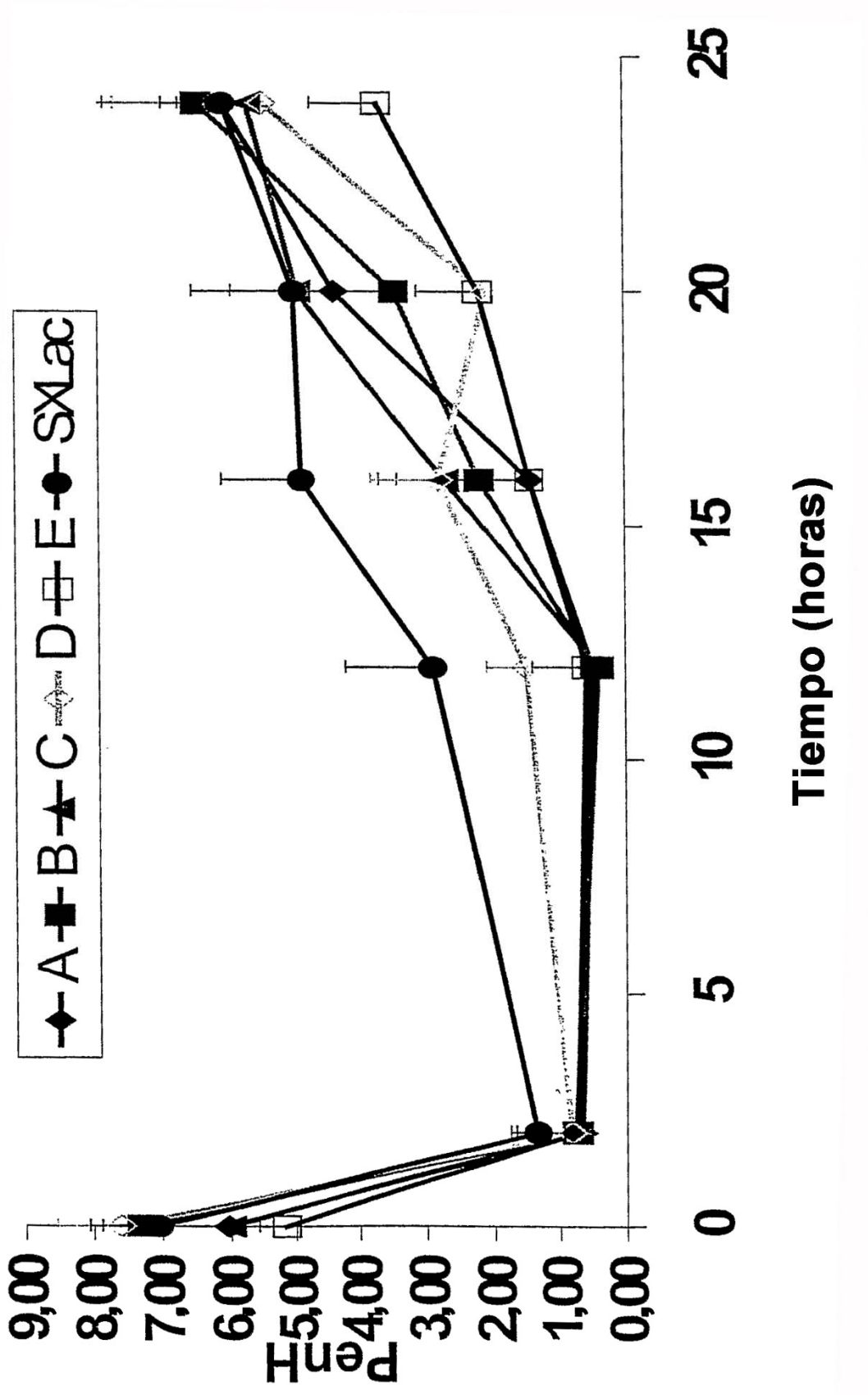

A
B
C
D
E
SXLac
pH
9,00
8,00
7,00
6,00
5,00
4,00
3,00
2,00
1,00
0,00
0
5
10
15
20
25
Tiempo (horas)

Figura 10

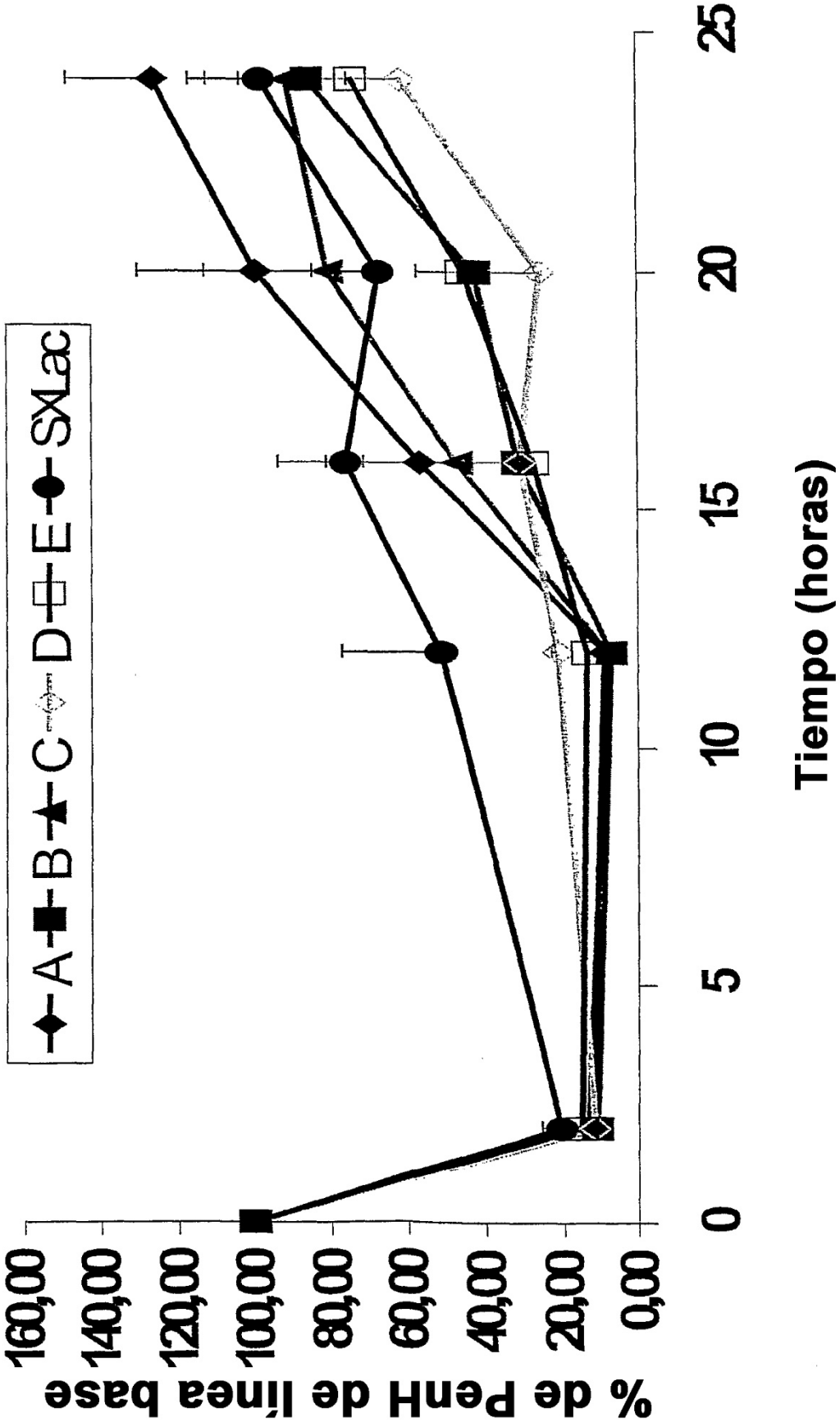

A
B
C
D
E
SXLac
% de PenH de línea base
160,00
140,00
120,00
100,00
80,00
60,00
40,00
20,00
0,00
0
5
10
15
20
25
Tiempo (horas)

Figura 11