

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 726 831**

51 Int. Cl.:

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 31/439** (2006.01)

**A61K 31/4704** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.08.2014 PCT/EP2014/066750**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.02.2015 WO15018800**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.08.2014 E 14749773 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019 EP 3030224**

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

30 Prioridad:

**05.08.2013 EP 13382318**

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

**09.10.2019**

73 Titular/es:

**CHEMO RESEARCH, S.L. (100.0%)  
Manuel Pombo Angulo, 28, plantas 3 y 4  
28050 Madrid, ES**

72 Inventor/es:

**AMIGHI, KARIM;  
SERENO GUERRA, ANTONIO;  
RONCHI, CELESTINO;  
WAUTHOZ, NATHALIE y  
HERNÁNDEZ HERRERO, GONZALO**

74 Agente/Representante:

**CONTRERAS PÉREZ, Yahel**

ES 2 726 831 T3

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

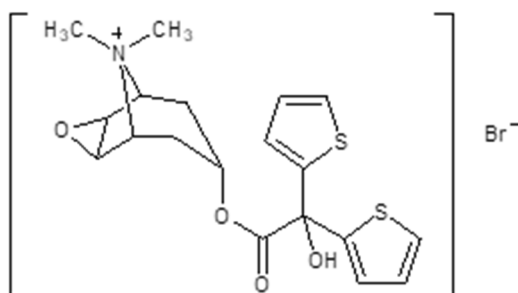
## DESCRIPCIÓN

Partículas inhalables que comprenden tiotropio e indacaterol

5 La presente invención se refiere a partículas inhalables que comprenden una mezcla íntima que consiste en a) un compuesto de tiotropio amorfo, b) un compuesto de indacaterol amorfo, y c) opcionalmente un derivado de azúcar, en las cuales el peso del derivado de azúcar está comprendido desde 0 hasta 85% con respecto al peso de las partículas inhalables. También se refiere a una composición farmacéutica que comprende las partículas inhalables de la invención, a un procedimiento para su preparación y a su uso en el tratamiento de asma o enfermedad pulmonar  
10 obstructiva crónica (EPOC).

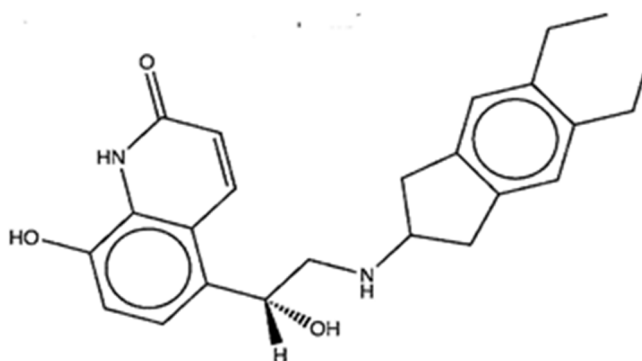
## ESTADO DE LA TÉCNICA

El bromuro de tiotropio se describió por primera vez en el documento US 5610163 y tiene la siguiente estructura  
15 química:



Se conocen diferentes sales de este producto (cloruro, bromuro, yoduro, etc.), así como diferentes formas cristalinas del mismo. El tiotropio es un antagonista de receptores muscarínicos con efecto anticolinérgico altamente eficaz. En las vías respiratorias, presenta efectos farmacológicos mediante la inhibición de receptores M3 en el músculo liso que conducen a broncodilatación.  
20

El indacaterol se describió por primera vez en el documento US 6878721 y tiene la siguiente estructura química:



25

El indacaterol es un agonista adrenérgico beta-2 (LABA) de acción prolongada que produce broncodilatación relajando el músculo liso en las vías respiratorias y está indicado para el tratamiento de mantenimiento a largo plazo de enfermedades respiratorias inflamatorias u obstructivas tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).  
30

En pacientes cuya EPOC no se puede controlar suficientemente con una monoterapia, se recomienda terapia con dos broncodilatadores de acción prolongada con diferente modo de acción. Las combinaciones de antagonistas muscarínicos de acción prolongada (LAMA) y agonistas beta-2 de acción prolongada (LABA) son probablemente las más estudiadas en la bibliografía y actualmente se están desarrollando combinaciones de LAMA/LABA de varias dosis fijas una vez o dos veces al día. Recientemente se ha demostrado el efecto terapéutico beneficioso en pacientes con EPOC de combinaciones de LAMA/LABA en comparación con monoterapia para diferentes combinaciones de dosis  
35

fija tales como tiotropio/formoterol, tiotropio/salmeterol, tiotropio/indacaterol, glicopirrolato/formoterol, glicopirronio/indacaterol a diferentes relaciones de dosis.

5 Varios estudios recientes han mostrado que puede esperarse un efecto terapéutico beneficioso para el tratamiento de enfermedades respiratorias inflamatorias u obstructivas del uso simultáneo de tiotropio e indacaterol en comparación con una monoterapia de dichos fármacos.

10 Para el tratamiento de enfermedades respiratorias tales como asma o EPOC es útil administrar las sustancias activas por inhalación. En comparación con otros inhaladores, los inhaladores de polvo seco (IPS) ofrecen flexibilidad en términos de intervalo de dosis nominal, que es la cantidad de sustancias activas que pueden administrarse en una única inhalación, haciendo esto que sean especialmente interesantes como herramienta de administración. Así, el uso de polvos inhalables que contienen sustancias activas que van a administrarse con un IPS es de particular importancia.

15 Los productos inhaladores de polvo seco (IPS) que contienen una combinación de fármacos son notoriamente difíciles de fabricar. Además, se ha descrito que presentan una variabilidad significativa en la liberación de los agentes terapéuticos activos presentes en la formulación, especialmente cuando las dosis de fármaco liberadas son elevadas y la relación entre los fármacos combinados es diferente. Esto puede limitar tanto el desarrollo satisfactorio de un producto IPS de combinación como la acción sinérgica de los activos a nivel celular. Este debería ser el caso con productos de combinación formulados tradicionalmente como polvos secos de inhalación, que consisten en fármacos  
20 individualmente micronizados, mezclados con una portadores de partícula gruesa o una mezcla de portadores de tamaños fino y grueso, típicamente lactosa.

Tales mezclas, que generalmente son partículas micronizadas de fármaco de baja dosis que se adhieren de manera reversible a las partículas de portador de tamaño grueso, se denominan mezclas ordenadas o interactivas. En general,  
25 dan lugar a mezclas uniformes y estables. Sin embargo, la obtención de mezclas homogéneas puede presentar grandes dificultades, ya que las propiedades físico-químicas de los medicamentos y de los excipientes son muy diferentes (es decir, la segregación de los componentes activos cohesivos en función del tiempo de mezcla o el mezclador utilizado). El problema es más crítico cuando se utiliza una combinación de dos fármacos micronizados en lugar de un único fármaco en la formulación de polvo seco. Por otra parte, también se pueden observar variabilidades  
30 lote a lote como resultado de pequeñas variaciones de las propiedades físicas de los fármacos micronizados y el portador de tamaño grueso.

Este es también el caso en cuanto a la eficiencia de las formulaciones de polvo seco como dosis liberadas desde el inhalador de fármaco de polvo o la eficiencia aerodinámica. De hecho, la eficiencia de la liberación de productos de  
35 polvo seco para inhalación depende de la formulación del fármaco, el dispositivo inhalador y la técnica de inhalación. En cuanto a la composición de las formulaciones convencionales de polvo seco y las potenciales interacciones de los componentes de las formulaciones, las interacciones interparticulares (tanto la cohesión, es decir, fármaco-fármaco, como la adhesión, es decir, portador-fármaco) están dominadas por las fuerzas de interacción físicas como fuerzas de van der Waals, cargas electrostáticas, fuerzas capilares y enclavamiento mecánico. Otras interacciones pueden  
40 ser determinadas por fuerzas químicas, tales como fuerzas de interacción ácido-base y enlaces de hidrógeno. Las diferentes interacciones interparticulares entre los fármacos y el portador son muy complejas y dependen de múltiples factores variables. El orden de magnitud de las fuerzas físicas podría variar con el tamaño de partícula, forma, propiedades de la superficie, la dureza de la partícula que se adhiere, la rugosidad de la superficie y la humedad relativa (RH). La magnitud de la fuerza adhesiva entre los fármacos y el portador es proporcional al diámetro de las  
45 partículas micronizadas y varía en función de la distancia entre las partículas micronizadas y el portador (fuerzas de van der Waals y las cargas eléctricas) o en función de la tensión superficial del líquido entre las partículas (fuerzas capilares). Además, en las formulaciones de polvo seco para inhalación basadas en la combinación de dos fármacos, la hidrofiliidad/hidrofobicidad relativa de los fármacos no sólo afecta a las fuerzas de interacción entre las partículas de la mezcla (y por tanto a la eficiencia aerodinámica de la formulación), sino también a la velocidad de disolución  
50 obtenida para cada fármaco. De hecho, la disolución del fármaco desde las partículas depositadas en el pulmón sería mucho más rápida para un fármaco altamente hidrófilo e hidrosoluble que para un fármaco hidrófobo y poco soluble en agua.

El documento US 2004/0132759 describe polvos inhalables de tiotropio e indacaterol para el tratamiento de  
55 enfermedades inflamatorias u obstructivas de las vías respiratorias, particularmente asma y/o EPOC. Los polvos inhalables descritos se preparan añadiendo las sustancias activas micronizadas de tiotropio e indacaterol a la mezcla de excipientes. Sin embargo, las composiciones de fármaco micronizadas generalmente muestran escaso rendimiento en términos de dispersabilidad y fracción de partículas finas que define la parte inhalable de un polvo. Además, el procedimiento de micronización es un procedimiento poco reproducible que se ve afectado de manera importante por  
60 pequeñas variaciones en el material de partida y que tiene la dificultad de obtener mezclas homogéneas de los principios activos y los excipientes, ya que se necesitan múltiples y largas etapas de mezcla.

El documento WO 2012/007729 describe formulaciones que comprenden R (+) budesonida para el tratamiento y/o prevención de enfermedades respiratorias, inflamatorias u obstructivas de las vías respiratorias que además pueden comprender uno o más broncodilatadores tales como tiotropio y indacaterol.

5

El documento WO 2013/021199 describe una composición farmacéutica que comprende una composición eutéctica de dos ingredientes farmacológicamente activos que incluyen, entre otros, agonistas beta2 o anticolinérgicos, para la liberación por inhalación en los pulmones.

- 10 Alternativamente, se han descrito otras formulaciones que contienen un antagonista de receptores muscarínicos y un agonista beta-2 adrenérgico de acción prolongada (LABA). Por ejemplo, el documento WO 2012/106575 describe una formulación en polvo seco para inhalación que contiene partículas secadas por pulverización que comprenden un núcleo de un primer principio activo en forma cristalina que está recubierto con una capa de un segundo principio activo en forma amorfa que está dispersado en un excipiente hidrófobo. En particular, este documento describe polvos
- 15 secos que comprenden maleato de indacaterol y glicopirrolato como principios activos, y diestearioilfosfatidilcolina (DSPC), cloruro de calcio y opcionalmente trehalosa como excipientes. Estas formulaciones se fabrican por secado por pulverización de una materia prima basada en emulsión preparada mezclando una emulsión de vehículo, que se prepara en un procedimiento de dos etapas emulsionando bromuro de perfluorooctilo en una dispersión acuosa de DSPC que contiene  $\text{CaCl}_2$  disuelto, y una disolución de fármaco, que se prepara a partir de cristales micronizados de
- 20 maleato de indacaterol, glicopirrolato y trehalosa en un medio acuoso. Sin embargo, el procedimiento para la preparación de tales formulaciones es todavía complejo y requiere procedimientos de micronización y múltiples etapas de mezcla y homogeneización. Además, en la formulación anterior, la cinética de liberación de los dos fármacos se produce con velocidades de liberación diferentes: primero, el fármaco presente en la parte de recubrimiento y segundo, el fármaco cristalino que constituye la parte de núcleo.

25

Así, existe la necesidad de desarrollar otras composiciones en polvo seco inhalables que comprendan tiotropio e indacaterol que eviten las desventajas de las formulaciones de la técnica anterior y muestren mejoras referentes a la homogeneidad de las mezclas en polvo, la fluidez del polvo y/o la dispersión del polvo, las propiedades aerodinámicas y los perfiles de liberación de ambos compuestos activos.

30

## RESUMEN DE LA INVENCION

- Los inventores han desarrollado una formulación en polvo seco que comprende partículas inhalables tal como se definen en las reivindicaciones que consisten en tiotropio amorfo, indacaterol amorfo y opcionalmente un derivado de
- 35 azúcar, que es físicamente estable a la cristalización y químicamente estable a la degradación. La formulación en polvo seco de la invención tiene buenas propiedades aerodinámicas cuando se administra usando un inhalador de polvo seco apropiado. En particular, muestra una dosis de liberación del inhalador, distribución del tamaño de partícula aerodinámico y fracción de partículas finas (FPF) similares para ambos principios activos. Además, las partículas inhalables muestran un buen perfil de liberación (es decir, perfiles de disolución más cercanos) para ambos principios
- 40 activos.

- Además, las composiciones en polvo inhalables de la invención presentan un alto grado de homogeneidad, y fluctuaciones pequeñas en las propiedades de dispersión, lo que es crucial para asegurar que la proporción inhalable de sustancias activas sea liberada de manera reproducible en cantidades constantes y con la menor variabilidad
- 45 posible. Las composiciones tienen adicionalmente buenas propiedades de flujo.

- Las características anteriores son de particular importancia con el fin de obtener una acción sinérgica de dos fármacos, como indacaterol y tiotropio, mediante combinaciones de fármacos fijas. La administración de indacaterol y tiotropio de un polvo homogéneo tal como, por ejemplo, el obtenido por co-secado por pulverización de una combinación de
- 50 ambos fármacos es probable que potencie la probabilidad de co-deposición en comparación con administraciones separadas de los agentes activos individuales o co-administración del fármaco a partir de formulaciones de polvo seco convencionales que contienen una mezcla de los dos fármacos micronizados con un excipiente apropiado. Además, los polvos co-secados por pulverización muestran un alto rendimiento del aerosol y una deposición uniforme de los dos fármacos en las vías respiratorias y los perfiles de liberación de los dos fármacos son más próximos que aquellos
- 55 obtenidos de fármacos físicamente mezclados, aún cuando los perfiles de solubilidad del indacaterol (baja solubilidad en agua) y el tiotropio (alta solubilidad en agua) sean bastante distintos.

- Además, las partículas inhalables de la invención pueden obtenerse por un procedimiento simple y rápido adecuado para la industrialización a diferencia de las formulaciones de la técnica anterior que no están completamente en forma
- 60 amorfa y requieren condiciones de procesamiento complejas y laboriosas para su preparación.

Por tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a partículas inhalables que comprenden una mezcla íntima que consiste en:

- a) un compuesto de tiotropio amorfo,
  - b) un compuesto de indacaterol amorfo, y
  - 5 c) un derivado de azúcar,
- en las cuales el peso del derivado de azúcar está comprendido desde 0 hasta 85% con respecto al peso de las partículas inhalables.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de las partículas inhalables definidas anteriormente junto con uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

Las partículas inhalables de la invención pueden prepararse convenientemente por un procedimiento de secado apropiado a partir de una disolución de los principios activos mezclados con una disolución o suspensión del derivado de azúcar, si está presente. Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para preparar partículas inhalables que comprende las siguientes etapas:

- a) Si hay un derivado de azúcar en las partículas finales, disolver o dispersar el derivado de azúcar en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua para formar una disolución o una suspensión;
- 15 b) disolver un compuesto de tiotropio y un compuesto de indacaterol en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua;
- c) si hay un derivado de azúcar en las partículas finales, mezclar la disolución o suspensión de la etapa a) y la disolución de la etapa b); y
- d) secar por pulverización, liofilizar o secar a vacío la disolución o suspensión de la etapa b) o la etapa c) para obtener las partículas inhalables deseadas.

Como se ha descrito previamente, las partículas inhalables de la presente invención como se han definido anteriormente, o las composiciones farmacéuticas que las comprenden son útiles para el tratamiento de ciertas enfermedades respiratorias. Por tanto, otro aspecto de la presente invención se refiere a las partículas inhalables que se han definido previamente, para su uso como medicamento, en particular, para su uso en el tratamiento de asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Así, este aspecto se refiere al uso de las partículas inhalables como se han definido previamente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de asma o EPOC, y también pueden formularse como un método para el tratamiento de asma o EPOC que comprende administrar una cantidad efectiva de las partículas inhalables previamente definidas de la invención y uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables, en un sujeto en necesidad del mismo, preferiblemente un ser humano.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 muestra el patrón de XRPD de las partículas inhalables del Ejemplo de referencia 3 (indacaterol-tiotropio-87%lactosa secados por pulverización, 2J2012C) a T=0 (A) y después de su almacenamiento durante 3 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (B).

La FIG. 2 muestra el patrón de XRPD de las partículas inhalables del Ejemplo 4 (indacaterol-tiotropio-55%lactosa secados por pulverización, 9J2012B) a T=0 (A) y después de su almacenamiento durante 6 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (B).

La FIG. 3 muestra el patrón de XRPD de las partículas inhalables del Ejemplo 5 (indacaterol-tiotropio, secados por pulverización, 9A2013A) a T=0 (A) y después de su almacenamiento durante 3 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (B).

La FIG. 4 muestra el patrón de XRPD de las partículas inhalables del Ejemplo de referencia 7 (partículas de indacaterol secadas por pulverización, ST-3A) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 3 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (derecha).

La FIG. 5 muestra el patrón de XRPD de las partículas inhalables del Ejemplo de referencia 8 (solvato de metanol de bromuro de tiotropio secado por pulverización, ST-3B) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 3 meses a 60 °C y 30% de humedad relativa (derecha).

La FIG. 6 muestra el patrón de XRPD de las partículas inhalables del Ejemplo 11 (partículas secadas por pulverización de indacaterol-tiotropio-30%lactosa, SITL30-3A) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 3 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (derecha).

La FIG. 7 muestra el patrón de XRPD de las partículas inhalables del Ejemplo 10 (partículas secadas por pulverización de indacaterol-tiotropio-40%lactosa, SITL40-3A) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 3 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (derecha).

5

La FIG. 8 muestra imágenes de MEB para las partículas inhalables del Ejemplo de referencia 3 (indacaterol-tiotropio-87%lactosa) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 3 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (derecha).

10 La FIG. 9 muestra imágenes de MEB para las partículas inhalables del Ejemplo de referencia 4 (indacaterol-tiotropio-55%lactosa) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 6 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (derecha).

La FIG. 10 muestra imágenes de MEB para las partículas inhalables del Ejemplo 5 (indacaterol-tiotropio) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 3 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (derecha).

15

La FIG. 11 muestra imágenes de MEB para las partículas inhalables del Ejemplo 11 (indacaterol-tiotropio-30%lactosa, SITL30-3A) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 2 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (derecha).

20

La FIG. 12 muestra imágenes de MEB para las partículas inhalables del Ejemplo 10 (indacaterol-tiotropio-40%lactosa, SITL40-3A) a T=0 (izquierda) y después de su almacenamiento durante 2 meses a 40 °C y 75% de humedad relativa (derecha).

25 La FIG. 13 muestra el % de liberación acumulada (R) de indacaterol y tiotropio en el tiempo (minutos) de 18 cápsulas del Ejemplo 21 (polvo seco para inhalación basado en indacaterol y tiotropio, 24G2013A) impactado en el filtro IER (Dae < 5 micras; inhalador Fantasmio que contiene una cápsula de HPMC cargada con  $25 \pm 2$  mg, 100 L /min durante 2,4 segundos). Se calculó la cantidad acumulada liberada de indacaterol (C) y tiotropio (A) del Ejemplo 21 y se expresó como el porcentaje de la cantidad de indacaterol y tiotropio liberada después de 180 minutos y se comparó con la liberación acumulada de indacaterol de 10 cápsulas de Onbrez® (D) impactado en el filtro IER en las mismas condiciones o con la liberación acumulada de tiotropio a partir de 10 cápsulas de SPIRIVA® (B) impactadas en el filtro IER en las mismas condiciones.

30 liberación acumulada de indacaterol de 10 cápsulas de Onbrez® (D) impactado en el filtro IER en las mismas condiciones o con la liberación acumulada de tiotropio a partir de 10 cápsulas de SPIRIVA® (B) impactadas en el filtro IER en las mismas condiciones.

La FIG. 14 muestra el % de liberación acumulada (R) de indacaterol y tiotropio en el tiempo (minutos) de 15 cápsulas del Ejemplo 22 (polvo seco para inhalación basado en indacaterol y tiotropio, 24G2013B) impactado en el filtro IER (Dae < 5 micras; inhalador Fantasmio que contiene una cápsula de HPMC cargada con  $25 \pm 2$  mg, 100 L /min durante 2,4 segundos). Se calculó la cantidad acumulada liberada de indacaterol (C) y tiotropio (A) del Ejemplo 22 y se expresó como el porcentaje de la cantidad de indacaterol y tiotropio liberada después de 180 minutos y se comparó con la liberación acumulada de indacaterol de 10 cápsulas de Onbrez® (D) impactado en el filtro IER en las mismas condiciones o con la liberación acumulada de tiotropio a partir de 10 cápsulas de SPIRIVA® (B) impactadas en el filtro IER en las mismas condiciones.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

45 Para los fines de la invención, el término “fracción de partículas finas” (FPF) describe la parte inhalable de un polvo y es la dosis (expresada en % en peso) de partículas que tiene un diámetro aerodinámico inferior a 5  $\mu$ m en relación con la dosis nominal (dosis de partículas finas/dosis cargada  $\times$  100) o la dosis recuperada (dosis de partículas finas/dosis recuperada  $\times$  100). La dosis de partículas finas (DPF) puede determinarse mediante los procedimientos descritos en la USP y la Farmacopea Europea para la evaluación aerodinámica de partícula fina. En un polvo para inhalación con buena dispersabilidad, la FPF es superior al 20%, preferiblemente superior al 30%.

El término “diámetro de partícula aerodinámico medio”, también conocido como diámetro aerodinámico de la mediana de la masa (MMAD), indica el tamaño aerodinámico de partícula al que el 50% de las partículas del polvo tienen un diámetro aerodinámico más pequeño.

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

60 Según la invención, un primer aspecto se refiere a partículas inhalables que comprenden una mezcla íntima que consiste en: a) un compuesto de tiotropio amorfo, b) un compuesto de indacaterol amorfo, y c) un derivado de azúcar,

en las cuales el peso del derivado de azúcar está comprendido desde 0 hasta 85% con respecto al peso de las partículas inhalables.

En otra realización, las partículas inhalables consisten en una mezcla íntima que consiste en un compuesto de tiotropio amorfo, un compuesto de indacaterol amorfo y opcionalmente un derivado de azúcar como se ha definido anteriormente.

Como se usa en el presente documento, el término “amorfo” se refiere a composiciones que son sustancialmente no cristalinas, más particularmente composiciones que contienen menos del 10% de fracciones cristalinas, incluso más particularmente menos del 5%, menos del 2%, y menos del 1% de fracciones cristalinas. Típicamente, las partículas inhalables de la invención no muestran un patrón de difracción de rayos X distinguible, más particularmente cuando se barren de, por ejemplo, 2 a 70 grados (2-theta).

El término “inhalable” significa que las partículas son adecuadas para administración pulmonar. Las partículas inhalables pueden dispersarse e inhalarse por medio de un inhalador, de manera que las partículas se transportan profundamente a las ramas de los pulmones y pueden desarrollar una actividad local o sistémica, opcionalmente a través de los alveolos. Generalmente, el tamaño de partícula de una partícula inhalable comprende hasta 10 µm, más preferiblemente de 0,5 a 10 µm, más preferiblemente 0,5-6 µm.

Como se usa en el presente documento, el término compuesto de tiotropio engloba tiotropio como el catión de amonio libre (también denominado en el presente documento tiotropio base), además de cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El término compuesto de indacaterol engloba indacaterol como base libre (indacaterol base), además de cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cualquier forma sólida de tiotropio e indacaterol también está englobada por la presente invención.

El término “sal farmacéuticamente aceptable” como se usa en el presente documento se refiere a cualquier sal no tóxica que pueda usarse para fines terapéuticos. La preparación de sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención puede llevarse a cabo mediante procedimientos conocidos en la técnica.

Sales de tiotropio no limitantes que pueden usarse dentro del alcance de la presente invención son aquellos compuestos que contienen, por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro, metanosulfonato, para-toluenosulfonato, benzenosulfonato o metilsulfato. En una realización preferida, el compuesto de tiotropio es bromuro de tiotropio.

Sales farmacéuticamente aceptables de indacaterol incluyen sales formadas con ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, que incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen, por ejemplo, ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido benzenosulfónico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido p-toluenosulfónico, ácido xinafoico y similares. En una realización preferida, el compuesto de indacaterol se selecciona entre maleato de indacaterol, acetato de indacaterol y xinafoato de indacaterol, más preferiblemente maleato de indacaterol.

En las partículas inhalables de la invención, cualquiera de los componentes (tiotropio, indacaterol y el derivado de azúcar, si está presente) actúa de agente estabilizante que tiene un efecto estabilizador sobre los otros, de manera que las partículas sean tanto químicamente como físicamente estables. Esto significa que las partículas inhalables de la invención son más estables (es decir, muestran una degradación química o una velocidad de cristalización más lenta) que si se hubieran preparado sin el/los componente/s que actúan como agente/s estabilizante/s.

Como se ha mencionado anteriormente, las partículas inhalables de la invención comprenden una mezcla íntima de tiotropio amorfo, indacaterol amorfo y el derivado de azúcar, si está presente.

El término “mezcla íntima” como se usa en el presente documento se refiere a la relación física de los componentes tiotropio, indacaterol y el derivado de azúcar, si está presente, y significa que los componentes de las partículas se mezclan a nivel molecular y no pueden separarse o mantenerse separados a nivel molecular por procedimientos físicos generales.

Esta estructura particular de las partículas inhalables en forma de mezcla íntima es el resultado del procedimiento de secado específico usado. Así, la mezcla íntima de los componentes es obtenible por secado por pulverización, liofilización o secado a vacío, preferiblemente por secado por pulverización, de una disolución o suspensión de los componentes como se describe en el presente documento.

En una mezcla íntima, a diferencia de una mezcla simple o mezcla mecánica obtenida mezclando mecánicamente los componentes, las partículas de cada uno de los componentes no son distinguibles como tales a nivel molecular, por ejemplo, bajo el microscopio o de otras formas. (por ejemplo métodos de evaluación espectroscópicos tales como infrarrojos o Raman).

En una realización particular, el compuesto de tiotropio, el compuesto de indacaterol y opcionalmente el derivado de azúcar forman una matriz en la que los componentes están dispersados a nivel molecular. En este caso, todos los componentes que forman la matriz están en estado amorfo. Las partículas que tienen esta estructura son obtenibles por secado de una disolución que contiene tanto el derivado de azúcar, si está presente, como los principios activos.

En otra realización particular, las partículas de la invención comprenden un derivado de azúcar y los principios activos están dispersados en la superficie del derivado de azúcar (es decir, el derivado de azúcar, que puede estar en estado cristalino, está recubierto por una delgada capa de los principios activos en forma amorfa). Las partículas que tienen esta estructura son obtenibles por secado de una mezcla de una suspensión del agente estabilizante y una disolución de los principios activos.

Así, en las partículas sin el derivado de azúcar, los principios activos están uniformemente distribuidos dentro de una matriz compuesta por ambos principios activos dispersados a nivel molecular, y en las partículas que comprenden el derivado de azúcar, los principios activos están ambos uniformemente distribuidos dentro de una matriz en la que los componentes están dispersados a nivel molecular, de manera que las moléculas de los principios activos entran y se depositan en espacios intermoleculares del derivado de azúcar formando una disolución sólida, o alternativamente, los principios activos y opcionalmente parte del derivado de azúcar están dispersados a nivel molecular en la superficie del derivado de azúcar.

En todos los casos anteriores hay un contacto directo entre los componentes de las partículas inhalables que forman una mezcla íntima, a diferencia del caso de una simple mezcla obtenida mezclando mecánicamente los componentes, en el cual están dispersados como partículas individuales o como aglomerados de partículas.

La estructura particular de las partículas inhalables de la invención puede confirmarse y distinguirse de mezclas simples por técnicas muy conocidas tales como microscopía electrónica de barrido (MEB) y/o difracción de rayos X de polvo (XRPD).

En una realización preferida, las partículas inhalables de la invención consisten en una mezcla íntima de un compuesto de tiotropio amorfo y un compuesto de indacaterol amorfo, que está libre de derivado de azúcar.

En otra realización preferida, las partículas inhalables de la invención consisten en una mezcla íntima de un compuesto de tiotropio amorfo, un compuesto de indacaterol amorfo y un derivado de azúcar, en la cual el peso del derivado de azúcar comprende hasta el 85%, más preferiblemente hasta el 75%, más preferiblemente hasta el 65%, con respecto al peso de las partículas inhalables.

En otra realización preferida, las partículas inhalables de la invención consisten en una mezcla íntima de un compuesto amorfo de tiotropio, un compuesto indacaterol amorfo, y un derivado de azúcar, donde el peso del derivado de azúcar está comprendido desde 15 hasta 85%, más preferiblemente desde 20 hasta 60%, con respecto al peso de las partículas inhalables.

En una realización preferida, las partículas inhalables consisten en un derivado de azúcar, y el peso de derivado de azúcar, el peso del compuesto de tiotropio (expresado como tiotropio base) y el peso del compuesto de indacaterol (expresado como indacaterol base) con respecto al peso total de las partículas inhalables están comprendidos desde 20 hasta 85%, desde 0,2 hasta 10% y desde 10 hasta 80%, respectivamente.

En otra realización preferida, las partículas inhalables consisten en un derivado de azúcar, y el peso de derivado de azúcar está comprendido desde 15 hasta 85%, más preferiblemente desde 20 hasta 60%, con respecto al peso de las partículas inhalables; el peso del compuesto de tiotropio (expresado como tiotropio base) está comprendido desde 0,1 hasta 25%, más preferiblemente desde 0,2 hasta 25%, incluso más preferiblemente desde 0,2 hasta 15%, con respecto al peso de las partículas inhalables; y el peso del compuesto indacaterol (expresado como indacaterol base) está comprendido desde 5 hasta 90%, más preferiblemente desde 10 hasta 85%, con respecto al peso total de las partículas inhalables.

En otra realización preferida, las partículas inhalables están libres de derivado de azúcar, y el peso del compuesto de tiotropio (expresado como tiotropio base) y el peso del compuesto de indacaterol (expresado como indacaterol base)



con respecto al peso total de las partículas inhalables están comprendidos desde 0,5 hasta 50% y desde 50 hasta 99,5%, respectivamente.

5 En otra realización preferida, las partículas inhalables están libres de derivado de azúcar, y el peso del compuesto de tiotropio (expresado como tiotropio base) y el peso del compuesto indacaterol (expresado como indacaterol base) con respecto al peso total de las partículas inhalables están comprendidos desde 0,5 hasta 59% y desde 41 hasta 99,5%, respectivamente.

10 En otra realización de la invención, el derivado de azúcar en la mezcla íntima se selecciona del grupo que consiste en un monosacárido, tal como glucosa o arabinosa, un disacárido, tal como lactosa, sacarosa, maltosa o trehalosa, un oligo- o polisacárido, tal como dextrano o maltohexosa, y un polialcohol, tal como sorbitol, manitol o glicerol. En otra realización de la invención, el derivado de azúcar se selecciona del grupo que consiste en un monosacárido, tal como glucosa o arabinosa, un disacárido, tal como lactosa, sacarosa, maltosa o trehalosa, un oligo- o polisacárido, tal como dextrano o maltohexosa y un polialcohol, tal como sorbitol, manitol, xilitol, lactitol o maltitol. En una realización  
15 preferida, el derivado de azúcar es lactosa (anhidra o monohidratada).

20 En otra realización de la invención, la humedad residual (es decir, contenido de agua en peso) en las partículas es igual a o inferior al 5%, preferiblemente igual a o inferior al 3%, más preferiblemente igual a o inferior al 2%, con respecto al peso de las partículas inhalables.

25 El término "humedad residual" en las partículas se refiere al contenido de agua que queda en las partículas inhalables después de que el grueso de los disolventes se haya eliminado durante el procedimiento de su preparación. Así, la humedad residual se mide directamente después de la preparación de las partículas inhalables (es decir, a  $t=0$ ) y puede medirse convenientemente por un procedimiento gravimétrico bien conocido en la técnica basado en la pérdida de peso del producto entre dos temperaturas diferentes (por ejemplo 25 °C -125 °C o 25 °C -140 °C) durante un ciclo de secado.

30 Como se ha mencionado anteriormente, las partículas inhalables que comprenden una mezcla íntima que consiste en tiotropio amorfo, indacaterol amorfo y opcionalmente un derivado de azúcar son tanto físicamente como químicamente, estables. Esto significa que los compuestos activos no sufren ninguna transformación física (es decir, de una forma amorfa a una cristalina) y/o degradación química significativa (por ejemplo, mediante hidrólisis, oxidación o cualquier otro mecanismo de degradación), en particular dentro de un periodo de 1 mes, más preferiblemente 3 meses, más preferiblemente 6 meses.

35 Las partículas de tamaño micrométrico tienden a mostrar una fuerte adhesión y cohesión que a su vez conducen a malas propiedades de flujo y a la agregación de polvo. Una estrategia usada para potenciar la fluidez del polvo se refiere al uso de uno o más portadores no inhalables, es decir, excipientes gruesos que tienen un tamaño de partícula (e.g. 50-150  $\mu\text{m}$ ) que los hace no inhalables.

40 En algunas realizaciones, a una dilución apropiada de los compuestos activos y un tamaño de partícula apropiado del derivado de azúcar, las partículas inhalables de la invención ya muestran una fluidez aceptable sin la necesidad de añadir excipientes adicionales, en particular excipientes gruesos.

45 Por ejemplo, cuando las partículas inhalables se obtienen por secado de una mezcla de una suspensión de un derivado de azúcar que tiene un tamaño de partícula medio de 1-9  $\mu\text{m}$ , y una disolución de los compuestos activos a una dilución apropiada tal como, por ejemplo, desde 0,2 hasta 15,0% de indacaterol y desde 0,02 hasta 0,8% de tiotropio, o alternativamente, 0,1 hasta 2,4% de indacaterol y 0,012 hasta 0,144% de tiotropio, ya no hay que añadir más excipiente grueso, y no se requiere la etapa de mezcla, de manera que se logra buena homogeneidad del polvo.

50 En fármacos tales como indacaterol y tiotropio, que muestran una eficacia particularmente alta, solo se necesitan pequeñas cantidades de los fármacos activos en cada dosis única para lograr el efecto terapéutico deseado. Como consecuencia, en algunas realizaciones, las sustancias activas tienen que diluirse con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables que son sustancias farmacológicamente inactivas con el fin de obtener partículas dispensables y polvos fluidos. La dilución debe ser tal que la cantidad aplicada del inhalador de polvo contenga  
55 exactamente la dosis deseada. Los excipientes no sólo se usan como materiales de relleno, sino también por su capacidad para dar buenas propiedades de fluidez a la composición en polvo, facilitando así el procedimiento de mezcla.

60 Así, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de las partículas inhalables definidas previamente junto con uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. Las

composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse convenientemente mezclando las partículas inhalables, que pueden obtenerse mediante el procedimiento descrito más adelante, y los excipientes o portadores.

La expresión “cantidad efectiva”, como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de partículas inhalables que, cuando se administra, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o aliviar a cierto grado, uno o más de los síntomas de la enfermedad que se trata. La dosis particular de partículas inhalables administrada según la presente invención se determinará por supuesto por las circunstancias particulares que rodean el caso, que incluyen la afección particular que está tratándose, y otras consideraciones similares.

10 El término “excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables” se refiere a materiales, composiciones o vehículos farmacéuticamente aceptables. Cada componente debe ser farmacéuticamente aceptable en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la composición farmacéutica. También deben ser adecuados para su uso en contacto con el tejido u órgano de seres humanos y animales (es decir Gras (Generally recognized as safe) – excipientes generalmente reconocidos como seguros) sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones proporcionales a una relación de beneficio/riesgo razonable.

En una realización, la composición farmacéutica comprende las partículas inhalables de la invención y uno o más excipientes gruesos que tienen un tamaño de partícula medio de 15 a 250  $\mu\text{m}$ .

20 El derivado de azúcar contenido dentro de las partículas en algunas realizaciones de la invención y los excipientes gruesos pueden basarse en sustancias químicamente idénticas o diferentes. En una realización particular, el agente estabilizante y el excipiente grueso comprenden el mismo compuesto químico. Más preferiblemente, sólo se usa un excipiente grueso y tiene preferiblemente un tamaño de partícula medio que oscila de 15 a 250  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de 50 a 150  $\mu\text{m}$ . Más preferiblemente, el excipiente grueso es lactosa anhidra o lactosa monohidratada. Estas composiciones muestran buenas propiedades de flujo y dispersión.

En una realización preferida de la invención, el peso del compuesto de indacaterol (expresado como indacaterol base) con respecto al peso total de la composición farmacéutica está comprendido desde 0,01 hasta 25%, preferiblemente desde 0,05 hasta 10%, más preferiblemente desde 0,1 hasta 5%, más preferiblemente desde 0,1 hasta 2,5%, más preferiblemente desde 0,1 hasta 2,4%, más preferiblemente desde 0,25 hasta 1,5%.

En otra realización preferida de la invención, el peso del compuesto de tiotropio (expresado como tiotropio base) con respecto al peso total de la composición farmacéutica está comprendido desde 0,001-5%, preferiblemente desde 0,01 hasta 1%, más preferiblemente desde 0,01 hasta 0,5%, más preferiblemente desde 0,01 hasta 0,15%, más preferiblemente desde 0,012 hasta 0,144%, más preferiblemente desde 0,02 hasta 0,1%.

Las relaciones entre indacaterol y tiotropio pueden modificarse en la combinación para obtener acción sinérgica óptima de los dos fármacos mediante diferentes combinaciones de fármacos fijas. En una realización preferida, los productos de combinación de fármacos fija de la invención comprenden preferiblemente dosificaciones de 25  $\mu\text{g}$  a 600  $\mu\text{g}$ , más preferiblemente de 75  $\mu\text{g}$  a 300  $\mu\text{g}$  de indacaterol (expresado en indacaterol base) y de 3  $\mu\text{g}$  a 36  $\mu\text{g}$ , preferiblemente de 6  $\mu\text{g}$  a 18  $\mu\text{g}$  tiotropio (expresado en tiotropio base), más preferiblemente 150  $\mu\text{g}$  de indacaterol (expresado en indacaterol base) y 18  $\mu\text{g}$  de tiotropio (expresado en tiotropio base) en una composición farmacéutica final que tiene un peso de 25 mg.

45 Preferiblemente, las composiciones de la invención están en forma de una cápsula que contiene polvo para inhalación. La cápsula puede formarse de diversos materiales, tales como gelatina, derivados de celulosa, almidón, derivados de almidón, quitosano y plásticos sintéticos. En una realización preferida, la cápsula se forma de derivados de celulosa. Ejemplos no limitantes de tales derivados son hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), hidroximetilcelulosa (HMC) o hidroxietilcelulosa (HEC). En una realización más preferida de la invención, la cápsula de inhalación comprende HPMC. En la realización más preferida, las cápsulas de HPMC muestran una baja humedad residual (contenido de agua inferior al 4%).

Como se ha mencionado anteriormente, las partículas inhalables de la invención pueden prepararse por un procedimiento de preparación simple y rápido que comprende en primer lugar formar una disolución que comprende los principios activos indacaterol y tiotropio y opcionalmente el derivado de azúcar en disolución o suspensión, y posteriormente secar por pulverización, liofilizar o secar a vacío la disolución o suspensión resultante.

En el procedimiento de la invención, los principios activos están siempre disueltos en un disolvente adecuado, mientras que el derivado de azúcar, si está presente, puede estar en forma de una disolución o una suspensión.

60

En una realización particular, la etapa de disolver los compuestos activos en el sistema de disolventes se lleva a cabo a una temperatura comprendida de temperatura ambiente (20-25 °C) a 30 °C, 40 °C, 50 °C o 60 °C.

5 El procedimiento de la invención tiene la ventaja de que evita las etapas de micronización usando un procedimiento más reproducible. La micronización es poco reproducible y altamente dependiente de las propiedades físicas de los materiales de partida. En el procedimiento de la presente invención, los compuestos de partida indacaterol y tiotropio pueden estar en cualquier forma física o tamaño de partícula, ya que primero se disuelven. El compuesto de tiotropio puede estar en forma de cualquier sal farmacéuticamente aceptable o cualquier solvato farmacéuticamente aceptable de la misma; y el compuesto de indacaterol puede estar en forma de indacaterol base o una sal farmacéuticamente  
10 aceptable del mismo, o un solvato farmacéuticamente aceptable tanto de indacaterol base como de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Para los fines de la invención, el término "solvato" se refiere a un complejo molecular que comprende un compuesto (tiotropio o indacaterol) o una sal del mismo, y una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de una o más  
15 moléculas de un disolvente farmacéuticamente aceptable tal como agua, metanol, etanol y similares, unidos por fuerzas intermoleculares no covalentes. Cuando el disolvente que forma parte del complejo molecular es agua, el solvato es un hidrato.

En una realización preferida, el compuesto de tiotropio es bromuro de tiotropio, más preferiblemente bromuro de tiotropio monohidratado. En otra realización preferida, el compuesto de tiotropio es solvato de metanol de bromuro de tiotropio. En otra realización preferida, el compuesto de indacaterol se selecciona entre maleato de indacaterol, acetato de indacaterol y xinafoato de indacaterol, más preferiblemente maleato de indacaterol.

Además, una ventaja del presente procedimiento es que las partículas inhalables de la invención dan valores de pH  
25 neutros después de la disolución en agua. Esto es muy interesante en términos de tolerancia del pulmón, ya que los valores de pH neutros de los pulmones no deberían modificarse después de la inhalación.

En una realización de la invención, cuando hay un derivado de azúcar en las partículas finales, el procedimiento para su preparación comprende las siguientes etapas:

- 30 a) disolver o dispersar el derivado de azúcar en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua para formar una disolución o una suspensión;  
b) disolver un compuesto de tiotropio y un compuesto de indacaterol en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua;  
c) mezclar la disolución o suspensión de la etapa a) y la disolución de la etapa b); y  
35 d) secar por pulverización, liofilizar o secar a vacío la disolución o suspensión de la etapa c) para obtener las partículas inhalables deseadas.

En la realización anterior, las partículas inhalables de la invención pueden prepararse tanto a partir de una disolución como una suspensión del derivado de azúcar en un disolvente adecuado.

40 En el caso de partir de una disolución del derivado de azúcar, el derivado de azúcar se disuelve en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y agua en una cantidad que es suficiente para disolver el derivado de azúcar de manera que se obtiene una solución final límpida, y esta disolución se mezcla entonces con la disolución obtenida de compuestos de indacaterol y tiotropio (disolución de la etapa b). Como será obvio para un  
45 experto en la materia, estas etapas pueden llevarse a cabo en cualquier orden para obtener la disolución final que comprende indacaterol, tiotropio y el derivado de azúcar. En este caso, después de aplicar el procedimiento de secado adecuado, las partículas resultantes comprenden una matriz de los componentes en la que el derivado de azúcar y los ingredientes activos están uniformemente dispersados en un nivel molecular. En una realización, la relación de disolvente orgánico/s y agua que proporciona una solución límpida del derivado de azúcar es de 1:4 a 4:1, más  
50 particularmente es 1:1.

Alternativamente, en el caso de partir de una suspensión del derivado de azúcar, las etapas a) y b) se llevan a cabo preferiblemente por separado en cualquier orden y, más preferiblemente, el derivado de azúcar se dispersa y homogeneiza primero (por ejemplo, usando homogenización a alta velocidad o alta presión) en un sistema de  
55 disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos en ausencia de agua con el fin de obtener una suspensión homogénea del derivado de azúcar, antes de añadir la disolución de los principios activos (disolución de la etapa b). Alternativamente, el sistema de disolventes para dispersar y homogeneizar la derivado de azúcar puede comprender agua con la condición de que la cantidad de agua no es suficiente para disolver el derivado de azúcar, de manera que también se obtiene una suspensión final. En una realización, la relación de disolvente orgánico/s y agua  
60 que proporciona una suspensión del derivado de azúcar es de 5:1 a 15:1, más particularmente es 9:1. En este caso,

después de aplicar el procedimiento de secado adecuado, las partículas resultantes comprenden indacaterol y tiotropio amorfo dispersados en un estado molecular en la superficie de partículas del derivado de azúcar.

En una realización preferida, el derivado de azúcar se selecciona del grupo que consiste en un monosacárido, un disacárido, un oligo- o polisacárido y un polialcohol, más preferiblemente es lactosa anhidra o lactosa monohidratada. En otra realización preferida, el derivado de azúcar usado para formar la suspensión inicial está preferiblemente en forma de partículas micronizadas que tienen un tamaño de partícula medio de 1-9  $\mu\text{m}$ .

En otra realización de la invención, si las partículas están libres de un derivado de azúcar, el procedimiento para su preparación comprende las siguientes etapas:

a) disolver un compuesto de tiotropio y un compuesto de indacaterol en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua; y  
b) secar por pulverización, liofilizar o secar a vacío la disolución de la etapa a) para obtener las partículas inhalables deseadas.

Como se ha mencionado anteriormente, los principios activos están siempre disueltos en un sistema de disolventes adecuado, mientras que el derivado de azúcar, si está presente, se disuelve en un sistema de disolventes adecuado si el disolvente contiene agua en una cantidad que es suficiente para disolver el derivado de azúcar, o se dispersa en un sistema de disolventes adecuado si el disolvente no contiene agua o contiene agua en una cantidad que no es suficiente para disolver el derivado de azúcar.

En una realización, los disolventes orgánicos usados en el procedimiento de la invención son (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alcoholes o (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-ésteres de (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alquilo. El término "(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alcohol" se refiere a una cadena de alquilo lineal o ramificada que comprende de 1 a 4 átomos de carbono y uno o más grupos hidroxilo. Este término incluye, sin limitación, metanol, etanol, propanol, isopropanol y butanol. El término "(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-éster de (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alquilo" se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado que comprende de 1 a 4 átomos de carbono, sustituido con un grupo alcanoiloxi que comprende de 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-ésteres de (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alquilo incluyen, sin limitación, acetato de etilo, acetato de propilo y acetato de butilo. En una realización preferida de la invención, el disolvente orgánico usado es preferiblemente un disolvente miscible en agua. Más preferiblemente, el disolvente es un (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alcohol, más preferiblemente etanol o isopropanol, y más preferiblemente etanol.

En una realización particular, el sistema de disolventes usado para formar la disolución de los principios activos comprende uno o más disolventes orgánicos, preferiblemente un (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alcohol, y agua; más particularmente, la relación en volumen del disolvente orgánico y el agua utilizada es de 9:1 a 1:9, más particularmente la relación de volumen de disolvente orgánico y agua usada es 1:1.

En una realización, la relación de disolvente (incluyendo disolvente orgánico y agua) y componentes sólidos (indacaterol + tiotropio y opcionalmente derivado de azúcar) comprende de 10:1 a 200:1, más particularmente de 20:1 a 50:1 volumen/peso (mL/g).

Como será obvio para un experto en la materia, la disolución de esta primera etapa puede formarse mezclando los disolventes y los diferentes componentes en cualquier orden.

El procedimiento de secado usado en la segunda etapa del procedimiento para la preparación de las partículas inhalables de la invención es secado por pulverización, liofilizado o secado a vacío. Para los fines de la invención, estos procedimientos de secado se consideran equivalentes en el sentido de que son procedimientos alternativos para la preparación del polvo de matriz amorfa. Estos procedimientos permiten contribuir a obtener un control preciso del tamaño de partícula medio y distribución del tamaño de partícula, y también a la mejora de las propiedades del polvo macroscópico tales como densidad aparente, fluidez y dispersabilidad. En una realización preferida, el procedimiento de secado usado es secado por pulverización. Una secadora por pulverización típica permite la recuperación de un intervalo de tamaños de partícula que va de 0,1 a 30  $\mu\text{m}$ . La limitación inferior se facilita por la capacidad de separación del ciclón usado: ya no pueden separarse partículas más pequeñas y están yendo al filtro.

Las partículas inhalables obtenibles por el procedimiento de preparación descrito anteriormente también forman parte de la invención. Así, la invención se refiere a partículas inhalables como se han definido anteriormente obtenibles mediante el procedimiento que comprende las siguientes etapas:

a) Si hay un derivado de azúcar en las partículas finales, disolver o dispersar el derivado de azúcar en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua para formar una disolución o una suspensión;

b) disolver un compuesto de tiotropio y un compuesto de indacaterol en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua;

c) si hay un derivado de azúcar en las partículas finales, mezclar la disolución o suspensión de la etapa a) y la disolución de la etapa b); y  
 d) secar por pulverización, liofilizar o secar a vacío la disolución o suspensión de la etapa b) o etapa c) para obtener las partículas inhalables amorfas deseadas.

5

Para los fines de la invención, los términos "obtenible", "obtenido" y términos equivalentes se usan indistintamente y, en cualquier caso, el término "obtenible" engloba el término "obtenido".

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Además, la palabra "comprende" incluye el caso "consiste en". Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención. Además, la presente invención cubre todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas aquí indicadas.

15

#### EJEMPLOS

##### a) Preparación de partículas inhalables mediante secado por pulverización de soluciones de etanol y agua

Las partículas inhalables se prepararon, a escala de laboratorio, mediante secado por pulverización utilizando un mini secador por aspersión B-290 de Büchi (Büchi laboratory-Techniques, Suiza). Se prepararon diferentes soluciones en etanol/agua (1:1 v/v) a una temperatura de 40 °C.

En las partículas que contienen lactosa, la lactosa monohidratada (Lactochem microfine, 90 % de la distribución del tamaño de partículas inferior a 10 µm) se disolvió en primer lugar en agua y a continuación se añadió etanol con agitación suave para obtener una solución límpida. Después, se disolvieron tiotropio y/o indacaterol en el medio disolvente. En las partículas que no contenían lactosa, se disolvieron el tiotropio y el indacaterol en el medio disolvente (agua y etanol). Para las partículas secadas por pulverización fabricadas a partir de una suspensión de lactosa, la lactosa monohidratada micronizada (Lactohale LH300, 90 % de la distribución del tamaño de partículas inferior a 10 µm) en etanol/agua (9:1 v/v) se pasó a través de un homogeneizador de alta velocidad durante 10 min a 24000 rpm y a continuación se calentó a 40 °C. Posteriormente, se añadió tiotropio y a continuación indacaterol en solución con agitación magnética en dicha suspensión.

Las preparaciones se secaron entonces por pulverización con agitación constante. Se utilizaron las siguientes condiciones durante el secado por pulverización: pulverización en flujo de aire, 600 L/h; secado en flujo de aire, 35 m³/h; caudal de alimentación de la solución/suspensión, 3,5-4,0 g/min; tamaño de la boquilla, 0,7 mm. La temperatura de entrada se estableció a 130 °C o 140 °C y, en estas condiciones, la temperatura de salida varió entre 61 °C y 68 °C. El polvo resultante se separó a través del separador ciclónico y se recogió en un recipiente.

Se utilizaron también las siguientes condiciones durante el secado por pulverización: pulverización en flujo de aire, 800 L/h; secado en flujo de aire, 35 m³/h; caudal de alimentación de la solución/suspensión, 3,5-4,0 g/min; tamaño de la boquilla, 0,7 mm. La temperatura de entrada se estableció entre 130 °C y 150 °C y, en estas condiciones, la temperatura de salida varió entre 60 °C y 72 °C.

Los polvos se almacenaron en recipientes bien sellados de polietileno de alta densidad (PEAD) en condiciones de almacenamiento aceleradas (temperatura de 40 °C y humedad relativa (HR) del 75 %) y/o en condiciones de almacenamiento a alta temperatura (temperatura de 60 °C y humedad relativa (HR) del 30 %). Alternativamente, los polvos se almacenaron en recipientes abiertos.

Según este proceso, se obtuvieron los siguientes ejemplos:

50

##### Ejemplo de referencia 1: Partículas de indacaterol secadas por pulverización

Maleato de indacaterol	600 mg
Etanol	60 mL
Agua	60 mL

Residuo sólido total: 0,600 g (0,5 % p/v), representando el maleato de indacaterol el 100 % p/p del residuo sólido inicial del polvo secado por pulverización. La temperatura de entrada se estableció en 130 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes 2J2012B y 12J2012 se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y 26C2013A en recipientes sellados con desecante a 60 °C y HR del 30 %.

55

Ejemplo de referencia 2: Partículas secadas por pulverización de indacaterol y lactosa (96,2 %)

Maleato de indacaterol	0,38872 g
Lactosa monohidratada	9,920 g
Etanol	100 mL
Agua	100 mL

Residuo sólido total: 10,309 g (5,2 % p/v), el residuo secado por pulverización conteniendo maleato de indacaterol (3,8 % p/p) y lactosa monohidratada (96,2 % p/p) combinados. La temperatura de entrada se estableció en 130 °C. El lote de estabilidad correspondiente 9J2012A se almacenó en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 %.

Ejemplo de referencia 3: Partículas secadas por pulverización de indacaterol, tiotropio y lactosa (87 %)

Maleato de indacaterol	0,300 g
Bromuro de tiotropio monohidrato	0,360 g
Lactosa monohidratada	4,440 g
Etanol	100 mL
Agua	100 mL

Residuo sólido total: 5,100 g (2,55 % p/v), el residuo secado por pulverización conteniendo maleato de indacaterol (5,9 % p/p), bromuro de tiotropio monohidrato (7,1 % p/p) y lactosa monohidratada (87,0 % p/p) combinados. La temperatura de entrada se estableció en 130 °C. El lote de estabilidad correspondiente 2J2012C se almacenó en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 %.

Ejemplo 4: Partículas secadas por pulverización de indacaterol, tiotropio y lactosa (55,6 %)

Maleato de indacaterol	1,943 g
Bromuro de tiotropio monohidrato	0,220 g
Lactosa monohidratada	2,712 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

Residuo sólido total: 4,875 g (4,875 % p/v), el residuo secado por pulverización conteniendo maleato de indacaterol (39,9 % p/p), bromuro de tiotropio monohidrato (4,5 % p/p) y lactosa monohidratada (55,6 % p/p) combinados. La temperatura de entrada se estableció en 130 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes 9J2012B y 26C2013B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

Ejemplo 5: Partículas de indacaterol-tiotropio secadas por pulverización

Maleato de indacaterol	1,943 g
Bromuro de tiotropio monohidrato	0,220 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

Residuo sólido total: 2,163 g (2,163 % p/v), el residuo secado por pulverización conteniendo maleato de indacaterol (89,8 % p/p) y bromuro de tiotropio monohidrato (10,27 % p/p) combinados. La temperatura de entrada se estableció en 130 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes 9A2013A y 26C2013C se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

Ejemplo de referencia 6: Partículas secadas por pulverización de indacaterol y lactosa (96,2 %)

Maleato de indacaterol	0,38872 g
Lactosa monohidratada	9,920 g
Etanol	100 mL
Agua	125 mL

Residuo seco total: 10,30872 g (4,58 % p/v), el residuo secado por pulverización conteniendo maleato de indacaterol (3,8 % p/p) y lactosa monohidratada (96,2 % p/p) combinados. La temperatura de entrada se estableció en 140 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes 9A2013B y 26C2013D se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

Ejemplo de referencia 7: Partículas de indacaterol secadas por pulverización

Maleato de indacaterol	4,2759 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

- 5 Residuo sólido inicial: 4,2759 g (4,2759 % p/v), el maleato de indacaterol representando el 100 % p/p del residuo sólido inicial. La temperatura de salida se estableció en 70 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes SI-3A y SI-3B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

Ejemplo de referencia 8: Partículas de tiotropio secadas por pulverización

10

Solvato de metanol de bromuro de tiotropio	4,2759 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

- Residuo sólido inicial: 4,2759 g (4,2759 % p/v), el solvato de metanol de bromuro de tiotropio representando el 100 % p/p del residuo sólido inicial. La temperatura de salida se estableció en 70 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes ST-3A y ST-3B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %  
15 %, respectivamente.

Ejemplo 9: Partículas secadas por pulverización de indacaterol, tiotropio y lactosa (50 %)

Maleato de indacaterol	1,921 g
Solvato de metanol de bromuro de tiotropio	0,229 g
Lactosa monohidratada	2,15 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

- 20 Residuo sólido inicial: 4,3 g (4,3 % p/v), conteniendo maleato de indacaterol (44,7 % p/p), solvato de metanol de bromuro de tiotropio (5,3 % p/p) y lactosa monohidratada (50 % p/p) combinados. La temperatura de salida se estableció en 70 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes SITL50-3A y SITL50-3B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

25 Ejemplo 10: Partículas secadas por pulverización de indacaterol, tiotropio y lactosa (40 %)

Maleato de indacaterol	2,306 g
Solvato de metanol de bromuro de tiotropio	0,274 g
Lactosa monohidratada	1,72 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

- Residuo sólido inicial: 4,3 g (4,3 % p/v), conteniendo maleato de indacaterol (53,6 % p/p), solvato de metanol de bromuro de tiotropio (6,4 % p/p) y lactosa monohidratada (40 % p/p) combinados. La temperatura de salida se estableció en 70 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes SITL40-3A y SITL40-3B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.  
30

Ejemplo 11: Partículas secadas por pulverización de indacaterol, tiotropio y lactosa (30 %)

Maleato de indacaterol	2,690 g
Solvato de metanol de bromuro de tiotropio	0,320 g
Lactosa monohidratada	1,29 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

35

- Residuo sólido inicial: 4,3 g (4,3 % p/v), conteniendo maleato de indacaterol (62,6 % p/p), solvato de metanol de bromuro de tiotropio (7,4 % p/p) y lactosa monohidratada (30 % p/p) combinados. La temperatura de salida se estableció en 70 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes SITL30-3A y SITL30-3B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

Ejemplo 12: Partículas secadas por pulverización de indacaterol, tiotropio y lactosa (20 %)

Maleato de indacaterol	3,074 g
Solvato de metanol de bromuro de tiotropio	0,366 g
Lactosa monohidratada	0,86 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

5 Residuo sólido inicial: 4,3 g (4,3 % p/v), conteniendo maleato de indacaterol (71,5 % p/p), solvato de metanol de bromuro de tiotropio (8,5 % p/p) y lactosa monohidratada (20 % p/p) combinados. La temperatura de salida se estableció en 70 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes SITL20-3A y SITL20-3B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

10 Ejemplo 14: Partículas de indacaterol y tiotropio secadas por pulverización

Maleato de indacaterol	3,88718 g
Solvato de metanol de bromuro de tiotropio	0,46267 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

Residuo sólido inicial: 4,3 g (4,3 % p/v), conteniendo maleato de indacaterol (89,36 % p/p), solvato de metanol de bromuro de tiotropio (10,64 % p/p) combinados. La temperatura de salida se estableció en 70 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes SIT-3A y SIT-3B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

Ejemplo de referencia 15: Indacaterol y tiotropio secados por pulverización en torno a partículas de lactosa micronizadas

20

Maleato de indacaterol	97,18 mg
Solvato de metanol de bromuro de tiotropio	11,57 mg
Lactosa monohidratada micronizada	12,4 g
Etanol	90 mL
Agua	90 mL

Residuo sólido inicial: 12,50875 g (12,50875 % p/v), conteniendo maleato de indacaterol (0,78 % p/p), solvato de metanol de bromuro de tiotropio (0,09 % p/p) y lactosa monohidratada micronizada (99,13 % p/p) combinados. La temperatura de salida se estableció en 70 °C. Los lotes de estabilidad correspondientes L99SIT-3A y L99SIT-3B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

Ejemplo de referencia 16: Maleato de indacaterol micronizado crudo

Los lotes de estabilidad AN018 y C1148 se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

30

Ejemplo de referencia 17: Maleato de indacaterol crudo (no micronizado)

Los lotes de estabilidad RI-A y RI-B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

35 Ejemplo de referencia 18: Solvato de metanol de bromuro de tiotropio crudo

Los lotes de estabilidad RTMeOH-A y RTMe-OH-B se almacenaron en recipientes sellados con desecante a 40 °C y HR del 75 % y a 60 °C y HR del 30 %, respectivamente.

Ejemplo 19: Partículas secadas por pulverización de indacaterol y tiotropio

40

Maleato de indacaterol	1,944 g
Bromuro de tiotropio monohidrato	0,225 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

El lote SIT-3 se almacenó en recipientes sellados con desecante a 25 °C y HR del 60 %.



Ejemplo 20: Partículas secadas por pulverización de indacaterol, tiotropio y lactosa (55,6 %)

Maleato de indacaterol	1,944 g
Bromuro de tiotropio monohidrato	0,225 g
Lactosa monohidratada	2,712 g
Etanol	50 mL
Agua	50 mL

5 El lote SITL55-3 se almacenó en recipientes sellados con desecante a 25 °C y HR del 60 %.

b) Preparación de polvo seco para inhalación en base a partículas inhalables de indacaterol y tiotropio

Las partículas inhalables del Ejemplo 19 y el Ejemplo 20 se mezclaron con un mezclador de movimiento tridimensional bien conocido a escala de laboratorio (Turbula, Bachdeen AG, Suiza) con diferentes tipos de lactosas, utilizadas como portador, con el fin de obtener un contenido final de 150 µg de indacaterol como es el caso para el producto de referencia Onbrez® de 150 µg, y 18 µg de tiotropio como es el caso para el producto de referencia Spiriva® de 18 µg, utilizados como un comparador. Se prepararon diferentes mezclas de portador-partículas inhalables secadas por pulverización y se compararon con los diferentes productos de referencia. Ambos materiales (formulaciones de partículas inhalables y portador de lactosa) se tamizaron (0,315 mm) antes de la etapa de mezcla. Se llenó un recipiente de vidrio al 50 % de su volumen interno y la mezcla (aproximadamente 25 g) se realizó a una velocidad de mezclado de 46,2 rpm en el mezclador Turbula durante 5 minutos. A continuación, la premezcla se tamizó a través del mismo tamiz (0,315 mm) y se mezcló de nuevo en el mezclador Turbula durante 10 minutos. A continuación, se prepesaron 25 ± 2 mg de formulación de IPS de indacaterol-tiotropio en cápsulas de HPMC n.º 3 y se almacenaron en un recipiente bien sellado en un desecador en condiciones de temperatura y humedad relativa (HR) controladas (25 °C-HR del 60 %).

Ejemplo 21: Polvo seco para inhalación en base a partículas inhalables secadas por pulverización de indacaterol y tiotropio

25

Partículas inhalables SIT-3	0,2169 mg
Portador de lactosa monohidratada	24,7831 g

El lote 24G2013A se almacenó en recipientes sellados en un desecador a 25 °C, HR del 60 %.

Ejemplo 22: Polvo seco para inhalación en base a partículas inhalables secadas por pulverización de indacaterol, tiotropio y lactosa (55,6 %)

30

Partículas inhalables SITL55-3	0,4881 mg
Portador de lactosa monohidratada	24,5119 g

El lote 24G2013B se almacenó en recipientes sellados en un desecador a 25 °C, HR del 60 %.

35 Evaluación de la estabilidad física (cristalinidad-amorfa)Calorimetría de barrido diferencial (CBD)

El análisis por CBD se realizó con el fin de caracterizar las propiedades térmicas de las formulaciones y los ingredientes utilizados (cristalinidad, estado anhidro, etc.). Se utilizó un aparato MDSC Q2000 de CBD modulado (TA Instruments, EE.UU.). Se pesaron aproximadamente 2 mg en cubeta y tapa de Tzero calentadas a 5 °C/min de 25 °C a 250 °C.

Los resultados de la curva CDB del Ejemplo de referencia 16 (maleato de indacaterol crudo, AN018) mostraron un pico endotérmico a 190 °C (los datos no se muestran) correspondiente al punto de fusión con descomposición de maleato de indacaterol. La curva CDB del Ejemplo de referencia 1 (partículas de indacaterol secadas por pulverización, 2J2012B) a T=0 mostró un pico endotérmico a 170 °C (los datos no se muestran) correspondiente a un punto de fusión-descomposición prematuro. No se detectaron ni la transición de vidrio ni el pico exotérmico correspondientes a la recristalización del indacaterol amorfo.

Análisis termogravimétrico (ATG)

El análisis ATG se realizó con el fin de caracterizar las propiedades térmicas y la humedad residual de las formulaciones y los ingredientes utilizados (contenido de agua, estado anhidro). Para tal fin se utilizó un equipo de alta

resolución Q500 de ATG (TA Instruments, EE.UU.). Se establecieron ensayos por triplicado (aproximadamente 5-10 mg de muestra) con cubeta de platino de 25 °C a 150 o 300 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. El nivel de humedad se determinó por la pérdida de peso obtenida entre 25 °C y 125 °C o 25 °C y 140 °C.

- 5 Los resultados presentados en la Tabla 1 muestran el contenido de humedad determinado por el % de la pérdida de peso entre 25 °C-125 °C para las partículas del Ejemplo de referencia 1 (12J2012=2J2012B), Ejemplo de referencia 2 (9J2012A), Ejemplo de referencia 3 (2J2012C), y Ejemplo 4 (9J2012B) a t=0, y tras 15 días, 1 mes, 3 meses, y 6 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C y HR del 75 %). Se muestran asimismo los resultados del análisis ATG obtenidos a partir del Ejemplo de referencia 16 (maleato de indacaterol micronizado crudo, no secado por pulverización, AN018) y bromuro de tiotropio monohidrato (no secado por pulverización, 0006040).

TABLA 1: Resultados de ATG

Muestras	Condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C y HR del 75 %)					
	Media (%) ± DE (n=3)					
	Pérdida de peso entre 25 °C-125 °C					
Intervalo de tiempo	0	15 días	1 mes	2 meses	3 meses	6 meses
Ejemplo de ref. 16 Maleato de indacaterol (AN018)	0,46±0,08	0,34±0,02	0,36±0,02	SD	0,29±0,04	0,09±0,03
Bromuro de tiotropio monohidrato (0006040)	0,04±0,01	SD	SD	SD	SD	SD
Ejemplo de ref. 1 (12J2012)	1,57±0,03	1,67±0,08	1,97±0,1	SD	2,0±0,2	3,26 (n=1)
Ejemplo de ref. 2 (9J2012A)	4,8±0,2	4,97±0,08	5,3±0,2	3,03±0,04*	3,08±0,07*	2,11±0,16*
Ejemplo de ref. 3 (2J2012C)	4,4±0,1	4,11±0,04	4,74±0,03	1,01±0,09*	0,94±0,02*	1,09±0,04*
Ejemplo 4 (9J2012B)	3,6±0,1	3,50±0,08	3,4±0,3	SD	3,8±0,2	3,8±1,0

\*recristalización detectada por XRPD, SD sin determinar

- 15 El Ejemplo de referencia 2 y el Ejemplo de referencia 3 presentaron formas amorfas inestables con recristalización entre 1 y 2 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas según se confirmó por XRPD y como se aprecia a partir del cambio drástico del contenido de humedad medido por ATG.

Los resultados presentados en la Tabla 2 mostraron el contenido de humedad determinado por el % de la pérdida de peso entre 25 °C-140 °C de las partículas del Ejemplo 5 (9A2012A), el Ejemplo de referencia 6 (9A2012B) a t=0, y tras 15 días, 1 mes, 3 meses y 6 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %). Se muestran asimismo los resultados del análisis de ATG obtenidos a partir del Ejemplo de referencia 16 (maleato de indacaterol micronizado crudo, no secado por pulverización, AN018).

25 TABLA 2: Resultados por ATG

Muestras	Condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C y HR del 75 %)				
	Media (%) ± DE (n=3)				
	Pérdida de peso entre 25 °C-125 °C				
Intervalo de tiempo	0	15 días	1 mes	3 meses	6 meses
Ejemplo de ref. 16 Maleato de indacaterol (AN018)	0,62 ± 0,08	SD	SD	SD	SD
Ejemplo 5 (9A2013A)	2,7 ± 0,1	1,87 ± 0,02	1,57 ± 0,05	1,6 ± 0,4	2,1 ± 0,6
Ejemplo de ref. 6 (9A2013B)	3,45 ± 0,09	3,2 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,1 ± 0,3	2,2 ± 0,8*

\*recristalización detectada por XRPD, SD sin determinar

- 30 El Ejemplo de referencia 6 (9A2013B) se presentó en forma amorfa inestable con recristalización entre 3 y 6 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %) según se confirmó por XRPD y como se aprecia a partir del cambio drástico del contenido de humedad medido por ATG.

Los resultados presentados en la Tabla 3 mostraron el contenido de humedad determinado por el % de la pérdida de peso entre 25 °C-140 °C del Ejemplo de referencia 16 (maleato de indacaterol micronizado crudo, no secado por pulverización, C1148) y las partículas del Ejemplo de referencia 1 (26C2013A), Ejemplo 4 (26C2013B), Ejemplo 5 (26C2013C), Ejemplo de referencia 6 (26C2013D) a t=0, 15 días, 1 mes, 2 meses, 3 meses y 6 meses en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %).

TABLA 3: Resultados de ATG

Muestras	Condiciones de almacenamiento aceleradas (60 °C-HR del 30 %)					
	Media (%) ± DE (n=3)					
	Pérdida de peso entre 25 °C-140 °C					
Intervalo de tiempo	0	15 días	1 mes	2 meses	3 meses	6 meses
Ejemplo de ref. 16 Maleato de indacaterol (C1148)	0,31 ± 0,03	0,04 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,12 ± 0,06	0,04±0,02	0,20±0,02
Ejemplo de ref. 1 (26C2013A)	1,44 ± 0,05	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,1	1,78 ± 0,03	1,8±0,1	1,87±0,09
Ejemplo 5 (26C2013C)	1,06 ± 0,07	1,4 ± 0,1	0,93 ± 0,07	1,73 ± 0,30	2±1	SD
Ejemplo de ref. 6 (26C2013D)	3,7 ± 0,1	0,09 ± 0,02	0,07 ± 0,04*	0,13±0,06*	0,10±0,03*	0,10±0,02*

\*recristalización detectada por XRPD, SD sin determinar

- 5 El Ejemplo de referencia 6 (26C2013D) se presentó en forma amorfa inestable con recristalización entre 15 días y 1 mes según se confirmó por XRPD y como se aprecia a partir del cambio drástico del contenido de humedad medido por ATG.

Los resultados presentados en la Tabla 4 mostraron el contenido de humedad determinado por el % de la pérdida de peso entre 25 °C-140 °C de diferentes muestras a t=0, 1 mes, 2 meses y 3 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %) y condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %).

TABLA 4: Resultados de ATG

40 °C, HR del 75%, Media (%) ± DE (n=3), Pérdida de peso entre 25 °C-140 °C				
T=	0	1 mes	2 meses	3 meses
Ejemplo de ref. 7 (SI-3A)	1,7±0,2	1,0±0,1	0,8±0,2	1,1±0,3*
Ejemplo de ref. 8 (ST-3A)	1,26±0,08	0,8±0,2	/	0,95±0,06
Ejemplo 12 (SITL20-3A)	1,9±0,5	1,2±0,1	0,90±0,03	1,19±0,09
Ejemplo 11 (SITL30-3A)	2,7±0,5	1,7±0,1	1,66±0,05	1,9±0,3
Ejemplo 10 (SITL40-3A)	2,6±0,3	1,2±0,2	1,46±0,04	1,44±0,08
Ejemplo 9 (SITL50-3A)	2,6±0,1	1,6±0,2	1,65±0,07	1,84±0,12
Ejemplo 14 (SIT-3A)	1,50±0,02	0,8±0,2	/	0,84±0,05
Ejemplo de ref. 15 (L99SIT-3A)	4,59±0,07	4,52±0,05	4,50±0,08	4,60±0,05
Ejemplo de ref. 17 (RI-A)	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
Ejemplo de ref. 18 (RTMeOH-A)	16±1	7,4±0,8	0,3±0,2	<LDD
60 °C, HR del 30%, Media (%) ± DE (n=3), Pérdida de peso entre 25 °C-140 °C				
T=	0	1 mes	2 meses	3 meses
Ejemplo de ref. 7 (SI-3B)	1,7±0,2	0,8±0,2	0,93±0,08	1,00±0,09
Ejemplo de ref. 8 (ST-3B)	1,26±0,08	0,68±0,04	/	0,65±0,09*
Ejemplo 12 (SITL20-3B)	1,9±0,5	1,4±0,3	1,77±0,08	2,02±0,13
Ejemplo 11 (SITL30-3B)	2,7±0,5	1,23±0,02	1,9±0,1	2,1±4
Ejemplo 10 (SITL40-3B)	2,6±0,3	1,1±1	1,77±0,08	1,62±0,09
Ejemplo 9 (SITL50-3B)	2,6±0,1	1,1±0,2	1,6±0,3	2,1±0,1
Ejemplo 14 (SIT-3B)	1,50±0,02	0,63±0,04	/	0,92±0,07
Ejemplo de ref. 15 (L99SIT-3B)	4,59±0,07	4,5±0,2	4,5±0,1	4,53±0,15
Ejemplo de ref. 17 (RI-A)	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
Ejemplo de ref. 18 (RTMeOH-B)	16±1	<LDD	<LDD	<LDD

<LDD por ser inferior al límite de detección de 20 µg/5-10 mg, es decir, 0,2-0,4%;\* cristalización detectada por XRPD

- 15 Todas las partículas inhalables presentaron un contenido de humedad medido por ATG inferior al 5 % (a partir de soluciones y suspensiones secadas por pulverización). Todas las partículas inhalables de las soluciones secadas por pulverización mostraron un contenido de humedad medido por ATG inferior al 3 %.

- 20 El Ejemplo de referencia 7 (SI-A) se presentó en forma amorfa inestable con recristalización entre 2 y 3 meses y el Ejemplo de referencia 8 (SIT-B) se presentó en forma amorfa inestable con recristalización entre 2 y 3 meses en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %) según se confirmó por XRPD. Para estos

productos, la recristalización no es apreciable por ATG ya que no se aprecia cambio drástico alguno del contenido de humedad que se midió por el presente método.

Difracción de rayos x por polvo (XRPD)

5 XRPD es una herramienta poderosa y ampliamente utilizada para la evaluación del estado cristalino. Los patrones de difracción de las formulaciones se determinaron utilizando un difractómetro Siemens D5000 (Siemens, Alemania), con una línea de Cu como la fuente de radiación (WL1 = 1,5406 Å, WL2 = 1,54439 Å), y se ejecuta de manera convencional utilizando una tensión de 40 kV, una corriente de 40 mA y una velocidad de barrido de 0,02 °/min sobre un intervalo de 2 θ de 2° a 70 °.

10 Los difractogramas de XRPD del Ejemplo de referencia 3 (2J2012C), Ejemplo 4 (9J2012B), y Ejemplo 5 (9A2013A) a T=0 (A) y a T=3 meses (B) para el Ejemplo de referencia 3 y el Ejemplo 5 o t=6 meses (B) para el Ejemplo 4 se indican en la Figura 1, Figura 2 y Figura 3. El Ejemplo 4 y el Ejemplo 5 presentaron una forma amorfa estabilizada, en cambio el Ejemplo de referencia 3 presentó una forma amorfa sin estabilizar.

15 Los difractogramas de XRPD del Ejemplo de referencia 7 (SI-3A), Ejemplo de referencia 8 (ST-3B), Ejemplo 11 (SITL30-3A) y Ejemplo 10 (SITL40-3A) a T=0 (izquierda) y a T=3 meses (derecha) para el Ejemplo de referencia 7, Ejemplo de referencia 8, Ejemplo 11 y Ejemplo 10 se indican en la Figura 4, Figura 5, Figura 6 y Figura 7. El Ejemplo 11 y el Ejemplo 10 presentaron una forma amorfa estabilizada, en cambio el Ejemplo de referencia 7, Ejemplo de referencia 8 presentaron una forma amorfa sin estabilizar.

20 Se midió el porcentaje de la fase cristalina en la muestra al utilizar el método de la relación área superficial que utiliza el software Diffractplus EVA (Bruker Belgium SA, Bruselas, Bélgica). Se calculó el grado de cristalinidad por la fórmula:

$$\% \text{ de cristalinidad} = \left( \frac{A_c}{A_T} \right) \times 100$$

25  $A_T$  es el área total en el difractograma y  $A_c$  es el área en el difractograma sin la integración de la desviación del inicio del estudio. El contenido amorfo (expresado en %) se estimó como el 100 % menos el grado estimado de cristalinidad.

30 Los resultados mostrados en la Tabla 5 muestran el contenido amorfo estimado determinado por XRPD del Ejemplo de referencia 16 (maleato de indacaterol micronizado crudo, AN018) y las partículas del Ejemplo de referencia 2 (9J2012A), Ejemplo de referencia 3 (2J2012C), y Ejemplo 4 (9J2012B) a T=0, y tras 15 días, 1 mes, 2 meses, 3 meses y 6 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %).

TABLA 5: Resultados de XRPD, porcentaje del contenido de la fase amorfa en la muestra

Tiempo de almacenamiento a 40 °C, HR del 75%	Ejemplo de referencia 16 Maleato de indacaterol (AN018)	Ejemplo de referencia 1 (12J2012)	Ejemplo de referencia 3 (9J2012A)	Ejemplo de referencia 3 (2J2012C)	Ejemplo 4 (9J2012B)
T= 0 días	40 %	100 %	100 %	100 %	100 %
T= 15 días	31 %	100 %	100 %	100 %	100 %
T = 1 mes	36 %	100 %	100 %	100 %	100 %
T = 2 meses	SD	100 %	28 %	50 %	100 %
T = 3 meses	35 %	100 %	27 %	48 %	100 %
T = 6 meses	34 %	100 %	27 %	47 %	100 %

35 El Ejemplo de referencia 2 (9J2012A) y el Ejemplo de referencia 3 (2J2012C) presentaron una forma amorfa inestable con recristalización entre 1 y 2 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %) que es visible a partir del cambio drástico del contenido amorfo medido por XRPD.

40 El Ejemplo de referencia 16 (AN018) presentó un contenido amorfo relativamente alto no estable a lo largo del tiempo en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %) que es visible a partir de ligeras variaciones del contenido amorfo medido por XRPD.

Los resultados presentados en la Tabla 6 muestran el contenido amorfo estimado determinado por XRPD de las partículas del Ejemplo 5 (9A2013A) y el Ejemplo de referencia 6 (9A2013B) a T=0, y tras 15 días, 1 mes, 2 meses, 3 meses y 6 meses de almacenamiento en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %).

TABLA 6: Resultados de XRPD, porcentaje del contenido de la fase amorfa en la muestra

Tiempo de almacenamiento a 40 °C, HR del 75 %	Ejemplo 5 (9A2013A)	Ejemplo de referencia 6 (9A2013B)
T= 0 días	100 %	100 %
T= 15 días	100 %	100 %
T = 1 mes	100 %	100 %
T = 2 meses	100 %	100 %
T = 3 meses	100 %	100 %
T = 6 meses	100 %	35 %

El Ejemplo de referencia 6 (9A2013B) presentó una forma amorfa inestable con recristalización entre 3 y 6 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %) que es visible a partir del cambio drástico del contenido amorfo medido por XRPD, en cambio el Ejemplo 5 (9A2013A) presentó una forma amorfa estable.

Los resultados presentados en la Tabla 7 muestran el contenido amorfo estimado determinado por XRPD del Ejemplo de referencia 16 (maleato de indacaterol micronizado crudo, no secado por pulverización, C1148) y las partículas del Ejemplo de referencia 1 (26C2013A), Ejemplo 4 (26C2013B), Ejemplo 5 (26C2013C), Ejemplo de referencia 6 (26C2013D) a T=0, y tras 15 días, 1 mes, 2 meses, 3 meses y 6 meses de almacenamiento en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %).

TABLA 7: Resultados de XRPD, porcentaje del contenido de la fase amorfa en la muestra

Tiempo de almacenamiento a 60 °C, HR del 30 %	Ejemplo de referencia 16 Maleato de indacaterol (C1148)	Ejemplo de referencia 1 (26C2013A)	Ejemplo 4 (26C2013B)	Ejemplo 5 (26C2013C)	Ejemplo de referencia 6 (26C2013D)
T= 0 días	36 %	100 %	100 %	100 %	100 %
T = 15 días	31 %	100 %	100 %	100 %	100 %
T = 1 mes	28 %	100 %	100 %	100 %	40 %
T = 2 meses	30 %	100 %	100 %	100 %	39 %

15 El Ejemplo de referencia 6 (26C2013D) presentó una forma amorfa inestable con recristalización entre 15 días y 1 mes, en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %), que es visible a partir del cambio drástico del contenido amorfo medido por XRPD.

20 El Ejemplo de referencia 16 (C1148) presentó un contenido amorfo relativamente alto inestable a lo largo del tiempo en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %) que es visible a partir de la variación del contenido amorfo medido por XRPD. El Ejemplo 5 presentó un 100 % del contenido amorfo a 3 y 6 meses en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %) (los datos no se muestran en la tabla previa).

25 Los resultados presentados en la Tabla 8 mostraron el contenido amorfo estimado determinado por XRPD de las diferentes muestras a T=0, y tras 1 mes, 2 y 3 meses de almacenamiento en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %) y en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %).

TABLA 8: Resultados de XRPD, porcentaje del contenido de la fase amorfa en la muestra

(% del contenido amorfo a 40 °C, HR del 75%)				
T=	T0	1 mes	2 meses	3 meses
Ejemplo de ref. 7 (SI-3A)	100 %	100 %	100 %	94 %
Ejemplo 12 (SITL20-3A)	100 %	100 %	100 %	100 %
Ejemplo 11 (SITL30-3A)	100 %	100 %	100 %	100 %
Ejemplo 10 (SITL40-3A)	100 %	100 %	100 %	100 %
Ejemplo 9 (SITL50-3A)	100 %	100 %	100 %	100 %
Ejemplo 14 (SIT-3A)	100 %	100 %	/	100 %
Ejemplo de ref. 15 (L99SIT-3A)	20 %	20 %	22 %	20 %
Ejemplo de ref. 17 (RI-A)	13 %	16 %	19 %	16 %
Ejemplo de ref. 18 (RTMeOH-A)	32 %	43 %	46 %	37 %
(% del contenido amorfo a 60 °C, HR del 30%)				
T=	0	1 mes	2 meses	3 meses
Ejemplo de ref. 8 (ST-3B)	100 %	100 %	SD	81 %

(% del contenido amorfo a 60 °C, HR del 30%)				
T=	0	1 mes	2 meses	3 meses
Ejemplo 12 (SITL20-3B)	100 %	100 %	100 %	100 %
Ejemplo 11 (SITL30-3B)	100 %	100 %	100 %	100 %
Ejemplo 10 (SITL40-3B)	100 %	100 %	100 %	100 %
Ejemplo 9 (SITL50-3B)	100 %	100 %	100 %	100 %
Ejemplo 14 (SIT-3B)	100 %	100 %	SD	100 %
Ejemplo de ref. 15 (L99SIT-3B)	20 %	18 %	20 %	19 %
Ejemplo de ref. 17 (RI-A)	13 %	17 %	16 %	16 %
Ejemplo de ref. 18 (RTMeOH-B)	32 %	34 %	36 %	30 %

El Ejemplo de referencia 17 (RI-A y RI-B) presentó variaciones en la forma amorfa en las dos condiciones de almacenamiento, que son visibles a partir del cambio drástico del contenido amorfo medido por XRPD. El Ejemplo de referencia 18 (RTMeOH-A y RTMeOH-B) presentó variaciones en la forma amorfa en las dos condiciones de almacenamiento, que son visibles a partir del cambio amorfo medido por XRPD.

El Ejemplo de referencia 7 (SI-3A) presentó una forma amorfa con recristalización entre 2 y 3 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %), que es visible a partir del cambio drástico del contenido amorfo medido por XRPD. El Ejemplo de referencia 8 (ST-3B) presentó una forma amorfa con recristalización entre 2 y 3 meses en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C, HR del 30 %), que es visible a partir del cambio drástico del contenido amorfo medido por XRPD.

El Ejemplo 12 (STL20-3A, STL20-3B), Ejemplo 11 (SITL30-3A, SITL30-3B), Ejemplo 10 (SITL40-3A, SITL40-3B), Ejemplo 9 (SITL50-3A, SITL50-3B) y Ejemplo 14 (SIT-3A, SIT-3B) presentaron formas amorfas estables sin recristalización tras 3 meses en las dos condiciones de almacenamiento (40 °C, HR del 75 % y 60 °C, HR del 30 %).

#### Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La evaluación del tamaño de partículas y la morfología se lograron por microscopía electrónica de barrido (MEB), utilizando un microscopio SU-70 (Hitachi, Japón) o JSM-6100 (Jeol, Japón). Las muestras se dispersaron en una película fina de una resina epoxi de dos componentes y a continuación se recubrieron con una capa de platino. La aceleración durante la observación era de 25 kV.

Las imágenes por MEB del Ejemplo de referencia 3 (2J2012C), Ejemplo 4 (9J2012B) y Ejemplo 5 (9A2013A) a T=0 (izquierda) y T=3 meses (derecha) para el Ejemplo de referencia 3 y el Ejemplo 5 o T= 6 meses (derecha) para el Ejemplo 4 se muestran en la Figura 8, Figura 9 y Figura 10.

Las imágenes por MEB del Ejemplo 11 (SITL30-3A) y el Ejemplo 10 (SITL40-3A) a T=0 (izquierda) y T = 2 meses (derecha) se muestran en la Figura 11 y en la Figura 12.

Las partículas inhalables obtenidas tras el secado por pulverización presentaron una forma esférica. En la muestra que presenta la recristalización (Ejemplo de referencia 3), se observaron cristales que no presentan formas esféricas y tamaño mayor en imágenes por MEB, en cambio las partículas estables conservaron la forma y tamaño iniciales (Ejemplo 4, Ejemplo 5, Ejemplo 11 y Ejemplo 10).

#### Microscopía en platina caliente (MPC)

El análisis por MPC se llevó a cabo utilizando una platina caliente Linkam THMS 600 (Inglaterra) montada en un microscopio Olympus-BX 60 (Japón), equipado con una cámara de vídeo en color JVC TK-C1381 (Japón). Las muestras se observaron en el microscopio utilizando luz polarizada y sin polarizar con el fin de determinar su estado físico (amorfo-cristalino).

A T=0, las muestras del Ejemplo de referencia 3 (2J2012C), Ejemplo 4 (9J2012B) y Ejemplo 5 (9A2013A) no mostraron partículas cristalinas (los datos no se muestran) que confirmaran el estado amorfo de todos los componentes. Tras 3 meses, la cristalización se observó en la muestra del Ejemplo de referencia 3 pero no en la muestra del Ejemplo 4 y el Ejemplo 5. Las muestras del Ejemplo 4 y el Ejemplo 5 tampoco mostraron cristalización tras 6 meses. Estos resultados confirmaron los resultados obtenidos por XRPD y por análisis por ATG.

Como se ha descrito previamente, las partículas del fármaco en estado amorfo no son estables y pueden mostrar una transformación física (estado amorfo a cristalino) durante el almacenamiento. Se ha demostrado que el estado amorfo puede estabilizarse en ciertas condiciones utilizando un agente estabilizador adecuado.

El indacaterol amorfo (Ejemplo de referencia 7), tiotropio amorfo (Ejemplo de referencia 8) e indacaterol-lactosa amorfa (Ejemplos de referencia 2 y 6) o indacaterol-tiotropio-lactosa con un contenido de lactosa superior al 85 % (Ejemplos de referencia 3) mostraron recristalización durante el almacenamiento en condiciones de almacenamiento aceleradas y/o elevadas (40 °C, HR del 75 % y 60 °C, HR del 30 %). De manera sorprendente, la combinación de los dos principios 5 activos (es decir, indacaterol y tiotropio) sin lactosa (Ejemplos 5 y 14) o la combinación de indacaterol y tiotropio con lactosa al 20, 30, 40, 50 y 55,6 % (Ejemplos 4, 9-12) en una mezcla íntima en una matriz (ingredientes dispersos a nivel molecular) obtenidos utilizando un método de secado apropiado de soluciones, permitió estabilizar ambos fármacos en estado amorfo.

#### 10 Evaluación de la estabilidad química (degradación del fármaco)

##### Cromatografía líquida de alta resolución con detección UV (HPLC-UV)

El sistema por HPLC consistía en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HP 1100 series, Agilent technologies), equipado con una única bomba, un automuestreador y un detector UV. Se adoptaron las siguientes 15 condiciones: la columna era un Purospher® STAR RP-18 125 mm x 4 mm desactivada (5 µm) (Merck n.º 1 1.50036.0001), la fase móvil era, por ejemplo, una mezcla de tampón fosfato pH 4 (13,6 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) y acetonitrilo (ACN) (70/30 v/v) filtrada en Millipore 0,22 µm GV (Cat. GVWP02500), el disolvente de dilución era, por ejemplo, agua MilliQ/ACN (70/30 v/v). Las condiciones cromatográficas fueron: un caudal de 0,8 mL/min, una temperatura establecida a 35 °C, un volumen de inyección de 100 µL y un tiempo de ejecución típico de 10 minutos. La longitud de onda se 20 estableció, por ejemplo, a 238 nm (para tiotropio) y 260 nm (para indacaterol). El nivel y las muestras se filtraron en ProFill, filtro de jeringa para HPLC de 25 mm 0,45 µm (Grace Cat. n.º 25 16 0349).

Alternativamente, para la determinación de indacaterol en las muestras de la Tabla 9 y 11, el sistema por HPLC 25 consistió en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HP 1100 series, Agilent technologies), equipado con una única bomba, un automuestreador y un detector UV. Se adoptaron las siguientes condiciones: la columna era un Purospher® STAR RP-18 125 mm x 4 mm desactivada (5 µm) (Merck n.º 1 1.50036.0001), la fase móvil era, por ejemplo, una mezcla de tampón fosfato pH 4 (13,6 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) y acetonitrilo (ACN) (70/30 v/v) filtrada en Millipore 0,22 µm GV (Cat. GVWP02500), el disolvente de dilución era, por ejemplo, agua MilliQ/ACN (70/30 v/v). Las 30 condiciones cromatográficas fueron: un caudal de 0,8 mL/min, una temperatura establecida a 35 °C, un volumen de inyección de 100 µL y un tiempo de ejecución típico de 10 minutos. La longitud de onda se estableció, por ejemplo, en 260 nm (para indacaterol). El nivel y las muestras se filtraron en ProFill, filtro de jeringa para HPLC de 25 mm 0,45 µm (Grace Cat. n.º 25 16 0349).

Para la determinación de tiotropio e indacaterol de las muestras de la Tabla 12, el sistema por HPLC consistía en un 35 sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HP 1100 series, Agilent technologies), equipado con una única bomba, un automuestreador y un detector DAD. La fase móvil era, por ejemplo, una mezcla de tampón fosfato pH 4 (13,6 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) y acetonitrilo (ACN) (80/20 v/v) filtrada en Millipore 0,22 µm GV (Cat. GVWP02500), y el disolvente de dilución era, por ejemplo, agua MilliQ/ACN (80/20 v/v). Las condiciones cromatográficas fueron: un caudal de 0,8 mL/min, una temperatura establecida a 35 °C, un volumen de inyección de 100 µL y un tiempo de 40 ejecución típico de 60 minutos. La longitud de onda se estableció, por ejemplo, en 238 nm (para tiotropio) y 260 nm (para indacaterol).

##### Preparación de estándares

45 Por ejemplo, se pesaron de manera exacta 32,39 mg aproximadamente de maleato de indacaterol de referencia y aproximadamente 25,00 mg de bromuro de tiotropio monohidrato y se solubilizaron en un matraz de 100 mL con fase de dilución para constituir la solución a 250 µg/mL de base de indacaterol y a 200 µg/mL de base de tiotropio. A continuación, esta solución se diluyó para elaborar una solución a 10 µg/mL de base de indacaterol y a 8 µg/mL de base de tiotropio. Esta solución a 10 µg/mL de base de indacaterol y a 8 µg/mL de base de tiotropio se utilizó para 50 elaborar las soluciones estándares a 0,05 µg/mL de base de indacaterol y 0,04 µg/mL de base de tiotropio, 0,1 µg/mL de base de indacaterol y 0,08 µg/mL de base de tiotropio, 0,2 µg/mL de base de indacaterol y 0,16 µg/mL de base de tiotropio, 0,5 µg/mL de base de indacaterol y 0,4 µg/mL de base de tiotropio, 1 µg/mL de base de indacaterol y 0,8 µg/mL de base de tiotropio y 2 µg/mL de base de indacaterol y 1,6 µg/mL de base de tiotropio.

55 Para el método de determinación de indacaterol únicamente, se pesaron de manera exacta aproximadamente 32,39 mg de maleato de indacaterol de referencia y se solubilizaron en un matraz de 100 mL con fase de dilución para constituir la solución a 250 µg/mL de base de indacaterol. A continuación, esta solución se diluyó para elaborar una solución a 10 µg/mL de base de indacaterol. Esta solución a 10 µg/mL de base de indacaterol se utilizó para elaborar 60 las soluciones estándares a 0,05 µg/mL de base de indacaterol, 0,1 µg/mL de base de indacaterol, 0,2 µg/mL de base de indacaterol, 0,5 µg/mL de base de indacaterol, 1 µg/mL de base de indacaterol y 2 µg/mL de base de indacaterol.

Para el método de determinación de ambos, se pesaron de manera exacta indacaterol y tiotropio, aproximadamente 19,44 mg de maleato de indacaterol de referencia y aproximadamente 22,50 mg de bromuro de tiotropio monohidrato y se solubilizaron en un matraz de 200 mL con fase de dilución para constituir una solución a 75 µg/mL de base de indacaterol y a 90 µg/mL de base de tiotropio. A continuación, esta solución se diluyó para elaborar:

- 5 - una solución estándar a 1,875 µg/mL de base de indacaterol y a 2,251 µg/mL de base de tiotropio,
- una solución estándar a 1,500 µg/mL de base de indacaterol y a 1,801 µg/mL de base de tiotropio,
- soluciones estándares a 1,125 µg/mL de base de indacaterol y a 1,351 µg/mL de base de tiotropio,
- una solución estándar a 0,750 µg/mL de base de indacaterol y a 0,900 µg/mL de base de tiotropio,
- una solución estándar a 0,375 µg/mL de base de indacaterol y 0,450 µg/mL de base de tiotropio.

10

La solución estándar a 1,500 µg/mL de base de indacaterol y 1,801 µg/mL de base de tiotropio se utilizó para elaborar la solución estándar a:

- 0,150 µg/mL de base de indacaterol y 0,1801 µg/mL de base de tiotropio.

15 La solución estándar a 0,750 µg/mL de base de indacaterol y 0,9 µg/mL de base de tiotropio se utilizó para elaborar la solución estándar a:

- 0,075 µg/mL de base de indacaterol y 0,090 µg/mL de base de tiotropio.

Determinación del contenido del fármaco

20 Se pesaron de manera exacta 10,00 mg de muestras de polvo y se solubilizaron en un matraz de 100 mL con dilución de fase. A continuación se realizó una dilución apropiada para la curva de calibración lineal.

Para el Ejemplo de referencia 7 (SI-3A, SI-3B), Ejemplo de referencia 8 (ST-3A, ST-3B), Ejemplo de referencia 17 (RI-A, RI-B) y Ejemplo de referencia 18 (RTMeOH-A, RTMeOH-B), se pesaron de manera exacta aproximadamente 20,00 mg de muestras de polvo y se solubilizaron en un matraz de 100 mL con la fase de dilución. A continuación, se realizó una dilución apropiada para la curva de calibración lineal (factor de dilución 100).

25

Para el Ejemplo 14 (SIT-3A, SIT-3B), Ejemplo 12 (SITL20-3A, SITL20-3B), Ejemplo 11 (SITL30-3A, SITL30-3B), Ejemplo 10 (SITL40-3A, SITL40-3B) y Ejemplo 9 (SITL50-3A, SITL50-3B), se pesaron de manera exacta aproximadamente 20,00 mg de muestras de polvo y se solubilizaron en un matraz de 100 mL con la fase de dilución. A continuación, se realizó una dilución apropiada para la curva de calibración lineal (factor de dilución 100 para determinar la base de indacaterol y factor de dilución 10 para determinar la base de tiotropio).

30

Evolución del aspecto del polvo y contenido del fármaco

35 La Tabla 9 muestra el aspecto del polvo del Ejemplo de referencia 16 (maleato de indacaterol micronizado crudo, no secado por pulverización, AN018), y los polvos secados por pulverización de los Ejemplos de referencia 1-3 y el Ejemplo 4 tras 6 meses en condiciones de estabilidad de almacenamiento aceleradas (es decir, 40 °C-HR del 75 %).

TABLA 9

40 °C-HR del 75 %	6 meses				
	Polvo fino	Agregados	Coloración	Recristalización	% de indacaterol con respecto al contenido del fármaco teórico (n=3)
Ejemplo de ref. 16 Maleato de indacaterol (AN018)	Sí	Sí aunque en menor grado	Blancuzco	Sí	96,0 ± 0,6
Ejemplo de ref. 1 (12J2012)	Sí	Sí	Marrón	No	90 ± 1 %
Ejemplo de ref. 3 (2J2012C)	Sí	Sí	Beige	Sí	95 ± 1 %
Ejemplo de ref. 2 (9J2012A)	Sí	No	Blancuzco	Sí	94 ± 1 %
Ejemplo 4 (9J2012B)	Sí	Sí	Blancuzco	No	89,6 ± 0,3 %

40

La Tabla 10 muestra el aspecto del polvo de los polvos secados por pulverización del Ejemplo 5 y el Ejemplo de referencia 6 tras 3 meses en condiciones de estabilidad de almacenamiento aceleradas (es decir, 40 °C-HR del 75 %).



TABLA 10

40 °C-HR del 75 %	3 meses			
	Polvo fino	Agregados	Coloración	Recristalización
Ejemplo 5 (9A2013A)	Sí	Sí	Blancuzco	No
Ejemplo de ref. 6 (9A2013B)	Sí	Sí	Blanco	No

La Tabla 11 muestra el aspecto del polvo del Ejemplo de referencia 16 (maleato de indacaterol micronizado crudo, no secado por pulverización, C1148), y los polvos secados por pulverización del Ejemplo de referencia 1, Ejemplo 4, Ejemplo 5, y Ejemplo de referencia 6 en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (es decir, 60 °C-HR del 30 %) durante 1 mes. El contenido del fármaco se evaluó tras 6 semanas.

TABLA 11

60 °C- del 30%	1 mes				6 semanas
	Polvo fino	Agregados	Coloración	Recristalización	% de indacaterol con respecto al contenido del fármaco teórico (n=3)
Ejemplo de ref. 16 Maleato de indacaterol (C1148)	Sí	Sí	Blancuzco aunque en menor grado	Sí	97,9 ± 0,8 %
Ejemplo de ref. 1 (26C2013A)	Sí	Sí	Blancuzco	No	89 ± 1 %
Ejemplo 4 (26C2013B)	Sí	Sí	Blancuzco	No	84,9 ± 0,7 %
Ejemplo 5 (26C2013C)	Sí	Sí	Blancuzco	No	90 ± 4 %
Ejemplo de ref. 6 (26C2013D)	Sí	Sí	Blancuzco	Sí	94,6 ± 0,3 %

10 Aunque el maleato de indacaterol cristalino era más resistente en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C-HR del 75 %) y en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C-HR del 30 %), la degradación de las partículas en forma amorfa durante 6 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (10 % de degradación en 6 meses) o durante 6 semanas en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura era relativamente limitada (10-15 % de degradación).

15

La Tabla 12 muestra el porcentaje de indacaterol y tiotropio en los Ejemplos de referencia 7, 8, 17 y 18, y en los Ejemplos 9-12 y 14 a T=0, 1 y 2 meses expresado en relación con el contenido del fármaco a T=0 en condiciones de almacenamiento aceleradas (es decir, 40 °C-HR del 75 %), determinado por HPLC-UV.

20

TABLA 12

T (mes)	Condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %)							
	Indacaterol				Tiotropio			
	0	1	2	4	0	1	2	4
Ejemplo de ref. 7 (SI-3A)	100 ±2	101±1	95,6±0,3	95 ±2				
Ejemplo de ref. 8 (ST-3A)					100,0 ±0,9	99,7±0,6	SD	94±5
Ejemplo 12 (SITL20-3A)	100 ±1	98 ±3	93 ±4	SD	100 ±1	99 ±3	103 ±1	SD
Ejemplo 11 (SITL30-3A)	100 ±2	98 ±2	101 ±3	103 ±1	100,0 ±0,4	100 ±1	102 ±1	105 ±3
Ejemplo 10 (SITL40-3A)	100 ±1	96 ±3	95 ±2*	SD	100,0 ±0,7	96 ±4	102 ±1	SD
Ejemplo 9 (SITL50-3A)	100,0 ±0,8	94 ±6	97 ±1*	SD	100 ±1	95 ±2	100 ±3	SD
Ejemplo 14 (SIT-3A)	100 ±1	95 ±4	SD	97 ±2	100,0 ±0,8	101 ±2	SD	110 ±2
Ejemplo de ref. 17 (RI-A)	100 ±2	103±1	97 ±3	101 ±1				
Ejemplo de ref. 18 (RTMeOH-A)					100,0 ±0,9	100 ±1	95,5 ±0,1	100,1 ±0,7

n=3, \*n=2; # cristalización detectada por XRPD

La Tabla 13 muestra el porcentaje de indacaterol y tiotropio en los Ejemplos de referencia 7, 8, 17 y 18, y en los Ejemplos 9-12 y 14 a T=0, 1, 2 y 4 meses expresado en relación con el contenido del fármaco a T=0 en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (es decir, 60 °C-HR del 30 %), determinado por HPLC-UV.

5

TABLA 13

T (mes)	Condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C, HR del 75 %)							
	Indacaterol				Tiotropio			
	0	1	2	4	0	1	2	4
Ejemplo de ref. 7 (SI-3B)	100 ± 2	99 ± 1	89 ± 3	92 ± 2				
Ejemplo de ref. 8 (ST-3B)					100,0 ± 0,9	99,7 ± 0,6	SD	100,1 ± 0,4
Ejemplo 12 (SITL20-3B)	100 ± 1	97 ± 3	94,7 ± 0,7	SD	100 ± 1	101 ± 1	99,2 ± 0,3	SD
Ejemplo 11 (SITL303B)	100 ± 2	99 ± 4	92,3 ± 0,3	87 ± 2	100,0 ± 0,4	100 ± 1	101,5 ± 0,5	98 ± 2
Ejemplo 10 (SITL40-3B)	100 ± 1	94,9 ± 0,1	86 ± 3	SD	100,0 ± 0,7	96 ± 1	95 ± 3	SD
Ejemplo 9 (SITL50-3B)	100,0 ± 0,8	97 ± 2	87 ± 3	SD	100 ± 1	96 ± 1	94 ± 3	SD
Ejemplo 14 (SIT-3B)	100 ± 1	101 ± 4	93 ± 1	85 ± 6	100,0 ± 0,8	100,9 ± 0,9	105 ± 1	108 ± 2
Ejemplo de ref. 17 (RI-A)	100 ± 2	97,8 ± 0,4	97 ± 3	99 ± 6				
Ejemplo de ref. 18 (RTMeOH-B)					100,0 ± 0,9	98,4 ± 0,6	98 ± 1	100 ± 6

\*n=2, (n=3); # cristalización detectada por XRPD

Aunque el maleato de indacaterol cristalino fue más resistente en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C-HR del 75 %) y en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura (60 °C-HR del 30 %), la degradación de las partículas en forma amorfa durante 2 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas (10 % de degradación en 2 meses) o en condiciones de almacenamiento a elevada temperatura fue relativamente limitada (10-15 % de degradación).

Evaluación de las propiedades farmacéuticas (uniformidad del contenido del fármaco de la dosis liberada, rendimientos aerodinámicos, disolución del fármaco)

#### Uniformidad del contenido del fármaco

La uniformidad del contenido del fármaco se evaluó utilizando la prueba B de uniformidad del contenido de las preparaciones de dosis única de la Farmacopea Europea 7.0, que consiste en determinar los contenidos individuales de la(s) sustancia(s) activa(s) en 10 unidades de dosificación (se pesaron de manera exacta aproximadamente 25 ± 2 mg en una cápsula de HPMC n.º 3). Se realizó el mismo procedimiento para Onbrez® del contenido de indacaterol y Spiriva® para el contenido de tiotropio.

Cada cápsula se colocó en un matraz de 20 mL y se cargó parcialmente con una fase de dilución. El matraz se colocó a continuación en un baño ultrasónico hasta la completa disolución de la cápsula y la formulación. A continuación, el volumen se completó hasta la marca cuando la solución se encontró a temperatura ambiente. Podría requerirse una dilución adicional para obtener la concentración del compuesto en el intervalo de linealidad del método por HPLC-UV de determinación. Típicamente, no se realizó disolución alguna para determinar tiotropio y se aplicó una dilución de 10 para determinar indacaterol.

El Ejemplo 21 y el Ejemplo 22 así como los productos comparadores de referencia (Onbrez® y Spiriva®) cumplieron con la prueba de uniformidad del contenido de las preparaciones de dosis única (Prueba B) de la Farmacopea Europea 7.0, testada en 10 unidades de dosificación puesto que no más de un contenido individual excede el límite del 85 % a 115 % del contenido promedio y ninguno excede los límites del 75 % a 125 % del contenido promedio. La Tabla 14 muestra el valor promedio (media) ± desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (% CV). Los resultados obtenidos eran similares tanto en términos del contenido del fármaco como la homogeneidad del contenido del fármaco de las formulaciones de la invención y los productos comparadores de referencia.

Uniformidad de la dosis liberada

La uniformidad de la dosis liberada (UDL) se midió utilizando un dispositivo de UDL (Copley Scientific Ltd., Nottingham, R.U.) y el procedimiento descrito en la Farmacopea Europea 7.0 para la evaluación de los polvos para inhalación. El filtro utilizado fue un filtro de fibra de vidrio Millipore AP4004700 (diámetro de 47 mm). Para las formulaciones IPS de indacaterol-tiotropio de la invención (Ejemplo 21 y Ejemplo 22): se llenó un inhalador Fantasmio® con una cápsula de HPMC n.º 3 con 25 ± 2 mg de la formulación. El caudal se estableció en 100 L/min durante 2,4 segundos para obtener una caída de presión de 4 kPa entre el dispositivo según recomendó la Farmacopea Europea 7.0.

Después de cada prueba, el filtro de vidrio se colocó en un matraz de 50 mL y el dispositivo de UDL se enjuagó varias veces con la fase de dilución. El matraz se colocó a continuación en un baño ultrasónico hasta la completa disolución del filtro y el polvo. A continuación, el volumen se completó hasta la marca cuando la solución se encontró a temperatura ambiente. Podría requerirse una dilución adicional para obtener la concentración del compuesto en el intervalo de linealidad del método por HPLC-UV de determinación. Típicamente, no se realizó disolución alguna para determinar tiotropio y se aplicó una dilución de 5 para determinar indacaterol.

El Ejemplo 21 y el Ejemplo 22 cumplieron con la prueba de uniformidad de la dosis liberada a 100 L/min durante 2,4 segundos a través del inhalador Fantasmio® ya que al menos 9 de los 10 resultados se encontraron entre 75 % y 125 % del valor de dosis liberada promedio y todos los valores se encontraron entre 65 % y 135 %. La Tabla 14 muestra los valores promedios (media) ± la desviación estándar (DE) y los valores mínimos y máximos (µg<sub>min</sub>- µg<sub>max</sub>). La dosis liberada de los productos de referencia (Spiriva® y Onbrez®) se tomó de las monografías del producto proporcionadas por los proveedores. La Tabla 15 mostró los mismos datos de dosis liberada aunque relacionados con el contenido del fármaco. El Ejemplo 21 presentó dosis liberadas medias de 65 % (intervalo 58-72 %) de indacaterol y 72 % (intervalo 64-84 %) de tiotropio, y el Ejemplo 22 presentó dosis liberadas de 64 % (intervalo 53-70 %) de indacaterol y 69 % (intervalo 58-80 %) de tiotropio en relación a las dosis nominales de indacaterol y tiotropio, emitidas a través del inhalador Fantasmio®. Considerando que los productos de referencia presentaron diferentes porcentajes de emisión, 79 % de indacaterol de Onbrez® Breezhaler® y 56 % de tiotropio de Spiriva® Handihaler®, los Ejemplos 21 y 22 mostraron por consiguiente una emisión más próxima de ambos fármacos utilizando un único dispositivo.

Análisis aerodinámico del tamaño de partículas

La distribución aerodinámica del tamaño de partículas para las formulaciones IPS de indacaterol-tiotropio (Ejemplo 21 y Ejemplo 22) y los diferentes productos comparadores de referencia (Onbrez® Breezhaler® y Spiriva® Handihaler®) se determinó utilizando un impactador de exploración rápida (IER; *Fast Screening Impactor (FSI)*).

El inhalador Fantasmio® se utilizó con una cápsula de HPMC n.º 3 para las formulaciones IPS de indacaterol-tiotropio (Ejemplo 21 y Ejemplo 22). El caudal se estableció en 100 L/min durante 2,4 segundos para obtener una caída de presión de 4 kPa entre el dispositivo según recomendó la Farmacopea Europea 7.0. Durante los experimentos de IER, la dosis recuperada para cada ensayo se encontró en el intervalo de 75-125 % de la dosis nominal. El Ejemplo 21 y el Ejemplo 22 presentaron una codeposición de indacaterol y tiotropio en cada parte del impactador según indica la Tabla 15. El Ejemplo 21 presentó aproximadamente 27-29 % de indacaterol y tiotropio contenido en el dispositivo, aproximadamente 7-8 % de indacaterol y tiotropio depositado en el puerto de inducción, aproximadamente 40-43 % de indacaterol y tiotropio depositado en el preseparator y aproximadamente indacaterol y tiotropio al 22-25 % depositado en el filtro (partículas que presentan un diámetro aerodinámico inferior a 5 µm). El Ejemplo 22 presentó aproximadamente 21-22 % de indacaterol y tiotropio contenido en el dispositivo, aproximadamente 18,3-18,9 % de indacaterol y tiotropio depositado en el puerto de inducción, aproximadamente 32-33 % de indacaterol y tiotropio depositado en el preseparator y aproximadamente indacaterol y tiotropio al 27,6-28,2 % depositado en el filtro.

Los productos comparadores de referencia presentaron (Onbrez® Breezhaler® y Spiriva® Handihaler®) presentaron patrones completamente diferentes de deposición en cada parte, 13,9 % de indacaterol o 40 % de tiotropio en el dispositivo; 17 % de indacaterol o 9 % de tiotropio en el puerto de inducción; 25 % de indacaterol o 16 % de tiotropio en el preseparator, y 44,4 % de indacaterol o 35 % de tiotropio en el filtro.

La Tabla 14 muestra los resultados de uniformidad del contenido del fármaco (µg; media ± DE (% CV), n=3, uniformidad de la dosis liberada (µg; media ± DE (µg<sub>min</sub>- µg<sub>max</sub>), n=3), análisis aerodinámico del tamaño de partículas por IER (µg/cápsula; media ± DE, n=3) para los productos comparadores de referencia Onbrez® y Spiriva® y las formulaciones de indacaterol-tiotropio de la invención del Ejemplo 21 y Ejemplo 22.

TABLA 14

	Contenido del fármaco (µg) media ± DE (% CV)	Dosis liberada (µg) media ± DE (µg <sub>min</sub> -µg <sub>max</sub> )	IER (media ± DE, n= 3), µg/cápsula			
			Dispositivo	Puerto de inducción	Pre-separador	Filtro=FPD
Onbrez® Indacaterol	152 ± 3 (2 %)	120*	17,2 ± 0,4	21 ± 4	31 ± 2	55 ± 2

	Contenido del fármaco ( $\mu\text{g}$ ) media $\pm$ DE (% CV)	Dosis liberada ( $\mu\text{g}$ ) media $\pm$ DE ( $\mu\text{g}_{\text{min}}$ - $\mu\text{g}_{\text{max}}$ )	IER (media $\pm$ DE, n= 3), $\mu\text{g}/\text{cápsula}$			
			Dispositivo	Puerto de inducción	Pre-separador	Filtro=FPD
Spiriva® Tiotropio	18 $\pm$ 1 (3 %)	10*	6,6 $\pm$ 0,6	1,5 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1	5,7 $\pm$ 0,4
Ejemplo 21 24G2013A Indacaterol	149 $\pm$ 3 (2 %)	97 $\pm$ 8 (87-108)	34,8 $\pm$ 0,7	8 $\pm$ 2	54 $\pm$ 2	29 $\pm$ 6
Ejemplo 21 24G2013A Tiotropio	17 $\pm$ 1 (4 %)	12 $\pm$ 1 (11-15)	4,4, $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,1	6,7 $\pm$ 0,3	4,1 $\pm$ 0,5
Ejemplo 22 24G2013B Indacaterol	148 $\pm$ 8 (6 %)	95 $\pm$ 7 (79-104)	28 $\pm$ 1	24,1 $\pm$ 0,6	42,9 $\pm$ 0,3	36,1 $\pm$ 0,6
Ejemplo 22 24G2013B Tiotropio	18 $\pm$ 1 (6 %)	12 $\pm$ 1 (10-14)	3,7 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,1	5,49 $\pm$ 0,04	4,80 $\pm$ 0,08

\*Datos que informan sobre las monografías del producto de Onbrez® Breezhaler® y Spiriva® Handihaler®

5 La Tabla 15 muestra los resultados de uniformidad del contenido del fármaco ( $\mu\text{g}$ ; media  $\pm$  DE (% CV), n=3, uniformidad de la dosis liberada (% relacionado con la dosis nominal; media  $\pm$  DE (% $_{\text{min}}$ - % $_{\text{max}}$ ), n=3), análisis aerodinámico del tamaño de partículas por IER (% relacionado con la dosis recuperada; media  $\pm$  DE, n=3) para los productos comparadores de referencia Onbrez® y Spiriva® y las formulaciones de indacaterol-tiotropio del Ejemplo 21 y Ejemplo 22).

TABLA 15

	Contenido del fármaco media $\pm$ DE (% CV)	Dosis liberada media $\pm$ DE (% $_{\text{min}}$ -% $_{\text{max}}$ )	IER (media $\pm$ DE, n= 3), % con respecto a la dosis recuperada			
			Dispositivo	Puerto de inducción	Pre-separador	FPF recuperado
Onbrez® Indacaterol	152 $\pm$ 3 (2 %)	79 %	13,9 $\pm$ 0,5 %	17 $\pm$ 2 %	25 $\pm$ 2 %	44,4 $\pm$ 0,4 %
Spiriva® Tiotropio	18 $\pm$ 1 (3 %)	56 %	40 $\pm$ 2 %	9 $\pm$ 1 %	16 $\pm$ 1 %	35 $\pm$ 2 %
Ejemplo 21 24G2013A Indacaterol	149 $\pm$ 3 (2 %)	65 $\pm$ 5 % (58-72)	28 $\pm$ 1 %	7 $\pm$ 1 %	42 $\pm$ 1 %	22 $\pm$ 5 %
Ejemplo 21 24G2013A Tiotropio	17,4 $\pm$ 0,7 (4 %)	72 $\pm$ 7 % (64-84)	27 $\pm$ 2 %	7,9 $\pm$ 0,5 %	40 $\pm$ 2 %	25 $\pm$ 3 %
Ejemplo 22 24G2013B Indacaterol	148 $\pm$ 8 (6 %)	64 $\pm$ 5 % (53-70)	21 $\pm$ 1 %	18,4 $\pm$ 0,4 %	32,8 $\pm$ 0,3 %	27,6 $\pm$ 0,5 %
Ejemplo 22 24G2013B Tiotropio	18 $\pm$ 1 (6 %)	69 $\pm$ 6 % (58-80)	21,8 $\pm$ 0,8	18,3 $\pm$ 0,6 %	32,0 $\pm$ 0,1 %	27,9 $\pm$ 0,3 %

10

#### Evaluación de la liberación del fármaco de las formulaciones de polvo seco

15 Se realizaron las pruebas de disolución que utilizan un casete basado en IER para determinar la liberación/disolución del fármaco. La evaluación de las propiedades de disolución de los polvos secos se evaluaron utilizando un recipiente de disolución con un aparato de paletas (aparato tipo 2 USP 33). Los recipientes se llenaron con 350 mL (casete basado en IER) de tampón fosfato salino pH 7,4 Tween 80 (m/v) al 0,1 %. La composición del medio tampón fosfato era 32 g de NaCl, 0,8 g de KCl, 5,76 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,96 g de KHPO<sub>4</sub> y agua ad 4 L, y pH ajustado a 7,4 con NaOH 1N o HCl 1N. La velocidad de la paleta se fijó en 50 rpm y la temperatura se estableció y se mantuvo a 37,0 °C durante las pruebas. Se cuantificaron indacaterol y tiotropio a intervalos predeterminados (5, 10, 20, 60, 120 y 180 min) con un método por HPLC adecuado. Con este fin, se eliminaron 2 mL de medio de disolución del recipiente de disolución en intervalos de tiempo diferentes y se sustituyeron directamente con 2 mL de medio de disolución fresco. Estos 2 mL

20

se filtraron directamente a través de filtros con un diámetro de 0,45 µm para evitar la cuantificación de las partículas sin disolver.

Un impactador de exploración rápida, IER (*Fast Screening Impactor (FSI)*, Copley Scientific Limited, Nottingham, R.U.) que utiliza un proceso de separación de dos etapas, equipado con un puerto de inducción y un preseparador se utilizó para determinar la disolución de las partículas de polvo seco que presentan un diámetro aerodinámico inferior a 5 µm. El IER se utilizó con una inserción adaptada (Copley Scientific Limited, 40, 60 o 100 L/min) que genera un diámetro de corte de 5 µm con un caudal de 40, 60 o 100 L/min. Se colocó un filtro de membrana de PTFE hidrófobo de 90 mm, tipo de filtro de 0,45 µm, FH (Fluoropore Cat n.º FHLP09050, Millipore, Bélgica) en la placa de recogida inferior del IER, de modo que las partículas finas (< 5 µm) se capturaron directamente en la membrana.

Después de la etapa de actuación de la dosis, la membrana se intercaló entre el vidrio y las superficies de PTFE del conjunto de vidrio de reloj/PTFE (Copley Scientific Limited, Nottingham, R.U.) con el polvo expuesto al medio. El conjunto de vidrio de reloj/PTFE se colocó a continuación en el fondo de un recipiente de disolución (aparato tipo 2 USP 33) con un aparato de paletas, y se realizó la prueba de disolución como se ha descrito previamente. Cada prueba se repitió tres veces.

Se calculó la cantidad acumulativa de la liberación del fármaco y se expresó como el porcentaje de la cantidad acumulativa de liberación del fármaco al final de la prueba de disolución (es decir, 180 min) y se representó frente al tiempo. En este caso, el caudal utilizado permitió la recogida de partículas que presentan un diámetro aerodinámico inferior a 5 µm.

Para Onbrez® Breezhaler®: se utilizaron 10 cápsulas de Onbrez® que contienen 150 µg de indacaterol en el inhalador Breezhaler® en cada prueba para obtener aproximadamente 540 µg de indacaterol en el filtro. El caudal se estableció en 100 L/min durante 2,4 segundos para obtener un volumen de aire total de 4 L y una caída de presión de 4 kPa entre el dispositivo según recomendó la Farmacopea Europea 7.0.

Para Spiriva® Handihaler®: se utilizaron 10 cápsulas de Spiriva® que contienen 18 µg de tiotropio en el inhalador Breezhaler® en cada prueba para obtener aproximadamente 57,6 µg de tiotropio en el filtro. El caudal se estableció en 40 L/min durante 6 segundos para obtener un volumen de aire total de 4 L y una caída de presión de 4 kPa entre el dispositivo según recomendó la Farmacopea Europea 7.0.

Para el Ejemplo 21 (formulación de IPS de indacaterol-tiotropio, 24G2013A): se llenaron 18 cápsulas de HPMC n.º 3 con aproximadamente 25 ± 2 mg de formulación de IPS de indacaterol-tiotropio en el inhalador Fantasmio en cada prueba para obtener aproximadamente 540 µg de indacaterol y aproximadamente 57,6 µg de tiotropio en el filtro. El caudal se estableció en 100 L/min durante 2,4 segundos para obtener un volumen de aire total de 4 l y una caída de presión de 4 kPa entre el dispositivo según recomendó la Farmacopea Europea 7.0.

Para el Ejemplo 22 (formulación de IPS de indacaterol-tiotropio, 24G2013B): se llenaron 15 cápsulas de HPMC n.º 3 con aproximadamente 25 ± 2 mg de formulación de IPS de indacaterol-tiotropio en el inhalador Fantasmio en cada prueba para obtener aproximadamente 540 µg de indacaterol y aproximadamente 57,6 µg de tiotropio en el filtro. El caudal se estableció en 100 L/min durante 2,4 segundos para obtener un volumen de aire total de 4 l y una caída de presión de 4 kPa entre el dispositivo según recomendó la Farmacopea Europea 7.0.

Los perfiles de disolución con liberación de indacaterol del producto comparador de referencia Onbrez®, del Ejemplo 21 (24G2013A), y del Ejemplo 22 (24G2013B) y con liberación de tiotropio del producto comparador de referencia Spiriva®, del Ejemplo 21 (24G2013A), y del Ejemplo 22 (24G2013B) se muestran en la Figura 13 y en la Figura 14.

El Ejemplo 21 presentó una liberación más rápida de indacaterol pobremente soluble en agua en comparación con el producto de referencia Onbrez®, de manera que se observa un perfil de disolución entre indacaterol y tiotropio en esta formulación, en cambio el Ejemplo 22 presentó una liberación similar de indacaterol en comparación con el producto de referencia Onbrez®. El tiotropio altamente soluble en agua presentó una liberación rápida del Ejemplo 21, Ejemplo 22 y del producto de referencia Spiriva®.

Es bien conocido que obtener mezclas homogéneas para mezclas en base a los fármacos de presencia micronizados utilizados en baja dosis y portadores de tamaño grueso es una operación crítica y altamente dependiente de las propiedades físico-químicas de los ingredientes contenidos (es decir, tamaño, forma, densidad, propiedades de superficie). Este también es el caso de los rendimientos de las formulaciones de polvo seco como las dosis liberadas o los rendimientos aerodinámicos. Además, para las formulaciones de polvo seco en base a la combinación de dos fármacos (por ejemplo, indacaterol y tiotropio), las relaciones de las dosis liberadas del inhalador y las relaciones de las dosis depositadas en las diferentes partes del pulmón por los fármacos puede mostrar algunas variabilidades en

función de las propiedades físico-químicas de los ingredientes contenidos. Además, pueden observarse también las variabilidades de lote por lote a partir de pequeñas variaciones de las propiedades físicas de los fármacos micronizados y el portador de tamaño grueso.

- 5 Como se muestra en los diversos Ejemplos utilizados para ilustrar los rendimientos de las formulaciones de polvo seco publicadas en esta invención, eran comparables las cantidades de indacaterol y tiotropio (expresadas en el porcentaje de la dosis recuperada) liberadas del dispositivo (UDL) o depositadas en la parte diferente del impactador (dispositivo, puerto de inducción, preseparador, FPF). Esto significa que para los ejemplos de la invención, las relaciones entre las dosis liberadas o las dosis depositadas de indacaterol y tiotropio eran comparables. Por consiguiente se puede
- 10 aumentar la eficacia del tratamiento modificando simplemente la dosis nominal de indacaterol y tiotropio en la formulación de la matriz de polvo seco con el fin de obtener la dosis óptima del fármaco en el pulmón y el efecto sinérgico óptico de los fármacos.

- Por último, la disolución del fármaco de las formulaciones de polvo seco estándares para la inhalación muestra una
- 15 velocidad de disolución rápida de un fármaco altamente hidrófilo e hidrosoluble (por ejemplo, bromuro de tiotropio), mientras que la disolución es mucho más lenta para un fármaco hidrófobo y poco soluble en agua (por ejemplo, indacaterol). Una vez más, los ejemplos de la invención han mostrado que al combinar indacaterol y tiotropio en una mezcla íntima amorfa, se puede obtener un cierto control de liberación del fármaco puesto que pueden obtenerse perfiles de disolución próximos entre indacaterol y tiotropio. Por consiguiente, se puede aumentar la eficacia del
- 20 tratamiento controlando la velocidad de disolución de cada fármaco de la formulación con el fin de obtener una actividad farmacológica óptima en el sitio de acción.

#### REFERENCIAS CITADAS EN LA SOLICITUD

- 25 US5610163  
US6878721  
US2004/0132759  
WO2012/106575

## REIVINDICACIONES

1. Partículas inhalables que comprenden una mezcla íntima que consiste en:
  - a) un compuesto de tiotropio amorfo,
  - 5 b) un compuesto de indacaterol amorfo, y
  - c) un derivado de azúcar,
 en las cuales el peso del derivado de azúcar está comprendido desde 0 hasta 85% con respecto al peso de las partículas inhalables.
- 10 2. Las partículas inhalables según la reivindicación 1, donde la humedad residual es igual a o inferior al 5% en peso con respecto al peso de las partículas inhalables.
3. Las partículas inhalables según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el compuesto de indacaterol es maleato de indacaterol.
- 15 4. Las partículas inhalables según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el compuesto de tiotropio es bromuro de tiotropio.
5. Las partículas inhalables según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que es una matriz en la que todos los componentes están en estado amorfo y están dispersados a nivel molecular.
- 20 6. Las partículas inhalables según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el derivado de azúcar está presente en una cantidad de hasta 85% en peso con respecto al peso de las partículas inhalables y el compuesto de tiotropio, el compuesto de indacaterol y opcionalmente parte del derivado de azúcar están dispersados a nivel molecular en la superficie del derivado de azúcar.
- 25 7. Las partículas inhalables según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que están libres de derivado de azúcar, y donde el peso del compuesto de tiotropio, expresado como tiotropio base, y el peso del compuesto de indacaterol, expresado como indacaterol base, con respecto al peso total de las partículas inhalables están comprendidos desde 0,5 hasta 50% y desde 50 hasta 99,5%, respectivamente.
- 30 8. Las partículas inhalables según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde el peso de derivado de azúcar, el peso del compuesto de tiotropio, expresado como tiotropio base, y el peso del compuesto de indacaterol, expresado como indacaterol base, con respecto al peso total de las partículas inhalables están comprendidos desde 20 hasta 85%, desde 0,2 hasta 10% y desde 10 hasta 80%, respectivamente.
- 35 9. Las partículas inhalables según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde el derivado de azúcar se selecciona del grupo que consiste en un monosacárido, un disacárido, un oligo- o polisacárido y un polialcohol.
- 40 10. Las partículas inhalables según la reivindicación 9, donde el derivado de azúcar es lactosa.
11. Las partículas inhalables según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que son partículas secadas por pulverización, liofilizadas o secadas a vacío.
- 45 12. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de las partículas inhalables definidas en cualquiera de las reivindicaciones 1-11 junto con uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.
13. La composición farmacéutica según la reivindicación 12, donde los excipientes son excipientes gruesos que tienen un tamaño de partícula medio de 15 a 250  $\mu\text{m}$ .
- 50 14. Un procedimiento para preparar las partículas inhalables definidas en cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende las siguientes etapas:
  - a) Si hay un derivado de azúcar en las partículas finales, disolver o dispersar el derivado de azúcar en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua para formar una disolución o una
  - 55 suspensión;
  - b) disolver un compuesto de tiotropio y un compuesto de indacaterol en un sistema de disolventes que comprende uno o más disolventes orgánicos y opcionalmente agua;
  - c) si hay un derivado de azúcar en las partículas finales, mezclar la disolución o suspensión de la etapa a) y la disolución de la etapa b); y
  - 60 d) secar por pulverización, liofilizar o secar a vacío la disolución o suspensión de las etapas b) o c) para obtener las partículas inhalables deseadas.

15. Partículas inhalables definidas en cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para su uso en el tratamiento de asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica.



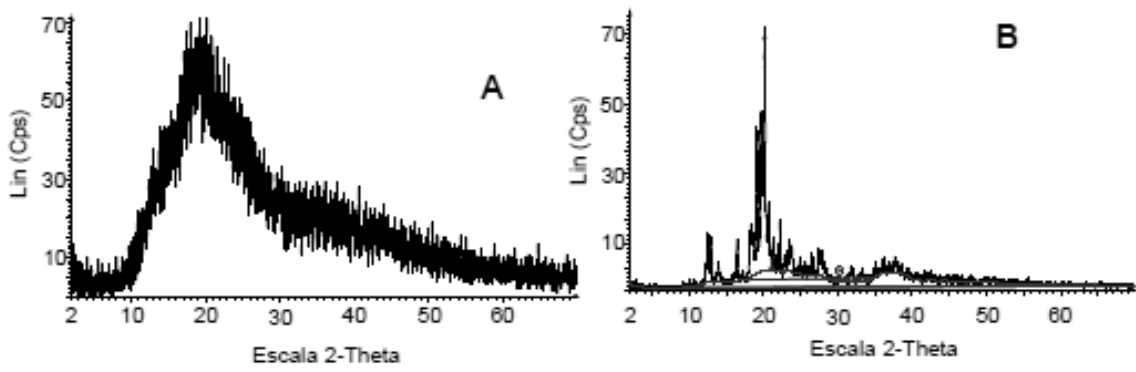


FIG. 1

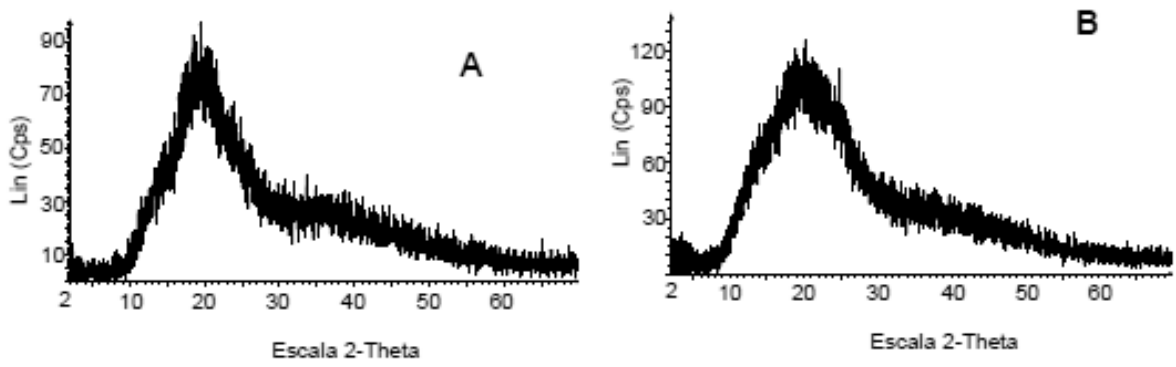


FIG. 2

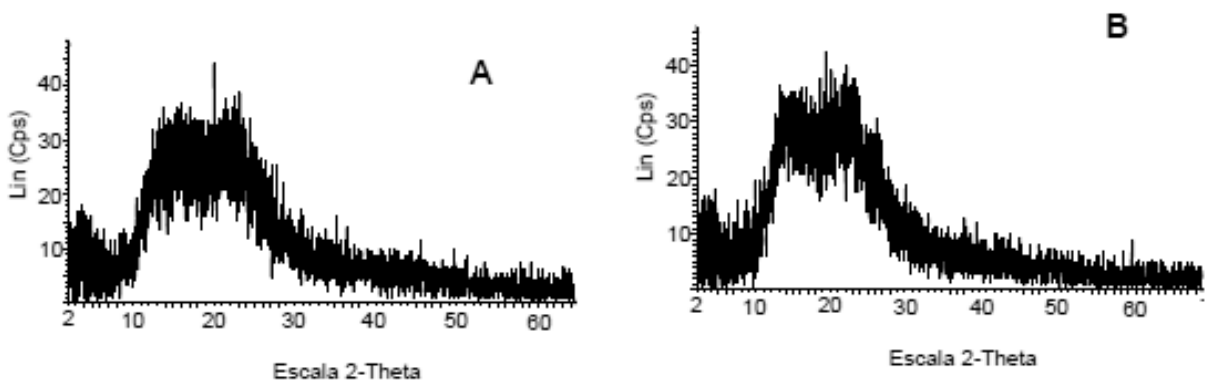


FIG. 3

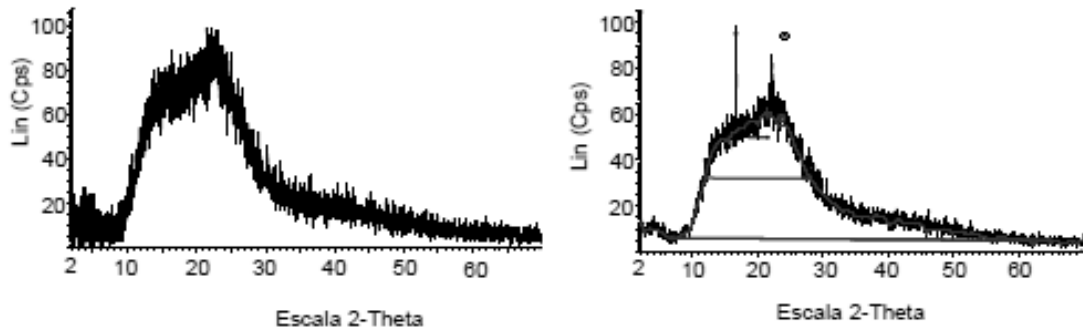


FIG. 4

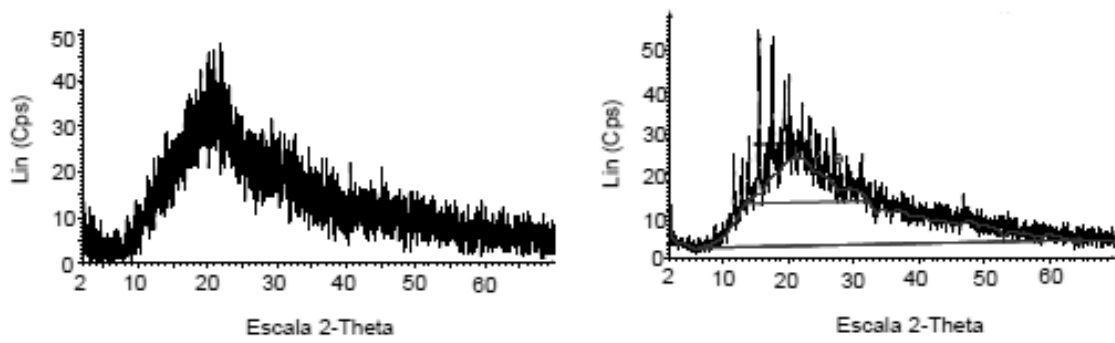


FIG. 5

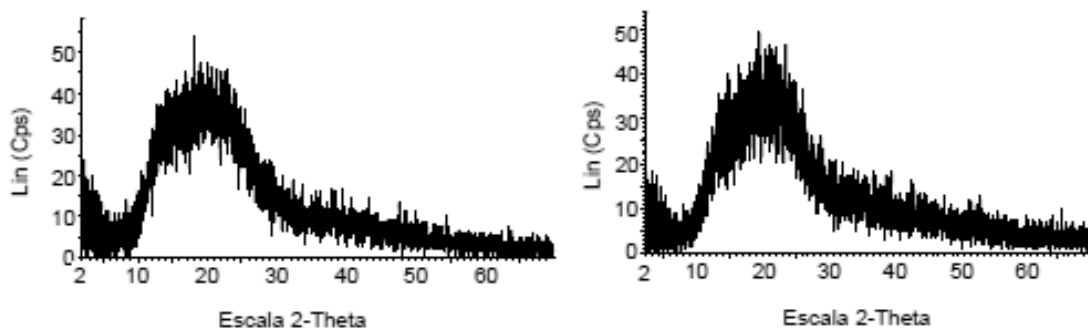


FIG. 6

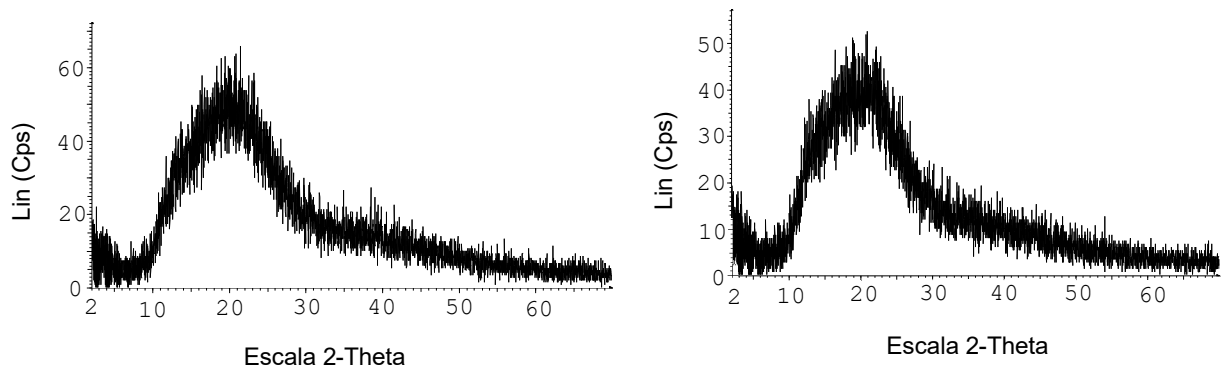


FIG. 7

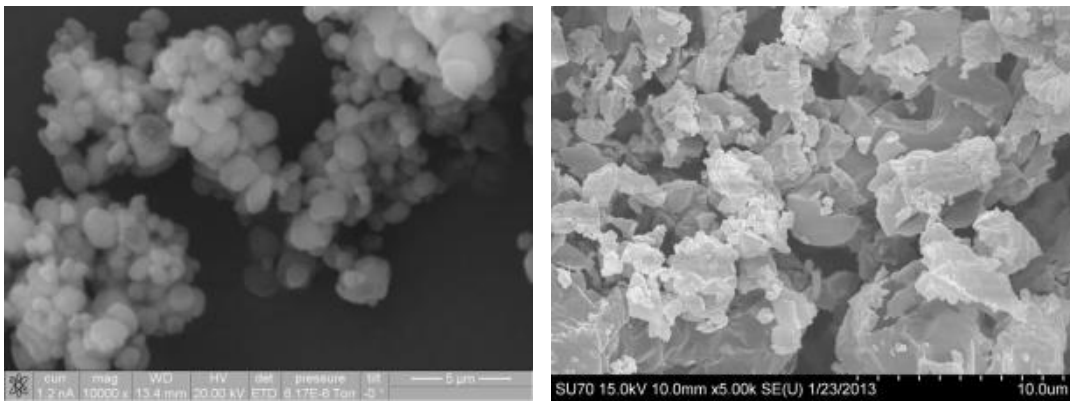


FIG. 8

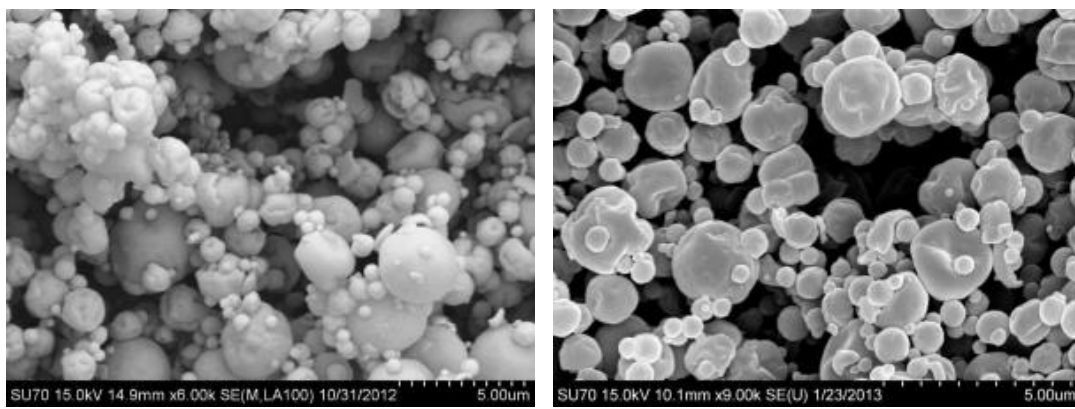


FIG. 9

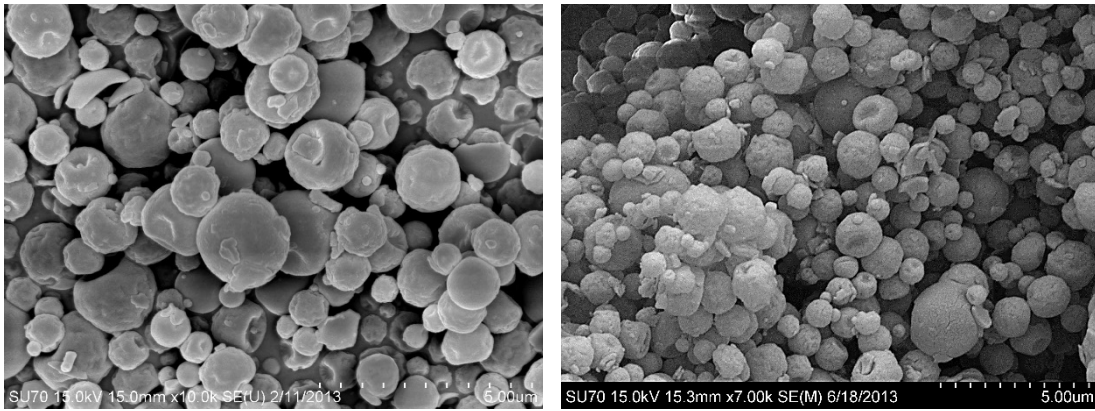


FIG. 10

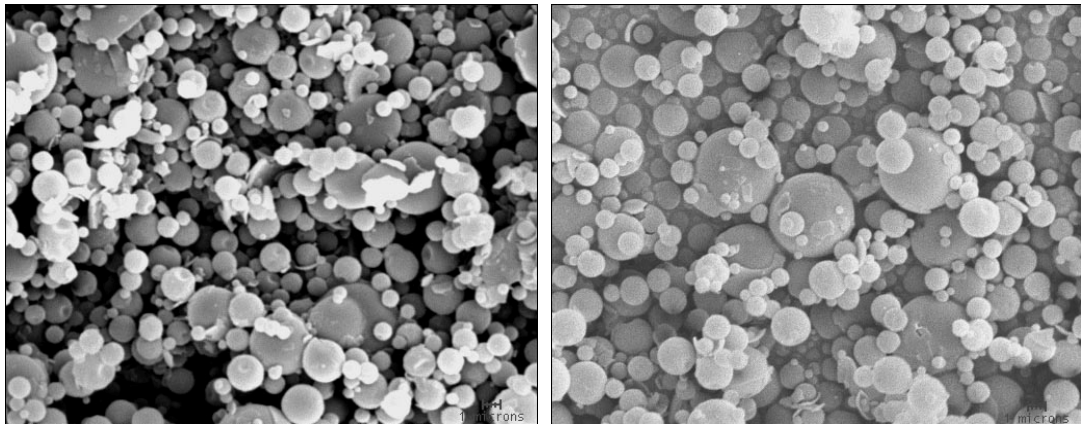


FIG. 11

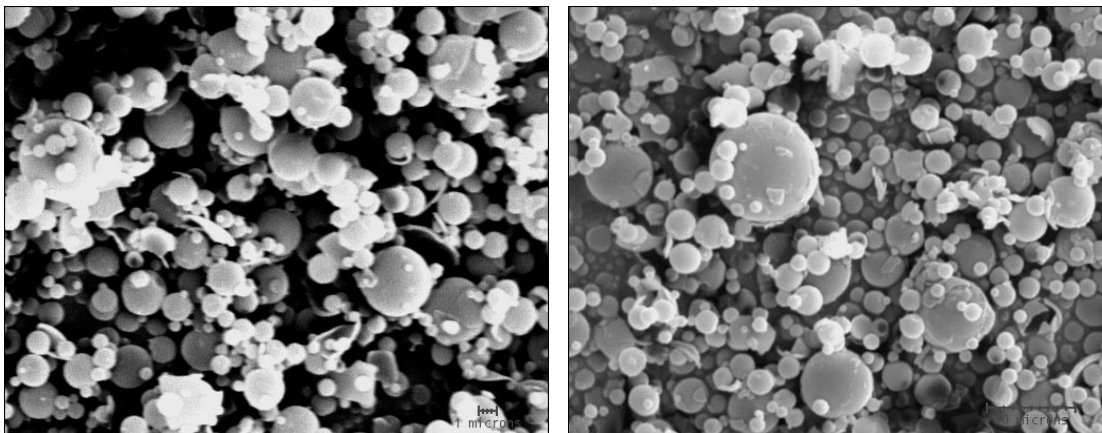


FIG. 12

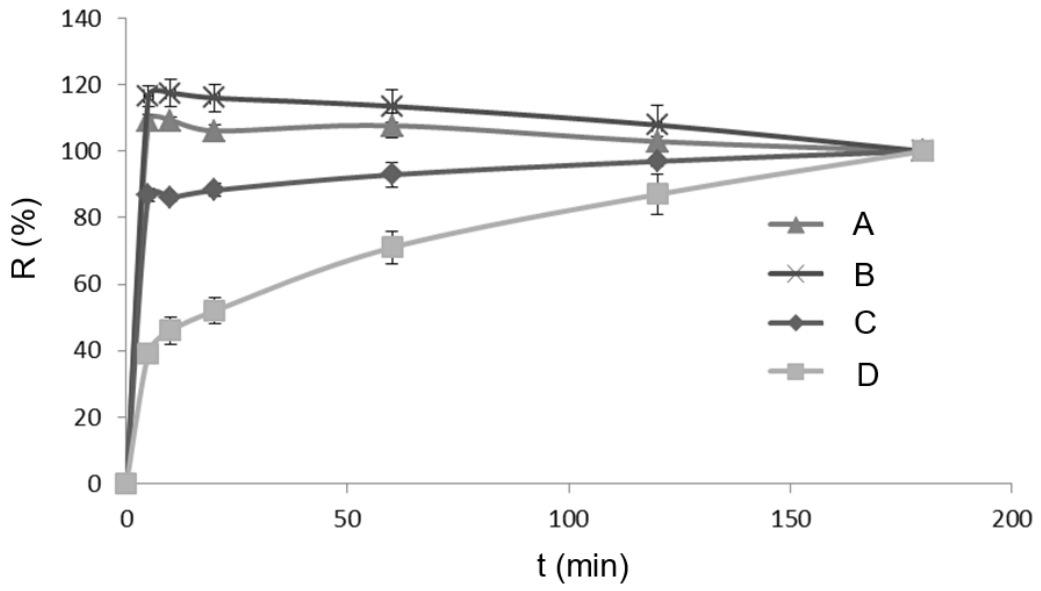


FIG. 13

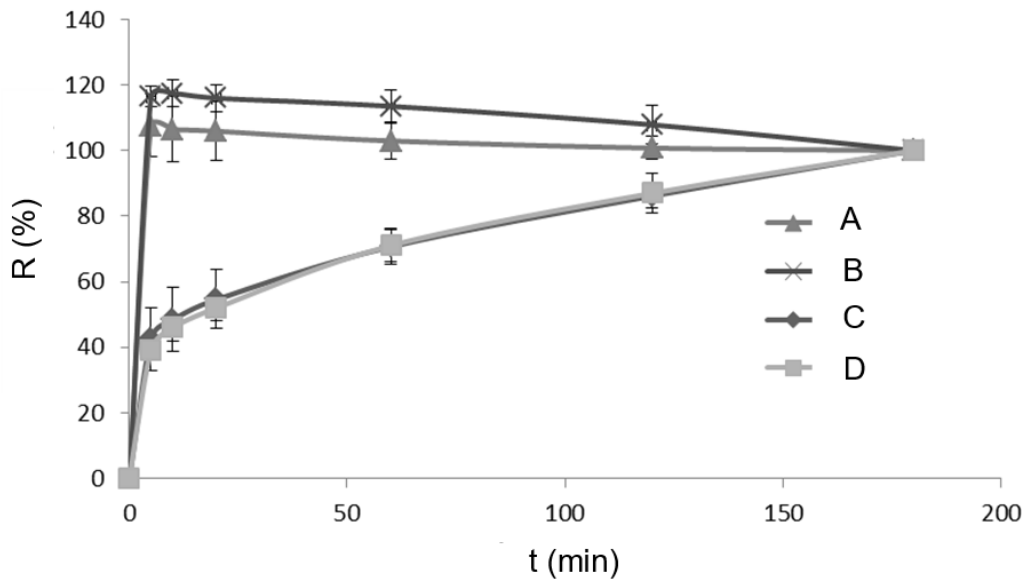


FIG. 14