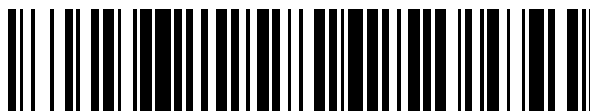


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 474**

51 Int. Cl.:

C07J 31/00 (2006.01)

C07J 71/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.05.2013** **PCT/US2013/039694**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.11.2013** **WO13169647**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.05.2013** **E 13787795 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2019** **EP 2847207**

54 Título: **Nanocristales de propionato de fluticasona**

30 Prioridad:

08.05.2012 US 201261644105 P
08.06.2012 US 201261657239 P
23.08.2012 US 201261692487 P
07.01.2013 US 201313735973
12.02.2013 US 201361763770 P
15.03.2013 US 201361788519 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.10.2019

73 Titular/es:

NICOX OPHTHALMICS, INC. (100.0%)
15 TW Alexander Drive
Durham, NC 27709, US

72 Inventor/es:

CAVANAGH, THOMAS;
BARMAN, SHIKHA P.;
HAO, TIAN;
LELAND, THOMAS B. y
THEKKEDATH, RITESH V.

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 727 474 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

Nanocristales de propionato de fluticasona.

Campo de la invención

5 La presente invención proporciona un método de producción de nanocristales estériles de un agente terapéutico hidrófobo, propionato de fluticasona, que se optimiza para cumplir con los estándares farmacéuticos de administración (por ejemplo, administración tópica o intranasal).

Antecedentes de la invención

10 Propionato de fluticasona, éster de S-fluorometilo de ácido [(6 α ,11 β ,16 α ,17 α)-6,9-difluoro-11-hidroxi-16-metil-3-oxo-17-(1-oxopropoxi)androsta-1,4-dieno-17-carbotioico], un corticosteroide fluorado sintético. Los corticosteroides constituyen una clase de esteroides principalmente sintéticos utilizados como agentes antiinflamatorios y antipruríticos. El propionato de fluticasona (FP) se ha comercializado como un corticosteroide para tratar enfermedades asociadas con la inflamación, como rinitis alérgica, asma y dermatitis atópica. Las propiedades de PK/PD de esta molécula han sido bien establecidas por su uso prolongado en seres humanos.

15 Químicamente, el propionato de fluticasona es C₂₅H₃₁F₃O₅S. El propionato de fluticasona tiene un peso molecular de 500,6. Es un polvo blanco a blanquecino y es insoluble en agua. Al igual que otros corticosteroides tópicos, el propionato de fluticasona tiene propiedades antiinflamatorias, antipruríticas y vasoconstrictoras. El mecanismo de la actividad antiinflamatoria de los esteroides tópicos, en general, no está claro. Sin embargo, se cree que los corticosteroides actúan mediante la inducción de proteínas inhibidoras de la fosfolipasa A₂, llamadas colectivamente lipocortinas. Se postula que estas proteínas controlan la biosíntesis de potentes mediadores de la inflamación, como
20 las prostaglandinas y los leucotrienos, al inhibir la liberación de su precursor común, el ácido araquidónico. El ácido araquidónico se libera de los fosfolípidos de membrana por la fosfolipasa A₂. El compuesto tiene una potente actividad antiinflamatoria y es particularmente útil para el tratamiento de trastornos respiratorios, en particular el asma. Los ensayos in vitro que utilizan preparaciones de citosol de pulmón humano han establecido propionato de fluticasona como un agonista del receptor de glucocorticoides humanos con una afinidad 18 veces mayor que la
25 dexametasona, y casi el doble que la del monopropionato de beclometasona-17 (BMP), el metabolito activo de la budesonida.

Las reacciones adversas de las formas comercializadas actuales de propionato de fluticasona incluyen signos y síntomas linfáticos; palpitaciones cardiovasculares; reacciones de hipersensibilidad, que incluyen angioedema, erupción cutánea, edema de la cara y la lengua, prurito, urticaria, broncoespasmo, sibilancias, disnea y
30 anafilaxia/reacciones anafilactoides; otitis media; amigdalitis; rinorrea/goteo posnasal/secreción nasal; dolor de oídos; tos; laringitis; ronquera/disfonía; epistaxis; amigdalitis; signos y síntomas nasales; placas orofaríngeas no especificadas; pólipos del oído, nariz y garganta; estornudos; dolor en los senos nasales; rinitis; constricción de la garganta; trastornos alérgicos de oídos, nariz y garganta; alteración o pérdida del sentido del gusto y/o el olfato; perforación del tabique nasal; sangre en la mucosa nasal; úlcera nasal; cambios de voz; perturbaciones de fluidos;
35 aumento de peso; bocio; trastornos del metabolismo del ácido úrico; trastornos del apetito; irritación de los ojos; visión borrosa; glaucoma; aumento de la presión intraocular y cataratas; queratitis y conjuntivitis; blefarconjuntivitis; náuseas y vómitos; dolor abdominal; gastroenteritis viral; gastroenteritis/colitis; infecciones gastrointestinales; malestar abdominal; diarrea; estreñimiento; apendicitis; dispepsia y trastorno estomacal; función hepática anormal; lesión; fiebre; caries dental; problemas dentales; irritación de la boca; trastornos de la boca y la lengua; colecistitis;
40 infecciones respiratorias inferiores; neumonía; artralgia y reumatismo articular; calambres y espasmos musculares; fracturas, heridas y laceraciones; contusiones y hematomas; quemaduras; inflamación musculoesquelética; trastornos óseos y del cartílago; dolor en las articulaciones; esguince/esfuerzo; trastorno/síntomas del cuello; dolor muscular; achaques y dolores; dolor en la extremidad; mareo/vértigo; temblores; efectos hipnagógicos; síndromes nerviosos comprimidos; trastornos del sueño; parálisis de los nervios craneales; migraña; nerviosismo; bronquitis;
45 congestión torácica y/o síntomas; malestar y fatiga; dolor; edema e hinchazón; infecciones bacterianas; infecciones fúngicas; trastornos de la movilidad; quistes, bultos y masas; trastornos del estado de ánimo; nasofaringitis aguda; disnea; irritación por inhalantes; urticaria; erupción cutánea; trastornos del sudor y el sebo; transpiración; fotodermatitis; dermatitis y dermatosis; infecciones virales de la piel; eczema; infecciones fúngicas de la piel; prurito; acné y foliculitis; quemaduras; hipertrichosis; aumento del eritema; urticaria; foliculitis; hipopigmentación; dermatitis
50 perioral; atrofia de la piel; estrías; miliaria; psoriasis pustulosa; infecciones urinarias; infecciones bacterianas reproductivas; dismenorrea; candidiasis de la vagina; enfermedad inflamatoria pélvica; vaginitis/vulvovaginitis; y ciclo menstrual irregular.

El mecanismo de acción de la fluticasona de todos los productos comerciales e investigativos es idéntico; la penetración de la membrana plasmática de la célula y la posterior unión de la molécula a los receptores de glucocorticoides citosólicos, representados por dos receptores separados GR- α y GR- β transcritos por un solo gen. De los dos receptores, el GR- α está implicado en la generación de respuestas antiinflamatorias. Otros mecanismos de regulación de la inflamación son a través del secuestro de proteínas a través de la unión a otros factores de transcripción proinflamatorios, como la proteína activadora (AP-1), que conduce a la inhibición de la transcripción de genes inflamatorios. El complejo GC-GR también puede actuar indirectamente a través de la inducción de proteínas

inhibitorias, por ejemplo, I κ B que suprime la actividad NF- κ B. Por lo tanto, los efectos antiinflamatorios también afectan la vía inmunológica, lo que lleva a la inmunosupresión, uno de los efectos secundarios observados con el fármaco. Otros efectos secundarios que son relevantes son los efectos oftálmicos, como el aumento de la presión intraocular (glaucoma) y el crecimiento de cataratas. Sin embargo, estos efectos secundarios se correlacionan con la concentración del fármaco y la vía de administración.

Existe la necesidad de preparaciones tópicas de fluticasona que sean adecuadas para uso oftálmico.

Pharmaceutical Research, Vol. 25(10), pp 2283-2291 (2008) describe la preparación de micropartículas de xinafoato de salmeterol y propionato de fluticasona (FP) por cristalización antisolvente de soluciones de solución de poli(etileno)glicol (PEG). Los microcristales de FP tienen una forma de partículas aciculares y la distribución del tamaño de las partículas de los microcristales de FP varía entre 0,85 y 6,73 y entre 1,94 y 17,98 micrómetros con un tamaño de partícula medio de 2,50 a 6,14 micrómetros (véase la Tabla II, página 2286/dispersante de ciclohexano). Las suspensiones de estos microcristales en propelente hidrofluoralcano pueden emplearse como inhaladores de dosis medida.

Crystal Grow & Design, Vol. 8(8), pp 2753-2764 (2008) describe un método de cristalización antisolvente de propionato de fluticasona (FP) a partir de soluciones de poli(etileno)glicol (PEG) de FP por adición de agua. Las micropartículas de FP obtenidas son cristal de polimorfo de la Forma I de PF que tienen una forma particular acicular y un tamaño medio de partícula de entre aproximadamente 2 a 6 micrómetros (Tabla 4, $D_{v, 0.5}$). Este método de cristalización antisolvente permite obtener microcristales de FP con una distribución de tamaño equivalente a los materiales micronizados comerciales y alta cristalinidad, con ausencia de material amorfo o polimorfos metaestables.

Compendio de la invención

La invención se basa en el descubrimiento de un proceso para preparar nanocristales estériles estables de fármacos hidrófobos, como los nanocristales de propionato de fluticasona. El proceso de la invención permite que las suspensiones de los nanocristales del fármaco hidrófobo (propionato de fluticasona) se concentren del 0,0001% al 10% mientras se mantienen el tamaño, la pureza, la forma (barra o placa), el pH y la osmolaridad. Este proceso permite la producción de formulaciones tópicas en concentraciones más altas tolerables que se han logrado previamente para el tratamiento de trastornos inflamatorios oftálmicos y dermatológicos. Este proceso también permite la producción de fármacos hidrófobos más cristalinos y el control de los tamaños y distribuciones de tamaño de los nanocristales de los fármacos hidrófobos. El control del tamaño y la distribución del tamaño se puede lograr seleccionando condiciones específicas del proceso, tales como temperatura, pH y/o viscosidad de las soluciones de componentes para el proceso, tipo, peso molecular y/o viscosidad del estabilizador, duración de la fusión, energía de salida de sonicación, tamaño de lote y tasas de flujo.

En un aspecto, la invención proporciona nanocristales de propionato de fluticasona que tienen un patrón de difracción de rayos X en polvo que incluye picos a aproximadamente 7,8, 15,7, 20,8, 23,7, 24,5 y 32,5 grados 2θ , además de picos a aproximadamente 9,9, 13,0, 14,6, 16,0, 16,9, 18,1 y 34,3 grados 2θ , caracterizado porque:

los nanocristales son nanoplacas que tienen el eje cristalográfico [001] sustancialmente normal a las superficies que definen el grosor de las nanoplacas,

en donde dichas nanoplacas tienen un intervalo de distribución de tamaño de 400-800 nm;

una densidad de compactación de no menos de 0,35 g/cm³,

un punto de fusión de 299,5°C con un intervalo de fusión de 10°C;

una estructura celular unitaria monoclinica, P21, a=7,7116 Å, b=14,170 Å, c=11,306 Å, beta=98,285 y el volumen es 1222,6 Å³.

La forma mórfica comprende nanoplacas de propionato de fluticasona con un intervalo estrecho de distribución de tamaño. En otras palabras, las nanoplacas son de tamaño sustancialmente uniforme.

La forma mórfica comprende nanoplacas de propionato de fluticasona con una distribución de tamaño de 400-600 nm.

Cada una de las nanoplacas tiene un grosor de entre 5 nm y 500 nm (por ejemplo, 5-400 nm, 5-200 nm, 10-150 nm o 30-100 nm).

La pluralidad de nanoplacas se caracteriza por una densidad de compactación de 0,5786 g/cm³.

La pluralidad de nanoplacas se caracteriza por un punto de fusión de 299,5°C con un intervalo de fusión de 10°C.

La pluralidad de nanoplacas se caracteriza por una velocidad de disolución en agua de aproximadamente 1 µg/g/día en agua a temperatura ambiente.

La pluralidad de nanoplacas se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente similar al que se muestra en la Fig. 31A.

La pluralidad de nanoplacas tiene una pureza superior al 80% en peso (por ejemplo, >85%, >90%, >95%, >97%, >98% o >99%).

- 5 La invención también proporciona un método para producir los nanocristales de propionato de fluticasona como se definió anteriormente, que comprende:

proporcionar una solución de fase I estéril que comprende propionato de fluticasona a una concentración del 0,4% al 1,0% p/v y polietilenglicol (PEG) 400 a una concentración de aproximadamente el 20% al 35% p/v, polipropilenglicol (PPG) 400 a una concentración de aproximadamente el 65% al 75% p/v de polisorbato 80 (Tween 80) a una
10 concentración de aproximadamente el 7,0% al 15% p/v en la solución de fase I;

proporcionar una solución de fase II estéril que comprende agua, metilcelulosa que tiene una viscosidad de aproximadamente 4 a 50 cP a una concentración de aproximadamente el 0,1% al 0,5% en la suspensión de fase III y cloruro de benzalconio a una concentración del 0,005% al 0,15% (p/p), en donde el pH de la solución de fase II no es mayor que 5,5;

- 15 mezclar la solución de fase I y la solución de fase II para obtener una mezcla de fase III, en donde se aplica sonicación al mezclar las dos soluciones y la mezcla se realiza a una primera temperatura de entre 0°C y 5°C; y

recocer la mezcla de fase III a una segunda temperatura de entre 10°C y 40°C durante un período de tiempo (T_1) de al menos 8 horas para producir una suspensión de fase III que comprende una pluralidad de nanocristales de propionato de fluticasona; opcionalmente, además, comprende la purificación de los nanocristales por filtración de
20 flujo tangencial o por centrifugación continua, en donde todos los porcentajes utilizados en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, son en peso.

Los métodos descritos aquí pueden incluir una o más de las siguientes características. Se aplica sonicación (por ejemplo, con una potencia de 10-75 W o aproximadamente 50-70 W) cuando se mezcla la solución de fase I estéril y la solución de fase II estéril.

- 25 El estabilizador de superficie en la solución de fase II comprende un estabilizador de superficie celulósico. El estabilizador de superficie celulósico es metilcelulosa con un peso molecular no mayor a 100 kDa.

La metilcelulosa se halla en una concentración de aproximadamente el 0,1% al 0,5% en la suspensión de fase III

El estabilizador de superficie celulósico utilizado para la solución de fase II es una solución acuosa. La solución acuosa del estabilizador de superficie celulósico tiene una viscosidad de aproximadamente 4 cP a 50 cP y el
30 estabilizador de superficie celulósico es la metilcelulosa.

La relación en volumen de la solución de fase I a la solución de fase II varía de 1:10 a 10:1 (por ejemplo, de 1:3 a 3:1, o de 1:2 a 2:1, o aproximadamente de 1:1).

El método comprende, además, la purificación de la pluralidad de nanocristales del agente terapéutico hidrófobo por filtración de flujo tangencial o por centrifugación de flujo continuo. El método puede comprender, además, secar la pluralidad de nanocristales del agente terapéutico hidrófobo, por ejemplo, mediante filtración, secado al vacío o centrifugación. El método puede comparar, además, después de purificar los nanocristales, por ejemplo, por centrifugación, mezclar los nanocristales purificados con una solución acuosa adecuada a la que se pueden agregar excipientes adicionales para formar una formulación final que cumpla con los criterios de la FDA para la administración oftálmica o dermatológica. Por ejemplo, la mezcla se realiza en un mezclador (por ejemplo, un
40 mezclador de laboratorio Silverson) a temperatura ambiente a 6000 RPM durante aproximadamente 60 minutos o más.

Nanocristales purificados, estables y estériles de fluticasona por mezcla de una solución estéril de fluticasona en fase I con una solución estéril de fase II que comprende cloruro de benzalconio, metilcelulosa y agua destilada para producir una suspensión de fase III que contiene una suspensión de nanocristales de fluticasona. Los nanocristales
45 están entre 400-800 nm. Para purificar, es decir, para eliminar y/o reducir la concentración de disolventes de cristalización de la solución de fase I y fase II, los nanocristales de fluticasona se lavan y se intercambian en una solución acuosa adecuada. El intercambio se realiza, por ejemplo, utilizando filtración de flujo tangencial (TFF) o cartucho de filtro de fibra hueca. En algunos aspectos, los nanocristales se intercambian en una formulación que cumple con los criterios de la FDA para la administración oftálmica o dermatológica. Alternativamente, los
50 nanocristales se intercambian en una solución acuosa estéril a la que se agregan excipientes adicionales para formar una formulación final que cumple con los criterios de la FDA para administración oftálmica o dermatológica. La concentración de fluticasona en la solución amortiguadora acuosa final es aproximadamente del 0,0001% al 10% (p/v). En algunos aspectos, se realiza una etapa de recocido antes de la etapa de intercambio del regulador. La etapa de recocido se realiza a aproximadamente 25-40°C y tiene una duración de entre aproximadamente 30
55 minutos y 24 horas.

La fluticasona de la solución de fase I se encuentra en una concentración de aproximadamente el 0,4% al 1,0% p/v. Más preferiblemente, la fluticasona de la solución de fase I está en una concentración de aproximadamente el 0,45% p/v.

La solución de fase I contiene, además, Tween 80, polietilenglicol (PEG) 400 y polipropilenglicol (PPG) 400. El Tween 80 está en una concentración de aproximadamente el 7,0% al 15% p/v. El PEG 400 está en una concentración de aproximadamente el 20 al 35% (p/v). El PPG 400 está en una concentración de aproximadamente el 65% al 75% (p/v). En una realización preferida, la solución de fase I contiene fluticasona a una concentración de aproximadamente el 0,45% p/v, Tween 80 a una concentración de aproximadamente el 7,44%, PEG 400 a una concentración de aproximadamente el 23% (p/v) y PPG 400 a una concentración de aproximadamente el 69,11% (p/v).

La mezcla de la fase I y la fase II se realiza a una temperatura de 0-5°C (por ejemplo, 0-2°C, 2-4°C). La relación en volumen de la fase I a la fase II es de 0,15 a 0,3 o de 1:1 a 1:3. La solución de fase I se mezcla con la solución de fase II a una velocidad de flujo de 0,5 a 1,4 ml/min, en donde la solución de fase II es estacionaria. Véase, por ejemplo, la Fig. 3. En otras realizaciones, la fase III se forma en un reactor de flujo combinando la solución de fase I a una tasa de flujo de 0,5-900 ml/min (por ejemplo, 0,5-2,0 ml/min, 10-900 ml/min, 12-700 ml/min, 50-400 ml/min, 100-250 ml/min, o 110-130 ml/min) y la solución de fase II a una tasa de flujo de 2,5-2100 ml/min (por ejemplo, 2,5-10 ml/min, 10-900 ml/min, 12-700 ml/min, 50-400 ml/min, 100-250 ml/min, o 110-130 ml/min). Véase, por ejemplo, la Fig. 4. En algunas realizaciones, la tasa de flujo de la fase I y el de las soluciones de la fase II son sustancialmente iguales. En otras realizaciones, la tasa de flujo de la fase I es menor que la de la fase II, por ejemplo, la relación en volumen de la solución de fase I a la solución de fase II es de aproximadamente 1:2 o 1:3. En algunas realizaciones, la tasa de flujo de la suspensión de fase III que sale de un reactor de flujo es de aproximadamente 20-2800 ml/min (por ejemplo, de aproximadamente 100-800 ml/min o 200-400 ml/min). Opcionalmente, la mezcla de fase III se somete a sonicación.

En algunas realizaciones, el regulador acuoso final comprende metilcelulosa, un potenciador de la permeación y un agente humectante. La metilcelulosa está, por ejemplo, a una concentración de aproximadamente el 0,5% (p/v).

También se incluye en la invención una composición tópica farmacéutica que comprende una suspensión del 0,001% al 5% de los nanocristales de propionato de fluticasona como se definió anteriormente y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición está sustancialmente libre de disolventes orgánicos. Los nanocristales tienen un tamaño promedio que oscila entre 400-800 nm (por ejemplo, 400-600 nm o 500-700 nm). Los nanocristales no se aglomeran y no aumentan de tamaño en un período de 24 horas. Los nanocristales son nanoplacas de nanoplacas de propionato de fluticasona que tienen el eje cristalográfico [001] sustancialmente normal a las superficies que definen el grosor de las nanoplacas. Las nanoplacas pueden tener un grosor que oscila entre aproximadamente 5 nm y 100 nm. Opcionalmente, los nanocristales están recubiertos con metilcelulosa.

Además, la invención proporciona una formulación estéril de fluticasona con nanocristales tópicos que contiene una suspensión de entre el 0,001% y el 5% p/v de nanocristales de fluticasona de la invención y un excipiente acuoso farmacéuticamente aceptable. En algunos aspectos, la formulación tiene una viscosidad de entre 10-20 cP a 20°C. La osmolaridad de la formulación es de aproximadamente 280-350 mOsm/kg. El pH de la formulación es de aproximadamente 6-7,5.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar o aliviar un síntoma de un trastorno ocular (por ejemplo, blefaritis, disfunción de la glándula de Meibomio, dolor posoperatorio o inflamación ocular posoperatoria, ojo seco, alergia ocular o uveítis) administrando, por ejemplo, tópicamente al borde del párpado, piel o superficie ocular de un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de las formulaciones (por ejemplo, formulaciones tópicas) de la invención. La formulación se administra, por ejemplo, mediante el uso de un aplicador (por ejemplo, un cepillo o un hisopo). En una realización, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la formulación a un sujeto que la necesita para tratar la blefaritis, por ejemplo, a través de un aplicador (por ejemplo, un cepillo como el cepillo Latisse® o un hisopo como el hisopo 25-3317-U). En algunas realizaciones, la formulación es una formulación de propionato de fluticasona nanocristalina tópica estéril que contiene una suspensión de entre el 0,001% y el 5% de nanocristales FP de la invención (por ejemplo, 0,01-1%, o aproximadamente 0,25%, 0,1% o 0,05%), y un excipiente acuoso farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la formulación contiene además aproximadamente el 0,002-0,01% (por ejemplo, 50 ppm $\pm$ 15%) de cloruro de benzalconio (BKC). En algunas realizaciones, la formulación contiene además uno o más dispersantes de recubrimiento (por ejemplo, Tyloxapol, polisorbato 80 y estearato de PEG como estearato de PEG40), uno o más agentes humectantes de tejidos (por ejemplo, glicerina), uno o más estabilizadores poliméricos (por ejemplo, metilcelulosa 4000 cP), uno o más agentes de amortiguación (por ejemplo, fosfato de sodio dibásico Na_2HPO_4 y fosfato de sodio monobásico NaH_2PO_4 , y/o uno o más agentes de ajuste de la tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio). En algunas realizaciones, la formulación tiene una viscosidad de entre 40-50 cP a 20°C. En algunas realizaciones, la osmolaridad de la formulación es de aproximadamente 280-350 (por ejemplo, de aproximadamente 285-305) mOsm/kg. En algunas realizaciones, el pH de la formulación es aproximadamente 6,8-7,2. En algunas realizaciones, la formulación tiene una viscosidad de entre 40-50 cP a 20°C. En algunas realizaciones, los nanocristales FP en la formulación tienen un tamaño promedio de 300-600 nm, un tamaño promedio de 500-700 nm, un valor D50 de 300-600 nm y/o un valor D90 de menos de 2 μm (por ejemplo, menos de 1,5 μm).

En otro aspecto más, la invención proporciona los nanocristales reivindicados para su uso en un método para tratar o aliviar una enfermedad respiratoria (por ejemplo, asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)), rinitis, dermatitis o esofagitis mediante la administración a un sujeto en la necesidad de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica de la invención.

- 5 También se proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables y los nanocristales de fármacos hidrófobos (por ejemplo, propionato de fluticasona) producidos por los métodos de la invención. La composición puede estar en forma de polvo seco/inhaladores, preparaciones oftálmicas, aerosoles, ungüentos, cremas, píldoras, etc.

- 10 En un aspecto adicional, la invención proporciona un aplicador de poliuretano semiflexible que comprende nanocristales de fluticasona de la invención y un excipiente acuoso farmacéuticamente aceptable.

- 15 En otro aspecto más, la invención proporciona un dispositivo quirúrgico o implantable (por ejemplo, un stent, balón de angioplastia, catéter, derivación, instrumento de acceso, guía, sistema de injerto, dispositivo de imagen intravascular, dispositivo de cierre vascular, accesorio de endoscopia u otro dispositivo descrito aquí) recubierto o impregnado con los cristales de propionato de fluticasona de la invención. En algunas realizaciones, recubrir o incrustar cristales de propionato de fluticasona en un dispositivo quirúrgico o implantable modifica el tiempo de liberación del fármaco. Por ejemplo, recubrir o incrustar cristales de propionato de fluticasona en un dispositivo quirúrgico o implantable prolonga el tiempo de liberación del fármaco.

- 20 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que se refiere esta invención. Aunque los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento se pueden usar en la práctica de la presente invención, los métodos y materiales adecuados se describen a continuación. En casos de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos descritos aquí son solo ilustrativos y no pretenden ser limitativos.

- 25 Las ventajas de los métodos de la invención incluyen que el producto (por ejemplo, nanocristales del fármaco hidrófobo) es más puro (o al menos no menos puro), es más cristalino y/o es más estable que el material de reserva del fármaco. Las ventajas también incluyen que el tamaño y la distribución de tamaño del producto son controlables y que el tamaño del producto puede ser sustancialmente uniforme (lo que puede conducir a un mejor control de la liberación del fármaco in vivo), y que los métodos de la invención causan poca o ninguna degradación al fármaco. Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones.

- 30 Breve descripción de las figuras.

La Fig. 1 es un resumen de las características físicas y químicas del propionato de fluticasona.

La Fig. 2 es un cromatograma de HPLC de propionato de fluticasona y sus impurezas comunes.

La Fig. 3 es un esquema de una realización del proceso de la invención (indicado como "proceso por lotes").

- 35 La Fig. 4 es un esquema de otra realización del proceso de la invención (indicado como "proceso de flujo").

La Fig. 5 es un gráfico que muestra que los tamaños promedio de los nanocristales de propionato de fluticasona son controlables cambiando las composiciones específicas de la solución de fase II.

- 40 La Fig. 6 es un gráfico que muestra los tamaños de partículas del propionato de fluticasona producido por técnicas de arriba hacia abajo, tales como microfluidificación, molienda por chorro de agua, sonicación por ultrasonido (molienda húmeda) y homogeneización.

La Fig. 7 es un gráfico que muestra el efecto del pH de la solución de fase II sobre el tamaño de partícula del propionato de fluticasona.

La Fig. 8 es un gráfico que muestra el efecto de diferentes estabilizantes en solución de fase II sobre el tamaño de partícula de propionato de fluticasona.

- 45 La Fig. 9 es un gráfico que muestra el efecto del pH de la mezcla de fase III sobre el tamaño de partícula del propionato de fluticasona.

La Fig. 10 es un gráfico que muestra que los nanocristales de propionato de fluticasona purificados no se agregan con el tiempo.

- 50 La Fig. 11 es un gráfico que muestra el efecto de la temperatura cuando se mezclan las soluciones de fase I y fase II en el tamaño de partícula del propionato de fluticasona.

La Fig. 12 es un gráfico que muestra el efecto de la temperatura de recocido y sobre el tamaño de partícula de

propionato de fluticasona con una concentración del 0,1% en la suspensión de fase III.

La Fig. 13 es un gráfico que muestra el efecto de la temperatura de recocido y sobre el tamaño de partícula de propionato de fluticasona con una concentración del 10% en la suspensión de fase III.

La Fig. 14 es un gráfico que muestra el efecto del tipo de filtro en la pérdida de cristales de fármaco.

- 5 La Fig. 15 es un gráfico que muestra el efecto del tamaño de poro del filtro en la pérdida de cristales de fármaco.

La Fig. 16 es un gráfico que muestra la dispersabilidad de las formulaciones en función de la escala de lotes (de izquierda a derecha: 20 g, 100 g, 250 g, 1000 g y 2000 g).

La Fig. 17 es un gráfico que muestra la dispersabilidad de las formulaciones en función de la concentración de PF (de izquierda a derecha: 10%, 5%, 1%, 0,1%, 0,05%, 0,01% y 0,005%).

- 10 La Fig. 18 es un gráfico que muestra la uniformidad de la formulación en función del tiempo.

La Fig. 19 es un esquema de un reactor de flujo.

La Fig. 20 es un gráfico que muestra el efecto de las tasas de flujo en el tamaño de partícula del propionato de fluticasona en el proceso de flujo.

- 15 Las Fig. 21A-C son gráficos que muestran las distribuciones de tamaño de partícula de los nanocristales de FP producidos por el proceso por lotes, las partículas de FP creadas por homogeneización y la reserva de FP recibida del fabricante.

La Fig. 22 es un grupo de gráficos que muestran la estabilidad del tamaño de partícula de la nanosuspensión del propionato de fluticasona, a 25°C y 40°C durante hasta 75 días.

- 20 La Fig. 23 es un gráfico que muestra las tasas de disolución de propionato de fluticasona homogeneizado (1-5 micrones, representadas por puntos cuadrados grises) y cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes (400-600 nm, representados por puntos de diamante negro).

Las Figs. 24A y 24B son cromatogramas de material de reserva de propionato de fluticasona y nanocristales producidos por el proceso por lotes, respectivamente.

- 25 Las Figs. 25A y 25B son micrografías ópticas (modelo: OMAX, 1600X) de cristales de propionato de fluticasona secos preparados por el proceso por lotes y el material de reserva FP, respectivamente.

Las figs. 26A y 26B son micrografías electrónicas de barrido de cristales de propionato de fluticasona secos preparados por el proceso por lotes.

Las Figs. 27A y 27B son micrografías electrónicas de barrido de material de reserva de propionato de fluticasona seco y cristales de FP preparados por homogeneización, respectivamente.

- 30 Las Figs. 28A y 28B son DSC/TGA combinados de nanocristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes y el material de reserva FP, respectivamente.

La Fig. 29 es una exploración espectroscópica infrarroja por transformada de Fourier de nanocristales FP producidos por el proceso por lotes de la invención.

La Fig. 30 es un escaneo espectroscópico infrarrojo por transformada de Fourier de material de FP.

- 35 La Fig. 31A es un patrón XRPD de nanocristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes (negro).

La Fig. 31B es un patrón XRPD de nanocristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes (negro) superpuestos con el patrón XRPD calculado del polimorfo 1 (rojo) y el polimorfo 2 (azul) superpuestos. Las flechas azules muestran algunas de las diferencias en los patrones de XRPD.

- 40 La Fig. 38 es un esquema que muestra una realización del proceso de la invención para el proceso de producción y purificación de nanocristales de propionato de fluticasona.

Descripción detallada de la invención

La invención describe métodos y composiciones para producir nanocristales estériles (opcionalmente nanosuspensiones) de un agente terapéutico hidrófobo, propionato de fluticasona, que se optimizan para cumplir con los estándares farmacéuticos de administración (por ejemplo, administración tópica o intranasal). Las composiciones producidas por los métodos son ideales para el tratamiento tópico de trastornos inflamatorios tales como trastornos oftálmicos y trastornos dermatológicos. Las composiciones producidas por los métodos también son ideales para el tratamiento sistémico o no sistémico de trastornos para los que se usan los fármacos hidrófobos en las composiciones, tales como trastornos inflamatorios, trastornos respiratorios, enfermedades autoinmunes y cáncer.

Los nanocristales de fármacos fabricados por los métodos de la invención, cuando se administran a un sujeto que los necesita, pueden estar en diversas formas que sean adecuadas para la vía de administración específica, por ejemplo, la forma de gotas para los ojos, geles, pomadas, polvos secos, geles, aerosoles o una suspensión coloidal (por ejemplo, una suspensión líquida). Por ejemplo, los nanocristales de medicamentos son la fase “dispersa”, suspendida en otra fase que es la fase “continua”. Una nanosuspensión se puede definir como dispersiones coloidales de partículas de fármaco de tamaño nanométrico que se producen mediante un método adecuado y se estabilizan con un estabilizador adecuado o un estabilizador de superficie. A menos que se especifique lo contrario, las expresiones “estabilizador”, “estabilizador de superficie” y “estabilizador estérico” se usan indistintamente en este documento. En una realización, el fármaco se administra o se formula para su administración por vía sistémica o local. Por ejemplo, el medicamento se suministra o se formula para su administración en forma directa o mediante un aplicador (por ejemplo, un cepillo o un hisopo). Por ejemplo, el medicamento se administra o se formula para su administración a través de una ruta local a un tejido, como un tejido ocular y/o anexos. El fármaco puede administrarse o formularse para administración por inyección intraocular, intravítrea, subretiniana, intracapsular, supracoroidea, subtenoniana, subconjuntival, intracameral, intrapalpebral, cul-de-sac retrobulbar o peribulbar. El fármaco también puede administrarse o formularse para suministro a través de una aplicación tópica a un tejido, como un tejido ocular y/o anexos. El medicamento también puede administrarse o formularse para suministro a través de un dispositivo implantable o quirúrgico (por ejemplo, administración de fármacos).

Las nanosuspensiones, como las suspensiones de nanocristales, de medicamentos insolubles pueden reducir dramáticamente su concentración efectiva al aumentar la biodisponibilidad. Por “biodisponible” se entiende un fármaco disuelto que está disponible molecularmente para la absorción por las células.

El propionato de fluticasona es casi insoluble en agua con una solubilidad de 0,14 microgramos/ml. Dado que la mayoría de las suspensiones oftálmicas son acuosas, el tamaño de partícula de un fármaco insoluble determina su velocidad de disolución en un fármaco disuelto (o un fármaco biodisponible) en un momento dado. Una forma de mejorar la biodisponibilidad es asegurar una solución de fármaco completamente disuelta. Para fármacos insolubles, la forma de aumentar la biodisponibilidad de un fármaco insoluble en agua es mediante la utilización de formas de dosificación micronizadas o nanométricas. En el caso del propionato de fluticasona, la velocidad de disolución se incrementa dramáticamente al disminuir el tamaño de partícula. La tasa de liberación de partículas de propionato de fluticasona de tamaño 800-900 nm es mucho mayor que la de partículas >10 micrones. Por lo tanto, las nanosuspensiones de propionato de fluticasona tienen el potencial de producir medicamentos potentes que son eficaces en concentraciones que no causan efectos secundarios adversos. En concentraciones más altas, el propionato de fluticasona puede causar una elevación de la presión intraocular que conduce a glaucoma y cataratas. Una formulación eficaz de propionato de fluticasona se puede prever en concentraciones más bajas, si el fármaco es nanoparticulado, o en una forma mórfica que es más soluble en agua. Para el propionato de fluticasona, la concentración eficaz en productos farmacéuticos comercializados oscila entre el 0,005% (Cutivate) y el 0,5% (Flonase). Por lo tanto, hacer que un medicamento sea “eficaz” en concentraciones no contempladas previamente para esa indicación sería un resultado sorprendente e inesperado. Por lo tanto, en el diseño de medicamentos tópicos que requieren alivio inmediato, luego alivio sostenido, se supone que una suspensión de nanocristalina que también es bioadhesiva, ayudará a mejorar el tiempo de residencia del fármaco, al tiempo que aumenta la biodisponibilidad. En los ejemplos descritos en esta invención, se desarrollaron suspensiones de propionato de fluticasona para el tratamiento de la blefaritis, que se caracteriza por la inflamación e infección del párpado. Sin embargo, las composiciones de propionato de fluticasona descritas en el presente documento también pueden utilizarse para la prevención o el tratamiento de otras afecciones inflamatorias oftálmicas. Por ejemplo, las composiciones descritas en la invención se pueden usar para el cuidado posoperatorio después de la cirugía. Por ejemplo, la composición de la invención se puede usar para controlar el dolor después de la cirugía, el control de la inflamación después de la cirugía, la trabeculectomía con láser de argón y los procedimientos fotorrefractivos. Además, las composiciones de propionato de fluticasona se pueden usar para tratar otros trastornos oftálmicos, como alergias oftálmicas, conjuntivitis alérgica, uveítis por edema macular cistoide o disfunción de la glándula de Meibomio. Además, las composiciones de propionato de fluticasona se pueden usar para tratar trastornos dermatológicos como la dermatitis atópica, la lesión dermatológica, el eczema, la psoriasis o la erupción.

Desafíos de la producción de nanocristales estables de drogas hidrófobas

La fabricación exitosa de nanosuspensiones tiene dos desafíos principales. El primer desafío es la generación de partículas que son del tamaño deseado. Para la mayoría de los medicamentos que son insolubles en agua, el tamaño de partícula deseado es submicrónico, que va desde el bajo nm hasta el alto (10-990 nm). La segunda etapa es mantener el tamaño de partícula a largo plazo. Ambas etapas son desafiantes.

- 5 Las suspensiones de medicamentos normalmente se preparan mediante técnicas “de arriba a abajo”, mediante las cuales la dispersión se rompe mecánicamente en partículas más pequeñas. Técnicas como la molienda húmeda, la sonicación, la microfluidización y la homogeneización a alta presión son ejemplos de esta técnica para crear partículas micronizadas y nanométricas. En la homogeneización a alta presión, el tamaño del nanocrystal resultante del proceso depende no solo de la dureza del material del fármaco, sino también de la presión de homogeneización y del número de ciclos. Sin embargo, no depende del tipo de estabilizador. Por lo tanto, la eficiencia del estabilizador, ya sea que sea o no capaz de evitar la agregación de las partículas, se muestra después del procesamiento y durante el almacenamiento. En consecuencia, es extremadamente importante entender los fenómenos involucrados en la formación de partículas en el proceso particular utilizado.

- 15 Durante la molienda o métodos mecánicos de reducción de tamaño de partícula, dos procesos opuestos están interactuando en el recipiente de molienda: la fragmentación de material en partículas más pequeñas y el crecimiento de las partículas a través de las colisiones entre las partículas. La ocurrencia de estos dos fenómenos opuestos depende de los parámetros del proceso. A menudo, después de cierto punto temporal, el tamaño de partícula ha alcanzado un nivel constante y la continuación de la molienda no disminuye más aún el tamaño de partícula. En algunos casos, un aumento del tiempo de molienda puede incluso conducir a un aumento gradual del tamaño de partícula y la heterogeneidad del material, mientras que la disminución de tamaños de partícula se consiguen con velocidades de molienda disminuidas. Los cambios en la forma física o amorfización también son posibles durante la molienda. La presión mecánica por encima de ciertos valores críticos de presión aumenta las vibraciones de la red, que desestabilizan la red cristalina. El número de defectos aumenta y la transformación en un estado amorfo se produce por encima de una concentración crítica de defectos. Las altas tensiones en los cristales de fármaco durante las técnicas de reducción de partículas dan como resultado la desestabilización de la estructura cristalina, pérdida de la cristalinidad y, a veces, se desplazan a formas polimórficas menos estables. La creación de regiones amorfas en las estructuras cristalinas conduce a un aumento gradual del tamaño de partícula a medida que la suspensión se desplaza de nuevo a una morfología cristalina estable.

- 30 Otro desafío para la fabricación de nanocristales es el crecimiento gradual del tamaño de las partículas, también llamado “maduración de Ostwald”. El crecimiento de cristales en suspensiones coloidales se conoce generalmente como la maduración de Ostwald y es responsable de los cambios en el tamaño de las partículas y la distribución del tamaño. La maduración de Ostwald se origina a partir de la dependencia de la solubilidad de las partículas de su tamaño. Los cristales pequeños tienen mayor solubilidad de saturación que los grandes según la ecuación de Ostwald-Freundlich, lo que crea un gradiente de concentración de fármaco entre los cristales pequeños y los grandes. Como consecuencia, las moléculas se difunden desde la concentración más alta que rodea los cristales pequeños a las áreas alrededor de los cristales más grandes con una concentración de fármaco más baja. Esto genera un estado de solución supersaturada alrededor de los cristales grandes, lo que lleva a la cristalización del fármaco en los cristales grandes. Este proceso de difusión deja una solución insaturada que rodea los pequeños cristales, causando la disolución de las moléculas del fármaco de los pequeños cristales en el medio a granel. Este proceso de difusión continúa hasta que todos los pequeños cristales se disuelven. La maduración de Ostwald es esencialmente un proceso en el que las grandes partículas de cristales a expensas de cristales más pequeños. Esto posteriormente conduce a un cambio en el tamaño de los cristales y la distribución del tamaño de la suspensión coloidal a un rango más alto. Las dispersiones con el fármaco disuelto en la fase continua también invariablemente conducen a la inestabilidad en el tamaño de partícula.

- 45 Otro desafío con los nanocristales es la aglomeración o acumulación de partículas. El estabilizador desempeña un papel crítico en la estabilización de la dispersión. El estabilizador necesita adsorber las superficies de las partículas para que se logre una estabilización adecuada. Además, la adsorción debe ser lo suficientemente fuerte como para durar mucho tiempo. La adsorción del estabilizador puede ocurrir por interacción iónica, enlaces hidrógeno, interacción de Van der Waals o interacciones iónicas-dipolares o por efecto hidrófobo.

- 50 Siempre se deben considerar las posibles interacciones entre los grupos funcionales de un estabilizador y los materiales de medicamentos antes de seleccionar el par de medicamento-estabilizador. Muchos fármacos tienen estructuras que contienen funcionalidades como fenoles, aminas, grupos hidroxilo, éteres o grupos de ácido carboxílico, que son capaces de interacciones. Las interacciones iónicas fuertes, los enlaces hidrógeno, las fuerzas inducidas por el dipolo y las interacciones débiles de Van der Waals o London pueden aumentar o alterar la formación de partículas. El nivel de concentración del estabilizador también es importante. La adsorción/área es una propiedad de superficie que generalmente no depende del tamaño de partícula. Como la cantidad adsorbida se correlaciona con el área superficial, esto significa que la cantidad total de estabilizador está directamente relacionada con el tamaño de los cristales. La adsorción de las moléculas de polímero en las superficies de los cristales tiene lugar cuando la reducción de energía libre debida a la adsorción compensa la pérdida de entropía que la acompaña. Debido a que la estabilización estérica se basa en procesos de adsorción/desorción, las variables del proceso como la concentración del estabilizador, el tamaño de las partículas, el disolvente, etc. son factores importantes para la efectividad del estabilizador.

Otra forma de estabilizar el tamaño de los cristales ha sido el secado por pulverización de la suspensión de partículas en presencia de estabilizadores específicos, una técnica que se ha utilizado para generar micropartículas en aerosol de propionato de fluticasona. Las combinaciones de métodos de arriba hacia abajo también se utilizan para generar partículas del tamaño deseado. Otro método más para estabilizar el tamaño de partícula ha sido liofilizar la suspensión de partículas.

El otro método comúnmente utilizado para crear nanosuspensiones es el método de precipitación con antidisolvente, por lo que una solución de fármaco se precipita como nanocristales en un antidisolvente. Este enfoque se denomina enfoque de cristalización "de abajo hacia arriba", con lo cual los nanocristales se producen in situ. La precipitación del fármaco como nanocristales suele ir acompañada de homogeneización o sonicación. Si el fármaco se disuelve en un disolvente orgánico como la acetona antes de la precipitación, el disolvente orgánico debe eliminarse después de la formación de las partículas. Esto se realiza generalmente por evaporación del disolvente. Esta etapa de evaporación plantea desafíos a este método de formación de partículas, ya que el proceso de evaporación puede alterar la dinámica de la estabilización de partículas que, a menudo, se ve como aumentos rápidos en el tamaño de las partículas. Además, los niveles residuales de disolventes orgánicos con frecuencia permanecen unidos a los excipientes utilizados en la formulación. Por lo tanto, este método, aunque explorado, tiene sus desafíos y en general no se prefiere.

Los nanocristales de un fármaco hidrófobo producido por el proceso definido en esta invención no usan disolventes orgánicos tóxicos que necesiten ser removidos y no muestran la inestabilidad de partículas definida en las secciones anteriores.

Características principales de la invención

Esta invención proporciona un proceso de sonocrystalización/purificación que puede producir nanocristales de un medicamento (por ejemplo, un medicamento hidrófobo) o suspensiones que contienen los nanocristales. El proceso: (a) incorpora filtración estéril de todos los componentes antes de la producción de los nanocristales, (b) produce los cristales al tamaño deseado, (c) estabiliza los nanocristales mediante el uso de composiciones estabilizadoras estéricas específicas, en combinación con el recocido a temperaturas específicas, (d) proporciona al formulador la flexibilidad para purificar las partículas al reemplazar la fase continua original con otra fase continua y (d) proporciona la flexibilidad para lograr una concentración final deseada de fármaco en el vehículo de formulación final. En la etapa (d), la importancia de la etapa de purificación puede ser un aspecto clave y crítico de la invención, ya que la composición que produce y estabiliza las partículas en un tamaño deseado está matizada y depende de los parámetros de fuerza iónica, peso molecular y estructura del polímero y pH. La composición utilizada para crear las partículas generalmente no es la composición que el formulador prevé como la formulación final o la concentración final del fármaco. Esto se aborda mediante secado por aspersión o liofilización. Los nanocristales producidos por este proceso son del intervalo de tamaño 400-800 nm (por ejemplo, 400-600 nm). El tamaño y la distribución de tamaños de los nanocristales de la invención se pueden determinar por métodos convencionales, como la dispersión dinámica de la luz (DLS), la microscopía electrónica de barrido (SEM), la microscopía electrónica de transmisión (TEM) y la difracción de rayos X en polvo (XRPD). En esta invención, los nanocristales se purifican por intercambio con el amortiguador compatible con el tejido, biocompatible final.

Proceso de dos partes: El proceso se caracteriza por un proceso de dos partes para preparar nanocristales, definido como Etapa 1 y Etapa 2. Opcionalmente, el proceso es una sola etapa, con lo cual la formulación final se prepara en una sola etapa (solo Etapa 1). Para el proceso de dos etapas (Etapa 1, seguido de la Etapa 2), la primera parte del proceso es la producción de nanocristales en el tamaño deseado (Etapa 1). La segunda parte del proceso es la purificación con nanocristales para producir nanocristales altamente puros suspendidos a la concentración de fármaco deseada y la composición de excipiente optimizada para la formulación final (Etapa 2).

Concentraciones de fármaco: en una realización preferida, la concentración inicial de nanocristales (después de la Etapa 1) es al 0,1% del medicamento (FP), pero la formulación final puede ser tan alta como el 10% (después de la Etapa 2). La concentración inicial de la suspensión puede ser inferior al 0,1% (en la Etapa 1) y concentrada al 10% durante el proceso de purificación (Etapa 2) con la misma composición del vehículo, o una composición del vehículo diferente. La concentración inicial de la suspensión puede ser del 0,1% o inferior al 0,1%, preferiblemente del 0,06%. La suspensión inicial puede purificarse a una concentración más baja (en la Etapa 2) con la misma composición del vehículo, o una composición del vehículo diferente. En una composición preferida, la suspensión inicial puede formarse al 0,06% (en la Etapa 1) y purificarse al 0,06% o menos (en la Etapa 2) con la misma composición inicial del vehículo, o una composición diferente del vehículo. La concentración inicial de la nanosuspensión puede ser del 1%, 1%-0,5%, 0,5%-0,1%, 0,1%-0,05%, 0,05%-0,01%, 0,01%-0,005%, 0,005%-0,001%, 0,001%-0,0005%, 0,0005%-0,0001%, 0,0001%-0,00001%.

La etapa 1 comprende la disolución del medicamento en excipientes aprobados por la FDA para crear la Fase I. La solución (Fase I) se filtra luego en forma estéril a través de un filtro de PVDF (fluoruro de polivinilideno) de 0,22 micrones. Se prepara una solución que contiene una composición específica de un estabilizador estérico a cierta viscosidad, pH y fuerza iónica. Esta es la fase II. El fármaco es propionato de fluticasona. En otra realización, el fármaco es cualquier forma salina de propionato de fluticasona.

En una realización, la etapa 1 incluye:

- 5 proporcionar una solución de fase I estéril que comprende propionato de fluticasona a una concentración del 0,4% al 1,0% p/v y polietilenglicol (PEG) 400 a una concentración de aproximadamente el 20% al 35% p/v, polipropilenglicol (PPG) 400 a una concentración de aproximadamente el 65% al 75% p/v de polisorbato 80 (Tween 80) a una concentración de aproximadamente el 7,0% al 15% p/v en la solución de fase I;
- proporcionar una solución de fase II estéril que comprende agua, metilcelulosa que tiene una viscosidad de aproximadamente 4 a 50 cP a una concentración de aproximadamente el 0,1% al 0,5% en la suspensión de fase III y cloruro de benzalconio a una concentración del 0,005% al 0,15%, en donde el pH de la solución de fase II no es mayor que 5,5;
- 10 mezclar la solución de fase I y la solución de fase II para obtener una mezcla de fase III, en donde se aplica sonicación al mezclar las dos soluciones y la mezcla se realiza a una primera temperatura de entre 0°C y 5°C; y
- recocer la mezcla de fase III a una segunda temperatura entre 10°C y 40°C durante un período de tiempo (T_1) de al menos 8 horas para producir una suspensión de fase III que comprende una pluralidad de nanocristales de propionato de fluticasona; donde opcionalmente comprende, además, la purificación de los nanocristales por filtración de flujo tangencial o por centrifugación continua (por ejemplo, centrifugación de flujo continuo).
- 15 Opcionalmente, la centrifugación se realiza a aproximadamente 1,6 L/min a aproximadamente 39.000 x g. Opcionalmente, la Etapa 1 incluye una etapa de dilución con una solución después de la etapa de recocido y antes de la etapa de purificación. Por ejemplo, la etapa de dilución incluye volver a dispersar los nanocristales en una solución. La solución utilizada para la dilución puede incluir aproximadamente el 0,002-0,01% (por ejemplo, 50 ppm $\pm$ 15%) de cloruro de benzalconio, 0,01-1% de polisorbato 80 (por ejemplo, aproximadamente 0,2%), 0,01-1% de estearato de PEG40 (por ejemplo, aproximadamente 0,2%), agente regulador (por ejemplo, regulador de citrato, pH 6,25) y agua. Un sedimento formado durante la purificación (por ejemplo, durante la centrifugación) se redispersa en una formulación final (véase, por ejemplo, la Fig. 38). El sedimento se puede agregar a una solución acuosa adecuada para redispersar los nanocristales contenidos en un mezclador (por ejemplo, un mezclador de laboratorio Silverson). La redispersión se puede realizar a temperatura ambiente a 6000 RPM durante aproximadamente 45 minutos o más (por ejemplo, aproximadamente 60 minutos o más) para obtener una formulación final que cumpla con los criterios de la FDA para la administración oftalmológica o dermatológica. La formulación puede contener uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 20 Por ejemplo, la metilcelulosa tiene un peso molecular de no más de 100 kDa. El estabilizador celulósico, la metilcelulosa utilizada para la solución de fase II, tiene una viscosidad de entre 4 cP y 50 cP, por ejemplo, de 15-45 cP.
- 25 Por ejemplo, la primera temperatura es de 0-4°C.
- Por ejemplo, la etapa de recocido es necesaria para disminuir el tamaño de partícula de los nanocristales y/o para endurecer los nanocristales (por ejemplo, para aumentar la dureza de los nanocristales).
- 30 Por ejemplo, la centrifugación de flujo continuo se realiza a aproximadamente 1,6 L/min a aproximadamente 39.000 x g.
- Por ejemplo, los nanocristales producidos por los métodos descritos aquí tienen un tamaño promedio de entre 400 nm y 800 nm.
- 35 Por ejemplo, los nanocristales producidos por los métodos descritos en este documento tienen un tamaño de partícula adecuado para el suministro por microagujas (es decir, calibre 27-41). Por ejemplo, cuando se inyectan en el espacio supracoroideo del ojo, los nanocristales se pueden administrar de manera eficaz a la parte posterior del ojo o se disolverán más lentamente, de modo que el medicamento trate los tejidos diana sin ser expulsados hacia los tejidos del frente del ojo, como los lentes, cuerpo ciliar, vítreo, etc., minimizando así los efectos secundarios oculares, como la alta presión intraocular (PIO) o la formación de cataratas.
- 40 Por ejemplo, los nanocristales producidos por los métodos descritos aquí tienen un intervalo estrecho de distribución de tamaño. En otras palabras, los nanocristales son de tamaño sustancialmente uniforme.
- Por ejemplo, la relación de los valores D90 y D10 de los nanocristales es inferior a 10, por ejemplo, inferior a 5, inferior a 4, inferior a 3, inferior a 2 o inferior a 1,5. Los nanocristales tienen una distribución de tamaño de 400 a 600 nm, de 400 a 800 nm.
- 45 Por ejemplo, los nanocristales producidos por los métodos descritos aquí tienen un valor D90 no mayor que 800 nm, no mayor que 700 nm, no mayor que 700 nm, no mayor que 600 nm, no mayor que 500 nm.
- 50 Por ejemplo, los nanocristales producidos por los métodos descritos aquí están recubiertos con metilcelulosa.
- Por ejemplo, los nanocristales recubiertos con metilcelulosa producidos por los métodos descritos aquí son estables,

por ejemplo, no se agregan.

Por ejemplo, los nanocristales producidos por los métodos descritos aquí son nanocristales de propionato de fluticasona que tienen una distribución de tamaño de 400-600 nm.

5 Por ejemplo, los nanocristales producidos por los métodos descritos aquí están en forma de suspensión líquida o polvo seco.

Por ejemplo, los nanocristales producidos por los métodos descritos aquí tienen una concentración del 0,0001% a 10%, al 20%, al 30%, al 40%, al 50%, al 60%, al 70%, al 80 %, al 90%, al 99%, o al 99,99%.

Se aplica sonicación al mezclar las soluciones de fase I y II.

10 Por ejemplo, la metilcelulosa se encuentra en un intervalo de concentración del 0,1% al 0,5% (por ejemplo, 0,2-0,4%) en la solución de fase II.

Por ejemplo, la solución de fase II incluye, además, el segundo estabilizador, el cloruro de benzalconio en una concentración que oscila entre el 0,005% y el 0,1% (por ejemplo, 0,01-0,02%).

Por ejemplo, la solución de fase II tiene un pH de 5,5 cuando el medicamento hidrófobo es propionato de fluticasona.

15 Por ejemplo, la relación de volumen de la solución de fase I a la solución de fase II varía de 1:10 a 10:1 (por ejemplo, 1:3 a 3:1, o 1:2 a 2:1, o aproximadamente 1:1).

20 Los métodos de la invención permiten la producción de cristales de fármacos con una distribución de tamaños de partículas ajustados (PSD) que van desde tamaños muy pequeños (por ejemplo, <75 nm) a tamaños más grandes (por ejemplo, 5,000 nm) y permite el uso de partículas de tamaños específicos, ya sea solo, o en combinación con partículas de tamaño más pequeño o más grande de los mismos cristales de fármaco producidos a través de los métodos descritos aquí, o en combinación con una forma diferente del fármaco (por ejemplo, material de reserva o forma obtenida por homogeneización) o con otros excipientes (como como disolventes, demulcentes, mucoadhesivos) para controlar la liberación, distribución, metabolización o eliminación, o para mejorar la penetración en el tejido o el tiempo de residencia en el tejido de dicho fármaco.

25 En una realización, la suspensión del fármaco se prepara en un reactor por lotes estático, utilizando sonicación (por ejemplo, ultrasonificación) o ultrahomogenización para dispersar el fármaco precipitante en el antidisolvente. En una realización, el proceso de ultrasonificación se realiza colocando en un baño de sonicación, proporcionando energía de ultrasonido a todo el fluido. En otra realización, el proceso de ultrasonificación se lleva a cabo utilizando un sonotrodo de sonda. En otra realización más, la etapa de dispersión durante la precipitación del fármaco en el antidisolvente es la homogeneización a alta presión.

30 En otra realización, la suspensión de fármaco se prepara en un reactor de flujo continuo, durante la ultrasonificación o la ultrahomogenización. La temperatura de la solución puede ser 0-4 o 2-8 grados centígrados. En otra realización, la temperatura de la solución puede ser de 22-30 grados centígrados. El reactor de flujo puede estar encamisado para controlar la temperatura.

35 La solución de fármaco (Fase I) se dosifica en el reactor mediante una bomba de jeringa. En otra realización, la suspensión de fármaco se dosifica en el reactor por medio de otros dispositivos de bombeo automatizados. La tasa de flujo de la Fase I puede estar en el intervalo de 0,1 ml/min a 40 ml/min. En el reactor de flujo continuo (o reactor de flujo), la tasa de flujo de la Fase I puede estar en el intervalo de 0,1 ml/min a 40 ml/min o de 0,5 a 900 ml/min (por ejemplo, de 0,5-2,0 ml/min, de 10-900 ml/min, de 12-700 ml/min, de 50-400 ml/min, de 100-250 ml/min o de 110-130 ml/min). En el reactor de flujo continuo, la tasa de flujo de la Fase II puede estar en el intervalo de 0,1 ml/min a 40 ml/min o de 2,5-2100 ml/min (por ejemplo, de 2,5-900 ml/min, de 2,5-2,0 ml/min, de 10-900 ml/min, de 12-700 ml/min, de 50-400 ml/min, de 100-250 ml/min o de 110-130 ml/min).

45 Componentes de la Fase I y la Fase II en la Etapa 1: los excipientes utilizados para disolver el medicamento para crear la solución en la Fase I se seleccionan de manera que sean miscibles y solubles en la Fase II. Los componentes de la Fase II son tales que esta fase actúa como un antidisolvente solo para el medicamento. A medida que la fase I se agrega a la fase II en presencia de sonicación, el fármaco precipita en nanocristales. La fase II se filtra en forma estéril a través de un filtro de PVDF de 0,22 micrones en un recipiente de mantenimiento conservado a 0-4°C o 2-8°C. La fase II se dosifica en una celda equipada con un sonotrodo o sonda de sonicación. La solución de la Fase I luego se dosifica en la célula en la Fase II gota a gota, mientras se realiza la sonicación. Los nanocristales producidos por la Etapa 1 se pueden mantener en un tanque de retención a 2-8°C, o 22-25°C o 30-40°C. Este proceso de "retención" se denomina recocado para estabilizar los nanocristales producidos en la Etapa 1. El recocado, o envejecimiento físico de la nanosuspensión producida en la Etapa 1, permite que las moléculas del fármaco se "relajen" y se dispongan en su estado termodinámico más estable. La elección de la temperatura de recocado depende de las características fisicoquímicas del fármaco. La duración del tiempo de recocado también es importante. En una realización, la duración del recocado es de 30 minutos. En otra realización, la duración del recocado está entre 30 minutos y 90 minutos. En otra realización, la duración del recocado está entre 90 minutos y 12

horas. En otra realización, la duración del recocido está entre 12 horas y 24 horas.

Los componentes de la Fase I y la Fase II son de baja viscosidad, de modo que cada fase se puede filtrar en forma estéril a través de un filtro de 0,22 micrones. Alternativamente, la filtración estéril se puede realizar por otros medios de esterilización, como esterilización en autoclave, irradiación gamma, irradiación con óxido de etileno (ETO).

- 5 En una realización preferida, el estabilizador estérico es metilcelulosa de viscosidad 15 cP. En otra realización, el estabilizador estérico en la fase II es metilcelulosa de viscosidad 4 cP. En otra realización, el estabilizador estérico es metilcelulosa de viscosidad 50 cP.

- 10 La concentración de metilcelulosa es del 0,10%-0,20%, 0,20%-0,40% y 0,40%-0,50%. En una realización preferida, la concentración de metilcelulosa en la fase II es del 0,20%. En otra realización preferida, la concentración de metilcelulosa en la fase II es del 0,39%.

- 15 Componentes de la Etapa 2: Los componentes de la Etapa 2 se seleccionan de manera que se realice la tarea de purificar los nanocristales preparados en la etapa anterior. El proceso de purificación es la filtración de flujo tangencial (TFF) o la filtración de flujo normal (NFF) para lograr la ultrafiltración, la diafiltración o la microfiltración. En otra realización, la etapa 2 se lleva a cabo mediante centrifugación. La elección del filtro depende del tamaño de los nanocristales producidos. El tamaño de los poros del filtro puede ser de 0,1 μm , o 0,2 μm o 0,5 μm , o 0,8 μm o 1 μm , o 10 μm , o 20 μm). Si la distribución de tamaño de las nanopartículas tiene el pico a 0,5 μm , el tamaño de los poros del filtro de PVDF será de 0,1 μm . Preferiblemente, el tamaño de las nanopartículas alcanza un valor máximo de 0,5 μm . En esta etapa, la suspensión de nanocristales se purifica, por lo que la etapa continua inicial se reemplaza completamente por una nueva fase continua. La nueva fase continua se selecciona de tal manera que el medicamento tenga una solubilidad mínima, lo que minimiza o elimina la maduración de Oswald.
- 20

Los componentes del proceso de purificación pueden seleccionarse, entre otros, del grupo que contiene soluciones acuosas de HPMC, MC, carbómeros, celulosas, PEG, quitosanos, alginatos, PVP, F127, F68, ácido hialurónico, ácido poliacrílico.

- 25 Los componentes de la Etapa 2 pueden tener componentes adhesivos de tejido que mejorarán el tiempo de residencia de los nanocristales en el sitio, para prolongar posteriormente la eficacia de la terapia. Los componentes adhesivos a tejidos pueden ser catiónicos o aniónicos. Las moléculas catiónicas adhesivas a tejidos son: Polyquad-1, polietilenimina, dendrímero PAMAM, dendrímero PEI, quitosano, alginato y derivados de los mismos.

- 30 Los nanocristales de fármacos (opcionalmente, nanosuspensiones) producidos por los procesos definidos pueden ser inmunomoduladores para tratar afecciones inflamatorias del ojo. Los inmunomoduladores han demostrado ser eficaces en diversas afecciones inflamatorias resistentes a los esteroides, o cuando el uso crónico de esteroides se asocia con esteroides. Los agentes actualmente disponibles actúan como agentes citotóxicos para bloquear la proliferación de linfocitos o como inmunomoduladores para bloquear la síntesis de linfoquinas. La ciclosporina A es un inmunomodulador preferido que puede prepararse usando el proceso definido en esta invención.

- 35 La nanosuspensión puede ser una combinación de dos medicamentos que se formulan utilizando el mismo proceso. Por lo tanto, se puede prever que ambos fármacos se disuelvan conjuntamente en excipientes comunes, luego se precipiten utilizando las técnicas especificadas en esta invención.

Agentes terapéuticos hidrófobos

- 40 La expresión "agente terapéutico hidrófobo" o "medicamento hidrófobo" usada aquí se refiere a agentes terapéuticos que son poco solubles en agua, por ejemplo, que tienen una solubilidad en agua inferior a aproximadamente 10 mg/ml (por ejemplo, menos de 1 mg/mL), menos de 0,1 mg/mL, o menos de 0,01 mg/mL).

Nuevas formas mórficas

- 45 Una ventaja inesperada de los métodos de la invención es que los nanocristales de los fármacos hidrófobos producidos a través de los métodos tienen nuevas morfologías diferentes de las del material de reserva disponible comercialmente o morfologías conocidas de los fármacos hidrófobos. Las nuevas morfologías pueden ser más estables (por ejemplo, térmicamente estables), con densidades de compactación más altas y/o más cristalinas.

En un aspecto, esta invención proporciona una forma mórfica de propionato de fluticasona, es decir, la Forma A, que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo que incluye picos a aproximadamente 7,8, 15,7, 20,8, 23,7, 24,5 y 32,5 grados 2θ .

- 50 La forma A se caracteriza, además, por un patrón de difracción de rayos X en polvo que incluye picos adicionales a aproximadamente 9,9, 13,0, 14,6, 16,0, 16,9, 18,1 y 34,3 grados 2θ . Por ejemplo, la forma A se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo, incluidos los picos enumerados en la Tabla A a continuación.

Tabla A

2theta (grado)	valor d (Å)	recuentos de intensidad (I)	I/I0	% de I
7,778	11,3667	242	0,11	2,030712
9,933	8,9044	2170	1	18,20928
11,463	7,7191	82	0,04	0,688093
12,34	7,1724	111	0,05	0,931442
12,998	6,8107	214	0,1	1,795754
14,648	6,0471	1,059	0,49	8,886465
15,699	5,6447	1,987	0,92	16,67366
16,038	5,5262	385	0,18	3,230679
16,896	5,2473	985	0,45	8,265503
18,101	4,9007	353	0,16	2,962155
19,342	4,5889	121	0,06	1,015356
20,085	4,4209	266	0,12	2,232105
20,838	4,2627	645	0,3	5,412436
22,003	4,0396	259	0,12	2,173366
22,763	3,9064	146	0,07	1,225141
23,705	3,7532	594	0,27	4,984476
24,52	3,6304	996	0,46	8,357808
25,621	3,4768	129	0,06	1,082487
26,141	3,4088	122	0,06	1,023748
26,853	3,32	247	0,11	2,072669
32,462	2,758	342	0,16	2,86985
34,293	2,6149	267	0,12	2,240497
34,736	2,5825	195	0,09	1,636318

Por ejemplo, la Forma A se caracteriza por nanocristales que tienen la morfología de una placa o lámina larga.

Por ejemplo, la Forma A está sustancialmente libre de impurezas.

5 Por ejemplo, la Forma A tiene una pureza mayor que el 90%, mayor que el 92%, mayor que el 95%, mayor que el 96%, mayor que el 97%, mayor que el 98% o mayor que el 99%.

Por ejemplo, la Forma A tiene una densidad de compactación de 0,5786 g/cm³. Por el contrario, la densidad de compactación de la reserva de propionato de fluticasona es de 0,3278 g/cm³.

10 Por ejemplo, el calor de fusión para la Forma A es significativamente mayor (54,21 J/g), lo que indica que el primero es un material más cristalino, que requiere más energía para romper los enlaces intermoleculares, como los enlaces iónicos e hidrógeno.

La forma A tiene un intervalo de fusión de 10°C, lo que también indica una microestructura altamente ordenada. Por el contrario, el material de reserva de propionato de fluticasona se funde en un intervalo ligeramente más amplio (11,1°C).

Por ejemplo, la Forma A se disuelve más lentamente que el material de reserva o el material homogeneizado. La

forma A alcanza la solubilidad saturada después de 6 semanas de incubación en un medio acuoso, mientras que el material de reserva o el material homogeneizado alcanza la solubilidad saturada dentro de las 2 semanas de incubación en un medio acuoso.

5 Por ejemplo, la Forma A se caracteriza por una velocidad de disolución en un medio acuoso (por ejemplo, agua o una solución acuosa) de aproximadamente 1 µg/g/día en agua a temperatura ambiente.

La estructura celular unitaria de la Forma A es monoclinica, P21, a = 7,7116 Å, b = 14,170 Å, c = 11,306 Å, beta = 98,285, volumen 1222,6.

La forma A tiene un punto de fusión de 299,5°C, a diferencia de 297,3°C para el material de reserva (polimorfo 1).

10 La forma A se caracteriza por nanoplacas de propionato de fluticasona con un intervalo estrecho de distribución de tamaño. La forma A se caracteriza por nanoplacas de propionato de fluticasona con una distribución de tamaño de 400-800 nm, en particular 400-600 nm.

Por ejemplo, cada una de las nanoplacas tiene un grosor de entre 5 nm y 200 nm (por ejemplo, 10-150 nm o 30-100 nm).

15 Las nanoplacas tienen el eje cristalográfico [001] sustancialmente normal a las superficies que definen el grosor de las nanoplacas.

Composiciones farmacéuticas

20 La invención también presenta composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de los nanocristales de fármacos hidrófobos descritos en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable útil para el tratamiento sistémico o no sistémico o el alivio de trastornos en los que se utiliza el fármaco hidrófobo, por ejemplo, trastornos inflamatorios tales como trastornos oftalmológicos y trastornos dermatológicos, trastornos respiratorios tales como asma o EPOC, o cáncer tal como linfoma.

25 En una realización, la invención presenta nuevas composiciones farmacéuticas tópicas que comprenden una cantidad eficaz de nanocristales de un fármaco hidrófobo, propionato de fluticasona y un vehículo farmacéuticamente aceptable útil para el tratamiento o alivio de un signo o síntoma y prevención de la blefaritis y disfunción de la glándula de Meibomio (MGD). Se puede usar una cantidad eficaz de las formulaciones de la invención para disminuir la inflamación del borde del párpado, tratando así la blefaritis y la MGD.

30 Por ejemplo, las composiciones descritas en la invención se pueden usar para el cuidado posoperatorio después de la cirugía. Por ejemplo, la composición de la invención se puede usar para controlar el dolor después de la cirugía, el control de la inflamación después de la cirugía, la trabecuoplastia con láser de argón y los procedimientos fotorrefractivos. Además, las composiciones se pueden usar para tratar otros trastornos oftálmicos tales como alergias oftálmicas, conjuntivitis alérgica, edema macular cistoide o disfunción de la glándula de Meibomio.

Además, la composición descrita en la invención se puede usar para el tratamiento sistémico o no sistémico o el alivio de un signo o síntoma y la prevención de trastornos dermatológicos como dermatitis atópica, lesión dermatológica, eczema, psoriasis o erupción cutánea.

35 Los signos y síntomas asociados con la blefaritis incluyen, por ejemplo, enrojecimiento de los párpados, hinchazón de los párpados, malestar en los párpados, picazón en los párpados, descamación de la piel del párpado y enrojecimiento ocular.

40 Los signos y síntomas de secreciones meibomianas anormales incluyen, pero sin limitación, aumento de la viscosidad, opacidad y color de la secreción de Meibomio, así como un aumento en el tiempo (período refractario) entre las secreciones de las glándulas. Los signos y síntomas de enfermedades asociadas con las secreciones anormales de la glándula de Meibomio (por ejemplo, MGD) incluyen, entre otros, sequedad ocular, enrojecimiento de los ojos, picazón y/o irritación de los márgenes de los párpados y edema, sensación de cuerpo extraño y pegado de pestañas.

45 El componente de agente activo mejora el tratamiento, alivia, inhibe, previene o disminuye los signos y síntomas de la blefaritis y/o la MGD. Las composiciones de la invención son cómodas en la aplicación en el ojo, párpado, pestañas o borde de párpado de un sujeto, y se pueden usar para el alivio de la blefaritis aguda o crónica y/o la MGD, y son particularmente adecuadas para ambos y uso a largo plazo.

50 Además, la composición descrita en la invención se puede usar para el tratamiento sistémico o no sistémico, el alivio de un signo o síntoma y la prevención de trastornos respiratorios (por ejemplo, asma o EPOC), enfermedades autoinmunes (por ejemplo, lupus o psoriasis), y cáncer (por ejemplo, linfoma).

Propionato de fluticasona, también conocido como S-fluorometil-6-α-9-difluoro-11-β-hidroxi-16-α-metil-3-oxoandrostano-1,4-dieno-17-β-carboxilato, 17-propionato, es un corticosteroide sintético, trifluorado, que tiene la fórmula química C₂₅H₃₁F₃O₅S. Es un polvo blanco a blanquecino con un peso molecular de 500,6 g/mol. El

propionato de fluticasona es prácticamente insoluble en agua (0,14 µg/ml), libremente soluble en dimetilsulfóxido y dimetilformamida, y ligeramente soluble en metanol y etanol al 95%.

Las formulaciones oftálmicas farmacéuticas contienen típicamente una cantidad eficaz del 0,001% a aproximadamente el 5%, con mayor preferencia, de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 3%, incluso con mayor preferencia, de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 1% de un fármaco oftálmico, propionato de fluticasona, adecuado para uso a corto o a largo plazo para tratar o prevenir trastornos oftalmológicos y dermatológicos. La cantidad del fármaco oftálmico (por ejemplo, fluticasona) variará con la formulación particular y el uso indicado.

Preferiblemente, la cantidad eficaz de nanocristales de un medicamento hidrófobo (propionato de fluticasona) presente en las formulaciones debe ser suficiente para tratar o prevenir el trastorno inflamatorio, trastorno respiratorio o cáncer.

En determinadas realizaciones, la composición descrita en el presente documento es una composición de liberación lenta. En otras realizaciones, la composición descrita en el presente documento es una composición de liberación rápida. Sin querer limitarse a la teoría, la velocidad de liberación del fármaco de las composiciones de la invención se puede controlar seleccionando la forma mórfica específica o el tamaño de las partículas del fármaco. Por ejemplo, la composición puede incluir propionato de fluticasona solo en la forma mórfica de la Forma A o puede incluir una mezcla de la Forma A y el polimorfo 1 y/o el polimorfo 2 de FP. Como otro ejemplo, la composición puede incluir nanocristales de medicamentos de diferentes tamaños y/o dispersiones de tamaños, por ejemplo, una combinación de nanocristales de 300-600 nm (es decir, D10-D90) y nanocristales de aproximadamente 800-900 nm (es decir, D10-D90).

Las composiciones farmacéuticas de la invención descritas pueden administrarse solas o en combinación con otras terapias. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas de la invención descritas anteriormente pueden comprender, además, otros ingredientes activos (opcionalmente en forma de nanocristales a través de los métodos de esta invención), que incluyen, pero sin limitación, vasoconstrictores, agentes antialérgicos, anestésicos, analgésicos y agentes oculares (por ejemplo, secretagogos, mucomiméticos, polímeros, lípidos, antioxidantes), etc., o administrados conjuntamente (simultánea o secuencialmente) con composiciones farmacéuticas que comprenden otros ingredientes activos, incluidos, pero sin limitación, vasoconstrictores, agentes antialérgicos, anestésicos, analgésicos, agentes para el ojo seco (por ejemplo, secretagogos, mucomiméticos, polímeros, lípidos, antioxidantes), etc.

Formulaciones

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse en diversas formas de dosificación adecuadas para el tratamiento sistémico o no sistémico o el alivio de trastornos para los cuales se utiliza el fármaco hidrófobo, por ejemplo, trastornos inflamatorios tales como trastornos oftálmicos y trastornos dermatológicos, respiratorios, trastornos como asma, o cáncer como linfoma. Las composiciones descritas en el presente documento pueden formularse en formas adecuadas para la vía de administración específica, por ejemplo, tópica, oral (incluyendo, por ejemplo, inhalación oral), intranasal, enteral o parenteral (inyectado en el sistema circulatorio).

En determinadas realizaciones, la formulación descrita en este documento es una formulación de liberación lenta. En otras realizaciones, la formulación descrita en el presente documento es una formulación de liberación rápida.

En determinadas realizaciones, las composiciones tópicas de acuerdo con la presente invención se formulan como soluciones, suspensiones, pomadas, emulsiones, geles, gotas para los ojos y otras formas de dosificación adecuadas para administración tópica oftálmica y dermatológica. En otras realizaciones, las composiciones de acuerdo con la presente invención se formulan como polvos secos, aerosoles, soluciones, suspensiones, pomadas, emulsiones, geles y otras formas de dosificación adecuadas para administración intranasal u oral.

Preferiblemente, la composición oftálmica tópica se prepara para la administración en el párpado, las pestañas, el borde del párpado, la piel o la superficie ocular. Además, las modificaciones tales como las propiedades de liberación sostenida, de estabilización y de fácil absorción, y similares, se pueden aplicar a dichas preparaciones. Estas formas de dosificación se esterilizan, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de separación de microorganismos, la esterilización por calor, o similares. Las soluciones acuosas son generalmente preferidas, en base a la simplicidad de formulación, así como la capacidad del paciente para administrar fácilmente tales composiciones mediante la aplicación de la formulación en el párpado, las pestañas y el borde del párpado. La aplicación se puede realizar con un aplicador, como el dedo del paciente, un Wek-Cel, Q-tip, hisopos de algodón, hisopos de poliuretano, hisopos de poliéster, hisopos 25-3318-U, hisopos 25-3318-H, hisopos 25-3317-U, hisopos 25-803 2PD, hisopos 25-806 1-PAR, cepillos (por ejemplo, cepillos Latissie®) u otro dispositivo capaz de suministrar la formulación en el párpado, las pestañas o al borde del párpado.

Sin embargo, las composiciones también pueden ser suspensiones, geles viscosos o semiviscosos, u otros tipos de composiciones sólidas o semisólidas. En una realización, las formulaciones (por ejemplo, formulaciones de fluticasona) de la invención son formulaciones acuosas. Las formulaciones acuosas de la invención son típicamente de más del 50%, preferiblemente de más del 75%, y con máxima preferencia, de más del 90% en peso de agua. En

otra realización, las formulaciones son formulaciones liofilizadas.

En una realización particular, las formulaciones de la invención se formulan como una suspensión. Tales formulaciones generalmente tienen un tamaño de partícula no mayor a 800 nm. Adicionalmente, la formulación en suspensión de la invención puede incluir agentes de suspensión y de dispersión para evitar la aglomeración de las partículas.

En determinadas realizaciones, el vehículo no es acuoso. El vehículo no acuoso comprende un aceite, por ejemplo, aceite de ricino, aceite de oliva, aceite de maní, aceite de nuez de macadamia, aceite de nuez, aceite de almendra, aceite de semilla de calabaza, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de soja, aceite de aguacate, aceite de palma, aceite de coco, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de linaza, aceite de semilla de uva, aceite de canola, aceite de silicona de baja viscosidad, aceite mineral ligero, o cualquier combinación de los mismos.

En realizaciones en las que la formulación es una pomada, una base de pomada preferida usada para preparar la pomada oftálmica de la presente invención puede ser una que se haya usado en pomadas oftálmicas convencionales. En particular, la base puede ser parafina líquida, vaselina blanca, lanolina purificada, hidrocarburo de gelificación, polietilenglicol, base de pomada hidrófila, base de pomada blanca, base de pomada de absorción, base de pomada de Macrogol (nombre comercial), base de pomada simple, y similares. Por ejemplo, sin limitación, una formulación de pomada de la invención contiene propionato de fluticasona, vaselina y aceite mineral.

En realizaciones en las que la formulación es una gelificación, una base de gelificación preferida usada para preparar la pomada oftálmica de la presente invención puede ser una que se ha utilizado en gelificaciones oftálmicas convencionales tales como Genteal Gel.

En realizaciones en las que la formulación es una crema, una base de crema preferida usada para preparar la crema oftálmica de la presente invención puede ser una que se haya usado en una crema oftálmica convencional. Por ejemplo, sin limitación, una formulación en crema de la invención contiene propionato de fluticasona, PEG 400, un aceite y un tensioactivo.

La formulación tópica puede requerir adicionalmente la presencia de un solubilizante, en particular si los ingredientes activos o inactivos tienden a formar una suspensión o una emulsión. Un solubilizante adecuado para una composición anteriormente mencionada se selecciona, por ejemplo, del grupo que consiste en tiroxapol, ésteres de glicerol polietilenglicol de ácido graso, ésteres de polietilenglicol de ácido graso, polietilenglicoles, éteres de glicerol, una ciclodextrina (por ejemplo, alfa-, beta- o gamma-ciclodiclodextrina, por ejemplo, derivados alquilados, hidroxialquilados, carboxialquilados o alquiloxycarbonil-alquilados, o mono- o diglicosil-alfa, beta- o gamma-ciclodextrina, mono- o dimaltosil-alfa, beta o gamma-ciclodextrina o panosilciclodextrina), polysorbate 20, polysorbate 80 y/o mezclas de esos compuestos. Un ejemplo específico de un solubilizador especialmente preferido es un producto de reacción de aceite de ricino y óxido de etileno, por ejemplo, los productos comerciales Cremophor EL® o Cremophor RH40®. Los productos de reacción del aceite de ricino y el óxido de etileno han demostrado ser solubilizantes particularmente buenos que son muy bien tolerados por el ojo. Otro solubilizante preferido se selecciona de tiloxapol y de una ciclodextrina. La concentración utilizada depende especialmente de la concentración del ingrediente activo. La cantidad añadida suele ser suficiente para solubilizar el ingrediente activo. Por ejemplo, la concentración del solubilizador es de 0,1 a 5000 veces la concentración del ingrediente activo.

También se pueden agregar otros compuestos a las formulaciones de la presente invención para ajustar (por ejemplo, aumentar) la viscosidad del vehículo. Los ejemplos de agentes potenciadores de la viscosidad incluyen, pero no se limitan a: polisacáridos, tales como ácido hialurónico y sus sales, sulfato de condroitina y sus sales, dextranos, diversos polímeros de la familia de la celulosa; polímeros de vinilo; y polímeros de ácido acrílico.

En otra realización, las formulaciones tópicas de esta invención no incluyen un conservante. Dichas formulaciones serían útiles para los pacientes que usan lentes de contacto, o aquellos que usan diversas gotas oftálmicas tópicas y/o aquellos con una superficie ocular ya comprometida (por ejemplo, ojo seco), en donde la exposición limitada a un conservante puede ser más deseable.

Se puede usar cualquiera de una variedad de vehículos en las formulaciones de la presente invención. La viscosidad del vehículo varía de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 4.000.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 3.000.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 2.000.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 1.000.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 500.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 400.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 300.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 200.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 100.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 50.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 40.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 30.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 20.000 cP, de aproximadamente 1 cP a aproximadamente 10.000 cP, de aproximadamente 50 cP a aproximadamente 10.000 cP, de aproximadamente 50 cP a aproximadamente 5.000 cP, de aproximadamente 50 cP a aproximadamente 2500 cP, de aproximadamente 50 cP a aproximadamente 1.000 cP, de aproximadamente 50 cP a aproximadamente 500 cP, de aproximadamente 50 cP a aproximadamente 400 cP, de aproximadamente 50 cP a

aproximadamente 300 cP, de aproximadamente 50 cP a aproximadamente 200 cP, de aproximadamente 50 cP a aproximadamente 100 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 1000 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 900 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 800 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 700 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 600 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 500 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 400 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 300 cP, de aproximadamente 10 cP a aproximadamente 200 cP de o aproximadamente 10 cP a aproximadamente 100 cP. La viscosidad se puede medir a una temperatura de 20°C +/- 1°C utilizando un viscosímetro de cono y placa modelo Brookfield VDV-III Ultra* con un CP40 o un husillo equivalente con una velocidad de cizallamiento de aproximadamente 22,50 +/- aproximadamente 10 (1/seg.), o un viscosímetro Brookfield modelo LVDV-E con SC4-18 o husillo equivalente con una velocidad de corte de aproximadamente 26 +/- aproximadamente 10 (1/seg). Alternativamente, la viscosidad se puede medir a 25°C +/- 1°C utilizando un viscosímetro de cono y placa Brookfield modelo VDV-III Ultra* con un CP40 o un husillo equivalente con una velocidad de cizallamiento de aproximadamente 22,50 +/- aproximadamente 10 (1/s), o un viscosímetro Brookfield modelo LVDV-E con SC4-18 o husillo equivalente con una velocidad de cizallamiento de aproximadamente 26 +/- aproximadamente 10 (1/seg). También se pueden añadir otros compuestos a las formulaciones de la presente invención para ajustar (por ejemplo, aumentar) la viscosidad del vehículo. Los ejemplos de agentes potenciadores de la viscosidad incluyen, pero no se limitan a: polisacáridos, tales como ácido hialurónico y sus sales, sulfato de condroitina y sus sales, dextranos, diversos polímeros de la familia de la celulosa; polímeros de vinilo; y polímeros de ácido acrílico.

Los cristales de la presente invención (cristales de propionato de fluticasona) pueden recubrirse o impregnarse en dispositivos quirúrgicos o implantables. En algunas realizaciones, el recubrimiento o la incrustación de cristales (por ejemplo, cristales de propionato de fluticasona) en un dispositivo quirúrgico o implantable prolonga el tiempo de liberación del fármaco al tiempo que proporciona un suministro de fármaco altamente localizado. Una ventaja de este modo de administración es que se pueden lograr concentraciones más precisas y pocos efectos secundarios. En una realización, el dispositivo implantable es un dispositivo implantable ocular para la administración de fármacos. En otras realizaciones, el dispositivo implantable es un implante de depósito implantable por medios quirúrgicos. En otra realización, el dispositivo implantable es biodegradable, por ejemplo, micropartículas biodegradables. En realizaciones adicionales, el dispositivo implantable está hecho de silicio, por ejemplo, silicio poroso nanoestructurado. Los dispositivos quirúrgicos de ejemplo incluyen, pero sin limitación, stents (por ejemplo, stents autoexpandibles, stents helicoidales expansibles con balón, stents tubulares expansibles con globo y stents híbridos expansibles con balón), balones de angioplastia, catéteres (por ejemplo, microcatéteres, catéteres de administración de stent), derivaciones, instrumentos de acceso, cables guía, sistemas de injerto, dispositivos de generación de imágenes intravasculares, dispositivos de cierre vascular, accesorios de endoscopia. Por ejemplo, un dispositivo utilizado en un método o composición de la invención es un dispositivo iScience, un dispositivo iVeena, un dispositivo Clearside o un dispositivo Ocusert. El recubrimiento sobre un dispositivo quirúrgico se puede realizar utilizando métodos estándar conocidos en la técnica, como los que se mencionan en el documento US 20070048433A1.

Excipientes

En algunas realizaciones, las formulaciones de la invención comprenden uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término excipiente como se usa en el presente documento se refiere ampliamente a una sustancia biológicamente inactiva usada en combinación con los agentes activos de la formulación. Se puede usar un excipiente, por ejemplo, como un agente solubilizante, un agente estabilizante, un agente tensioactivo, un demulcente, un agente de viscosidad, un diluyente, un vehículo inerte, un conservante, un aglutinante, un desintegrante, un agente de recubrimiento, un agente saborizante o un agente colorante. Preferiblemente, se elige al menos un excipiente para proporcionar una o más propiedades físicas beneficiosas para la formulación, tal como una mayor estabilidad y/o solubilidad del o de los agentes activos. Un excipiente "farmacéuticamente aceptable" es uno que ha sido aprobado por una agencia reguladora estatal o federal para uso en animales, y preferiblemente para uso en humanos, o que figura en la Farmacopea de los EE. UU., la Farmacopea Europea u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y preferiblemente para uso en humanos. Los ejemplos de vehículos que se pueden usar en las formulaciones de la presente invención incluyen agua, mezclas de agua y disolventes miscibles con agua, como los alcoholes C₁ a C₇, aceites vegetales o aceites minerales que comprenden del 0,5 al 5% de agua no tóxicos, polímeros solubles, productos naturales, como gelatina, alginatos, pectinas, tragacanto, goma karaya, goma xantano, carragenina, agar y acacia, derivados del almidón, como el acetato de almidón y el hidroxipropil-almidón, y también otros productos sintéticos, como alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polivinil metil éter, óxido de polietileno, preferiblemente ácido poliacrílico reticulado, tal como carbopol neutro, o mezclas de esos polímeros. La concentración del vehículo es, típicamente, de 1 a 100000 veces la concentración del ingrediente activo.

Otros ejemplos de excipientes incluyen ciertas proteínas inertes como las albúminas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como ácido aspártico (que puede denominarse alternativamente aspartato), ácido glutámico (que puede denominarse alternativamente glutamato), lisina, arginina, glicina e histidina; ácidos grasos y fosfolípidos tales como alquilsulfonatos y caprilato; tensioactivos tales como dodecilsulfato de sodio y polisorbato; tensioactivos no iónicos tales como TWEEN®, PLURONICS® o un polietilenglicol (PEG) designado 200, 300, 400 o 600; una carbocera designada 1000, 1500, 4000, 6000 y 10000; carbohidratos tales como glucosa,

sacarosa, manosa, maltosa, trehalosa y dextrinas, incluyendo ciclodextrinas; polioles tales como manitol y sorbitol; agentes quelantes tales como EDTA; y contraiones formadores de sal, como el sodio.

En una realización particular, el vehículo es un vehículo polimérico, mucoadhesivo. Los ejemplos de vehículos mucoadhesivos adecuados para uso en los métodos o formulaciones de la invención incluyen, pero no se limitan a suspensiones poliméricas acuosas que comprenden uno o más agentes de suspensión poliméricos que incluyen, pero no se limitan a dextranos, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, geles de polisacárido, Gelrite®, polímeros celulósicos, y sistemas de polímeros que contienen carboxi. En una realización particular, el agente de suspensión polimérico comprende un polímero que contiene carboxi reticulado (por ejemplo, policarbófilo). En otra realización particular, el agente de suspensión polimérico comprende polietilenglicol (PEG). Los ejemplos de sistemas de polímeros que contienen carboxi reticulados adecuados para uso en las formulaciones oftálmicas tópicas estables de la invención incluyen, pero no se limitan a Noveon AA-1, Carbopol® y/o DuraSite® (InSite Vision).

En otras realizaciones particulares, las formulaciones de la invención comprenden uno o más excipientes seleccionados de entre los siguientes: un sustituto de lágrimas, un potenciador de la tonicidad, un conservante, un solubilizante, un agente mejorador de la viscosidad, un demulcente, un emulsionante, un agente humectante, un agente secuestrante y un relleno. La cantidad y el tipo de excipiente agregado están de acuerdo con los requisitos particulares de la formulación y en general están en el intervalo de aproximadamente el 0,0001% al 90% en peso.

Sustitutos de lágrimas

De acuerdo con algunas realizaciones, las formulaciones pueden incluir un sustituto de lágrima artificial. La expresión "sustituto de lágrimas" o "agente humectante" se refiere a las moléculas o composiciones que lubrican, "humedecen", se aproximan a la consistencia de las lágrimas endógenas, ayudan en la acumulación natural de lágrimas o brindan un alivio temporal de los signos o síntomas del ojo seco y las condiciones tras la administración ocular. Una variedad de sustitutos de lágrimas son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a: polioles monoméricos, tales como glicerol, propilenglicol y etilenglicol; polioles poliméricos tales como polietilenglicol; ésteres de celulosa tales como hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica e hidroxipropilcelulosa; dextranos como dextrano 70; proteínas solubles en agua tales como gelatina; polímeros de vinilo, tales como alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona y povidona; y carbómeros, tales como carbómero 934P, carbómero 941, carbómero 940 y carbómero 974P. Muchos de estos sustitutos de lágrimas están disponibles en comercios que incluyen, pero no se limitan a ésteres de celulosa como Bion Tears®, Celluvisc®, Genteal®, OccuCoat®, Refresh®, Systane®, Teagen II®, Tears Naturale®, Tears Natural II®, Tears Naturale Free® y TheraTears®; y alcoholes polivinílicos como Akwa Tears®, HypoTears®, Moisture Eyes®, Murine Lubricating® y Visine Tears®, Soothe®. Los sustitutos de lágrimas también pueden estar compuestos de parafinas, como los ungüentos Lacri-Lube® disponibles en comercios. Otros ungüentos disponibles en el mercado que se utilizan como sustitutos de las lágrimas incluyen Lubrifresh PM®, Moisture Eyes PM® y Refresh PM®.

En una realización preferida de la invención, el sustituto de lágrimas comprende hidroxipropilmetilcelulosa (Hipromelosa o HPMC). De acuerdo con algunas realizaciones, la concentración de HPMC varía de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. De acuerdo con algunas realizaciones, la concentración de HPMC varía de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 1,5% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. De acuerdo con algunas realizaciones, la concentración de HPMC varía de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 1% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. Según algunas realizaciones, la concentración de HPMC varía de aproximadamente el 0,6% a aproximadamente el 1% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. En realizaciones preferidas, la concentración de HPMC varía de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 1,0% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo (es decir, 0,1-0,2%, 0,2-0,3%, 0,3-0,4%, 0,4-0,5%), 0,5-0,6%, 0,6-0,7%, 0,7-0,8%, 0,8-0,9%, 0,9-1,0%, aproximadamente el 0,2%, aproximadamente el 0,21%, aproximadamente el 0,22%, aproximadamente el 0,23%, aproximadamente el 0,24%, aproximadamente el 0,25%, aproximadamente el 0,26%, aproximadamente el 0,27%, aproximadamente el 0,28%, aproximadamente el 0,29%, aproximadamente el 0,30%, aproximadamente el 0,70%, aproximadamente el 0,71%, aproximadamente el 0,72%, aproximadamente el 0,73%, aproximadamente el 0,74%, aproximadamente el 0,75%, aproximadamente el 0,76%, aproximadamente el 0,77%, aproximadamente el 0,78%, aproximadamente el 0,79%, aproximadamente el 0,80%, aproximadamente el 0,81%, aproximadamente el 0,82%, aproximadamente el 0,83%, aproximadamente el 0,84%, aproximadamente el 0,85%, aproximadamente el 0,86%, aproximadamente el 0,87%, aproximadamente el 0,88%, aproximadamente el 0,89%, o aproximadamente el 0,90%).

Por ejemplo, sin limitación, un sustituto de lágrimas que comprende hidroxipropilmetilcelulosa son las gotas oftálmicas lubricantes GenTeal®. GenTeal® (CibaVision Novartis) es una gota oftálmica lubricante estéril que contiene hidroxipropilmetilcelulosa 3 mg/g y se conserva con perborato de sodio. Se proporcionan otros ejemplos de lágrimas a base de HPMC. En otra realización preferida, el sustituto de lágrimas comprende carboximetilcelulosa sódica. Por ejemplo, sin limitación, el sustituto de lágrimas que comprende carboximetilcelulosa sódica es Refresh® Tears. Refresh® Tears es una formulación lubricante similar a las lágrimas normales, que contiene un conservante no sensibilizante suave, complejo de oxícloro estabilizado (Purite™), que finalmente se transforma en componentes de lágrimas naturales cuando se usa.

En algunas realizaciones, el sustituto de lágrimas, o uno o más componentes del mismo, se regulan a un pH de 5,0 a 9,0, preferiblemente de pH 5,5 a 7,5, más preferiblemente de pH 6,0 a 7,0 (o cualquier valor específico dentro de dichos intervalos), con una sal adecuada (por ejemplo, sales de fosfato). En algunas realizaciones, el sustituto de lágrimas comprende, además, uno o más ingredientes, que incluyen sin limitación glicerol, propilenglicerol, glicina, borato de sodio, cloruro de magnesio y cloruro de zinc.

Sales, reguladores y conservantes

Las formulaciones de la presente invención también pueden contener sales farmacéuticamente aceptables, agentes reguladores o conservantes. Los ejemplos de tales sales incluyen aquellos preparados a partir de los siguientes ácidos: clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, maleico, acético, salicílico, cítrico, bórico, fórmico, malónico, succínico, y similares. Dichas sales también pueden prepararse como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, tales como sales de sodio, potasio o calcio. Los ejemplos de agentes reguladores incluyen fosfato, citrato, acetato y ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico (MES).

Las formulaciones de la presente invención pueden incluir un sistema regulador. Tal como se usa en esta aplicación, las expresiones "regulador" o "sistema regulador" se refieren a un compuesto que, en general en combinación con al menos otro compuesto, proporciona un sistema regulador en solución que exhibe capacidad reguladora, es decir, la capacidad de neutralizar, dentro de los límites, ya sea ácidos o bases (álcali) con relativamente poco o ningún cambio en el pH original. Según algunas realizaciones, los componentes reguladores están presentes del 0,05% al 2,5% (p/v) o del 0,1% al 1,5% (p/v).

Los reguladores preferidos incluyen reguladores de borato, reguladores de fosfato, reguladores de calcio, y combinaciones y mezclas de los mismos. Los reguladores de borato incluyen, por ejemplo, ácido bórico y sus sales, por ejemplo, borato de sodio o borato de potasio. Los reguladores de borato también incluyen compuestos tales como tetraborato de potasio o metaborato de potasio que producen borato ácido o su sal en soluciones.

Un sistema regulador de fosfato incluye preferiblemente uno o más fosfatos monobásicos, fosfatos dibásicos, y similares. Los reguladores de fosfato particularmente útiles son aquellos seleccionados de sales de fosfato de metales alcalinos y/o alcalinotérreos. Los ejemplos de reguladores de fosfato adecuados incluyen uno o más de fosfato dibásico sódico (Na_2HPO_4), fosfato monobásico sódico (NaH_2PO_4) y fosfato monobásico potásico (KH_2PO_4). Los componentes del regulador fosfato se utilizan con frecuencia en cantidades desde el 0,01% hasta el 0,5% (p/v), calculado como ion fosfato.

Un sistema regulador preferido se basa en ácido bórico/borato, una sal de fosfato/ácido fosfórico mono- y/o dibásico o un sistema regulador bórico/fosfato combinado. Por ejemplo, un sistema regulador bórico/fosfato combinado se puede formular a partir de una mezcla de borato de sodio y ácido fosfórico, o la combinación de borato de sodio y el fosfato monobásico.

En un sistema regulador bórico/fosfato combinado, la solución comprende aproximadamente del 0,05 al 2,5% (p/v) de un ácido fosfórico o su sal y del 0,1 al 5,0% (p/v) de ácido bórico o su sal. El regulador de fosfato se utiliza (en total) en una concentración de 0,004 a 0,2 M (molar), preferiblemente de 0,04 a 0,1 M. El regulador de borato (en total) se usa en una concentración de 0,02 a 0,8 M, preferiblemente de 0,07 a 0,2 M.

Otros compuestos reguladores conocidos pueden añadirse opcionalmente a las composiciones para el cuidado de lentes, por ejemplo, citratos, bicarbonato de sodio, TRIS, y similares. Otros ingredientes en la solución, mientras que tienen otras funciones, también pueden afectar la capacidad del regulador. Por ejemplo, el EDTA, a menudo utilizado como un agente de complejación, puede tener un efecto notable en la capacidad reguladora de una solución.

De acuerdo con algunas realizaciones, el pH de la solución oftálmica acuosa está en o cerca del pH fisiológico. Preferiblemente, el pH de la solución oftálmica acuosa está entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 8,0, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. Según algunas realizaciones, el pH de la solución oftálmica acuosa está entre aproximadamente 6,5 y 7,5, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo (por ejemplo, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5). De acuerdo con algunas realizaciones, el pH de la solución oftálmica acuosa es aproximadamente de 7. El experto en la técnica reconocerá que el pH puede ajustarse a un pH más óptimo dependiendo de la estabilidad de los ingredientes activos incluidos en la formulación. Según algunas realizaciones, el pH se ajusta con base (por ejemplo, hidróxido de sodio 1N) o ácido (por ejemplo, ácido clorhídrico 1N).

Para el ajuste del pH, preferiblemente a un pH fisiológico, los reguladores pueden ser especialmente útiles. El pH de las presentes soluciones debe mantenerse dentro del intervalo de 5,5 a 8,0, más preferiblemente de 6,0 a 7,5, más preferiblemente de 6,5 a 7,0 (o cualquier valor específico dentro de dichos intervalos). Se pueden agregar reguladores adecuados, como ácido bórico, borato de sodio, citrato de potasio, ácido cítrico, bicarbonato de sodio, TRIS y varios reguladores de fosfato mixtos (incluidas combinaciones de Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 y KH_2PO_4) y mezclas de los mismos. Se prefieren reguladores de borato. En general, los reguladores se utilizarán en cantidades que oscilan entre aproximadamente el 0,05 y el 2,5 por ciento en peso, y preferiblemente entre el 0,1 y el 1,5 por ciento en peso. Según realizaciones preferidas, las formulaciones de la presente invención no contienen un conservante. En determinadas realizaciones, las formulaciones oftálmicas comprenden, además, un conservante. Un conservante

puede seleccionarse típicamente de un compuesto de amonio cuaternario tal como cloruro de benzalconio, cloruro de benzoxonio, o similares. El cloruro de benzalconio se describe mejor como: cloruro de N-bencil-N-(alquil C₈-C₁₈)-N,N-dimetilamonio. Otros ejemplos de conservantes incluyen antioxidantes tales como vitamina A, vitamina E, vitamina C, palmitato de retinilo y selenio; los aminoácidos cisteína y metionina; ácido cítrico y citrato de sodio; y conservantes sintéticos tales como timerosal y alquilparabenos, que incluyen, por ejemplo, metilparabeno y propilparabeno. Otros conservantes incluyen cloruro de octadecildimetilbencilamonio, cloruro de hexametonio, cloruro de bencetonio, fenol, catecol, resorcinol, ciclohexanol, m-cresol, acetato fenilmercúrico, o borato fenilmercúrico, perborato de sodio, clorito de sodio, alcoholes tales como clorobutanol, alcohol butílico o bencilico o feniletanol, derivados de guanidina tales como clorohexidina o polihexametilenbiguanida, perborato de sodio, Germal®II, ácido sórbico y complejos de oxiclora estabilizados (por ejemplo, Purite®). Los conservantes preferidos son compuestos de amonio cuaternario, en particular cloruro de benzalconio o sus derivados tales como Polyquad (véase patente US No. 4.407.791), sales de alquilmercurio, parabenos y complejos de oxiclora estabilizados (por ejemplo, Purite®). Cuando sea apropiado, se agrega una cantidad suficiente de conservante a la composición oftálmica para asegurar la protección contra contaminaciones secundarias durante el uso causadas por bacterias y hongos.

En realizaciones particulares, las formulaciones de la invención comprenden un conservante seleccionado de entre los siguientes: cloruro de benzalconio, 0,001% al 0,05%; cloruro de bencetonio, hasta el 0,02%; ácido sórbico, 0,01% al 0,5%; polihexametilenbiguanida, 0,1 ppm a 300 ppm; policuaternio-1 (Omamer M) 0,1 ppm a 200 ppm; compuestos de hipoclorito, perclorito o clorito, 500 ppm o menos, preferiblemente entre 10 y 200 ppm; soluciones de peróxido de hidrógeno estabilizadas, una fuente de peróxido de hidrógeno que produce un % de peso de peróxido de hidrógeno del 0,0001 al 0,1% junto con un estabilizador adecuado; ésteres alquílicos de ácido p-hidroxibenzoico y mezclas de los mismos, preferiblemente metilparabeno y propilparabeno, del 0,01% al 0,5%; clorohexidina, 0,005% al 0,01%; clorobutanol, hasta el 0,5%; y complejo de oxiclora estabilizado (Purite®) 0,001% al 0,5%.

En otra realización, las formulaciones oftálmicas de esta invención no incluyen un conservante. Dichas formulaciones serían útiles para los pacientes que usan lentes de contacto o aquellos que usan varias gotas oftálmicas tópicas y/o aquellos con una superficie ocular ya comprometida (por ejemplo, ojo seco) en donde la exposición limitada a un conservante puede ser más deseable.

Agentes mejoradores de la viscosidad y demulcentes

En determinadas realizaciones, pueden añadirse agentes potenciadores de la viscosidad a las formulaciones de la invención. Los ejemplos de tales agentes incluyen polisacáridos, tales como ácido hialurónico y sus sales, sulfato de condroitina y sus sales, dextranos, diversos polímeros de la familia de la celulosa, polímeros de vinilo y polímeros de ácido acrílico.

Una variedad de agentes que aumentan la viscosidad son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a: polioles tales como glicerol, glicerina, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400, polisorbato 80, propilenglicol y etilenglicol, alcohol polivinílico, povidona y polivinilpirrolidona; derivados de celulosa tales como hidroxipropilmetilcelulosa (también conocida como hipromelosa y HPMC), carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilcelulosa, hidroxietilcelulosa y metilcelulosa; dextranos como dextrano 70; proteínas solubles en agua tales como gelatina; carbómeros tales como carbómero 934P, carbómero 941, carbómero 940 y carbómero 974P; y gomas tales como HP-guar, o combinaciones de las mismas. También se pueden añadir otros compuestos a las formulaciones de la presente invención para aumentar la viscosidad del vehículo. Los ejemplos de agentes potenciadores de la viscosidad incluyen, pero no se limitan a: polisacáridos, tales como ácido hialurónico y sus sales, sulfato de condroitina y sus sales, dextranos, diversos polímeros de la familia de la celulosa; polímeros de vinilo; y polímeros de ácido acrílico. También son adecuadas las combinaciones y mezclas de los agentes anteriores.

De acuerdo con algunas realizaciones, la concentración de agente potenciador de la viscosidad o combinación de agentes varía de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 2% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. Según algunas realizaciones, la concentración de agente potenciador de la viscosidad o combinación de agentes varía de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 1,5% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. De acuerdo con algunas realizaciones, la concentración de agente potenciador de la viscosidad o combinación de agentes varía de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 1% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. Según algunas realizaciones, la concentración de agente potenciador de la viscosidad o combinación de agentes varía de aproximadamente el 0,6% a aproximadamente el 1% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. De acuerdo con algunas realizaciones, la concentración de agente potenciador de la viscosidad o combinación de agentes varía de aproximadamente el 0,7% a aproximadamente el 0,9% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo (es decir, de aproximadamente el 0,70%, de aproximadamente el 0,71%, de aproximadamente el 0,72%, de aproximadamente el 0,73%, de aproximadamente el 0,74%, de aproximadamente el 0,75%, de aproximadamente el 0,76%, de aproximadamente el 0,77%, de aproximadamente el 0,78%, de aproximadamente el 0,79%, de aproximadamente el 0,80%, de aproximadamente el 0,81%, de aproximadamente el 0,82%, de aproximadamente el 0,83%, de aproximadamente el 0,84%, de aproximadamente el 0,85%, de aproximadamente el 0,86%, de aproximadamente el 0,87%, de aproximadamente el 0,88%, de aproximadamente el 0,89% o de aproximadamente el 0,90%).

En determinadas realizaciones, las formulaciones de la invención comprenden demulcentes oftálmicos y/o polímeros que aumentan la viscosidad seleccionados de uno o más de los siguientes: derivados celulósicos tales como carboximetilcelulosa (0,01 al 5%), hidroxietilcelulosa (0,01% al 5%), hidroxipropilmetilcelulosa o hipromelosa (0,01% al 5%) y metilcelulosa (0,02% al 5%); dextrano 40/70 (0,01% al 1%); gelatina (0,01% al 0,1%); polioles tales como glicerina (0,01% al 5%), polietilenglicol 300 (0,02% al 5%), polietilenglicol 400 (0,02% al 5%), polisorbato 80 (0,02% al 3%), propilenglicol (0,02% al 3%), alcohol polivinílico (0,02% al 5%) y povidona (0,02% al 3%); ácido hialurónico (0,01% al 2%); y sulfato de condroitina (0,01% al 2%). En una realización preferida de la invención, el componente potenciador de la viscosidad comprende hidroxipropilmetilcelulosa (hipromelosa o HPMC). HPMC funciona para proporcionar el nivel deseado de viscosidad y para proporcionar actividad demulcente. De acuerdo con algunas realizaciones, la concentración de HPMC varía de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 2% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. De acuerdo con algunas realizaciones, la concentración de HPMC varía de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 1,5% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo. Según algunas realizaciones, la concentración de HPMC varía de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 0,5% p/v, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo.

En otra realización preferida, el componente potenciador de la viscosidad comprende carboximetilcelulosa sódica.

La viscosidad de las formulaciones oftálmicas de la invención se puede medir de acuerdo con los métodos estándar conocidos en la técnica, tales como el uso de un viscosímetro o reómetro. Un experto en la técnica reconocerá que factores tales como la temperatura y la velocidad de cizallamiento pueden afectar la medición de la viscosidad. En una realización particular, la viscosidad de las formulaciones oftálmicas de la invención se mide a 20°C $\pm$ 1°C utilizando un viscosímetro de cono y placa Brookfield VDV-III Ultra⁺ con un CP40 o un husillo equivalente con una velocidad de cizallamiento de aproximadamente 22,50 $\pm$ aproximadamente 10 (1/seg), o un viscosímetro Brookfield modelo LVDV-E con un SC4-18 o husillo equivalente con una velocidad de cizallamiento de aproximadamente 26 $\pm$ aproximadamente 10 (1/seg).

Potenciadores de la tonicidad

La tonicidad se ajusta, si es necesario, típicamente por los agentes que mejoran la tonicidad. Tales agentes pueden ser, por ejemplo, de tipo iónico y/o no iónico. Los ejemplos de potenciadores de la tonicidad iónica son haluros de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos tales como, por ejemplo, CaCl₂, KBr, KCl, LiCl, NaI, NaBr o NaCl, Na₂SO₄ o ácido bórico. Los agentes que mejoran la tonicidad no iónicos son, por ejemplo, urea, glicerol, sorbitol, manitol, propilenglicol o dextrosa. Las soluciones acuosas de la presente invención se ajustan típicamente con agentes de tonicidad para aproximarse a la presión osmótica de los fluidos lagrimales normales que es equivalente a una solución de cloruro de sodio al 0,9% o una solución de glicerol al 2,5%. Se prefiere una osmolaridad de aproximadamente 200 a 1000 mOsm/kg, más preferiblemente de 200 a 500 mOsm/kg, o cualquier valor específico dentro de dichos intervalos (por ejemplo, de 200 mOsm/kg, de 210 mOsm/kg, de 220 mOsm/kg, de 230 mOsm/kg, de 240 mOsm/kg, de 250 mOsm/kg, de 260 mOsm/kg, de 270 mOsm/kg, de 280 mOsm/kg, de 290 mOsm/kg, de 300 mOsm/kg, de 310 mOsm/kg, de 320 mOsm/kg, de 330 mOsm/kg, de 340 mOsm/kg, de 350 mOsm/kg, de 360 mOsm/kg, de 370 mOsm/kg, de 380 mOsm/kg, de 390 mOsm/kg o de 400 mOsm/kg). En una realización particular, las formulaciones oftálmicas de la invención se ajustan con agentes de tonicidad a una osmolaridad que varía de aproximadamente 240 a 360 mOsm/kg (por ejemplo, 300 mOsm/kg).

Las formulaciones de la presente invención pueden comprender, además, un agente de tonicidad o combinación de agentes de tonicidad. Según algunas realizaciones, las formulaciones de la invención pueden incluir una cantidad eficaz de un componente de ajuste de la tonicidad. Entre los componentes de ajuste de la tonicidad adecuados que pueden usarse están aquellos usados convencionalmente en productos para el cuidado de lentes de contacto tales como diversas sales inorgánicas. Los polioles y los polisacáridos también se pueden usar para ajustar la tonicidad. La cantidad de componente de ajuste de la tonicidad es eficaz para proporcionar una osmolaridad de 200 mOsmol/kg a 1000 mOsmol/kg, o cualquier valor específico dentro de dicho intervalo.

Preferiblemente, el componente de tonicidad comprende una solución salina fisiológicamente equilibrada que imita la composición mineral de las lágrimas. De acuerdo con algunas realizaciones, la tonicidad puede ajustarse mediante agentes que mejoran la tonicidad que incluyen, por ejemplo, agentes que son de tipo iónico y/o no iónico. Los ejemplos de potenciadores de la tonicidad iónica son haluros de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos tales como, por ejemplo, CaCl₂, KBr, KCl, LiCl, NaI, NaBr o NaCl, Na₂SO₄ o ácido bórico. Los agentes que mejoran la tonicidad no iónicos son, por ejemplo, urea, glicerol, sorbitol, manitol, propilenglicol o dextrosa.

De acuerdo con algunas realizaciones, el componente de tonicidad comprende dos o más de NaCl, KCl, ZnCl₂, CaCl₂ y MgCl₂ en una relación que proporciona un intervalo de osmolaridad como el anterior. Según algunas realizaciones, el intervalo de osmolaridad de las formulaciones de la presente invención es de aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 mOsm/kg, con preferencia, de aproximadamente 500 a aproximadamente 1000 mOsm/kg. Según algunas realizaciones, el componente de tonicidad comprende tres o más de NaCl, KCl, ZnCl₂, CaCl₂ y MgCl₂ en una relación que proporciona un intervalo de osmolaridad de aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 mOsm/kg, con preferencia, de aproximadamente 500 a aproximadamente 1000 mOsm/kg. Según algunas realizaciones, el componente de tonicidad comprende cuatro o más de NaCl, KCl, ZnCl₂, CaCl₂ y MgCl₂ en una relación que proporciona un intervalo de osmolaridad de aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 mOsm/kg,

con preferencia, de aproximadamente 500 a aproximadamente 1000 mOsm/kg. Según algunas realizaciones, el componente de tonicidad comprende NaCl, KCl, ZnCl₂, CaCl₂ y MgCl₂ en una relación que proporciona un intervalo de osmolaridad de aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 mOsm/kg, con preferencia, de aproximadamente 500 a aproximadamente 1000 mOsm/kg.

- 5 Según algunas realizaciones, el NaCl varía de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 1% p/v, con preferencia, de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 0,8% p/v, con mayor preferencia, de aproximadamente el 0,39% p/v. Según algunas realizaciones, KCl varía de aproximadamente el 0,02 a aproximadamente el 0,5% p/v, con preferencia, de aproximadamente el 0,05 a aproximadamente el 0,3% p/v, con mayor preferencia, de aproximadamente el 0,14% p/v. Según algunas realizaciones, el CaCl₂ varía de
10 aproximadamente el 0,0005 a aproximadamente el 0,1% p/v, con preferencia, de aproximadamente el 0,005 a aproximadamente el 0,08% p/v, con mayor preferencia, de aproximadamente el 0,06% p/v. Según algunas realizaciones, el MgCl₂ varía de aproximadamente el 0,0005 a aproximadamente el 0,1% p/v, con preferencia, de aproximadamente el 0,005 a aproximadamente el 0,08% p/v, con mayor preferencia, de aproximadamente el 0,06% p/v. De acuerdo con algunas realizaciones, el ZnCl₂ varía de aproximadamente el 0,0005 a aproximadamente el
15 0,1% p/v, con preferencia, de aproximadamente el 0,005 a aproximadamente el 0,08% p/v, con mayor preferencia, de aproximadamente el 0,06% p/v.

- De acuerdo con algunas realizaciones, las formulaciones oftálmicas de la presente invención pueden ajustarse con agentes de tonicidad para aproximarse a la presión osmótica de los fluidos lagrimales normales que es equivalente a una solución al 0,9% de cloruro de sodio o una solución al 2,5% de glicerol. Se prefiere una osmolaridad de
20 aproximadamente 225 a 400 mOsm/kg, más preferiblemente de 280 a 320 mOsm.

Agentes solubilizantes

- La formulación tópica puede requerir adicionalmente la presencia de un solubilizante, en particular si uno o más de los ingredientes tienden a formar una suspensión o una emulsión. Los solubilizantes adecuados incluyen, por ejemplo, tiloxapol, ésteres de glicerol y polietilenglicol de ácidos grasos, ésteres de polietilenglicol de ácidos grasos,
25 polietilenglicoles, éteres de glicerol, una ciclodextrina (por ejemplo, alfa-, beta- o gamma-ciclodextrina, por ejemplo, derivados de alquilados, hidroxialquilados, carboxialquilados o alquiloxicarbonil-alquilados o mono- o diglicosil-alfa-, beta- o gamma-ciclodextrina, mono- o dimaltosil-alfa-, beta- o gamma-ciclodextrina o panosil-ciclodextrina), polisorbato 20, polisorbato 80 o mezclas de estos compuestos. En una realización preferida, el solubilizador es un producto de reacción de aceite de ricino y óxido de etileno, por ejemplo, los productos comerciales Cremophor EL®
30 o Cremophor RH40®. Los productos de reacción de aceite de ricino y óxido de etileno han demostrado ser solubilizantes particularmente buenos que son muy bien tolerados por el ojo. En otra realización, el solubilizador es tiroxapol o una ciclodextrina. La concentración utilizada depende especialmente de la concentración del ingrediente activo. La cantidad añadida suele ser suficiente para solubilizar el ingrediente activo. Por ejemplo, la concentración del solubilizador es de 0,1 a 5000 veces la concentración del ingrediente activo.

35 Agentes demulcificantes

- Los demulcentes usados en la presente invención se usan en cantidades efectivas (es decir, "cantidades demulcificantes") para proporcionar un efecto demulcificante, es decir, suficiente para lubricar las superficies de la membrana mucosa y para aliviar la sequedad y la irritación. Los ejemplos de demulcentes adecuados pueden incluir polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, polietilenglicol y otros componentes tales como óxido de polietileno y ácido
40 poliacrílico están específicamente excluidos. En otras realizaciones más, se pueden usar otros demulcentes o adicionales en combinación con glicerina y propilenglicol. Por ejemplo, también se puede usar polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico.

- Las cantidades específicas de demulcentes utilizados en la presente invención variarán dependiendo de la aplicación; sin embargo, típicamente se proporcionan intervalos de varios demulcentes: glicerina: de
45 aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 1,5%, pero con preferencia, de aproximadamente el 1% (p/p); propilenglicol: de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 1,5%, pero con preferencia, de aproximadamente el 1% (p/p); derivado celulósico: de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 3%, pero con preferencia, de aproximadamente el 0,5% (p/p). Si se usan demulcentes adicionales, generalmente se usan en cantidades especificadas en la monografía de venta libre, citada anteriormente. Un derivado de celulosa preferido es
50 hidroxipropilmetilcelulosa de grado farmacéutico (HPMC).

Estabilidad

- Las formulaciones de la presente invención proporcionan la estabilidad química del fármaco hidrófobo formulado y otros agentes activos opcionales de la formulación. "Estabilidad" y "estable" en este contexto se refieren a la resistencia del fármaco hidrófobo y otros agentes activos opcionales a la degradación química y los cambios físicos,
55 como la sedimentación o la precipitación en determinadas condiciones de fabricación, preparación, transporte y almacenamiento. Las formulaciones "estables" de la invención también retienen preferiblemente al menos el 90%, el 95%, el 98%, el 99% o el 99,5% de una cantidad inicial o de referencia en determinadas condiciones de fabricación, preparación, transporte y/o almacenamiento. La cantidad de fármaco hidrófobo (por ejemplo, esteroide) y otros

agentes activos opcionales se pueden determinar utilizando cualquier método reconocido en la técnica, por ejemplo, como espectrofotometría UV-Vis y cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

- 5 En determinadas realizaciones, las formulaciones son estables a temperaturas que oscilan entre aproximadamente 20 y 30°C durante al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 4 semanas, al menos 5 semanas, al menos 6 semanas o al menos 7 semanas. En otras realizaciones, las formulaciones son estables a temperaturas que oscilan entre aproximadamente 20 y 30°C durante al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses o al menos 12 meses. En una realización, la formulación es estable durante al menos 3 meses a 20-25°C.
- 10 En otras realizaciones, las formulaciones son estables a temperaturas de aproximadamente 2 a 8°C durante al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 4 meses, al menos 6 meses, al menos 8 meses, al menos 10 meses, al menos 12 meses, al menos 14 meses, al menos 16 meses, al menos 18 meses, al menos 20 meses, al menos 22 meses o al menos 24 meses. En una realización, la formulación es estable durante al menos 2 meses a una temperatura de 2 a 8°C.
- 15 En otras realizaciones, las formulaciones son estables a temperaturas de aproximadamente -20°C durante al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 4 meses, al menos 6 meses, al menos 8 meses, al menos 10 meses, al menos 12 meses, al menos 14 meses, al menos 16 meses, al menos 18 meses, al menos 20 meses, al menos 22 meses o al menos 24 meses. En una realización, la formulación es estable durante al menos 6-12 meses a -20°C.
- 20 En una realización particular, una formulación de fármaco hidrófobo de la invención es estable a temperaturas de aproximadamente 20-30°C en concentraciones de hasta el 0,10% durante al menos 3 meses. En otra realización, la formulación es estable a temperaturas de aproximadamente 2-8°C a concentraciones de hasta el 0,10% durante al menos 6 meses.
- 25 En algunas realizaciones, la formulación es una formulación estéril de propionato de fluticasona con nanocristales tópicos que contiene una suspensión de entre el 0,001% y el 5% de los nanocristales FP de la invención (por ejemplo, el 0,01-1%, o aproximadamente el 0,25%, 0,1% o 0,05%), y un excipiente acuoso farmacéuticamente aceptable.
- En algunas realizaciones, la formulación contiene además aproximadamente el 0,002-0,01% (por ejemplo, 50 ppm $\pm$ 15%) de cloruro de benzalconio (BKC).
- 30 En algunas realizaciones, la formulación contiene, además, uno o más dispersantes de recubrimiento (por ejemplo, tiloxapol, polisorbato 80 y estearato de PEG como estearato de PEG40), uno o más agentes humectantes de tejidos (por ejemplo, glicerina), uno o más estabilizadores poliméricos (por ejemplo, metilcelulosa 4000 cP), uno o más agentes reguladores (por ejemplo, fosfato de sodio dibásico Na_2HPO_4 y fosfato sódico monobásico NaH_2PO_4 , y/o uno o más agentes de ajuste de la tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio).
- 35 En una realización, la formulación incluye entre el 0,01% y el 1% de nanocristales de FP de la invención (por ejemplo, aproximadamente el 0,25%, 0,1% o 0,05%), cloruro de benzalconio (por ejemplo, el 0,002-0,01% o aproximadamente el 0,005%), polisorbato 80 (por ejemplo, el 0,01-1%, o aproximadamente el 0,2%), estearato de PEG40 (por ejemplo, el 0,01-1%, o aproximadamente el 0,2%), glicerina (por ejemplo, el 0,1-10% o aproximadamente el 1%), metilcelulosa 4000 cP (por ejemplo, el 0,05-5% o el 0,5%), cloruro de sodio (por ejemplo, 0,05-5% o el 0,5%), fosfato de sodio dibásico Na_2HPO_4 y fosfato de sodio monobásico NaH_2PO_4 , y agua, y la formulación tiene un pH de aproximadamente 6,8-7,2. En otra realización, la formulación incluye entre el 0,01% -1% de nanocristales FP de la invención (por ejemplo, aproximadamente el 0,25%, 0,1% o 0,05%), cloruro de benzalconio (por ejemplo, el 0,002-0,01% o aproximadamente el 0,005%), tiloxapol (por ejemplo, el 0,01-1%, o aproximadamente el 0,2%), glicerina (por ejemplo, el 0,1-10% o aproximadamente el 1%), metilcelulosa 4000 cP (por ejemplo, el 0,05-5% o el 0,5%), cloruro de sodio (por ejemplo, el 0,05-5%, o el 0,5%), fosfato de sodio dibásico Na_2HPO_4 y fosfato de sodio monobásico NaH_2PO_4 , y agua, y la formulación tiene un pH de aproximadamente 6,8-7,2.
- 40
- 45
- 50 En algunas realizaciones, la formulación tiene una viscosidad de entre 40-50 cP a 20°C. En algunas realizaciones, la osmolaridad de la formulación es de aproximadamente 280-350 (por ejemplo, de aproximadamente 285-305) mOsm/kg. En algunas realizaciones, el pH de la formulación es de aproximadamente 6,8-7,2. En algunas realizaciones, la formulación tiene una viscosidad de entre 40-50 cP a 20°C.
- 55 En algunas realizaciones, los nanocristales FP en la formulación tienen un tamaño mediano de 300-600 nm, un tamaño medio de 500-700 nm, un valor D50 de 300-600 nm, y/o un valor D90 menor que 2 μm .
- En algunas realizaciones, la formulación se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar la blefaritis, por ejemplo, mediante un aplicador (por ejemplo, un cepillo como el cepillo Latisse® o un hisopo como el hisopo 25-3317-U). En una realización, se cargan dos gotas (aproximadamente 40 μL de tamaño de gota) de la formulación en un aplicador (por ejemplo, un cepillo o un hisopo) y luego se administran al sujeto que lo necesita, por ejemplo, deslizando el aplicador contra el párpado inferior (una o dos veces) y luego el párpado superior (una o dos

veces), y si es necesario, los pasos anteriores se repiten para el otro ojo con un nuevo aplicador.

Métodos de uso

La invención también proporciona el uso de las formulaciones descritas en el presente documento para el tratamiento sistémico o no sistémico, la prevención o el alivio de un síntoma de un trastorno en el que se usa el medicamento hidrófobo para, por ejemplo, trastornos inflamatorios, trastornos respiratorios, enfermedades autoinmunes o cáncer.

Según el modo de administración, el propionato de fluticasona se puede usar para tratar, por ejemplo, enfermedades relacionadas con la respiración como asma, enfisema, síndrome de dificultad respiratoria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis crónica, fibrosis quística, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, que incluye neumonía relacionada con el SIDA, rinitis perenne o estacional, rinitis alérgica y no alérgica (vasomotora) estacional o perenne, o afecciones de la piel que se pueden tratar con corticosteroides tópicos. Al igual que otros corticosteroides tópicos, el propionato de fluticasona tiene propiedades antiinflamatorias, antipruríticas y vasoconstrictoras.

Cuando se administra en un aerosol, el propionato de fluticasona actúa localmente en el pulmón; por lo tanto, los niveles plasmáticos no predicen un efecto terapéutico. Los estudios que utilizan dosis orales de propionato de fluticasona convencional marcado y no marcado han demostrado que la biodisponibilidad sistémica oral de propionato de fluticasona es despreciable (<1%), principalmente debido a la absorción incompleta y al metabolismo presistémico en el intestino y el hígado.

La extensión de la absorción percutánea de los corticosteroides tópicos está determinada por muchos factores, incluido el vehículo y la integridad de la barrera epidérmica. El vendaje oclusivo realza la penetración. Los corticosteroides tópicos pueden ser absorbidos por la piel intacta normal. La inflamación y/u otros procesos patológicos en la piel aumentan la absorción percutánea.

Vías de administración

En determinadas realizaciones, los nanocristales reivindicados para uso en los métodos de tratamiento descritos en la presente invención incluyen todas las vías locales (no sistémicas) de suministro a los tejidos oculares y los anexos. Esto incluye, pero no se limita a formulaciones tópicas, tales como gotas para los ojos, geles o pomadas y cualquier inyección intraocular, intravítrea, subretiniana, intracapsular, supracoroidea, subconjuntival, intracameral, intrapalpebral, cul-de-sac retrobulbar o peribulbar o dispositivos implantables o quirúrgicos.

El propionato de fluticasona se obtuvo en forma cristalina, designada Forma 1, disolviendo el producto crudo (obtenido, por ejemplo, como se describe en la Patente Británica N° 2088877) en acetato de etilo y luego recrystalizando. También se ha demostrado que las técnicas estándar de secado por pulverización conducen solo a la Forma 1 conocida del propionato de fluticasona. Véase la patente US N° 6.406.718 de Cooper et al. Una segunda forma polimórfica de propionato de fluticasona, preparada con tecnología de fluidos supercríticos, se describe en Cooper et al.

Cooper et al. describen un método para formar un producto de propionato de fluticasona en partículas que comprende la introducción simultánea de un fluido supercrítico y un vehículo que contiene al menos propionato de fluticasona en solución o suspensión en un recipiente de formación de partículas, la temperatura y la presión en las que se controlan, de manera que la dispersión y extracción del vehículo ocurre sustancialmente en forma simultánea por acción del fluido supercrítico. Los productos químicos descritos como útiles como fluidos supercríticos incluyen dióxido de carbono, óxido nitroso, hexafluoruro de azufre, xenón, etileno, clorotrifluorometano, etano y trifluorometano. El fluido supercrítico puede contener opcionalmente uno o más modificadores, tales como metanol, etanol, acetato de etilo, acetona, acetonitrilo o cualquier mezcla de los mismos. Un modificador de fluido supercrítico (o cosolvente) es una sustancia química que, cuando se agrega a un fluido supercrítico, cambia las propiedades intrínsecas del fluido supercrítico en o alrededor del punto crítico. Según Cooper et al., las partículas de propionato de fluticasona producidas usando fluidos supercríticos tienen un intervalo de tamaño de partícula de 1 a 10 micrones, preferiblemente de 1 a 5 micrones.

Hay varias desventajas asociadas con las composiciones de fluticasona de Cooper et al. Primero, son deseables los tamaños de partícula de menos de 1 micrón, ya que los tamaños de partícula más pequeños pueden asociarse con una disolución más rápida tras la administración y, por consiguiente, un inicio de acción más rápido, así como una mayor biodisponibilidad. Además, son deseables partículas de fluticasona muy pequeñas, es decir, de menos de aproximadamente 150 nm de diámetro, ya que tales composiciones pueden filtrarse en forma estéril. Además, las partículas de fluticasona de Cooper et al. pueden comprender residuos de fluidos supercríticos, que son indeseables ya que no tienen propiedades farmacéuticas y pueden causar potencialmente reacciones adversas.

El propionato de fluticasona se comercializa en diferentes formas comerciales. ADVAIR DISKUS® (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, N.C.) es un polvo para inhalación de una combinación de propionato de fluticasona microfino y xinafoato de salmeterol, que es un broncodilatador beta₂-adrenérgico altamente selectivo. La forma de dosificación se comercializa en tres dosis de propionato de fluticasona: 100 mcg, 250 mcg y 500 mcg. Tras la

administración de ADVAIR® DISKUS® a sujetos sanos, se alcanzaron concentraciones plasmáticas máximas de propionato de fluticasona en 1 a 2 horas. Ver Physicians' Desk Reference, 57th Edition, pp. 1433 (Thompson PDR, N.J. 2003). Tras la administración de ADVAIR® DISKUS® 500/50 (que contiene 500 mcg de propionato de fluticasona y 50 mcg de xinofoato de salmeterol), propionato de fluticasona en polvo 500 mcg y salmeterol en polvo 50 mcg administrados simultáneamente, o propionato de fluticasona en polvo 500 mcg solo, las concentraciones máximas medias en plasma en estado estable de propionato de fluticasona promediaron los 57, 73 y 70 pg/mL, respectivamente. Id., la concentración plasmática máxima de propionato de fluticasona en estado estable en pacientes adultos (n=11) varió de indetectable a 266 pg/ml después de una dosis de 500 mcg dos veces al día de polvo de inhalación de propionato de fluticasona con el dispositivo DISKUS®. La concentración plasmática media de propionato de fluticasona fue de 110 pg/ml. La biodisponibilidad sistémica del polvo de inhalación de propionato de fluticasona utilizando el dispositivo DISKUS® en voluntarios sanos promedia el 18%. ADVAIR DISKUS® está indicado para el tratamiento de mantenimiento del asma a largo plazo, dos veces al día.

FLOVENT® DISKUS® (GlaxoSmithKline) es un polvo de inhalación oral de propionato de fluticasona microfino (50 mcg, 100 mcg y 250 mcg) en lactosa. En condiciones de prueba in vitro estandarizadas, FLOVENT® DISKUS® suministra 47, 94 o 235 mcg de propionato de fluticasona de FLOVENT® DISKUS® 50 mcg, 100 mcg y 250 mcg, respectivamente. La biodisponibilidad sistémica del propionato de fluticasona del dispositivo DISKUS® en voluntarios adultos sanos promedia alrededor del 18%. FLOVENT® DISKUS® está indicado para el tratamiento de mantenimiento del asma como terapia profiláctica y para pacientes que requieren terapia con corticosteroides orales para el asma.

FLOVENT® ROTADISK® (GlaxoSmithKline) es un polvo para inhalación oral de propionato de fluticasona microfino (50 mcg, 100 mcg y 250 mcg) mezclado con lactosa. En condiciones de prueba in vitro estandarizadas, FLOVENT® ROTADISK® suministra 44, 88 o 220 mcg de propionato de fluticasona de FLOVENT® ROTADISK® 50 mcg, 100 mcg o 250 mcg, respectivamente. Id., la biodisponibilidad sistémica del propionato de fluticasona del dispositivo ROTADISK® en voluntarios adultos sanos promedia alrededor del 13,5%. Id., FLOVENT® ROTADISK® está indicado para el tratamiento de mantenimiento del asma como terapia profiláctica y para pacientes que requieren terapia con corticosteroides orales para el asma.

FLOVENT® (GlaxoSmithKline) es un aerosol de inhalación oral de una suspensión microcristalina de propionato de fluticasona (44 mcg, 110 mcg o 220 mcg) en una mezcla de dos propelentes de clorofluorocarbono (triclorofluorometano y diclorodifluorometano) con lecitina. Cada accionamiento del inhalador libera 50, 125 o 250 mcg de propionato de fluticasona desde la válvula y 44, 110 o 220 mcg, respectivamente, de propionato de fluticasona desde el accionador. La biodisponibilidad sistémica del aerosol de inhalación de propionato de fluticasona en voluntarios sanos promedia aproximadamente el 30% de la dosis administrada desde el accionador. Las concentraciones plasmáticas máximas después de una dosis inhalada de 880 mcg variaron de 0,1 a 1,0 ng/ml. Id., FLOVENT® está indicado para el tratamiento de mantenimiento del asma como terapia profiláctica.

FLONASE® (GlaxoSmithKline) es un aerosol nasal de una suspensión acuosa de propionato de fluticasona microfina (50 mcg/dosis) administrado por medio de una bomba de aerosol dosificadora atomizadora. La forma de dosificación también contiene celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa sódica, dextrosa, 0,02% p/p de cloruro de benzalconio, polisorbato 80 y 0,25% p/p de alcohol feniletílico. Los cálculos indirectos indican que el propionato de fluticasona administrado por vía intranasal tiene una biodisponibilidad absoluta con un promedio de menos del 2%. Después del tratamiento intranasal de pacientes con rinitis alérgica durante 3 semanas, las concentraciones plasmáticas de propionato de fluticasona fueron superiores al nivel de detección (50 pg/ml) solo cuando se excedieron las dosis recomendadas y luego solo en muestras ocasionales a niveles plasmáticos bajos. Debido a la baja biodisponibilidad por vía intranasal, la mayoría de los datos farmacocinéticos se obtuvieron a través de otras vías de administración. Los estudios que utilizan dosis orales de medicamentos radiomarcados han demostrado que el propionato de fluticasona se extrae mucho del plasma y la absorción es baja. La biodisponibilidad oral es despreciable, y la mayoría de la radiactividad circulante se debe a un metabolito inactivo. Los estudios que comparan el efecto de la dosificación oral y nasal demuestran que el efecto terapéutico de FLONASE® puede atribuirse a los efectos tópicos del propionato de fluticasona aplicado a la mucosa nasal. El aerosol nasal FLONASE® está indicado para el tratamiento de los síntomas nasales de la rinitis alérgica y no alérgica estacional y perenne.

CUTIVATE® (GlaxoSmithKline) es una crema o pomada de propionato de fluticasona dermatológica tópica (concentración de 0,05% y 0,005%). La crema y la pomada son un corticosteroide de potencia media indicado para el alivio de las manifestaciones inflamatorias y pruríticas de las dermatosis sensibles a los corticosteroides. En un estudio en humanos de 12 varones sanos que recibieron 12,5 g de crema de propionato de fluticasona al 0,05% dos veces al día durante 3 semanas, los niveles plasmáticos estuvieron generalmente por debajo del nivel de cuantificación (0,05 ng/ml). En otro estudio de 6 varones sanos a los que se administraron 25 g de crema de propionato de fluticasona al 0,05% bajo oclusión durante 5 días, los niveles plasmáticos de fluticasona oscilaron entre 0,07 y 0,39 ng/ml. En un estudio de 6 voluntarios sanos que aplicaron 26 g de pomada de propionato de fluticasona al 0,005% dos veces al día en el tronco y las piernas durante hasta 5 días bajo oclusión, los niveles plasmáticos de fluticasona variaron de 0,08 a 0,22 ng/ml.

La invención presenta los nanocristales reivindicados para su uso en métodos de tratamiento, prevención o alivio de

un síntoma de un trastorno ocular como la blefaritis y/o la MGD en un sujeto que comprende el uso de las nuevas formulaciones descritas anteriormente. Por ejemplo, un método para tratar o prevenir el trastorno ocular (por ejemplo, blefaritis o MGD) puede comprender administrar al ojo, párpado, pestañas o al borde del párpado de un sujeto que lo necesite, una formulación que comprende una de las formulaciones novedosas descritas más arriba.

- 5 La invención presenta, además, los nanocristales reivindicados para uso en métodos de tratamiento de trastornos dermatológicos en un sujeto que comprende el uso de las nuevas formulaciones descritas en el presente documento.

La invención presenta, además, los nanocristales reivindicados para su uso en métodos de tratamiento de enfermedades respiratorias (por ejemplo, asma o EPOC), rinitis, dermatitis o esofagitis al administrar a un sujeto que lo necesite las formulaciones que se describen en el presente documento.

10 La invención también presenta los nanocristales reivindicados para uso en métodos de tratamiento del cáncer (por ejemplo, linfoma) al administrar a un sujeto que lo necesite las formulaciones que se describen en el presente documento.

15 La invención también presenta los nanocristales reivindicados para uso en métodos de tratamiento de una enfermedad autoinmune (por ejemplo, lupus o psoriasis) al administrar a un sujeto que lo necesite las formulaciones que se describen en este documento.

La cantidad eficaz de agente activo por incluir en una formulación dada, y la eficacia de una formulación para tratar, prevenir o aliviar un síntoma del trastorno diana, por ejemplo, blefaritis y/o MGD, pueden evaluarse por uno o más de los siguientes: evaluación con lámpara de hendidura, tinción con fluoresceína, tiempo de ruptura de la película lagrimal y evaluación de la calidad de las secreciones de las glándulas de Meibomio (mediante la evaluación de una o más de la viscosidad de la secreción, color de la secreción, alineación de las glándulas, patrón de vascularidad, enrojecimiento de la vascularización, hiperqueratinización, borde posterior del párpado, pestaña, unión mucocutánea, enrojecimiento periglandular, geometría de la glándula y altura de la glándula).

20 La cantidad eficaz del o de los agentes activos en la formulación dependerá de la absorción, inactivación y tasas de excreción del fármaco, así como de la tasa de administración del o de los agentes activos de la formulación. Se debe tener en cuenta que los valores de dosificación también pueden variar con la gravedad de la afección por aliviar. Debe entenderse, además, que, para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse a lo largo del tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones. Típicamente, la dosificación se determinará usando técnicas conocidas por un experto en la técnica.

25 La dosis de cualquier compuesto de la presente invención variará dependiendo de los síntomas, la edad y otras características físicas del paciente, la naturaleza y la gravedad del trastorno por tratar o prevenir, el grado de confort deseado, la ruta de administración, y la forma del suplemento. Cualquiera de las formulaciones en cuestión puede administrarse en una sola dosis o en dosis divididas. Las dosis para las formulaciones de la presente invención se pueden determinar fácilmente mediante técnicas conocidas por los expertos en la técnica o como se enseña en este documento. En realizaciones, para tratar la blefaritis, se administran aproximadamente 1-100 µg (por ejemplo, 10-100 µg) de nanopartículas FP a cada párpado. En una realización, se aplican a cada ojo dos gotas (con un volumen total de aproximadamente 80 µL) de una formulación que contiene nanocristales FP (por ejemplo, 0,01-1%, o aproximadamente 0,25%, 0,1% o aproximadamente 0,05%). Por ejemplo, las dos gotas de formulación primero se cargan en un aplicador (por ejemplo, un cepillo o un hisopo) y luego se suministran al sujeto que lo necesita, por ejemplo, deslizando el aplicador contra el párpado inferior (una o dos veces) y luego el párpado superior (una o dos veces), y si es necesario, los pasos anteriores se repiten para el otro ojo con un nuevo aplicador.

35 Una dosis o cantidad eficaz, y cualquier posible efecto sobre el momento de administración de la formulación, puede necesitar identificarse para cualquier formulación particular de la presente invención. Esto se puede lograr mediante un experimento de rutina como se describe en este documento. La efectividad de cualquier formulación y método de tratamiento o prevención se puede evaluar administrando la formulación y evaluando el efecto de la administración midiendo uno o más índices asociados con la eficacia de la composición y con el grado de comodidad para el paciente, como se describe en este documento, y comparando los valores posteriores al tratamiento de estos índices con los valores de los mismos índices antes del tratamiento o comparando los valores posteriores al tratamiento de estos índices con los valores de los mismos índices utilizando una formulación diferente.

45 El tiempo preciso de administración y la cantidad de cualquier formulación particular que produzca el tratamiento más efectivo en un paciente determinado dependerá de la actividad, la farmacocinética y la biodisponibilidad de un compuesto particular, la condición fisiológica del paciente (incluida la edad, el sexo), el tipo y la etapa de la enfermedad, la condición física general, la capacidad de respuesta a una dosis y el tipo de medicamento dados, la vía de administración, y similares. Las pautas presentadas en el presente documento pueden usarse para optimizar el tratamiento, por ejemplo, determinando el tiempo y/o la cantidad de administración óptimos, que no requerirán más que una experimentación rutinaria que consiste en monitorear al sujeto y ajustar la dosis y/o el momento.

50 El uso combinado de varios agentes activos formulados en las composiciones de la presente invención puede

reducir la dosis requerida para cualquier componente individual debido a que el inicio y la duración del efecto de los diferentes componentes pueden ser complementarios. En dicha terapia combinada, los diferentes agentes activos pueden administrarse juntos o por separado, y simultáneamente o en diferentes momentos dentro del día.

Embalaje

- 5 Las formulaciones de la presente invención pueden envasarse como un producto de dosis única o un producto de dosis múltiples. El producto de dosis única es estéril antes de abrir el estuche y toda la composición del paquete está destinada a ser consumida en una sola aplicación en uno o ambos ojos de un paciente. El uso de un conservante antimicrobiano para mantener la esterilidad de la composición después de abrir el envase es generalmente innecesario. Las formulaciones, si es una formulación de ungüento, pueden envasarse según sea apropiado para un ungüento, como es conocido por un experto en la técnica.

- 10 Los productos multidosis también son estériles antes de abrir el estuche. Sin embargo, debido a que el contenedor para la composición puede abrirse muchas veces antes de que se consuma toda la composición en el contenedor, los productos de dosis múltiples deben tener suficiente actividad antimicrobiana para asegurar que las composiciones no se contaminen con microbios como resultado de la apertura y el manejo repetidos del envase. El nivel de actividad antimicrobiana requerido para este propósito es bien conocido por los expertos en la técnica, y se especifica en publicaciones oficiales, como la Farmacopea de los Estados Unidos ("USP") y otras publicaciones de la Food and Drug Administration, y las publicaciones correspondientes en otros países. Las descripciones detalladas de las especificaciones para la conservación de productos farmacéuticos oftálmicos contra la contaminación microbiana y los procedimientos para evaluar la eficacia conservante de formulaciones específicas se proporcionan en esas publicaciones. En los Estados Unidos, los estándares de eficacia conservante generalmente se conocen como los requisitos "USP PET". (El acrónimo "PET" representa "prueba de eficacia de conservación").

- 15 El uso de una disposición de envase de dosis única elimina la necesidad de un conservante antimicrobiano en las composiciones, lo cual es una ventaja significativa desde una perspectiva médica, ya que los agentes antimicrobianos convencionales utilizados para conservar las composiciones oftálmicas (por ejemplo, cloruro de benzalconio) pueden causar irritación ocular, particularmente en pacientes que sufren de sequedad ocular o irritación ocular preexistente. Sin embargo, las disposiciones de envase de dosis única actualmente disponibles, como los viales de plástico de pequeño volumen preparados por medio de un proceso conocido como "formar, llenar y sellar", tienen varias desventajas para los fabricantes y consumidores. Las principales desventajas de los sistemas de envase de dosis única son las cantidades mucho mayores de materiales de envasado que se requieren, lo que es inútil y costoso, y el inconveniente para el consumidor. Además, existe el riesgo de que los consumidores no desechen los recipientes de dosis única después de la aplicación de una o dos gotas en los ojos, como se les indica, pero en su lugar guardarán el recipiente abierto y cualquier composición que quede en los mismos para su uso posterior. Este uso incorrecto de productos de dosis única crea un riesgo de contaminación microbiana del producto de dosis única y un riesgo asociado de infección ocular si se aplica una composición contaminada a los ojos.

- 25 Aunque las formulaciones de esta invención se formulan preferiblemente como soluciones acuosas listas para usar, las formulaciones alternativas se contemplan dentro del alcance de esta invención. Así, por ejemplo, los ingredientes activos, tensioactivos, sales, agentes quelantes u otros componentes de la solución oftálmica, o mezclas de los mismos, pueden liofilizarse o proporcionarse de otra manera como un polvo seco o comprimido listo para disolución en agua (por ejemplo, en agua desionizada o agua destilada). Debido a la naturaleza de autoconservación de la solución, no se requiere agua estéril.

- 30 Las pomadas oftálmicas se pueden producir de la siguiente manera: si es necesario, se combinan antisépticos, tensioactivos, estabilizantes, alcoholes, ésteres o aceites con una base de pomada como parafina líquida o vaselina colocada en un mortero o una máquina de mezcla para formar pomada una mezcla. La pomada preparada de este modo se rellena en una botella o tubo para pomada.

45 Kits

- En otra realización más, esta invención proporciona kits para el embalaje y/o almacenamiento y/o uso de las formulaciones descritas en el presente documento, así como kits para la práctica de los métodos descritos en el presente documento. Así, por ejemplo, los kits pueden comprender uno o más recipientes que contienen una o más soluciones oftálmicas, pomadas, suspensiones o formulaciones, comprimidos o cápsulas de esta invención. Los kits se pueden diseñar para facilitar uno o más aspectos del envío, uso y almacenamiento.

- 50 Los kits también pueden incluir opcionalmente un aplicador tópico para facilitar la administración de las formulaciones proporcionadas en el mismo. En algunos aspectos, las formulaciones se cargan previamente en el aplicador tópico. Los aplicadores tópicos incluyen, por ejemplo, un hisopo o una varita.

- 55 Los kits pueden incluir opcionalmente materiales instructivos que contienen instrucciones (es decir, protocolos) que describen medios de uso de las formulaciones proporcionadas en los mismos. Los kits también pueden incluir opcionalmente un aplicador tópico para facilitar la administración de las formulaciones proporcionadas en los mismos. Mientras que los materiales de instrucción típicamente comprenden materiales escritos o impresos, no están limitados a los mismos. Esta invención contempla cualquier medio capaz de almacenar dichas instrucciones y

comunicarlas a un usuario final. Dichos medios incluyen, pero no se limitan a medios de almacenamiento electrónico (por ejemplo, discos magnéticos, cintas, cartuchos, chips), medios ópticos (por ejemplo, CD ROM), y similares. Dichos medios pueden incluir direcciones a sitios de Internet que proporcionan dichos materiales de instrucción.

En caso de conflicto, prevalecerá la presente solicitud, incluidas las definiciones aquí contenidas. Todos los porcentajes y relaciones utilizados en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, son en peso. Todos los promedios utilizados aquí, a menos que se indique lo contrario, son promedios numéricos. Por ejemplo, los tamaños promedio de los nanocristales descritos aquí son tamaños promedio en número. Además, los pesos moleculares de los polímeros descritos en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, son una masa molar media en número de dicho polímero. Como se usa en este documento, los intervalos/distribuciones de tamaño de partícula o espesor de las nanopartículas, excepto el intervalo de tamaños promedio de nanopartículas, son los intervalos definidos por los valores D10 y D90.

Definiciones

El término "D10" o "valor D10" se refiere al valor donde el 10 por ciento de la población se encuentra por debajo de este valor. De manera similar, "D90" o "valor D90" se refiere al valor donde el 90 por ciento de la población se encuentra por debajo de D90, y "D50" o "valor D50" se refiere al valor donde el 50 por ciento de la población se encuentra por debajo de D50.

La expresión "modo estadístico" o "modo" se refiere al valor que aparece con mayor frecuencia en un conjunto de datos. No es raro que un conjunto de datos tenga más de un modo. Una distribución con dos modos se llama bimodal. Una distribución con tres modos se llama trimodal. El modo de una distribución con una variable aleatoria continua es el valor máximo de la función. Al igual que con las distribuciones discretas, puede haber más de un modo.

La expresión "mediana" o "mediana estadística" es el valor numérico que separa la mitad superior de una muestra de datos, una población o una distribución de probabilidad, de la mitad inferior. La expresión "secreción anormal de la glándula de Meibomio" se refiere a la secreción de la glándula de Meibomio con un aumento de la viscosidad, opacidad, color y/o un aumento del tiempo (período refractario) entre las secreciones de la glándula.

El término "acuoso" denota típicamente una composición acuosa en la que el vehículo está en una extensión de >50%, más preferiblemente >75% y en particular >90% en peso de agua.

El término "blefaritis" se refiere a un trastorno que comprende la inflamación del párpado en el que la inflamación produce enrojecimiento del párpado, hinchazón del párpado, malestar en el párpado, picazón en el párpado, descamación de la piel del párpado y enrojecimiento ocular. Las secreciones anormales de las glándulas de Meibomio desempeñan un papel importante y se observan queratinización de los párpados, redondeo del borde del párpado, oscurecimiento de la línea gris, aumento de la transparencia del borde del párpado y aumento de la vascularización. Si bien la mayoría de los investigadores se refieren a los términos disfunción de la glándula de Meibomio (MGD) y meibomianitis como blefaritis, es importante señalar que estas son enfermedades distintas asociadas con el meibum anormal (es decir, las secreciones de la glándula de Meibomio) y que los términos no son indistintos. La blefaritis puede causar disfunción crónica de la glándula de Meibomio. La MGD a su vez causará síntomas de ojo seco debido a la mala calidad del meibum que sirve como la capa más externa de la película lagrimal y actúa para retardar la evaporación de las lágrimas.

El término "confortable", como se usa en el presente documento, se refiere a una sensación de bienestar físico o alivio, contrariamente a la sensación física de dolor, ardor, escozor, picazón, irritación u otros síntomas asociados con la incomodidad física.

La expresión "formulación oftálmica confortable", como se usa en el presente documento, se refiere a una formulación oftálmica que proporciona alivio físico de los signos o síntomas asociados con la inflamación del borde del párpado y/o malestar ocular, y solo causa un nivel aceptable de dolor, ardor, escozor, picazón, irritación u otros síntomas asociados con malestar ocular, cuando se instila en el ojo.

La frase "cantidad eficaz" es un término reconocido en la técnica y se refiere a una cantidad de un agente que, cuando se incorpora a una composición farmacéutica de la presente invención, produce algún efecto deseado con una relación razonable de riesgo/beneficio aplicable a cualquier tratamiento médico. En determinadas realizaciones, la frase se refiere a la cantidad necesaria o suficiente para eliminar, reducir o mantener (por ejemplo, prevenir la propagación de) un síntoma de irritación del borde del párpado, o prevenir o tratar la inflamación del borde del párpado. La cantidad eficaz puede variar dependiendo de factores tales como la enfermedad o afección que se está tratando, la composición particular que se administra o la gravedad de la enfermedad o afección. Un experto en la técnica puede determinar empíricamente la cantidad eficaz de un agente particular sin necesidad de experimentación indebida.

La frase "farmacéuticamente aceptable" está reconocida en la técnica y se refiere a composiciones, polímeros y otros materiales y/o sales de los mismos y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad,

irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, en proporción con una relación razonable de riesgo/beneficio.

La frase “vehículo farmacéuticamente aceptable” está reconocida en la técnica, y se refiere, por ejemplo, a materiales, composiciones o portadores farmacéuticamente aceptables, como un líquido (acuoso o no acuoso) o un relleno sólido, diluyente, excipiente, disolvente o material encapsulado, involucrado en llevar o transportar cualquier suplemento o composición, o componente del mismo, desde un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo, o para administrar un agente a la superficie del ojo. Cada vehículo debe ser “aceptable” en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no ser perjudicial para el paciente. En determinadas realizaciones, un vehículo farmacéuticamente aceptable es no pirógeno. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites tales como aceite de ricino, aceite de oliva, aceite de maní, aceite de macadamia, aceite de nuez, aceite de almendra, aceite de semilla de calabaza, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de soja, aceite de aguacate, aceite de palma, aceite de coco, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de linaza, aceite de semilla de uva, aceite de canola, aceite siliconado de baja viscosidad, aceite mineral ligero, o cualquier combinación de los mismos; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido alginico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras de fosfato; (21) gomas tales como HP-guar; (22) polímeros; y (23) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

La expresión “sales farmacéuticamente aceptables” está reconocida en la técnica, y se refiere a sales por adición de ácidos inorgánicos y orgánicos relativamente no tóxicos de composiciones de la presente invención o cualquiera de sus componentes, incluidos, entre otros, agentes terapéuticos, excipientes, otros materiales, y similares. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas derivadas de ácidos minerales, tales como ácido clorhídrico y ácido sulfúrico, y aquellas derivadas de ácidos orgánicos, tales como ácido etansulfónico, ácido bencensulfónico, ácido p-toluensulfónico, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto principal formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales convencionales no tóxicas incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico y nítrico; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, fluórico, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamoico, maleico, hidroximálico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluensulfónico, metansulfónico, etandisulfónico, oxálico e isetiónico.

El término “tópico” se refiere a una vía de administración, es decir, administrar un medicamento a las superficies corporales, como la piel, los tejidos o las membranas mucosas de un sujeto que lo necesite. Por ejemplo, se pueden administrar medicamentos tópicos en el párpado del ojo, las pestañas, el borde del párpado, la piel o en el ojo (por ejemplo, la superficie ocular, como las gotas para los ojos aplicadas a la conjuntiva). Los medicamentos tópicos también pueden ser inhalados, como los medicamentos para el asma, o los medicamentos que se aplican en la superficie de un diente.

El término “intraocular”, como se usa en este documento, se refiere a cualquier lugar dentro del globo ocular. El término “intravítreo”, como se usa en el presente documento, se refiere al interior del gel en la parte posterior del ojo. Por ejemplo, una inyección de Lucentis se administra por vía intravítrea.

El término “subretiniano”, como se usa en el presente documento, se refiere al área entre la retina y la coroides. Por ejemplo, el dispositivo iScience se administra subretinalmente.

El término “intracapsular” como se usa en el presente documento se refiere a la cápsula de la lente. Por ejemplo, el dispositivo iVeena se administra intracapsularmente.

El término “supracoroideo”, como se usa aquí, se refiere al área entre la coroides y la esclerótica. Por ejemplo, el dispositivo Clearside se administra por vía supracoroidea.

El término “subtenoniana”, como se usa en este documento, se refiere al área posterior al tabique orbital, fuera de la esclerótica, debajo de la cápsula de la espiga. Por ejemplo, las inyecciones de triamcinolona se administran al subtenón.

El término “subconjuntiva”, como se usa en el presente documento, se refiere al área entre la conjuntiva y la esclerótica. Por ejemplo, la inyección de rapamicina Macusight se administra en el área subconjuntival.

El término “intracameral” como se usa en el presente documento se refiere a “dentro de una cámara” del ojo, por ejemplo, dentro de la cámara anterior o posterior del ojo. Por ejemplo, cualquier inyección durante la cirugía de cataratas se administra intracameralmente.

El término “intrapalpebral” como se usa en este documento se refiere al párpado. Por ejemplo, las inyecciones de Botox se administran en forma intrapalpebral.

El término “cul-de-sac”, como se usa en este documento, se refiere al espacio entre el párpado y el globo. Por ejemplo, el dispositivo Ocusert se administra en el cul-de-sac.

- 5 El término “retrobulbar”, como se usa en este documento, se refiere a detrás de la órbita del ojo. El término “peribulbar”, como se usa en este documento, se refiere a dentro de la órbita o adyacente al ojo. Por ejemplo, el bloqueo anestésico antes de la cirugía ocular se administra en el espacio retrobulbar o peribulbar. Como se usa en el presente documento, un “sujeto que lo necesita” es un sujeto que tiene un trastorno en el que el fármaco hidrófobo descrito en el presente documento está destinado a ser usado para tratar, por ejemplo, trastornos inflamatorios, trastornos respiratorios, enfermedades autoinmunes o cáncer. Un “sujeto” incluye un mamífero. El mamífero puede ser, por ejemplo, un mamífero humano o no humano apropiado, como primate, ratón, rata, perro, gato, vaca, caballo, cabra, camello, oveja o cerdo. El sujeto también puede ser un pájaro o ave de corral. En una realización, el mamífero es un ser humano.

- 15 El término “prevenir”, cuando se utiliza en relación con una afección, como la blefaritis, está reconocido en la técnica y se refiere a la administración de una composición que reduce la frecuencia o retrasa la aparición de signos y/o síntomas de una condición médica en un sujeto en relación con un sujeto que no recibe la composición.

El término “tratar” es un término reconocido en la técnica que se refiere a curar, así como a aliviar al menos un síntoma de cualquier afección o enfermedad.

Ejemplos

- 20 Ejemplo 1: preparación de nanopartículas de propionato de fluticasona al 0,1%

Métodos: Se desarrolló un método de HPLC para determinar la concentración de propionato de fluticasona, con los detalles proporcionados en A.

- 25 La composición específica de la Fase I depende de la solubilidad del fármaco en esta fase. La solubilidad del propionato de fluticasona en disolventes y excipientes aprobados por la FDA se determinó disolviendo 10 mg de fármaco en cada disolvente, agitando vigorosamente y equilibrando durante la noche a 25 grados centígrados. La suspensión se centrifugó a 10.000 rpm y el sobrenadante se analizó mediante RP-HPLC a 239 nm. Se evaluó la solubilidad y compatibilidad del propionato de fluticasona en cada uno de los disolventes.

A. Desarrollo del método HPLC

- 30 Los métodos de USP para el análisis del propionato de fluticasona (crema, pomada) utilizan un método de extracción con hexano, antes de la dilución con la fase móvil, probablemente debido a la presencia de excipientes que pueden degradar o bloquear la columna, resolución más baja en la separación de picos y pérdida en altura de los picos. Los métodos de extracción dan como resultado la pérdida de productos de degradación, especialmente aquellos que no se han caracterizado previamente. Se consideró necesario desarrollar un método que diera como resultado la cuantificación de la API, así como productos de degradación que pudieran surgir debido a posibles incompatibilidades con los excipientes.

Método de preparación de la muestra

1. Se combinó una muestra de 400 µl (1 mg/ml de suspensión de fármaco) con 1,6 ml de fase móvil y se mezclaron con vórtex. (Muestra ahora de 0,2 mg/ml).
2. Se extrajeron 2 ml de muestra en una jeringa de 5 ml y luego se filtraron con presión manual a través de un filtro Millex GV de jeringa (Millipore, 33 mm de diámetro, 0,22 µm, Durapore (PVDF), número de catálogo: SLGV033RB, amarillo). El esfuerzo necesita una cantidad moderada de presión de la mano.
3. La muestra filtrada se inyectó directamente en la HPLC utilizando el método isocrático.

Lavado de columnas:

- 45 Después de varias inyecciones de muestras que contenían la formulación que se procesaron usando el nuevo método de dilución/filtración, las presiones de la columna aumentaron ligeramente de 222 bar a 230 bar. Se encontró que lavar la columna con fase móvil o una combinación de metanol y una solución de acetato de amonio 0,1 M a pH=7 era útil para reducir las presiones de la columna a presiones originales de aproximadamente 222 bar. Con la tasa de flujo de columna actual de 1,5 ml por minuto y las presiones de columna largas de 250 mm se espera que sean más altas que un método similar con tasas de flujo más bajas y longitudes de columna más cortas. La HPLC tiene una presión de corte de 400 bar. El monitoreo de las presiones de la columna será esencial para determinar cuándo se requiere el lavado de la columna, por lo que el método de HPLC ahora registra las presiones junto con las exploraciones. Además, las inyecciones de dilución adicionales, que no contienen la formulación, se agregarán con mayor frecuencia para lavar la columna y evitar la sobrepresión, la forma de pico deficiente y la pérdida de altura.

Configuración de muestra

- Una secuencia para ejecutar múltiples muestras de la formulación debe incluir inyecciones en blanco para evitar un aumento en la presión de la columna. Cuando se ejecutaron las muestras de precisión en la HPLC, se realizaron 12 inyecciones de vehículo donde la presión aumentó de 221 bar a 230 bar. Estas inyecciones fueron seguidas por 8 muestras que no contenían ningún vehículo y la presión bajó a 228 bar. Se realizó un lavado adicional después de la secuencia para disminuir la presión a un nivel inferior. Sobre la base de estos resultados, un total de 6 a 8 inyecciones de la formulación preparada como se describe deben ir seguidas de 2 a 4 inyecciones de fase móvil. Se debe considerar el lavado adicional de la columna antes de otra secuencia de formulación si es necesario.

Condiciones de la cromatografía:

- 10 Instrumento: Agilent 1200 HPLC con inyector automático y detector DAD.

Fase móvil: Isocrática, 50% de metanol, 35% de fosfato de amonio 0,01 M, pH = 3,5, 15% de acetonitrilo.

Tasa de flujo: 1,5 ml/min.

Tiempo de ejecución: 20 minutos.

Columna: Phenomenex Luna C18 5 micrones 100A 250-4,6 mm P/N 00G-4041-EO.

- 15 Temperatura de la columna: 40°C.

Bandeja de muestras: temperatura ambiente.

Volumen de inyección: 50 microlitros.

Detección de DAD: 239 nm.

- 20 Configuración de la muestra: se ejecutaron espacios en blanco en la secuencia entre conjuntos de experimentos para garantizar que no se transfieran.

Preparación estándar: Se preparó una solución madre estándar de 5 mg/ml de fluticasona pesando el sólido y disolviéndolo en acetonitrilo al 100%. La dilución de esta reserva para las muestras de la curva de calibración se realizó en diluyente de la muestra (50% de acetonitrilo/agua). Diluyente de la muestra: 50% de acetonitrilo/agua.

Aspectos del desarrollo del método

- 25 Especificidad

La forma máxima, la altura y los tiempos de retención de la PF y sus impurezas deben ser similares con las muestras que contienen el vehículo o la fase móvil como diluyente. La Tabla 1 a continuación muestra la comparación de áreas de picos y alturas para muestras de HPLC que contienen vehículo o solo fase móvil, que se muestra en la FIG. 2.

- 30 Tabla 1 FP Análisis de área y altura.

Muestra	Vehículo		Diluyente (MP)	
	Área	Altura	área	Altura
0,153 mg/ml	10672,1	531,6	10639,7	561
0,2044 mg/ml	14180,7	710,3	14288,15	753,7
0,2555 mg/ml	17864,6	894,45	17981,5	947,9

Hay una muy buena coincidencia entre las muestras con y sin el vehículo de formulación. La tabla 2 muestra las áreas y alturas de estas muestras.

Tabla 2 Alturas y áreas con 50% de ACN/Agua

Diluyente 50% de acetonitrilo/agua		
Muestra	Área	Altura
0,2112 mg/ml	11096,5	578,2

0,1976 mg/ml	14781,2	767,6
0,264 mg/ml	18727,7	972,2

B, C y D impurezas:

Las impurezas B, C y D de las inyecciones del vehículo también se compararon con las mismas impurezas de las muestras que no contenían el vehículo. La tabla 3 a continuación muestra la equivalencia entre las dos muestras. El diluyente es la fase móvil.

Tabla 3 Impurezas B, C y D

Muestra	Impureza	Vehículo		Diluyente (MP)	
		Área	Altura	Área	Altura
0,153 mg/ml	B	5,5	0,41	3,3	0,28
	C	7,25	0,48	6,3	0,46
	D	7,35	0,5	7,2	0,49
0,2044 mg/ml	B	4,2	0,4	4,4	0,37
	C	9,3	0,52	8,3	0,6
	D	10,1	0,685	9,5	0,64
0,2555 mg/ml	B	4,9	0,49	5,9	0,48
	C	11,2	0,77	10,8	0,78
	D	13,3	0,93	11,9	0,8

Tiempos de retención

Los tiempos de retención del propionato de fluticasona y las impurezas B, C y D son los siguientes:

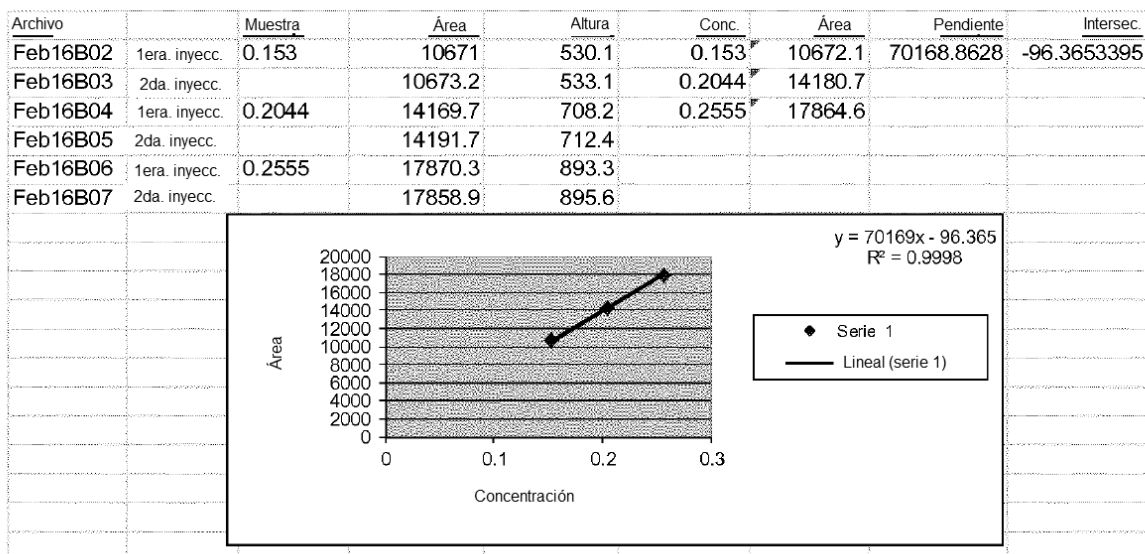
Tabla 4 Tiempos de retención de varias preparaciones de muestra

Muestra	Vehículo		MP		50% de ACN/agua	
	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT
FP	14,1	1	14,2	1	13,8	1
Imp B	7,8	0,55	7,8	0,55	7,5	0,54
Imp C	10,3	0,73	10,3	0,73	9,9	0,72
Imp D	11,7	0,83	11,7	0,82	11,6	0,84

Linealidad

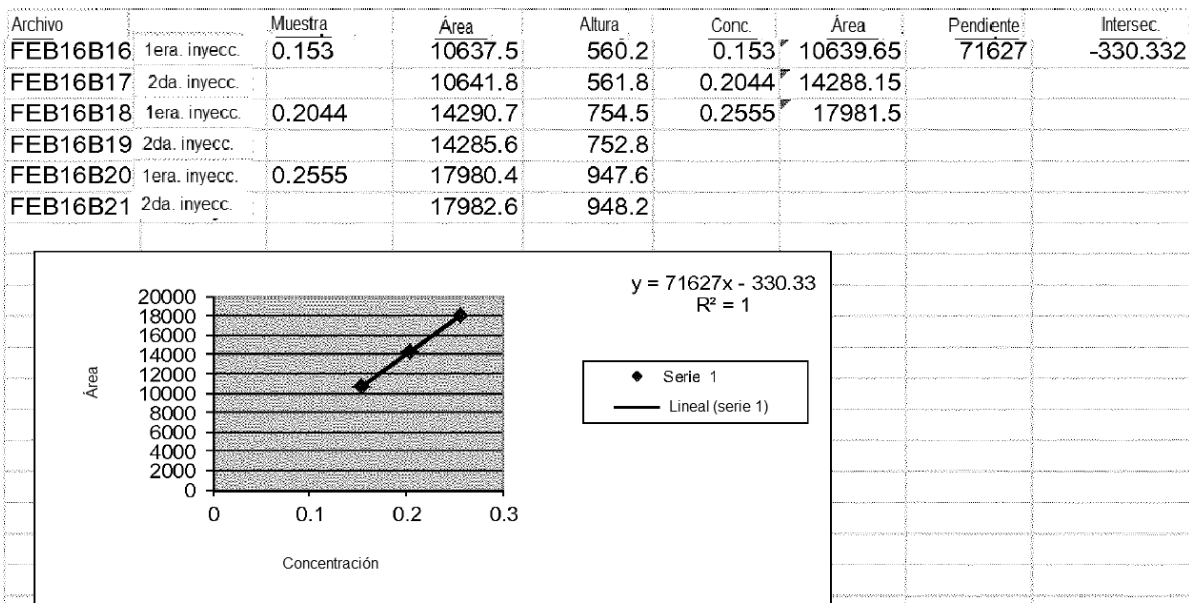
La linealidad de la nueva preparación de la muestra se evaluó mediante la adición de muestras del vehículo en blanco con una cantidad conocida de propionato de fluticasona, disuelto en acetonitrilo. Se disolvieron picos de 300, 400 y 500 µl de 5,11 mg/ml de propionato de fluticasona en 2 gramos de vehículo y se diluyeron a 10 ml con fase móvil (MP). La fase móvil fue: 50% de metanol, 35% de fosfato de amonio 0,01 M a pH=3,5 y 15% de acetonitrilo. Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 5. Las unidades del eje x son mg/ml de PF. El método se considera lineal si el coeficiente de correlación o el valor de R² es 0,999 o mayor.

Tabla 5 - linealidad de propionato de fluticasona en vehículo de formulación



Los mismos picos también se realizaron utilizando una fase móvil del 100%. La linealidad de estas muestras se indica a continuación en la Tabla 6. El eje x en este caso es mg/ml de propionato de fluticasona.

Tabla 6 - linealidad usando fase móvil como diluyente



- 5 Se superpusieron los cromatogramas de las muestras anteriores de las mismas concentraciones de vehículo y las muestras de diluyente, que indican formas y alturas de pico idénticas para el propionato de fluticasona y para las impurezas B, C y D.

Precisión

- 10 La precisión se evaluó inyectando una muestra de 0,2 mg/ml 10 veces que se preparó a partir de una muestra de la suspensión. Los resultados se proporcionan a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7 Precisión

Archivo	RT	Área	Altura
Feb15B01	14,626	14017,6	650,2
Feb15B02	14,631	14004,5	654,5
Feb15C00	14,604	13975,8	655,5
Feb15C01	14,588	13971,5	656,93
Feb15C02	14,59	13962,4	658,2
Feb15C03	14,579	13955	658,4
Feb15C04	14,569	13941,7	660,3
Feb15C05	14,566	13931,7	662
Feb15C06	14,568	13935,4	665,4
Feb15C07	14,559	13935,4	664,6
Promedio	14,6	13963,1	658,6
Desv. est.	0,0	29,7	4,7
RSD	0,2	0,2	0,7

La desviación estándar relativa del objetivo (RSD) para una evaluación de precisión es $\leq 1,0\%$. Todos los valores estaban dentro de este intervalo.

Exactitud

- 5 La exactitud del método en 3 niveles con la nueva preparación de la muestra se evaluó añadiendo una cantidad conocida de propionato de fluticasona en aproximadamente 2 gramos de vehículo y comparando los resultados calculados con los reales. La Tabla 8 a continuación muestra las recuperaciones utilizando la curva de calibración que se muestra en la Tabla 5.

Tabla 8 Muestras de picos

10

Muestra	Área	Prom. área	Calculado	Real	Acuerdo
360	12618,4	12617,2	0,181	0,184	98,5
	12616				
420	14803,7	14803,6	0,212	0,215	98,9
	14803,5				
480	17063	17059,8	0,244	0,245	99,7
	17056,6				

El criterio de aceptación en este caso es la recuperación de picos del 99 al 101%. En este caso, hay una buena correlación entre los valores reales y los calculados.

LOP y LLOQ

- 15 Del espacio en blanco de este método, el ruido es de aproximadamente 0,1 unidades de absorbancia, que es el mismo para los cálculos de LOD y LLOQ en la Parte A de este informe. El LLOQ y el LOD deben tener 10X y 3X esta altura, respectivamente. Dado que las alturas de los picos son muy similares con y sin el vehículo presente, el LOD y el LLOQ se prepararon a los mismos intervalos de concentración de la Parte A de este informe; sin embargo, en este caso, la concentración del pico se preparó en fase móvil, repartida en 2 gramos de vehículo y se diluyó a 10

ml con fase móvil hasta las concentraciones de LOD y LLOQ. Las muestras se inyectaron 2X y los promedios se muestran a continuación. Una muestra de 511 ng/ml dio un área/altura reproducible de 31,4/1,7. (LLOQ). Para el LOD, una muestra de 1 53,3 ng/ml dio un área/altura de 8,1/0,44. Las alturas de ambos LLOQ y LOD son aproximadamente lo que se calculó en función del ruido medido.

5 B. Determinación de la solubilidad del propionato de fluticasona

10 La solubilidad del propionato de fluticasona se presenta en la Tabla 9. La composición específica de la Fase I depende de la solubilidad del fármaco en esta fase. La solubilidad del propionato de fluticasona en disolventes y excipientes aprobados por la FDA se determinó disolviendo 10 mg de fármaco en cada disolvente, agitando vigorosamente y equilibrando durante la noche a 25 grados centígrados. La suspensión se centrifugó a 10.000 rpm y el sobrenadante se analizó mediante RP-HPLC a 239 nm. Se evaluó la solubilidad y compatibilidad del propionato de fluticasona en cada uno de los disolventes.

Tabla 9: Solubilidad del propionato de fluticasona

Solvente	Solubilidad (mg/ml)
Etanol	4,4462
PEG 400	4,3310
Glicerina	0,1441
Propilenglicol	0,7635
Phosal 50 PG	0,4261
Phosal 53 MCT	0,4000
Phosal 50 PG	0,6601
Polisorbato 60	4,9099
Polisorbato 80	4,6556
Cloruro de metileno	9,2472
Polisorbato 20	7,0573
Span 80	0,0521
Span 20	0,0469
PPG	2,2269
n-octanol	0,0873
Aceite de maíz	0,0069
Aceite de ricino	0,0180
Aceite mineral	0,0000
Ácido oleico	0,0136
PEG 200	4,2060
Fos reg pH = 7	0,0095
Acetona	62,976
Dextrosa al 5%	0,0053
Agua	0,00014

C. Preparación de nanocristales por cristalización con disolventes durante la sonicación (proceso de 1 etapa)

El proceso es como se muestra en la FIG. 3, sin la etapa de purificación. En el caso del propionato de fluticasona, el fármaco se disolvió en la siguiente composición: propionato de fluticasona (0,45%), Tween 80 (7,44%), PEG 400 (23%), polipropilenglicol 400 (69,11%). Esta composición fue la Fase I. La solubilidad del propionato de fluticasona se maximizó en cada uno de estos disolventes. La Tabla 9 se utilizó para llegar a la composición de la Fase I. La composición final (después de agregar la Fase I a la Fase II) contenía el fármaco al 0,1% p/p y los excipientes en concentraciones aprobadas para medicamentos oftálmicos. La fase I y la fase II se filtraron en forma estéril a través de filtros PVDF de 0,22 micrones antes de mezclar. En un experimento que investigó la cinética de unión del fármaco del propionato de fluticasona en la Fase I al filtro, se encontró que había poca o ninguna unión de FP con el filtro de PVDF.

La fase estéril I se añadió gota a gota en una fase continua estéril (solución de fase II) mientras se sonicaba. Se añadieron gota a gota 4,3 g de Fase I a 15,76 g de Fase II. La sonicación se realizó con un Sonic Rupture 400 (Omni International, Inc.). Las condiciones de sonicación fueron las siguientes: (a) Tamaño de la punta (12,7 mm), temperatura 2-4°C, potencia de salida 10 W, duración: 1,5 minutos, el tamaño del lote fue de 20 ml. Esto se logró utilizando un vaso de precipitados de 50 ml. La velocidad a la que se agregó la fase I a la fase II rige el tamaño de partícula de los cristales formados. Para el lote de 20 ml, la velocidad a la que se agrega la fase I a la fase II fue de 2,15 ml/min.

La composición específica de la fase II es extremadamente matizada, ya que los componentes de esta fase actúan como la fase estabilizadora de las gotas a medida que se forman los nanocristales. La efectividad del estabilizador depende del peso molecular y la estructura química del polímero estabilizador, su adherencia a la superficie del fármaco y su capacidad para disminuir la energía superficial de los nanocristales. Además, la concentración del polímero en la fase continua parece afectar el tamaño de partícula de la suspensión. La función de la fase de estabilización es también prevenir la coalescencia de las gotitas antes de la formación de las nanopartículas. Para la preparación de propionato de fluticasona al 0,1%, la composición final de la Fase II fue del 0,013% de cloruro de benzalconio, 0,25% de metilcelulosa y 99,7% de agua. Para el propionato de fluticasona, la suspensión obtenida al final de la Etapa 1 contiene excipientes en cantidades reguladas permitidas en medicamentos oftálmicos aprobados por la FDA. Una suspensión de nanopartículas de propionato de fluticasona al 0,1% contiene 0,1% de fármaco, 3,23% de Tween 80, 4,97% de PEG400, 14,95% de PPG 400, 0,010% de cloruro de benzalconio, 0,38% de metilcelulosa y cantidad suficiente de agua purificada. El intervalo de tamaño de partícula en esta etapa es de 400-800 nm. El pH fue de 5,8 y la osmolaridad fue de 546 mOsm/kg. Para el tratamiento de la blefaritis, se puede tolerar una solución hiperosmolar, aunque siempre se desea una suspensión isotónica, ya que la aplicación es la interfaz del párpado y la superficie ocular.

A una concentración de fármaco del 0,06%, la composición del vehículo es isotónica (316 mOsm/kg). A esta concentración de fármaco, las concentraciones respectivas de excipientes en la fase continua son Tween 80 al 2,57%, PEG400 al 2,99%, PPG 400 al 8,97%, cloruro de benzalconio al 0,010% y agua purificada (Q.S.). El pH de esta solución es de 6,5. Se puede agregar NaOH para ajustar el pH a un pH neutro. Esto se puede diluir luego a concentraciones más bajas de nanocristales de propionato de fluticasona suspendidos en el vehículo. La Tabla 10 muestra las formulaciones de propionato de fluticasona preparadas en concentraciones de 0,06%-0,001%.

Tabla 10: Concentraciones de 0-0,06% de propionato de fluticasona

Concentración (% de FP)	Concentración (mg/ml) de FP	Vehículo	Osmolaridad (mOsm/kg)	pH	Tamaño de partícula (micrones)
0,06	0,6	PEG400	316	7,01	1,09
0,01	0,1	(2,99%)	310	7,02	1,08
0,001	0,01	PPG400	305	7,01	solución
0	0	(8,97%), Tween 80 (2,57%), BAK (0,011%), MC (0,2%), agua (QS), NaOH (pH ady.)	306	7,00	solución

Las soluciones cumplen con los criterios oftálmicos de pH, composición de excipientes y osmolaridad. Las formulaciones en concentraciones superiores al 0,06% tienen valores de osmolaridad >350 mOsm/kg. Uno de los

problemas con esta formulación es la “maduración de Ostwald”, o el crecimiento del tamaño de partícula. Se observa crecimiento en el tamaño de partícula, cuando se disuelve propionato de fluticasona. Los excipientes presentes en la formulación disuelven parte del fármaco en la fase continua. Esto se traduce en inestabilidad de partículas durante el almacenamiento a largo plazo.

5 a. Efecto de la composición de polímero de fase II sobre el tamaño de partícula inicial

La composición de la fase II es crítica y no predecible para un experto en la técnica. La etapa de formación de las partículas es un fenómeno colaborativo entre la dispersión y la coalescencia de las gotas antes de la precipitación. Además, las propiedades del fármaco deberían coincidir con las propiedades del polímero estabilizador de partículas.

10 Como se muestra en la Fig. 5, el uso de HPMC, PVA, PVP, pluronics y mezclas de los mismos produjo partículas que tenían un diámetro medio mayor a 1 micrón. La combinación de 2% de Tween 20 y 0,5% de CMC en agua como disolvente de fase II pareció producir partículas más pequeñas (0,4-0,6 micrones). Estas partículas, sin embargo, crecieron con el tiempo a un tamaño de 1,2 micrones. El uso de polímeros de alta viscosidad como la goma de xantano en un 0,5% produjo partículas que eran muy grandes (>20 micrones).

15 Fase III (Combinación de Fase I + Fase II): La combinación del 0,12% de cloruro de benzalconio/0,25% de metilcelulosa (15 cP)/agua en la Fase II parece ser la composición que produjo las partículas más pequeñas de manera reproducible (400-600 nm, 15 lotes). La combinación de la fase I y la fase II es la fase III, en la que se forman los nanocristales, mientras se sonica.

20 Esta composición de fase III también fue estable químicamente durante más de 4 semanas a 40 grados C. Esta combinación de polímeros también mantiene el tamaño de partícula en su tamaño original durante 5-14 días.

b. Tamaño de partícula de los lotes obtenidos mediante técnicas de arriba hacia abajo

25 Se realizó una comparación de partículas producidas por técnicas de arriba hacia abajo, tales como microfluidificación, molienda por chorro, sonicación por ultrasonido (molienda húmeda) y homogeneización. Como se muestra en la Fig. 6, los lotes producidos por estas técnicas producen partículas que fueron todas mayores de 2 micrones. Algunas de las partículas tenían un tamaño de 8 micrones. Las partículas bajo el microscopio aparecían rotas y parecidas a escombros.

c. Efecto del pH de la fase II sobre el tamaño de partícula inicial

30 El pH parece desempeñar un papel crítico en el tamaño de partícula inicial, como se muestra en la Fig. 7. Cuando la Fase II tenía un pH balanceado a pH 7-7,2 con regulador de fosfato al 0,1% p/p, el tamaño de partícula inicial fue consistentemente más alto (1,0-1,3 micrones). Cuando el pH se dejó desequilibrado, el tamaño de partícula estuvo entre 500-800 nm. La Fig. 7 muestra el tamaño de partícula promedio de los lotes producidos que tenían pH equilibrado y aquellos que no tenían pH equilibrado. Los lotes de pH desequilibrado (n=3) fueron 5,5 para propionato de fluticasona al 0,1% y 6,5 para propionato de fluticasona al 0,06% (n=3). Este efecto del pH sobre el tamaño de partícula fue imprevisto e impredecible para un experto en la técnica.

35 d. Efecto del peso molecular del polímero estabilizador estérico en la fase II sobre el tamaño de partícula

El peso molecular del polímero estabilizador estérico en la fase II desempeña un papel importante en el tamaño de partícula de los nanocristales, como se muestra en la Fig. 8. Por ejemplo, la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) a 4000 centipoises produce consistentemente partículas más grandes que aquellos producidos cuando se utilizan HPMC a 45 centipoises.

40 e. Efecto del pH en la estabilidad del tamaño de partícula

45 La estabilidad de los nanocristales se controla mediante el pH de la fase III, que se forma mediante la combinación de la fase I y la fase II. Se produjo un lote de 20 gramos de nanocristales a pH 5,5 y se colocó en estabilidad a 25 grados C. Se produjo otro lote de 20 gramos a pH 7,5 y se determinó la estabilidad a 25 grados C durante 30 días. Inesperadamente, las partículas a 7,5 aumentaron rápidamente a un tamaño de partícula promedio mayor a 1 micrón. Véase la Fig. 9. Este fenómeno fue verificado para lotes en la escala de 50 gramos.

f. Composición final del producto de la Fase III (Fase I + Fase II)

La composición de la fase III es 0,1% de propionato de fluticasona, 1,63% de Tween 80, 5% de PEG400, 15% de PPG400, 0,01% de cloruro de benzalconio, 0,2% de metilcelulosa y 77,95% de agua. El pH de esta fase es 5,5.

g. Purificación de nanocristales de propionato de fluticasona

Los nanocristales de propionato de fluticasona se purificaron mediante el intercambio de la fase continua por filtración de flujo tangencial o filtración por cartucho de fibra hueca. Una membrana de alto flujo se utiliza para la filtración. Los filtros como PVDF, PES son apropiados para este propósito, con un tamaño de poro de 0,22 micrones o menos. Se puede usar un aparato de flujo tangencial de Millipore (sistema Pellicon XL 50) para este propósito.

- 5 Para un tamaño de lote de 250 g, la suspensión de nanocristales (Fase III) se vertió en el depósito de 500 ml a una velocidad de bombeo de 3, con una presión que nunca supera los 30 psi. Cuando la nanosuspensión se lavó a 10 ml, se añadió el fluido de lavado. El fluido de lavado era de Tween 80 al 0,1%, alimentado al depósito a 30°C. El fluido de lavado se intercambió dos veces para asegurar el intercambio completo del regulador. El concentrado se ensayó luego para determinar la concentración de fármaco. Sobre la base de los resultados del ensayo, el volumen de reconstitución se ajustó para lograr la concentración deseada. Además, se agregaron metilcelulosa, cloruro de sodio y fosfato para llegar a una composición osmolar.

Como se muestra en la Fig. 10, los nanocristales de propionato de fluticasona purificados no mostraron aglomeración en el tiempo.

Ejemplo 2: proceso de producción de nanocristales de ejemplo

- 15 El proceso para producir nanocristales purificados, estables y estériles de propionato de fluticasona de intervalo de tamaño de 400-600 nm incluye:

una etapa de cristalización in situ, después de lo cual se mezcla una solución de fase I estéril de propionato de fluticasona en PEG400, PPG400 y Tween 80 bajo sonicación, a una tasa de flujo de entre 1-1,4 ml/min con una solución de fase II estéril que comprende metilcelulosa entre 15 cP-45 cP, cloruro de benzalconio y agua purificada en la relación 0,2-1 y pH entre 5-6, para producir una suspensión de fase III estéril; y

una etapa de recocido, después de lo cual los nanocristales de propionato de fluticasona en la fase III se mantienen en un tanque de retención en el intervalo de temperatura de 25-40 grados centígrados durante 30 minutos a 24 horas; y una etapa de purificación, después de lo cual los nanocristales de propionato de fluticasona se lavan por filtración de intercambio a través de una membrana de poros de 0,1-0,22 micrones por una solución acuosa estéril que comprende de Tween 80 al 0,1-0,5%; y una etapa de concentración, con lo cual los nanocristales de propionato de fluticasona se concentran en un intervalo de entre el 0,0001%-10%; y

una etapa de formulación final, después de lo cual se agregan excipientes adicionales en forma estéril para cumplir con los criterios de la FDA y del producto farmacológico de osmolaridad, pH, viscosidad, biocompatibilidad y permeabilidad que se consideran apropiados para el producto en particular y la indicación clínica.

- 30 Ejemplo 3: proceso de producción de nanocristales – proceso por lotes

El proceso descrito en este Ejemplo se aplicó para producir cristales FP en un intervalo de tamaño de 400-600 nm. La optimización del tamaño de partícula mediante este proceso es una función de la composición de las fases I y II, la energía de salida de sonicación, la tasa de flujo de la fase I, la temperatura de las fases I y II. La tasa de flujo de la fase I para todos los lotes (20-2000 g) fue de 1,43 ml/min.

- 35 La composición de la fase I: PF: 0,45% p/p; Tween 80: 7,67% p/p; PEG 400: 23,18% p/p, PPG400 (PPG = polipropilenglicol): 68,70% p/p. La composición de la fase II: cloruro de benzalconio: 0,020% p/p, metilcelulosa 15 cp 0,40% p/p, agua (QS al 100%). La composición de la dispersión de fase III: PF: 0,225% p/p, Tween 80: 3,796% p/p, PEG400: 11,577% p/p, PPG400: 34,41% p/p, cloruro de benzalconio 0,01%, metilcelulosa (MC 15cP): 0,2% p/p, agua QS al 100%. La relación de volumen de la Fase I a la Fase II fue de 1:1 para este proceso por lotes.

- 40 La temperatura de cada fase I y II fue de 0-1°C (suspensión de agua con hielo). La energía de salida de la sonicación fue del 25% utilizando una sonda de 3/4" y un Sonicator Omni Cellruptor. El pH de la fase II fue 5,5. El pH más alto produjo partículas más grandes. También se observó que a pH <5, los tamaños de partícula estaban entre 150-220 nm, pero el fármaco comenzó a degradarse a los pH más bajos.

- 45 Similar al Ejemplo 1, se encontró que el tamaño de los cristales de PF se controlaba seleccionando los estabilizadores adecuados y los valores de pH de la solución de fase II. Véanse, por ejemplo, las Figs. 7 y 8.

Se alcanzó un intervalo de tamaño de partícula de 400-600 nm con temperaturas más bajas (Fig. 11). Las partículas producidas a temperatura ambiente eran grandes y agregadas, indicando regiones amorfas suaves.

- Después de que se prepararon cristales de propionato de fluticasona por sonocristalización, la dispersión (fase II I) se recoció a 25°C. Las partículas se equilibraron a un tamaño de partícula estable después de al menos 8 horas de recocido (Figs. 12 y 13). Esta etapa de recocido inesperadamente, disminuyó el tamaño de partícula. Como se muestra en las Figs. 12 y 13, mesetas de tamaño de partícula equilibradas a las 8 h, y no hay diferencia estadística entre las diferentes temperaturas de hibridación, es decir, 4, 25 y 40°C. Además, el efecto de recocido es consistente para FP en concentraciones del 0,1% y 10%.

Los cristales producidos por el proceso anterior se purificaron, ya sea por filtración de flujo tangencial o por

centrifugación continua. Se usó un aparato de filtración Pellicon XL50 en escala de laboratorio para desarrollar las condiciones de filtración. El propósito de esta etapa fue purificar los cristales producidos en las etapas anteriores. Las Figs. 14 y 15 mostraron que la pérdida de fármaco usando filtros de PVDF con un tamaño de poro de 0,1 micrones fue mínima. La purificación por centrifugación se realizó intercambiando el fluido con una solución al 0,1% p/p.

La composición final del propionato de fluticasona fue del 0,0001-10% p/p, metil celulosa 0,2% p/p (4000 cP), cloruro de benzalconio 0,01% y agua (Q.S.). La formulación final es flexible ya que se pueden agregar excipientes adicionales a la formulación, dependiendo de la indicación.

Ejemplo 4: dispersabilidad del nanocrystal del proceso por lotes

- Se observó que las composiciones o formulaciones finales de FP producidas en el Ejemplo 3 permanecieron dispersas durante al menos 8 horas. En particular, se colocaron 5 ml de nanosuspensión en viales de vidrio con tapón de rosca de 10 ml, todos los cuales contenían 0,1% de nanosuspensión FP en la composición final. Cada vial se agitó 10 veces por encima del fondo para dispersar el pocillo de la muestra. Después de agitar, cada vial se almacenó a 25°C y se tomaron muestras durante 24 horas.
- Cada muestra se redispersó después de 24 horas y se volvió a muestrear (mostrada por las flechas azules en las figuras 16 y 17). El muestreo se realizó tomando una muestra de 0,5 ml de la mitad de la formulación. Las muestras se analizaron mediante ensayo por HPLC. Como se muestra en las Figs. 16 y 17, las formulaciones finales permanecen dispersas por al menos 8 horas y se vuelven a dispersar bien al agitar. Además, las concentraciones de 0,005%-10% de PF se volvieron a dispersar bien, y la capacidad de dispersión fue reproducible en las escalas de los lotes (20 g-2000 g). Todas las concentraciones se dispersaron en más del 80% a las 24 horas a temperatura ambiente. Todas las concentraciones se volvieron a dispersar con agitación del vial, lo que indica una suspensión robusta floculada. Se concluyó que las concentraciones más altas no producen una tasa de sedimentación más rápida.

Ejemplo 5: estabilidad del nanocrystal del proceso por lotes

- También se observó que las composiciones o formulaciones finales de FP eran estables en todas las concentraciones analizadas, es decir, 0,005%, 0,01%, 0,1% y 10%. Las muestras se colocaron en cámaras de estabilidad a 4°C, 25°C, 40°C. Puntos de tiempo de estabilidad: T=0d, T=1 semana, T=2 semanas, T=4 semanas.
- El ensayo por HPLC mostró que: 99-101% para 4°C, 25°C y 106% para 40°C. No hubo cambios en las impurezas B, C y D en las muestras analizadas de T=0d. El pH (6,5-6,8) de las formulaciones probadas no cambió de T=0d. Además, el tamaño de partícula FP (505-620 nm) tampoco cambió de T=0d.

Ejemplo 6: uniformidad de la composición de nanocristales:

- Una nueva formulación de suspensión para propionato de fluticasona (FP) que contenía cloruro de sodio, fosfato, metilcelulosa, Tween 80, cloruro de benzalconio y agua se probó para determinar la uniformidad del contenido a través del muestreo de la parte superior, media e inferior de la solución de la suspensión. El propósito fue determinar el tiempo durante el cual las partículas de la suspensión permanecieron distribuidas equitativamente en la solución después de agitar.

- Se colocaron aproximadamente 20 ml de una suspensión de FP al 0,07% en un vial y se agitaron 10 veces hacia arriba y hacia abajo para suspender las partículas de FP. Se tomaron muestras de 200 µl de la parte superior, media e inferior a las 0, 0,5, 1,3, 6,5 y 23 horas. Todas las muestras se analizaron por HPLC utilizando una curva de calibración. Las muestras se tomaron directamente en un vial de HPLC y se diluyeron con 800 µl de diluyente (75/25 de acetonitrilo/agua). Los pesos de la muestra de 200 µl y el diluyente de 800 µl se registraron y utilizaron en el cálculo final de la cantidad de PF en cada muestra.

- Los resultados mostraron que había poca o ninguna diferencia entre las muestras superior, media e inferior en las primeras 6,5 horas. La muestra de 23 horas, sin embargo, se resolvió visualmente y fue apoyada por los resultados de HPLC.

Según la dilución descrita anteriormente, se eligió un intervalo de calibración de tres puntos de 0,056 a 0,45 mg/ml. Véase la Tabla 11 a continuación. Se prepararon tres soluciones estándar de FP a partir de un estándar de reserva de 0,5787 mg/ml.

Tabla 11: Preparación de soluciones estándar

Concentración (mg/g)	Peso de la reserva (g)	Peso del vehículo (g) (200 µl)	Peso del diluyente (g)	Peso total de la muestra (g)
0,05645	0,0822	0,1780	0,5825	0,8427

0,2813	0,4121	0,1891	0,2467	0,8479
0,4506	0,6579	0,1870	0	0,8449

Se preparó una curva de calibración utilizando tres concentraciones conocidas de una solución madre como se describe anteriormente y 200 ul del vehículo en blanco para corregir cualquier efecto de matriz que el vehículo pueda tener en los estándares.

- 5 Los cálculos para las concentraciones se basaron en la fórmula:

$$(\text{Peso de la reserva}) \times (\text{reserva estándar}) / (\text{peso total de la muestra})$$

La curva de calibración se muestra en la Tabla 12 a continuación. Todos los estándares están en mg de PF por gramos de solución.

Tabla 12: Datos de la curva de calibración del propionato de fluticasona

10

Nº de inyecciones	Concentración estándar (mg/g)	Recuentos por área	Área promedio (inyección 1, inyección 2)	Pendiente	Inters.
1	0,05645	3731,8	3729,45	65428,92758	37,85164626
2		3727,1			
1	0,2813	18448	18447,35		
2		18446,7			
1	0,4506	29517,1	29517,65		
2		29518,2			
Ajuste de datos: $R^2 = 1$					

Usando la curva de calibración en la Tabla 12, las muestras de puntos de tiempo se analizaron usando la pendiente y la intersección. La tabla 13 a continuación muestra los datos obtenidos del análisis de la muestra de punto temporal.

- 15 Tabla 13 Análisis de puntos de tiempo

Muestra (horas)	Área (HPLC)	Concentración (mg/g) de la muestra por HPLC	Peso de la muestra por HPLC (g)	Peso de FP en la muestra por HPLC (mg)	Peso de 200 ul de capa (g)	Concentración de la capa (mg/g)
0h-superior	9310,8	0,1417	0,8393	0,119	0,1779	0,6686
0h-medio	9842,3	0,1498	0,8574	0,128	0,1927	0,6667
0h-inferior	10312,2	0,1570	0,8649	0,136	0,2007	0,6767
0,5h-superior	9233,2	0,1405	0,8397	0,118	0,1764	0,6690

0,5h- medio	10364,8	0,1578	0,8659	0,137	0,2054	0,6654
0,5h- inferior	10324,1	0,1572	0,8653	0,136	0,2015	0,6751
1h- superior	9142,1	0,1391	0,8329	0,116	0,1736	0,6676
1h- medio	10089,1	0,1536	0,8611	0,132	0,2002	0,6608
1h- inferior	10883,2	0,1658	0,877	0,145	0,2163	0,6721
3h- superior	9268,7	0,1411	0,8397	0,118	0,1787	0,6629
3h- medio	9454,8	0,1439	0,8471	0,122	0,1874	0,6506
3h- inferior	10351,5	0,1576	0,875	0,138	0,2136	0,6457
6,5h- superior	9588,2	0,1460	0,8504	0,124	0,1879	0,6606
6,5h- medio	9555,9	0,1455	0,8553	0,124	0,1935	0,6430
6,5h- inferior	10128,3	0,1542	0,8665	0,134	0,2051	0,6515
23h- superior	2479,1	0,0373	0,8478	0,032	0,1868	0,1693
23h- medio	4041,1	0,0612	0,8507	0,052	0,1859	0,2800
23h- inferior	27409,7	0,4183	0,867	0,363	0,2034	1,7832

Los datos también se representaron gráficamente en todo el rango de tiempo y se muestran en la Fig. 18.

Ejemplo 7: proceso de producción de nanocristales-proceso de flujo

5 Las nanosuspensiones de propionato de fluticasona en un intervalo de tamaño de partícula de 400-600 nm también se prepararon usando un esquema de proceso de flujo.

Se prepararon nanosuspensiones de propionato de fluticasona utilizando el reactor de flujo que se muestra en la Fig. 19. Como se muestra en el diagrama de flujo de la Fig. 4, las fases I y II se midieron en el reactor de flujo.

10 Los tamaños de partícula de estas nanosuspensiones se midieron con un Malvern Zetasizer S90. Las soluciones de Fase I y Fase II, que se usaron para hacer nanosuspensiones, se bombearon continuamente al sistema de flujo del sonicador. Se prepararon 25 lotes de muestras en una variedad de condiciones. Se analizó el impacto de las tasas de flujo de ambas fases, la temperatura de recocido de la Fase III y la amplitud del sonicador en el tamaño de las partículas. La mayoría de los aspectos de las “variables de proceso por lotes” como se describen en los Ejemplos 1 y

3 aún se aplican, como la temperatura de mezcla de dos fases, el tipo y la viscosidad/peso molecular del estabilizador celulósico en la fase II, el pH de la fase II y la temperatura de hibridación y tiempo.

Materiales y equipamiento:

(A) Los ingredientes crudos se enumeran en la Tabla 14 a continuación

5 (B) Malvern Nanosizer S90

(C) Reactor de flujo

(D) Sonda sonicadora, tamaño 25 mm. 1" con extensor de sonda

(E) Bomba I (NE-9000, New Era Pump Systems Inc.)

(F) Bomba II (Accionamiento de consola, Cole-Palmer)

10 Tabla 14

Excipientes/fármaco	Fabricante
Fluticasona	Hovione
Metilcelulosa (15 cP)	ShinEtsu
Cloruro de benzalconio (BKC)	Sigma-Aldrich
Polipropilenglicol 400	Alfa Aesar
Polietilenglicol 400	Spectrum Chemical
Tween 80	Spectrum Chemical

15 Las soluciones de Fase I y Fase II se prepararon por adelantado antes de ser bombeadas al sistema de flujo en una proporción de 1:1. Los detalles de la preparación y las composiciones de ambas fases se describen a continuación, con 500 g de lote como ejemplo.

Preparación de la Fase I (500 g de lote)

2,28 g de propionato de fluticasona se agregaron gradualmente a una solución de 38,34 g de Tween 80, 116 g de PEG 400 y 344 g de PPG 400. La solución de todos los componentes se agitó en vórtex y se sometió a ultrasonido usando un baño de agua de sonicación estándar hasta que todos los sólidos se disolvieron.

20

	(gramos)	(%)
Propionato de fluticasona	2,282	0,46
Tween 80	38,337	7,66
PEG 400	115,994	23,17
PPG 400	343,987	68,71

Preparación de la Fase II (500 g de lote)

25 Se añadió 1 g de solución de cloruro de benzalconio al 10% a 299 g de agua y 200 g de mezcla de metilcelulosa al 1% (15 cP). La mezcla se agitó en vórtex. La composición de la Fase II fue la siguiente: cloruro de benzalconio 0,020%, metilcelulosa 15 cp 0,4%, agua 99,58%.

Condiciones de mezcla de la Fase I y la Fase II (500 g para cada fase; total de 1000 g de la Fase III)

Las condiciones para la etapa de mezcla se enumeran a continuación:

Temperatura de la mezcla de Fase I y Fase II: 0~5°C

Tamaño de la punta del ultrasonizador: 25 mm de diámetro

Amplitud del ultrasonizador: 25~75% (dependiendo del experimento específico)

Tasa de flujo de la fase I: 12~700 ml/min (según el experimento específico)

5 Tasa de flujo de la Fase II: 12~700 ml/min.

Temperatura del enfriador: 0~10°C

Aire de enfriamiento: 5 psi

Tiempo de duración del experimento: 2-8 min.

Procedimientos de mezcla (500 g de lote para cada fase).

10 Se cargaron 250 g de Fase II en el sonicador. El enfriador (0~10°C) y el aire de refrigeración (5 psi) se encendieron. Se agregaron 500 g de Fase I a un vaso de precipitados de 1000 ml que se sentó en un baño de mezcla de hielo y agua. Los 250 g restantes de la Fase II se agregaron a otro vaso de precipitados de 1000 ml que se sentó en un baño de mezcla de hielo/agua. La temperatura de cada fase se estabilizó durante al menos 30 minutos. Las tasas de flujo de la bomba de cada una de las dos fases se establecieron en 12~700 ml/min. Luego se encendió el
15 ultrasonizador y se ajustó la amplitud.

Encendido de las bombas. Una vez que ambas fases fueron bombeadas, detuvieron la ultrasonificación, las bombas y el generador de aire. Se prepararon 25 lotes de muestras en una variedad de condiciones. La mayoría de los lotes tienen un tamaño de partícula promedio máximo inferior a 1 micrón, excepto tres lotes que se prepararon a tasas de flujo relativamente altas (por ejemplo, 700 ml/min para cada fase y 250 ml/min para cada fase).

20 Impacto de las tasas de flujo de ambas fases en el tamaño de las partículas.

Ambas fases se bombearon a la misma velocidad de flujo real (la proporción de Fase I:II fue de 1). Los tamaños de partículas (representados por puntos cuadrados en la Fig. 20) se representaron en función de las tasas de flujo finales (representadas por barras verticales en la Fig. 20) de la Fase III en la Fig. 20. Tres muestras preparadas con 200 ml/min tienen la partícula más pequeña tamaños alrededor de 400-600 nm.

25 Estos experimentos demostraron que los nanocristales de propionato de fluticasona podrían prepararse usando el esquema del proceso de flujo que se muestra en la Fig. 4. El examen microscópico demostró una morfología similar a una placa para los cristales. Los estudios preliminares de estabilidad en formulaciones preparadas usando el proceso de flujo (4 semanas de estabilidad a 25 y 40°C) mostraron estabilidad del tamaño de partícula e integridad química.

30 En general, se observaron tendencias en cuanto a las variables de proceso que controlan el tamaño de las partículas. El control de la temperatura de la fase I y la fase II a <2°C llevó a una producción consistente y robusta de partículas de tamaño uniforme. Otras variables fueron la energía de salida de la sonicación y las tasas de flujo de la fase I y la fase II. Las tasas de flujo parecían ser la variable de control en la generación de tamaños de partículas de intervalo uniforme. Con el diseño actual de la sonda sonicadora, las tasas de flujo más altas que alcanzaron el
35 intervalo de tamaño de partícula de 400-600 nm fueron ~200 ml/min/bomba, o 400 ml/min para la fase III.

Ejemplo 8: caracterización adicional de los nanocristales producidos por proceso por lotes

Los nanocristales de FP se prepararon utilizando un proceso por lotes de 1000 g similar al descrito en el Ejemplo 1 o 3. Las suspensiones se recogieron en sólidos mediante centrifugación y se secaron en un horno de vacío durante 12 horas. Se prepararon dos lotes adicionales (es decir, b y c) usando el mismo proceso.

40 Las partículas FP homogeneizadas se prepararon usando un Polytron (Kinematica), velocidad de ajuste 4 en una dispersión acuosa. Las muestras se lavaron usando un proceso de centrifugación y se secaron en un horno de vacío.

Se utilizó la reserva de propionato de fluticasona tal como se recibió del fabricante.

Evaluación del tamaño de partículas

45 El tamaño de partícula de los nanocristales de FP preparados por el proceso por lotes se midió con un Malvern ZetaSizer S90. Los tamaños de partícula de los lotes (b) y (c) se midieron con un Malvern MasterSizer S. Como se muestra en la Fig. 21, los nanocristales producidos por el proceso por lotes produjeron una distribución estrecha de cristales, dentro del intervalo de tamaño 400-600 nm, mientras que el material de FP en reserva y el material de FP homogeneizado tenían una distribución de tamaño de partícula amplia (Figs. 21B y 21C, respectivamente).

La suspensión de cristal de propionato de fluticasona es altamente estable

Los nanocristales preparados por el proceso por lotes se probaron en estabilidad, para evaluar si la distribución del tamaño de partícula se mantuvo en un intervalo estrecho de 400-600 nm. Las nanopartículas se formularon en un vehículo final que comprendía 0,1% p/v de FP, 0,90% p/v de cloruro de sodio, 0,51% p/v de metilcelulosa (MC 4000 cP), 0,10% p/v de fosfato de sodio, 0,20% p/v de Tween 80, 0,01% p/v de cloruro de benzalconio y 98,18% p/v de agua. Las formulaciones se colocaron en incubadoras de estabilidad a 25°C y 40°C.

Las muestras se midieron por tamaño de partícula, pH, osmolaridad y ensayo. Todas las muestras mantuvieron el pH, la osmolaridad, el tamaño de partícula y el ensayo [FP] durante 75 días a 25°C y 40°C. La Fig. 22 muestra la estabilidad del tamaño de partícula durante 75 días, incluso a 40°C.

Estos datos sugieren que el propionato de fluticasona preparado por el proceso de la invención está compuesto por cristales altamente cristalinos y por una microestructura morfológica estable, evidenciada por la ausencia de crecimiento de cristales a lo largo del tiempo (maduración de Ostwald).

Solubilidad saturada y velocidad de disolución.

La solubilidad saturada de FP se midió mediante HPLC para los nanocristales producidos por el proceso por lotes de la invención, FP homogeneizado y material de reserva de FP. La solubilidad saturada para los tres materiales fue de 40-45 µg/ml. En otro estudio, la velocidad de disolución de los nanocristales (intervalo de tamaño 400-600 nm) se comparó con un lote que contenía propionato de fluticasona suspendido y micronizado en el intervalo de tamaño de 1 a 5 micrones. Las tasas comparativas de disolución se muestran en la Fig. 23.

La pureza de los nanocristales de propionato de fluticasona se evaluó y se comparó con la pureza del material de reserva de FP según lo recibido del fabricante. En la Fig. 24A se muestra el cromatograma de la sustancia medicamentosa propionato de fluticasona (tiempo de retención: 13,388 minutos) y sus impurezas conocidas (que se muestran en los tiempos de retención de 6,457 minutos y 9,720 minutos). En la Fig. 24B, se muestra el cromatograma de nanocristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes. En comparación con la sustancia farmacéutica de reserva, los nanocristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes fueron de mayor pureza, con una marcada ausencia de impurezas a los 6,457 y 9,720 minutos. Tenga en cuenta que la escala del cromatograma de HPLC para los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes fue de 0-500 mAU, en comparación con 0-1200 mAU para el material de reserva. Por consiguiente, se concluye que el proceso de nanocristalización y purificación de la invención crea nanocristales más puros de propionato de fluticasona.

Morfología de los nanocristales de FP

Se muestran en las Figs. 25A y B micrografías ópticas (modelo: OMAX, 1600X) de cristales de propionato de fluticasona secos preparados por el proceso por lotes y comparados con el material de reserva, FP. La apariencia de los cristales de FP producidos por el proceso de nanocristalización se diferencia notablemente de la sustancia farmacéutica propionato de fluticasona, material de reserva. Como se ve en la Fig. 25A, los nanocristales de propionato de fluticasona tienen forma de barra, con una geometría orientada definida. Por el contrario, el material de reserva de propionato de fluticasona no parecía favorecer ninguna forma o geometría específica.

La apariencia externa y la morfología de los cristales de FP preparados por el proceso por lotes se compararon con el material de reserva, FP. Las micrografías electrónicas de barrido se recolectaron con un aumento de 10.000X utilizando un instrumento Hitachi SEM. Los experimentos se realizaron en Microvision, Inc., Chelmsford, MA.

Visualmente, las diferencias entre los cristales producidos por el proceso por lotes y las otras muestras son sorprendentes. Los cristales de propionato de fluticasona preparados por el proceso por lotes eran placas similares a cuchillas, o barras con una geometría orientada definida (Figs. 26A y 26B). Por el contrario, la morfología de los cristales de reserva de propionato de fluticasona aparecía redondeada, no en forma de placa o con bordes angulosos como los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes (Fig. 27A).

La Fig. 27B es la micrografía electrónica de barrido de las partículas homogeneizadas de FP (proceso de arriba hacia abajo). Visualmente, estas partículas parecían similares al material de reserva.

Características térmicas

Para medir las propiedades térmicas de cada espécimen de propionato de fluticasona, se recogieron aproximadamente 10 mg de cada espécimen y se colocaron en un crisol de alúmina limpio. La siguiente tabla resume las condiciones de prueba y los parámetros para las pruebas de análisis térmico simultáneas. Las muestras fueron (a) nanocristales de propionato de fluticasona y (b) propionato de fluticasona, material de reserva. Las muestras se analizaron a una velocidad de calentamiento de 10°C/min, comenzando a 30°C hasta alcanzar una temperatura final de 350°C. Este proceso se repitió para cada espécimen. Los experimentos se realizaron en EBATCO, LLC, Eden Prairie, MN.

Tabla 15 - Condiciones y parámetros de prueba de análisis térmico simultáneo

Muestras	Reserva de propionato de fluticasona, cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes
Instrumento de prueba	STA 449 F3-Jupiter
Crisoles	Alúmina (Al ₂ O ₃)
Tasa de calentamiento	10°C/min
Temperatura inicial	30°C
Temperatura final	350°C
Gas de purga	Nitrógeno, 20 mL/min
Gas de protección	Nitrógeno, 30 mL/min

Los resultados de las pruebas de análisis térmico se muestran para cada muestra en la Tabla 16 a continuación. La temperatura de reblandecimiento de una sustancia, también conocida como temperatura de transición vítrea, fue significativamente más baja para el material de reserva de propionato de fluticasona (57,6°C) en comparación con los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes. Además, el calor de fusión para los cristales de propionato de fluticasona producido por el nuevo proceso fue significativamente mayor (54,21 J/g) que el material de reserva FP (48,44 J/g), lo que indica que el primero era un material más cristalino, que requiere más energía, para romper enlaces intermoleculares tales como enlaces iónicos e hidrógeno.

Tabla 16

Espécimen	Cambio en masa (%)	Límite superior de transición vítrea (°C)	Intervalo de temperatura de fusión (°C)	Calor latente de fusión (J/g)
Nanocristales de FP	-46,12	63,5	10,1	54,21
Muestra de reserva de FP	-47,96	57,6	11,0	48,44

La Fig. 28A muestra el DSC/TGA combinado de cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes. En comparación con las características térmicas del material de reserva de propionato de fluticasona (Fig. 28B), el inicio de la fusión de los nanocristales de FP fue mayor que el inicio de la fusión de la reserva de propionato de fluticasona: inicio_{fusión} (cristales de FP del proceso por lotes) 299,5°C > inicio_{fusión} (FP, reserva) 297,3°C. Además, como lo demuestra la termogravimetría (TGA), la temperatura inicial_{pérdida de masa} (nanocristales de FP del proceso por lotes) 299°C es más alta que la temperatura inicial_{pérdida de masa} (FP, como es) 250°C. Los datos sugieren que los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes tienen un comportamiento térmico indicativo de material más cristalino y ordenado que el material de reserva de propionato de fluticasona.

Los cristales de propionato de fluticasona preparados por el proceso por lotes no son solvatos ni hidratos

Teóricamente, cuando los disolventes están atrapados en la estructura cristalina, se denominan "solvatos". Cuando el disolvente específico es agua, los cristales se denominan "hidratos". Los solvatos e hidratos de una forma cristalina particular muestran diferentes propiedades como la disolución, la densidad, etc. La Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) se puede usar para detectar la presencia de un disolvente atrapado, que puede inducirse para escapar de la red cristalina cuando se calienta. Para los cristales preparados utilizando el proceso por lotes, no hubo transiciones de fusión (DSC) adicionales o pérdida de masa multifásica (TGA) (Fig. 28A) que denotan que los cristales eran cristales puros, ni solvatos ni hidratos. El material de reserva de propionato de fluticasona tampoco era un solvato o un hidrato, sino de estructura cristalina, como se esperaba (Fig. 28B).

Los cristales de propionato de fluticasona producidos por procesos por lotes tienen una mayor densidad de compactación a granel en comparación con el material de reserva de propionato de fluticasona

La densidad de compactación de los cristales de propionato de fluticasona secos preparados por el proceso por lotes fue de 0,5786 g/cm³. Por el contrario, la densidad de compactación de la reserva de propionato de fluticasona fue de 0,3278 g/cm³. Los datos sugieren que los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes tienen un empaquetamiento más alto que la reserva de propionato de fluticasona.

Los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes no son amorfos o parcialmente amorfos

Cabe señalar que los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes no muestran "cristalización fría", o fases de cristalización o amorfas antes de la fusión. La presencia de una transición de fusión simple y aguda a 299,5°C sugiere la falta de una fase amorfa o amórfica en el material. La nitidez de la transición de fusión (intervalo de fusión 10°C) también denota una microestructura altamente ordenada. Por el contrario, el material de reserva de propionato de fluticasona se fundió en un intervalo ligeramente más amplio (11,1°C).

Los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes y el material de reserva de propionato de fluticasona se compararon entre sí con respecto a sus frecuencias de vibración infrarroja (FTIR), utilizando un espectrofotómetro de infrarrojos de la transformada de Nicolet Fourier. FTIR se utiliza para confirmar/verificar la identidad de una sustancia orgánica conocida, ya que los enlaces específicos y los grupos funcionales vibran a frecuencias conocidas. El espectro FTIR de cristales de propionato de fluticasona producido por el proceso por lotes no mostró la presencia de ninguna frecuencia de vibración adicional (Fig. 29), en comparación con el espectro FTIR conocido del propionato de fluticasona (Fig. 30).

Estructura cristalina del propionato de fluticasona producido por el proceso de la invención frente a las dos formas conocidas de propionato de fluticasona

El polimorfo 1 y el polimorfo 2 son las dos formas cristalinas de propionato de fluticasona publicadas anteriormente. Véase, por ejemplo, la patente US N° 6.406.718 B1 y J. Cejka, B. Kratochvil y A. Jegorov. 2005. "Crystal Structure of Fluticasone Propionate", Z. Kristallogr. NCS 220 (2005) 143-144. De la literatura publicada, el polimorfo 1 es la forma más estable conocida de propionato de fluticasona, ya que es la más abundante. El polimorfo 1 se forma por cristalización libre a partir de disolventes de polaridad media (acetona, acetato de etilo y diclorometano). El polimorfo 2 cristaliza a partir de un fluido supercrítico y solo se describe en la patente US N° 6.406.718 B1, sin otras cuentas publicadas.

La estructura cristalina del polimorfo 1 se proporciona en Cejka, et. al, con las siguientes características de celda unitaria: C₂₅H₃₁F₃O₅S, monoclinica, P12₁1 (no. 4), a = 7,6496 Å, b = 14,138 Å, c = 10,9833 Å.

La estructura cristalina del polimorfo 2 se proporciona en la patente US N° 6.406.718 B1 y Kariuki et al, 1999. Chem. Commun., 1677-1678. Los parámetros de la red de celdas unitarias son a = 23,2434 Å, b = 13,9783 Å y c = 7,65 Å. La celda unitaria se describió como ortorrómbica. Como se señala en Kariuki et. al., hubo sorprendentes similitudes entre las dos estructuras cristalinas. Para referencia, los patrones de polvo XRPD calculados del polimorfo 1 (rojo) y el polimorfo 2 (azul) se muestran en la Fig. 31B.

En el primer conjunto de estudios para determinar la estructura cristalina de los nanocristales de propionato de fluticasona preparados por el proceso por lotes para comparar con la estructura cristalina del material de reserva de propionato de fluticasona, se recogieron los patrones de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de ambos materiales con el difractómetro de rayos X (difractómetro Shimadzu XRD 6000 que funciona a 40 KV y 30 mA). Las muestras se dividieron y se pulverizaron para su análisis. Las muestras se escanearon a intervalos de 0,02° de 10 a 65 grados 2theta a 2 segundos por paso. Los rayos X difractados se colimaron utilizando una hendidura de recepción de 0,05° y se detectaron con un detector de centelleo de estado sólido. La calibración de la intensidad y la resolución de los picos se realizó con el estándar de cuarzo sólido 640d. Estos estudios se realizaron en XRD Laboratories, IL.

Los patrones de XRPD de ambos cristales de propionato de fluticasona preparados por el proceso por lotes y el material de reserva de propionato de fluticasona se compararon con los patrones de XRPD calculados de las estructuras cristalinas publicadas de Polimorfo 1 y 2. Una superposición de los patrones de XRPD de reserva de propionato de fluticasona y propionato de fluticasona Polimorfo 1 indicó que el material de reserva FP existía como el polimorfo 1, el polimorfo más abundante y estable.

Una superposición de los patrones de XRPD de cristales de PF por homogeneización (ejemplo de un proceso "de arriba a abajo") y el material de la PF demostró una excelente concordancia de "pico a pico" entre los patrones, incluso las intensidades. Se puede concluir que la muestra homogeneizada de propionato de fluticasona es de un polimorfo idéntico al stock de propionato de fluticasona (polimorfo 1). Por el contrario, el patrón de XRPD de los cristales de propionato de fluticasona (proceso por lotes) se superpuso (negro) al del polimorfo 1 (rojo) y el polimorfo 2 (azul) publicados, hubo claras diferencias en el patrón de difracción, que se muestra en la Fig. 31B. Otros experimentos realizados en Triclinic Labs, Inc. determinaron la estructura celular unitaria de los cristales producidos por el proceso por lotes y las diferencias microestructurales con el polimorfo estándar 1. Los datos sugieren que los

cristales de propionato de fluticasona producidos por el nuevo proceso tenían una microestructura nueva y diferenciada que el polimorfo estándar 1.

Estructura celular unitaria de nanocristales de propionato de fluticasona preparados por el proceso por lotes

Todas las muestras se prepararon rellenando la cavidad del portamuestras con polvo y presionando suavemente la muestra para obtener una superficie de referencia plana. Cualquier exceso de material fue retirado y devuelto al envase original. Todos los conjuntos de datos medidos se procesaron previamente para eliminar el fondo y se escalan a un área común de 100000 recuentos en el intervalo de medición común. La indexación es la determinación de células de unidades de cristal utilizando las posiciones de picos de difracción medidas. Las posiciones de pico para los archivos de datos XRPD proporcionados se determinaron inicialmente utilizando Winplot R.

Para modelar las diferencias de intensidad de pico entre los conjuntos de datos de XRPD (FP, proceso por lotes y Polimorfo 1), se agregó una función de orientación armónica cristalina a la descripción de la estructura del cristal, para probar la hipótesis de que el FP (proceso por lotes) fue un nuevo hábito cristalino. Las simetrías armónicas permitidas fueron 2/m y 'fibra' usando 8 términos armónicos en la expansión. Con la función de orientación preferida agregada a la descripción de la estructura cristalina del polimorfo estándar 1, los patrones de XRPD del polimorfo estándar 1 y los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes podrían coincidir. Esto demostró que la FP (proceso por lotes) era un nuevo hábito cristalino del polimorfo 1.

Por definición, un hábito cristalino de un polimorfo conocido tiene una microestructura diferente, como planos de orientación, etc. (Índices de Miller) que pueden llevar a una forma y apariencia diferentes, mientras que tienen la misma estructura y tipo de celda unitaria. En el caso del propionato de fluticasona producido por el proceso por lotes, los cristales tenían un aspecto diferente (demostrado por SEM en la Fig. 26) que el material de reserva (Fig. 27).

Las diferencias entre los datos de XRPD recopilados en lotes micronizados y patentados de cristales de PF fueron esencialmente diferencias en la intensidad del pico de difracción. Se observó que los picos con índices Miller no nulos 'l' aumentaron significativamente en intensidad para el material patentado. El modelado de Rietveld del material patentado confirmó que, dentro de las muestras de polvo de reflexión, los nanocristales FP del proceso por lotes estaban fuertemente alineados con la dirección cristalográfica [001] (eje c) normal a la superficie de la muestra. Esto sugiere que un hábito cristalino bien definido es generado por el método de producción patentado y que el hábito es más probable que sea una placa o una hoja en la naturaleza. El material patentado se empaquetó de manera diferente en el portamuestras XRPD, debido al hábito constante, que conduce a la orientación preferida observada (PO). Por otro lado, el material de archivo no mostró ninguna orientación preferida significativa (PO).

La estructura cristalina efectiva derivada del material patentado sugiere, además, un hábito similar a una lámina o placa con el plano cristalográfico a-b que se encuentra casi paralelo a la superficie expuesta más grande. La estructura cristalina efectiva se puede usar para investigar los grupos funcionales de la API expuestos por la cara de cristal más grande del hábito de la lámina.

La estructura celular unitaria de los cristales de propionato de fluticasona producidos por el proceso por lotes es monoclinica, P2₁, a = 7,7116 Å, b = 14,170 Å, c = 11,306 Å, beta = 98,285, volumen 1222,6. En comparación, la estructura cristalina del polimorfo 1 se proporciona en Cejka, et. al, con las siguientes características de celda unitaria: C₂₅H₃₁F₃O₅S, monoclinica, P12₁1 (no. 4), a = 7,6496 Å, b = 14,138 Å, c = 10,9833 Å.

Por lo tanto, se puede afirmar que el propionato de fluticasona (mediante un proceso por lotes) es un hábito cristalino novedoso que ocupa un tipo de unidad celular similar al polimorfo 1, que es el estado cristalino más estable y más abundante publicado hasta la fecha. Dado que los polimorfos más estables tienen teóricamente el punto de fusión más alto, se puede deducir que el nuevo hábito cristalino (propionato de fluticasona a través del proceso de la invención) puede ser la estructura cristalina más estable de la sustancia farmacológica descubierta hasta la fecha. Como se mencionó anteriormente, el punto de fusión de los nuevos cristales fue de 299,5°C, a diferencia de 297,3°C para el material de reserva (polimorfo 1), como se muestra en las Figs. 28A y 28B. Además, la existencia del nuevo hábito cristalino en nanocristales de FP producido por el proceso de la invención fue reproducible.

MAUD es capaz de producir "figuras polares" para direcciones cristalográficas específicas basadas en los parámetros de orientación preferidos derivados del modelado de Rietveld. Para cada eje cristalográfico seleccionado, la figura polar ilustra la distribución angular de ese eje de cristal alrededor de la superficie del soporte de la muestra de reflexión. Para un polvo ideal, todos los ejes cristalográficos estarán orientados al azar, dando una figura polar con un color uniforme. Para una muestra de cristal único, cada eje cristalográfico estará orientado en una sola dirección. Si esa dirección es normal a la superficie de la muestra, la figura del polo mostrará un solo punto de alta intensidad en el centro del gráfico. Las cifras de polos derivadas de los datos de XRPD recopilados en los nanocristales de FP mediante un proceso por lotes mostraron un solo polo central de alta intensidad para el eje cristalográfico [001]. Esto es indicativo de una fuerte orientación preferida, siendo el eje c cristalográfico normal a la superficie de la muestra de polvo. Una posible fuerza motriz para esta fuerte orientación preferida ocurre si el hábito cristalino es similar a una placa o similar a una cuchilla. Cuando se empaqueta en un soporte de reflexión y se presiona en forma plana, las superficies planas del cristal tienden a alinearse paralelas a la superficie de la muestra (como

hojas de papel). Esto sugiere que para los nanocristales FP del proceso por lotes, el eje c cristalográfico es casi normal a través de la cara de cristal plano más grande. Por el contrario, las cifras de polos calculadas para el material de reserva de PF mostraron una distribución general de las orientaciones cristalográficas más típicas de una muestra casi orientada al azar.

5 Ejemplo 10: flujo modificado por proceso de producción de nanocristales y proceso de purificación

Los experimentos se diseñaron para generar condiciones de proceso que: (a) generen de forma reproducible nanocristales de cumulantes de tamaño medio de aproximadamente 500 nm (± 200 nm), (b) generen de forma reproducible cristales estables, con estabilidad definida por la estabilidad química y física y (c) mantengan reproduciblemente el tamaño del cristal después de la purificación a altas fuerzas centrífugas.

- 10 Se realizaron varias modificaciones al proceso de flujo descrito en el Ejemplo 7. En particular, se añadió una etapa de mezcla entre la formación de cristales y el recocido. Otras etapas que se agregaron incluyen: (a) dilución con una "solución de lavado" entre el recocido y las etapas de centrifugación, (b) redispersión del sedimento en la solución de lavado para purificación adicional, (c) recolección de un sedimento y su redispersión en la composición de la formulación final. Usando este proceso de flujo modificado, produciendo nanosuspensión al 0,09% del fármaco a 3500 g/min, se pueden fabricar volúmenes comercialmente relevantes de nanosuspensión. El reactor de flujo estaba equipado con accesorios sanitarios, diseñados para ser sometidos a autoclave. Las etapas definidas en la Fig. 38 condujeron a la producción final de cristales de fármaco altamente puros de cumulantes de tamaño medio de 500 nm (± 200 nm).

Papel del diseño de la sonda

- 20 Los experimentos de escalada con el propósito de mejorar la eficiencia se realizaron con una sonda de sonicación estándar de 1" con una única punta activa en la parte inferior de la sonda y una sonda "bump-stick" con múltiples puntas de sonicación en la varita.

Experimentos de sonda estándar:

- 25 Se probaron varias combinaciones de porcentaje de propionato de fluticasona, tasas de flujo, temperaturas y amplitud de sonicación para determinar sus efectos sobre el tamaño medio de los cristales. El porcentaje de propionato de fluticasona osciló entre el 0,224% y el 0,229%. La tasa de flujo de la fase I osciló entre 0 y 825 ml/min. La tasa de flujo de la fase II osciló entre 10 y 900 ml/min. La tasa de flujo de la fase III osciló entre 25 y 1400 ml/min. La relación de la tasa de flujo de fase II/fase I fue de 1. Las temperaturas fueron de 0-22°C para la fase I, de 0-22°C para la fase II, de 10-40°C para la fase III. La temperatura media de la fase III osciló entre 12,5 y 40°C. La amplitud de la sonicación varió del 25% al 75% de salida. El tamaño medio resultante (por ejemplo, d₅₀, o diámetro medio de la masa) de los cristales osciló entre 0,413 μ m y 7 μ m.

La velocidad de flujo más alta de la fase I y la fase II que produjo partículas de tamaño d₅₀ ~500 nm, fue de 250 ml/min a todas las energías de salida (25% de salida, 75% de salida). Las tasas de flujo más altas (en la relación Fase II/Fase I = 1) a 700 ml/min para la Fase I y la Fase II llevaron a grandes tamaños de partículas > 7 μ m.

- 35 Los experimentos con la sonda "bump-stick" demostraron que se podrían lograr mayores tasas de flujo de la Fase I y la Fase II, lo que aumentaría la eficacia del proceso de flujo en gran medida. Los tamaños de partícula de d₅₀ $\leq$ 500 nm podrían lograrse cuando se usan en sinergia con otras variables paramétricas, como la elección del regulador, el pH de la fase II, o la energía de salida de sonicación. Todos los otros experimentos descritos en este ejemplo se realizaron con la sonda "bump-stick".

40 Papel del regulador y el pH en la fase II

El pH de la fase II afectó el tamaño de partícula. El pH de la fase II fue de ~8, dando como resultado un pH de ~7 posterior a la mezcla de la fase I y la fase II. Los reguladores ascórbicos y de citrato a pH 4 y pH 5 se investigaron como reguladores para la fase II. El tamaño de partícula se midió usando un Malvern S90. El Malvern S90™ mide el tamaño de partícula mediante la dispersión dinámica de la luz (DLS). Para los cristales en forma de aguja como los cristales patentados de propionato de fluticasona producidos por este proceso, el valor más relevante para el tamaño de partícula medido por DLS es la media máxima, o la media de los cumulantes. Por lo tanto, todos los valores de tamaño de partícula se informan como la media de los cumulantes. Un ejemplo se muestra en la Tabla 17.

Tabla 17: Tamaño de partícula (media del pico de cumulantes) en función del regulador de ácido ascórbico, pH 5

	Recocido a 25°C		
--	-----------------	--	--

Tiempo	Tamaño de partícula (nm) ₁	Tamaño de partícula (nm) ₂	Tamaño de partícula (nm) ₃
t0 (postitulación)	748,90	768,10	678,60
t1 (+98 horas)	596	510,8	509,2

	Recocido a 40 °C		
Tiempo	Tamaño de partícula (nm) ₁	Tamaño de partícula (nm) ₂	Tamaño de partícula (nm) ₃
t0 (postitulación)	748,90	768,10	678,60
t1 (+98 horas)	596,9	441,8	766,3

Tanto 25°C como 40°C son adecuados como temperaturas de recocido. Las temperaturas adicionales también pueden ser adecuadas para el recocido. El regulador de ascorbato, pH 5 utilizado en la fase II generó partículas entre 500-800 nm (d₅₀). El regulador de citrato a pH 4 y pH 5 se investigó como el agente regulador en la fase II en lotes de reactores de flujo múltiple. Los ejemplos representativos se muestran en las Tablas 18-19.

Tabla 18: Tamaño de partícula (media del pico de los cumulantes) en función del regulador de citrato, pH 4

Tiempo	Tamaño de partícula (nm) ₁	Tamaño de partícula (nm) ₂	Tamaño de partícula (nm) ₃
t1 premezcla	476,1	510,2	610,6
t2 después de 30 m de mezcla	588,5	617,1	465,7

Tabla 19: Tamaño de partícula (d₅₀) en función del regulador de citrato, pH 5

Tiempo	Tamaño de partícula (nm) ₁	Tamaño de partícula (nm) ₂	Tamaño de partícula (nm) ₃
t1 premezcla	630,4	625,6	654,5
t2 después de 30 m de mezcla	624,7	516,4	645,5

En general, tanto los reguladores de citrato como los de ascorbato eran adecuados y, estadísticamente, no se observaron diferencias. El regulador de citrato se seleccionó como el regulador de elección debido a su presencia en múltiples formulaciones farmacéuticas. El pH 5 se seleccionó como el pH de elección de la fase II, debido a los ligeros aumentos de las impurezas que se muestran en las nanosuspensiones preparadas a pH 4 y recocidas a 25°C. Las nanosuspensiones preparadas en la fase II a pH 5, el regulador de citrato no mostraron un aumento de las impurezas durante el recocido.

Papel de la energía de salida de sonicación

La energía de salida de sonicación se investigó como una variable en la generación de nanocristales de tamaño de partícula con un valor medio de cumulantes a 500 nm (±200 nm). Para obtener datos detallados estadísticamente

significativos sobre el tamaño de partícula, se utilizó el difusor de partículas por difracción láser Horiba LA-950, que proporciona la media estadística, la mediana y el modo de cada lote analizado.

La Tabla 21 es un ejemplo de un lote preparado con un 40% de energía de salida, relación 1:4 Fase I:Fase II. La composición de la fase II fue del 0,4% de 15 centipoise metilcelulosa (MC), 0,005% de cloruro de benzalconio, 0,1% de estearato de PEG40 en regulador de citrato, pH 5 y agua destilada. Los datos mostrados en las Tablas 22-24 son representativos de lotes producidos al 50%, 60% y 70% de energía de salida, con todos los demás parámetros idénticos, o lo más similares posible. Por lo tanto, las composiciones de fase I, fase II y fase III fueron las mismas, las temperaturas de cada una de las fases en cada lote fueron similares, así como las temperaturas de recocido. La temperatura de recocido de la incubadora osciló entre 25 y 28°C, con un 65%-75% de humedad relativa. La tasa de flujo de la Fase III para cada uno de los lotes fue de 3250 g/min ($\pm$ 200 g/min). Después de la producción de los nanocristales, cada lote se mezcló con un mezclador Scilogix a 250 RPM a temperatura ambiente. Los tamaños de los lotes fueron de aproximadamente 3500 gramos. La composición de la Fase III de cada lote se tabula en la Tabla 20.

Tabla 20: Composición de la Fase III con una relación de 1:4 Fase I:Fase II

Componente	gramos	%
Propionato de fluticasona	3,15	0,09
Tween 80	53,13	1,52
Polipropilenglicol 400	481,67	13,762
Polietilenglicol 400	162,05	4,63
Metilcelulosa 15 cP	11,2	0,32
Estearato de PEG40	2,8	0,08
Cloruro de benzalconio	0,14	0,004
Regulador de citrato (0,1 M), pH 5	44,8	1,28
Agua	2714,06	78,32

Los datos de tamaño de partícula se proporcionaron en términos de media, mediana y modo. Por definición, el tamaño de partícula de modo significa el número más alto de partículas con ese tamaño, el tamaño de partícula mediano significa el número de partículas que están en el "medio" de la distribución, y el tamaño de partícula medio es el promedio de todos los tamaños para la distribución completa. Para una distribución gaussiana monomodal perfecta, la media, la mediana y el modo son todos similares. En distribuciones que están sesgadas, estos valores difieren ampliamente. La media, la mediana y los valores de modo están todos dentro de un intervalo de 250 nm, después de al menos 24 horas de recocido.

Tabla 21: lote representativo preparado con un 40% de energía de salida

Lote 1: 4, pH 5, 40% de amplitud					
		Tasa de flujo:		Amp: 40%	
Tiempo	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)
t0	0,67215	0,44926	0,3638	1,4063	0,4493
(+) 30 min de mezcla	0,6827	0,44473	0,3632	1,4527	0,4447
(+)24	0,7038	0,44397	0,3629	1,5136	0,444

Tabla 22: lote representativo preparado con 50% de energía de salida

ES 2 727 474 T3

Lote 1:4 0,005% de BKC, 0,1% de estearato de PEG, pH 5 fase II. Fase III temp = 11,5; tasa = 3495 g de tamaño de lote; 50% de AMP						
		Tasa de flujo: 3608 g/min		Amp: 50%		
Tiempo	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)	
0	0,59984	0,43397	0,3647	1,179	0,434	Estearato de PEG al 0,1%
(+) 30 min de mezcla	0,56879	0,40337	0,3619	1,1672	0,4034	
96	0,61444	0,41099	0,3618	1,2931	0,411	
112	0,64135	0,4125	0,3616	1,3758	0,4125	

Tabla 23: lote representativo preparado con 60% de energía de salida

Lote 1:4 0,005% de BKC, 0,1% de estearato de PEG, pH 5,04 fase II. 13 °C Fase III lote de 3498 g. 60% de amp.						
		Tasa de flujo:		Amp: 60%		
Tiempo	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)	
t0	0,72887	0,54961	0,4781	1,3807	0,5496	Estearato de PEG al 0,1%
(+) 30 min de mezcla	0,71239	0,51732	0,4172	1,429	0,5173	
(+)24	0,69401	0,52177	0,418	1,3659	0,5218	
(+)48	0,76579	0,52094	0,4173	1,5413	0,5209	
(+)144	0,6936	0,51772	0,4181	1,348	0,5177	
(+)144	0,75277	0,52247	0,4176	1,5225	0,5225	

Tabla 24: lote representativo preparado con un 70% de energía de salida

1:4 lote 0,005% de BKC, 0,1% de estearato de PEG, pH 5 fase II. Fase III temp = 13; tasa = 3470; tamaño del lote g; 70% de amp						
		Tasa de flujo: 3495 g/min		Amp: 70%		
Tiempo	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)	Estearato de PEG 0,1 %
t0	2,93615	0,43001	0,3631	2,9617	0,43	
(+) 30 min de mezcla	0,65677	0,4636	0,38867	1,5569	0,3887	
(+)96	0,52345	0,40234	0,363	1,0063	0,4023	
(+)112	0,5985	0,3935	0,3611	1,2603	0,3936	

5

Tabla 25: lote representativo preparado con 80% de energía de salida

1:4 lote, pH 5, 80% de amplitud

Tiempo	Media (um)	Tasa de flujo:		Amp: 80%		Estearato de PEG 0,1 %
		Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)	
t0	0,88407	0,34681	0,1836	2,2933	0,3468	
(+) 30 min de mezcla	1,19832	0,56541	0,3645	2,8992	0,5654	
(+)24	1,61358	0,57793	0,365	3,4731	0,5779	

Por lo tanto, el tamaño de partícula inicial (T=0 valores) generado por la cristalización en presencia de sonicación se correlaciona casi directamente con la energía de salida, es decir, cuanto más alta es la energía de salida, más pequeño es el modo estadístico (el tamaño más frecuente).

- 5 Al recocer, las partículas pueden asentarse en un estado de menor energía. Las partículas tienen una alta energía superficial con un aumento en la energía de salida, lo que hace que las partículas se aglomeren. Esto se evidencia en la Tabla 24, que describe la dinámica del tamaño de partícula de un lote generado con un 70% de energía de salida. En T=0, el lote tenía un tamaño de partícula promedio de 2,93 micrones y un valor de modo (valor “más frecuente”) de 0,3631 micrones, lo que indica que incluso si la mayoría de las partículas eran < 500 nm, había algunas partículas grandes en la distribución que sesgó la media. A T=96 horas de recocido a 25°C, la media, la mediana y el modo estuvieron dentro de 250 nm entre sí, lo que demuestra que las partículas más grandes que sesgan la media eran aglomerados. El recocido del lote redujo la energía de la superficie a un estado fundamental equilibrado, desagregando así las partículas.

El tamaño de partícula disminuye con el recocido

- 15 Se ha demostrado que el recocido es una parte crítica del proceso por lotes, como se muestra en los datos anteriores. El recocido de los cristales generados por el proceso de flujo continuo también ha demostrado ser una parte importante del proceso, como se explicó en la sección anterior.

- 20 También se demostró anteriormente que la cinética de recocido es importante. En varios experimentos, parecía que los tamaños de partículas de los lotes recocidos a 25°C, 40°C y 60°C no diferían significativamente entre sí en términos de tamaños de partículas. Sin embargo, el recocido tiene otro propósito. La cristalización se puede “completar” por recocido, y por lo tanto “endurecer” los cristales. Desde esta perspectiva, cuanto mayor sea la temperatura de recocido sin degradación, más cristalinas serán las partículas.

- 25 La Tabla 26 muestra un lote preparado con la fase II regulada con ascorbato, pH 5, recocido a dos temperaturas diferentes. Estos lotes se prepararon con regulador de ácido ascórbico, pH 5, fase I:fase II: 1:3, 60% de energía de salida. El tamaño de partícula se midió con el Malvern S90. El mismo lote de partículas recocidas a dos temperaturas diferentes muestra un tamaño de pico medio diferente, según lo medido por el instrumento. Sin embargo, ambos conjuntos muestran una disminución en el tamaño de partícula con el recocido.

Tabla 26: Lote representativo recocido a 25°C

Tiempo		Recocido a 25 °C		
		Tamaño de partícula d ₅₀ , (nm) ₁	Tamaño de partícula d ₅₀ , (nm) ₂	Tamaño de partícula d ₅₀ , (nm) ₃
t0 (postitulación)		748,90	768,10	678,60
t1 (+98 horas)		596	510,8	509,2

Tabla 27: Lote representativo recocido a 40°C

Tiempo	Recocido a 40°C		
	Tamaño de partícula	Tamaño de partícula	Tamaño de partícula

	(nm) ₁	(nm) ₂	(nm) ₃
t0 (postitulación)	748,90	768,10	678,60
t1 (+98 horas)	296,9	441,8	766,3

Papel del diseño del cabezal de mezcla

- 5 El diseño del cabezal de mezcla es importante para mezclar la nanosuspensión justo después de la cristalización en el reactor de flujo. Los cabezales de mezcla se probaron en múltiples experimentos. Se evaluaron los cabezales mezcladores Silverson™. Los cabezales de mezcla de cizallamiento bajo y medio (coaxial y paleta) proporcionaron los mejores tamaños de partículas. El mezclador de paletas se seleccionó como el cabezal de mezcla elegido para todos los lotes.

Papel del cloruro de benzalconio

El cloruro de benzalconio es necesario para generar partículas con un valor de modo estadístico de ~500 nm.

- 10 La Tabla 28 es un lote representativo que se preparó sin cloruro de benzalconio en la fase II. La media, la mediana y la varianza del valor del modo fue de 250 nm. El valor del modo fue de 1,07 micrones. Dado que se obtuvieron tamaños de partícula de ~1 micrón y mayores para todos los lotes producidos sin cloruro de benzalconio, se considera necesario que el cloruro de benzalconio esté presente en la fase II, para generar partículas de tamaños con un modo estadístico de ~500 nm. Los lotes descritos en las Tablas 28, 29, 30A y 30B se analizaron con
- 15 Analizador de tamaño de Partícula de Difracción Láser Horiba LA-950.

Tabla 28

1:4 lote sin BAK; pH 5,21 fase II -14 °C fase III 4346,87 g/min, 3332,6 g de lote. 60% de amp.					
		Fase III Tasa de flujo: 4346,87 g/min			
Tiempo	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)
	1,16041	0,85161	1,0782	2,3984	0,8516
(+) 30 min de mezcla	1,22985	0,9466	1,2295	2,4875	0,9466
(+) 60 hrs	1,24168	0,93764	1,2274	2,5123	0,9376

- 20 La tabla 29 es un lote representativo preparado con 20 ppm (0,002%) de cloruro de benzalconio en la fase II. La fase II también se reguló con citrato, pH 5. La tasa de flujo de la fase III fue de 3250±200 nm. El lote fue un lote de relación 1:4. Por lo tanto, la concentración de BAK en la fase III fue de 16 ppm. El lote cumple con la especificación de tamaño de partícula T=0 del modo estadístico < 500 nm (±200 nm).

Tabla 29

1:5 lote con 0,002% de BKC, pH 5,0 Fase II; 11 °C Fase III; 3369,2 g de lote; 60% de amp					
		Tasa de flujo: 3369,5 g/min		Amp: 60%	
Tiempo	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)
Ohrs	0,54942	0,45566	0,416	0,9908	0,4557
Ohrs (+) 30 min de mezcla	0,41045	0,26352	0,2104	0,9282	0,2635
(+) 15 hrs	0,58982	0,46256	0,3658	1,1239	0,4626
(+) 48 hrs	0,7226	0,45139	0,3636	1,5348	0,4514
(+) 72 hrs	0,63121	0,43998	0,3628	1,2978	0,44

Las tablas 30A y 30B son lotes representativos preparados con 50 ppm (0,005%) de cloruro de benzalconio en la fase II. La fase II también se reguló con citrato, pH 5. La tasa de flujo de la fase III fue de 3250±200 nm. El lote fue un lote de relación 1:4. Por lo tanto, la concentración de BAK en la fase III fue de 40 ppm. Los lotes cumplen con la especificación de tamaño de partícula T=0 del modo estadístico <500 nm (±200 nm). Estos lotes también contenían estearato de PEG40 como una molécula estabilizadora.

Tabla 30A

1:4 lote 0,005% de BKC, 0,1% de estearato de PEG40, pH 5,04 fase II. 13 °C Fase III 3498 g/min, 60% de amp.						
		Tasa de flujo: 3250		Amp: 60%		
Tiempo	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)	
t0	0,72887	0,54961	0,4781	1,3807	0,5496	
(+) 30 min de mezcla	0,71239	0,51732	0,4172	1,429	0,5173	Estearato de PEG al 0,1%
(+) 24	0,69401	0,52177	0,418	1,3659	0,5218	
(+) 48	0,76579	0,52094	0,4173	1,5413	0,5209	
(+) 144	0,6936	0,51772	0,4181	1,348	0,5177	
(+) 144	0,65277	0,52247	0,4176	1,5225	0,5225	

Tabla 30B

1:4 lote 0,005% de BKC, 0,1% de estearato de PEG40, pH 5 fase II. Fase III temp = 11,5; tasa 3495 g/min, 50% de amp.						
		Tasa de flujo: 3608 g/min		Amp: 50%		
Tiempo (hrs)	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)	
0	0,59984	0,43397	0,3647	1,179	0,434	Estearato de PEG al 0,1%
(+) 30 min de mezcla	0,56879	0,40337	0,3619	1,1672	0,4034	
96	0,61444	0,41099	0,3618	1,2931	0,411	
112	0,64135	0,4125	0,3616	1,3758	0,4125	

10 Papel del estearato de PEG40

Se utilizó estearato de PEG40 al 0,01% como único estabilizador en una fase II regulada con citrato, relación 1:3 Fase I/fase II, 60% de AMP. Estos datos fueron analizados por el Malvern S90. El tamaño de partícula que se muestra es la media de los cumulantes. Como se muestra en la Tabla 31, se cumplió la especificación del tamaño de partícula para cumplir con la media de los cumulantes de 500 nm. El nivel de estearato de PEG40 variará dependiendo de si se prepara un lote sin cloruro de benzalconio.

Tabla 31

0,01% de estearato de PEG fase II, mezclado con mezclador de paleta a 250 rpm durante 30 m. pH final = 5,47			
	Recocido a 25°C		
Tiempo	Tamaño de partícula (nm) ₁	Tamaño de partícula (nm) ₂	Tamaño de partícula (nm) ₃

t0	556,1	665,1	582,2
t1 + 68 horas	554,7	863,7	426,6

Nanocristales de propionato de fluticasona purificados por centrifugación de flujo continuo

Se demostró la centrifugación de flujo continuo como el medio preferido para purificar los cristales. A través de la purificación, la fase continua de la fase III se centrifuga. El sedimento se vuelve a dispersar como un concentrado en la solución de lavado y la dispersión se vuelve a centrifugar. La centrifugación continua se realizó mediante un Sorvall Contifuge o un Beckman Coulter JI-30 con un rotor JCF-Z.

En general, después de que la nanosuspensión se haya recocado durante la noche, el lote se diluye 1:1 con estearato de PEG40 al 0,1%, Tween 80 al 0,1% y cloruro de benzalconio a 50 ppm. La dilución de la nanosuspensión disminuye la viscosidad de la fase III para facilitar la centrifugación.

La centrifuga Beckman se enfría a 4°C, y la suspensión se centrifuga a 1,6 L/min a 39.000 G. El sobrenadante apareció claro y sin partículas. Las distribuciones de tamaño de partícula se muestran en la Tabla 32. Este lote se había preparado sin cloruro de benzalconio. Por lo tanto, el tamaño de partícula es más grande que el modo estadístico habitual de 500 nm. Sorprendentemente, después de la purificación, el modo cambia a <500 nm. Esto demuestra que la centrifugación rompe las partículas aglomeradas. Esta es una forma de eliminar partículas grandes.

Tabla 32

1:4 lote sin BKC; pH 5,21 fase II -14°C fase III 4346,87 g/min, 3332,6 g de lote. 60% de amp.					
		Tasa de flujo: 4346,87 g/min			
Tiempo	Media (um)	Mediana (um)	Modo (um)	d90 (um)	d50 (um)
	1,16041	0,85161	1,0782	2,3984	0,8516
(+) 30 min de mezcla	1,22985	0,9466	1,2295	2,4875	0,9466
(+) 60 hrs	1,24168	0,93764	1,2274	2,5123	0,9376
purificado después de 60 hrs	1,1979	0,73998	0,4747	2,6483	0,74

Las variables del proceso de flujo que desempeñan un papel en el tamaño de partícula son las temperaturas de la fase I y la fase II, el pH de la fase II, la composición de la fase II, la energía de salida, el diseño de la sonda, la tasa de flujo, la relación de la fase II a la fase I, la temperatura de recocado, las condiciones de mezcla después de la producción de partículas y la composición de la solución de lavado antes de la purificación. Estos resultados demuestran por primera vez que el proceso de flujo de fabricación produce volúmenes comerciales de cristales de nanosuspensión de propionato de fluticasona y que los cristales se pueden purificar utilizando una centrifugación continua de alto flujo.

Ejemplo 11: formulaciones de nanocristales de FP y evaluación

Se prepararon y evaluaron formulaciones que contienen nanocristales de propionato de fluticasona con diferentes contenidos de PF (por ejemplo, 0,25%±0,0375% (0,21-0,29%), 0,1%±0,015% (0,085-0,115%), y 0,05%±0,0075% (0,043-0,058%)). Se evaluaron los siguientes parámetros de cada formulación: extensión de la formulación en la piel (se prefiere el ángulo de contacto mínimo), compatibilidad química (de otro ingrediente) con FP, uniformidad de la dosis y redispersabilidad, estabilidad de la partícula (por ejemplo, tamaño de partícula preferido sin cambios), y el tamaño de la gota (función de la viscosidad y la tensión superficial intermolecular, maximizando el tamaño de la gota preferido)

Las tablas 33 y 34 a continuación enumeran los componentes de dos formulaciones farmacéuticas diferentes (cada una contiene el 0,25% de PF) que se prepararon para su uso en el tratamiento, por ejemplo, la blefaritis.

Tabla 33 Formulación I

Ingredientes	Composición (%)	Función pretendida
--------------	-----------------	--------------------

Propionato de fluticasona	0,250	Activa
Cloruro de benzalconio	0,005	Conservante
Polisorbato 80	0,200	Dispersante de recubrimiento
Glicerina	1,000	Agente humectante de tejidos
Estearato de PEG	0,200	Dispersante de recubrimiento
Metilcelulosa 4000cP	0,500	Estabilizador polimérico
Cloruro de sodio	0,500	Ajuste de la tonicidad
Fosfato de sodio dibásico	0,022	Agente regulador
Fosfato de sodio monobásico	0,040	Agente regulador
Agua	97,340	

Tabla 34 Formulación II

Ingrediente	Composición (%)	Función pretendida
Propionato de fluticasona	0,250	Activa
Cloruro de benzalconio	0,005	Conservante
Glicerina	1,000	Agente humectante de tejidos
Tiloxapol	0,200	Dispersante de recubrimiento
Metilcelulosa 4000cP	0,500	Estabilizador polimérico
Cloruro de sodio	0,500	Ajuste de la tonicidad
Fosfato de sodio dibásico	0,022	Agente regulador
Fosfato de sodio monobásico	0,040	Agente regulador
Agua	97,483	

- 5 La Formulación I, cuyos ingredientes se enumeran en la Tabla 33 anterior, se evaluó y tenía las siguientes propiedades: viscosidad = $45 \pm 4,1$ cP; pH = 6,8-7,2; osmolaridad = 290-305 mOsm/kg; tamaño de partícula: modo estadístico: 400 nm, mediana: 514 nm, media: 700 nm, d50: 400 nm, d90: 1,4 μ m; y tamaño de gota = $40 \pm 2,3$ μ L. Además, la Formulación I fue redispersable al agitarse, exhibió una dosis uniforme durante al menos una hora después de la agitación; y el tamaño de partícula fue estable durante al menos 21 días a una temperatura entre 25°C y 40°C.
- 10 La Formulación II, cuyos ingredientes se enumeran en la Tabla 34 anterior, se evaluó y tenía las siguientes propiedades: viscosidad = $46 \pm 3,2$ cP; pH = 6,8-7,2; osmolaridad = 290-305 mOsm/kg; tamaño de partícula: modo estadístico: 410 nm, mediana: 520 nm, media: 700 nm, d50: 520 nm, d90: 1,4 μ m; y tamaño de gota = $40 \pm 2,3$ μ L. Además, la Formulación II fue redispersable al agitarse, exhibió una dosis uniforme durante al menos una hora después de la agitación; y el tamaño de partícula fue estable durante al menos 18 días a una temperatura entre 25°C y 40°C.
- 15

Los tamaños medios de las gotitas de otras formulaciones que tienen diferentes contenidos de PF (es decir, alrededor del 0,25%, 0,1%, 0,05% y 0%) se analizaron en la Tabla 35 a continuación. La prueba se llevó a cabo utilizando un frasco gotero de 7 ml con un relleno de 5 ml y con la punta hacia abajo verticalmente. La cantidad de FP por gota se determinó por HPLC.

Tabla 35

0,25 % FP		0,1 % FP		0,05 % FP		0 % FP	
tamaño de gota prom. (µL)	FP por gota (µg)	tamaño de gota prom. (µL)	FP por gota (µg)	tamaño de gota prom. (µL)	FP por gota (µg)	tamaño de gota prom. (µL)	FP por gota (µg)
41,17	102,925 ± 3,5766	39,54	39,54 ± 3,1263	40,65	20,325 ± 1,950	40,27	0

Como se muestra en la Tabla 35 anterior, el tamaño de la gota fue consistente en todas las formulaciones probadas.

5 Para probar la eficacia de administración de fármacos de diferentes aplicadores, se cargó el 0,25% de formulación de FP mencionada anteriormente en varios aplicadores, tales como hisopos y cepillos (por ejemplo, hisopo Foamec-1, hisopo de poliuretano, hisopo de poliéster, hisopo de 25-3318U, hisopo 25-3318-H, hisopo 25-3317-U, hisopo 25-803 2PD, hisopo 25-806 1-PAR, hisopo de algodón y cepillo Latisse®), y luego cada aplicador cargado con FP se deslizó contra una membrana de polipropileno para determinar la cantidad de PF que se transfirió a la membrana.

10 Más específicamente, para cada aplicador, se cargaron dos gotas de la Formulación I en el aplicador antes de deslizar el aplicador dos veces sobre una membrana de polipropileno. El FP transferido a la membrana se extrajo luego con la fase móvil utilizada para el análisis de HPLC para determinar la cantidad de FP transferido a la membrana. Para cada tipo de aplicador, la misma medida se repitió 3-8 veces. Se observó que los cepillos Latisse® demostraron una mejor administración del fármaco (es decir, aproximadamente un 56% de FP transferida en promedio) a la membrana de polipropileno que los otros aplicadores. El segundo puesto fue el hisopo 25-3317-U (es decir, aproximadamente el 34% del FP transferido en promedio). El porcentaje promedio de FP suministrado a las

15 membranas de polipropileno por cada uno de los otros aplicadores probados se indica en la Tabla 36 a continuación.

Tabla 36

Foamec -1	Poliuretano	Poliéster	25-3318-U	25-3318-H	25-8032PD	25-8061-PAR	Hisopo de algodón
6,9-22,17	1,06	0,41	13,92	18,71	14,39	1,03	0,94

20 También se observó que los hisopos de poliéster y los hisopos de algodón absorbían las gotas de la formulación rápidamente; y cuando se deslizó sobre la membrana, el FP apenas se transfirió. Por otro lado, los hisopos de poliuretano “moldearon” las gotas y las gotas se cayeron. El cepillo Latisse® tardó dos segundos en absorber la primera gota y 1,3 segundos en el hisopo 25-3317-U para absorber la primera gota. En términos de facilidad de uso, los cepillos Latisse® son más fáciles de usar en comparación con los otros aplicadores probados.

REIVINDICACIONES

1. Nanocristales de propionato de fluticasona que tienen un patrón de difracción de rayos X en polvo que incluye picos a aproximadamente 7,8, 15,7, 20,8, 23,7, 24,5 y 32,5 grados 2θ , además de picos a aproximadamente 9,9, 13,0, 14,6, 16,0, 16,9, 18,1 y 34,3 grados 2θ ,
5 caracterizados porque:
los nanocristales son nanoplacas que tienen el eje cristalográfico [001] sustancialmente normal a las superficies que definen el grosor de las nanoplacas,
en donde dichas nanoplacas tienen un intervalo de distribución de tamaño de 400-800 nm;
una densidad de compactación de no menos de 0,35 g/cm³;
- 10 un punto de fusión de 299,5°C con un intervalo de fusión de 10°C;
una estructura celular unitaria monoclinica, P21, a=7,7116 Å, b=14,170 Å, c=11,306 Å, beta=98,285 y el volumen es 1222,6 Å³.
2. Los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizados además por una densidad de compactación de 0,5786 g/cm³.
- 15 3. Los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde las nanoplacas tienen un tamaño promedio de aproximadamente 400-600 nm.
4. Los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizados además por una velocidad de disolución en agua de aproximadamente 1 µg/g/día en agua a temperatura ambiente.
- 20 5. Los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en los que dichos nanocristales están recubiertos con metilcelulosa.
6. Una composición tópica farmacéutica que comprende una suspensión del 0,001% al 5% de los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que todos los porcentajes utilizados en el presente documento, a menos que se indique lo contrario,
25 son en peso.
7. La composición tópica farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, que contiene además aproximadamente el 0,002%-0,01% de cloruro de benzalconio, uno o más dispersantes de recubrimiento, uno o más agentes humectantes de tejidos, uno o más estabilizadores poliméricos, uno o más agentes reguladores, y uno o más agentes de ajuste de la tonicidad.
- 30 8. La formulación de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende:
0,01%-1% de nanocristales de propionato de fluticasona;
0,002-0,01% de cloruro de benzalconio;
0,01-1% de polisorbato 80;
0,01-1% de estearato de PEG40;
35 0,1-10% de glicerina;
0,05-5% de metilcelulosa 4000 cP;
0,05-5% de cloruro de sodio;
fosfato de sodio dibásico y fosfato de sodio monobásico; agua
y la formulación tiene un pH de aproximadamente 6,8-7,2.
- 40 9. La formulación de acuerdo con la reivindicación 6, que consiste en:
0,25% de nanocristales de propionato de fluticasona;
0,005% de cloruro de benzalconio;
0,2% de polisorbato 80;

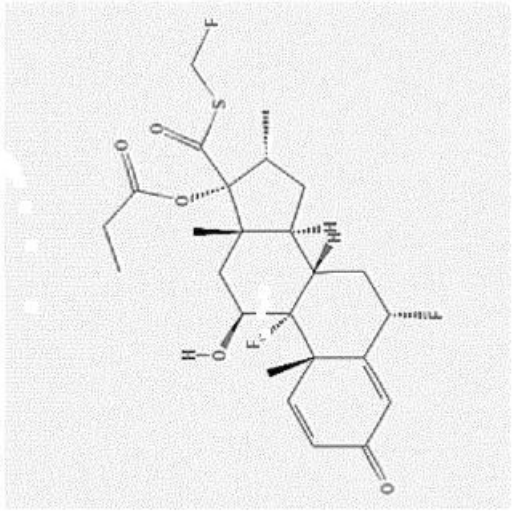
- 0,2% de estearato de PEG40;
1,0% de glicerina;
0,5% de metilcelulosa 4000 cP;
0,5% de cloruro de sodio;
- 5 0,022% de fosfato de sodio dibásico;
0,040% de fosfato de sodio monobásico;
97,34% de agua.
10. La formulación de acuerdo con la reivindicación 6, que consiste en:
0,25% de nanocristales de propionato de fluticasona;
- 10 0,005% de cloruro de benzalconio;
0,2% de tiloxapol;
1,0% de glicerina;
0,5% de metilcelulosa 4000 cP;
0,5% de cloruro de sodio;
- 15 0,022% de fosfato de sodio dibásico;
0,040% de fosfato de sodio monobásico;
97,48% de agua.
11. Los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso como medicamento.
- 20 12. Los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5 para uso para tratar o aliviar un síntoma de un trastorno ocular.
13. Los nanocristales de propionato de fluticasona para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el trastorno ocular comprende blefaritis, disfunción de la glándula de Meibomio, inflamación ocular posoperatoria, uveítis, ojo seco o alergia ocular.
- 25 14. Los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5 para uso para tratar o aliviar una enfermedad respiratoria.
15. Los nanocristales de propionato de fluticasona para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la enfermedad respiratoria es asma o EPOC.
- 30 16. Un método para fabricar los nanocristales de propionato de fluticasona de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende:
- proporcionar una solución de fase I estéril que comprende propionato de fluticasona en una concentración del 0,4% a 1,0% p/v y polietilenglicol (PEG) 400 en una concentración de aproximadamente el 20% al 35% p/v, polipropilenglicol (PPG) 400 en una concentración de aproximadamente el 65% al 75% p/v de polisorbato 80 (Tween 80) en una concentración de aproximadamente el 7,0% al 15% p/v en la solución de fase I;
- 35 proporcionar una solución de fase II estéril que comprende agua, metilcelulosa que tiene una viscosidad de aproximadamente 4 a 50 cP en una concentración de aproximadamente el 0,1% al 0,5% en la suspensión de fase III y cloruro de benzalconio en una concentración del 0,005% al 0,15%, en donde el pH de la solución de fase II no es mayor que 5,5;
- 40 mezclar la solución de fase I y la solución de fase II para obtener una mezcla de fase III, en donde se aplica sonicación al mezclar las dos soluciones y la mezcla se realiza a una primera temperatura de entre 0°C y 5°C; y
- recocer la mezcla de fase III a una segunda temperatura de entre 10°C y 40°C durante un período de tiempo (T_1) de al menos 8 horas para producir una suspensión de fase III que comprende una pluralidad de nanocristales de propionato de fluticasona;
- opcionalmente, comprender, además, la purificación de los nanocristales por filtración de flujo tangencial o por

centrifugación continua, en donde todos los porcentajes utilizados en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, son en peso.

17. El método de acuerdo con la reivindicación 16, en donde la sonicación se aplica con una potencia de salida de aproximadamente 10-75 vatios.

Características fisicoquímicas del propionato de fluticasona

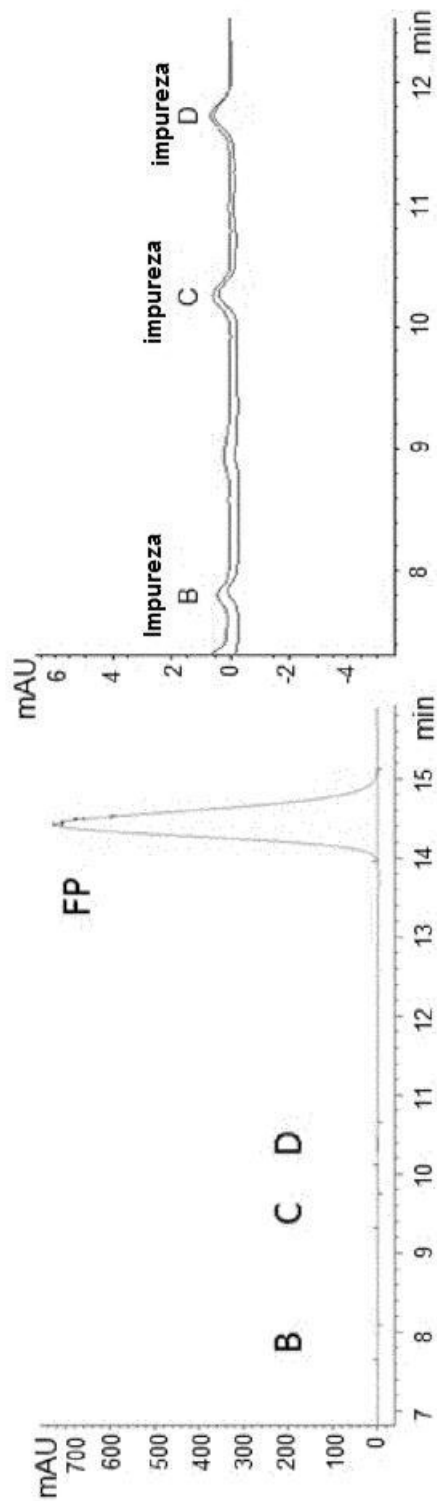
Propiedades	
API _{λmax}	240 nm
M.W.	500.57 Daltons
Log P	3.72
Pk _a	14.48
Punto de fusión	272-273 C (DSC/TGA)
Punto de descomposición	se descompone inmediatamente después de fusión
Fotolábil	No
Formas polimórficas	I y II
Fórmula molecular	C ₂₅ H ₃₁ F ₃ O ₅ S



Estructura química del propionato de fluticasona

FIG. 1

Propionato de fluticasona y sus impurezas B, C y D



HPLC de propionato de fluticasona y sus impurezas

Expansión de línea de base de impurezas

Pico	RT	RRT	Area	%
B	7.8	0.54	11.6807	0.068
C	9.5	0.66	16.8045	0.098
D	10.4	0.72	35.5632	0.21
FP	14.4	1	17070.1	99.63

FIG. 2

Novedoso Proceso de Producción y Purificación de Nanocristales **(Proceso de a lotes)**

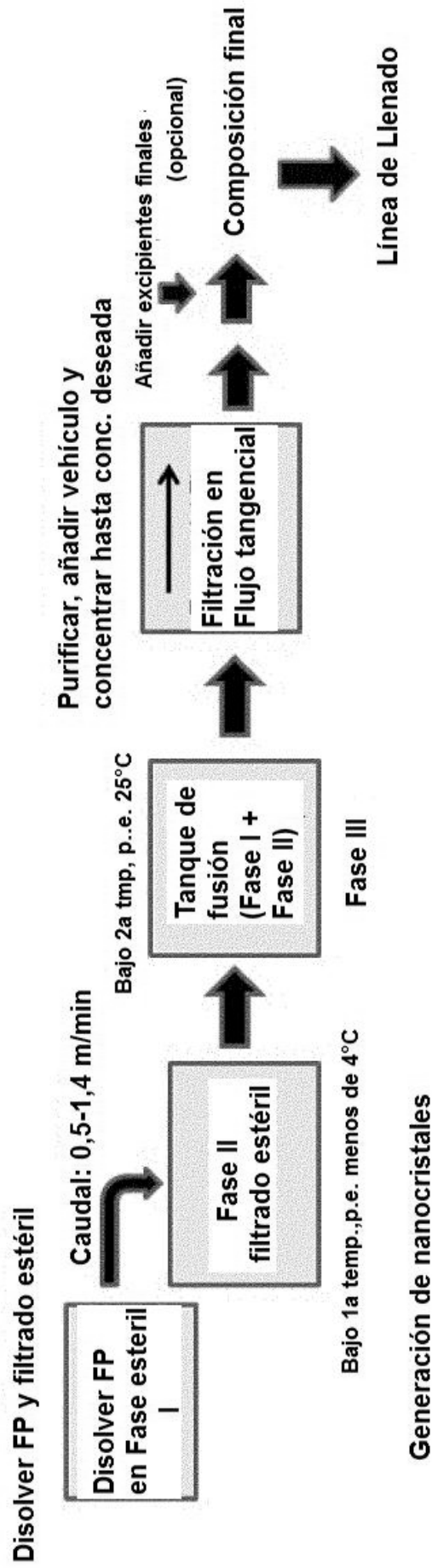


FIG. 3

Proceso de Producción y Purificación de Nanocristales (Proceso de flujo)

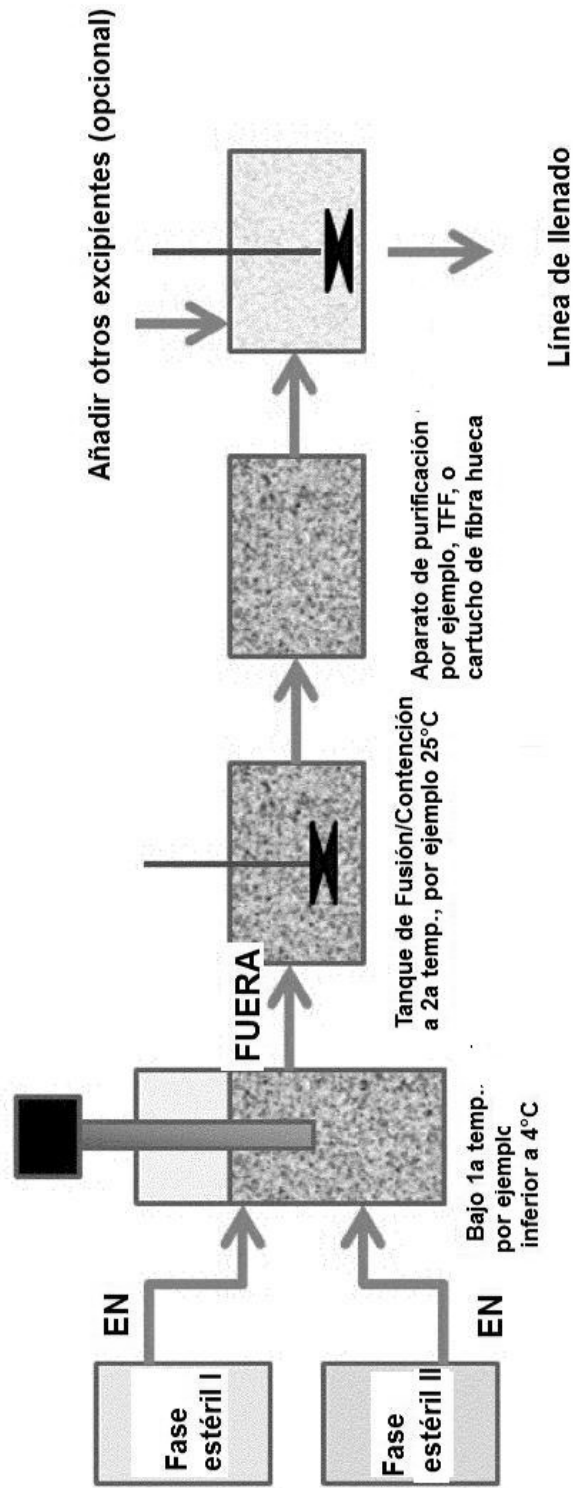


FIG. 4

Tamaño de Partícula de los lotes de nanocristales de FP

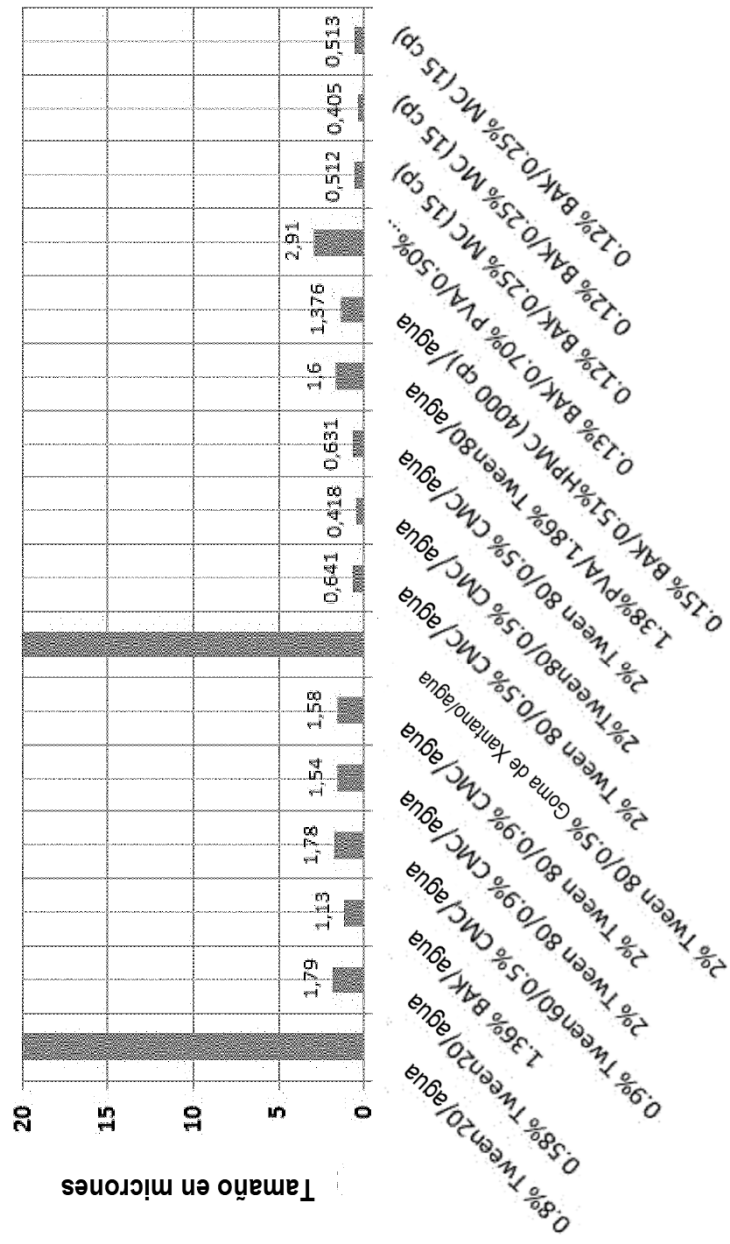
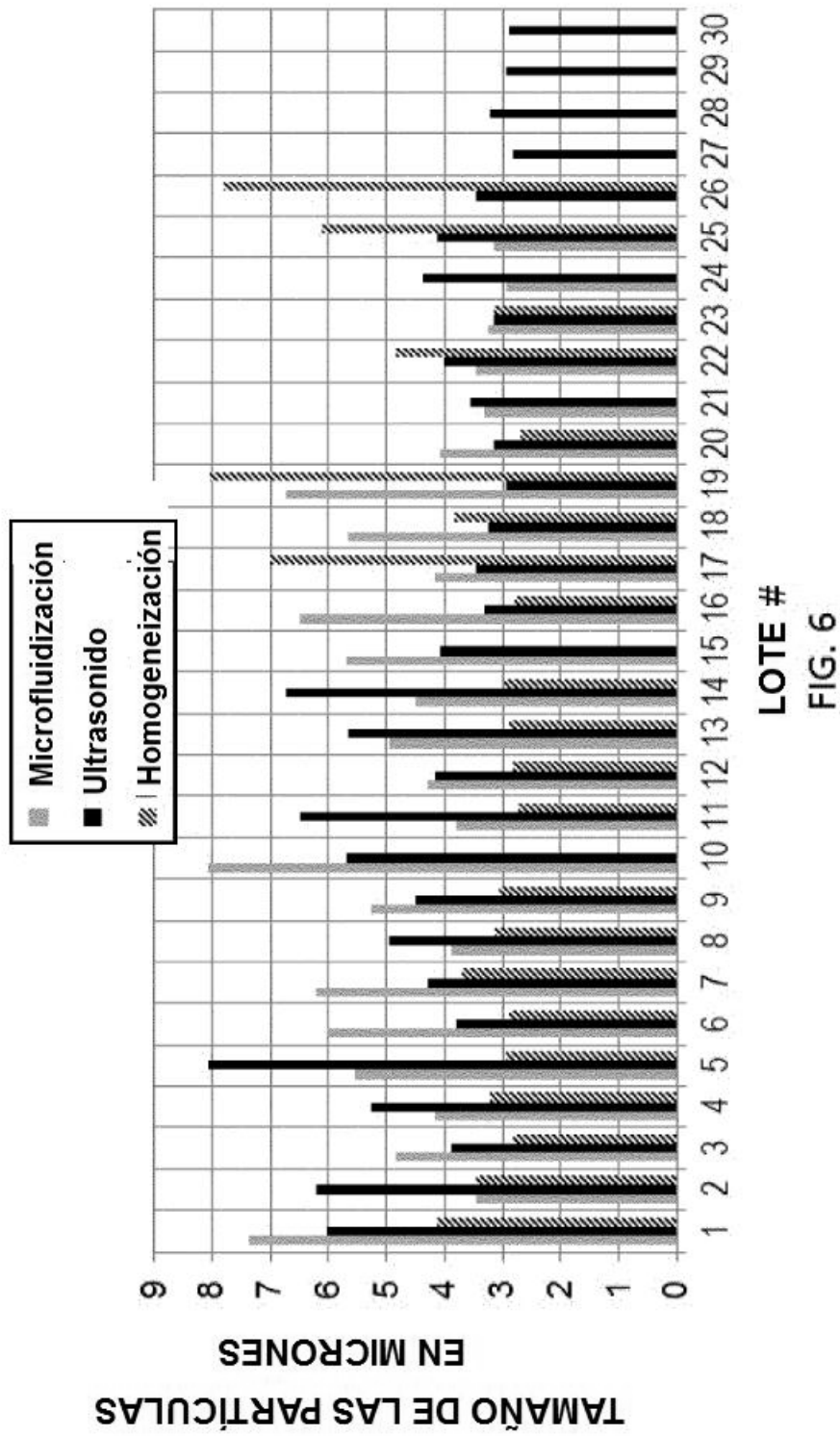


FIG. 5

Tamaño de las Partículas de lotes obtenidos mediante técnicas de reducción de partículas "arriba hacia abajo"



Efecto del pH sobre el tamaño de las partículas

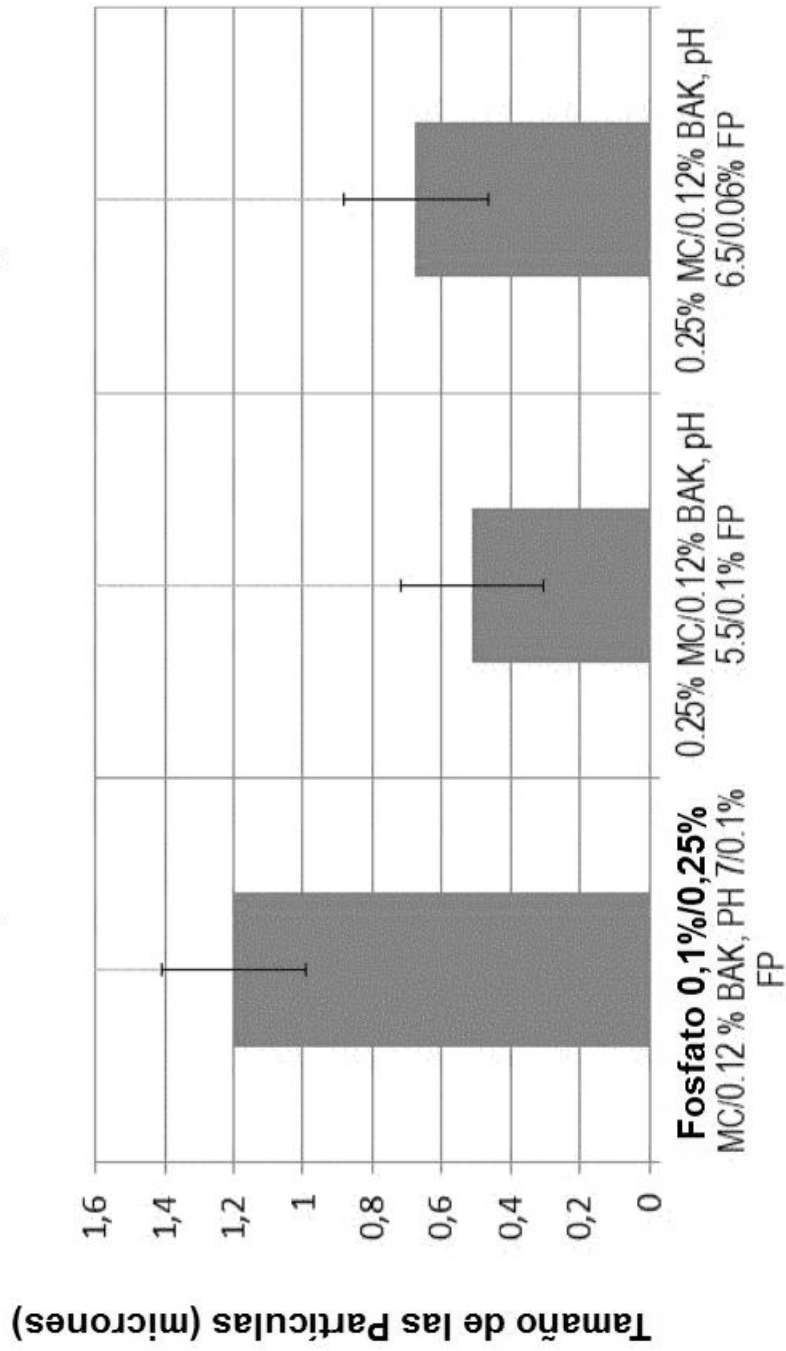


FIG. 7

Efecto del estabilizador en la fase II sobre el tamaño de las partículas

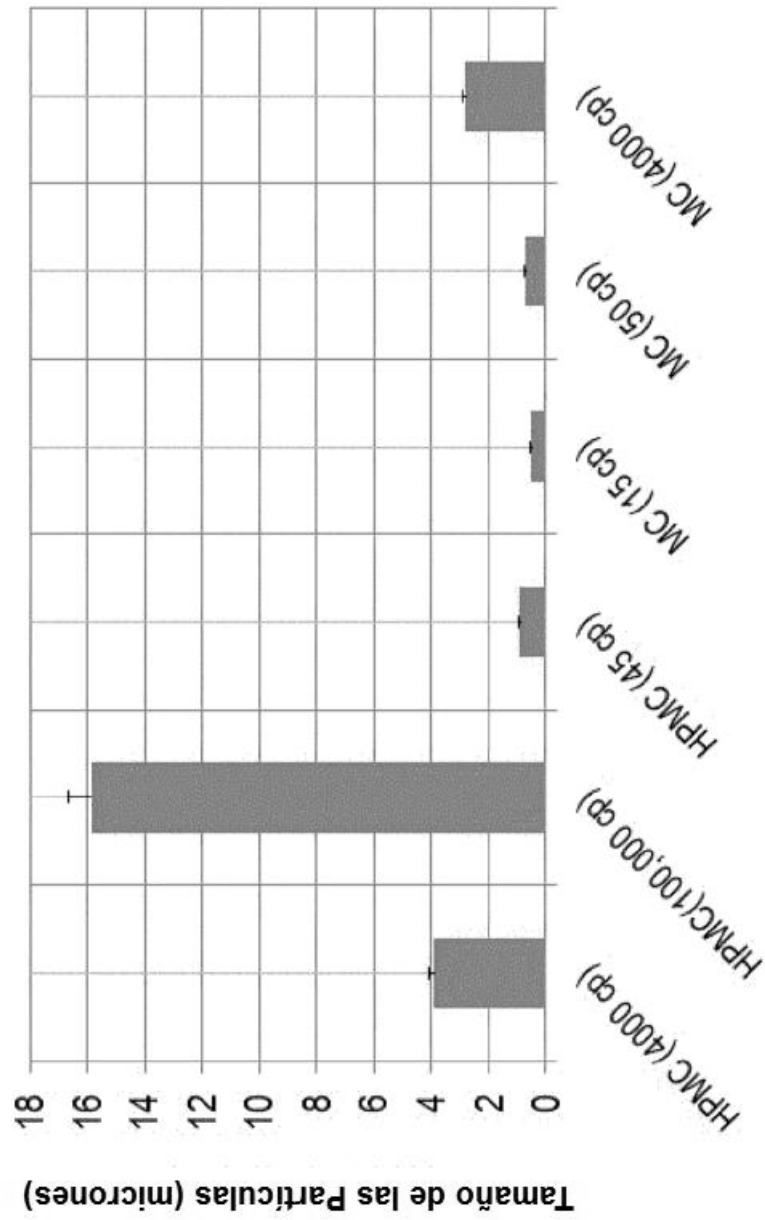


FIG. 8

Efecto del pH de la fase III (fase I + fase II) sobre el tamaño de las partículas

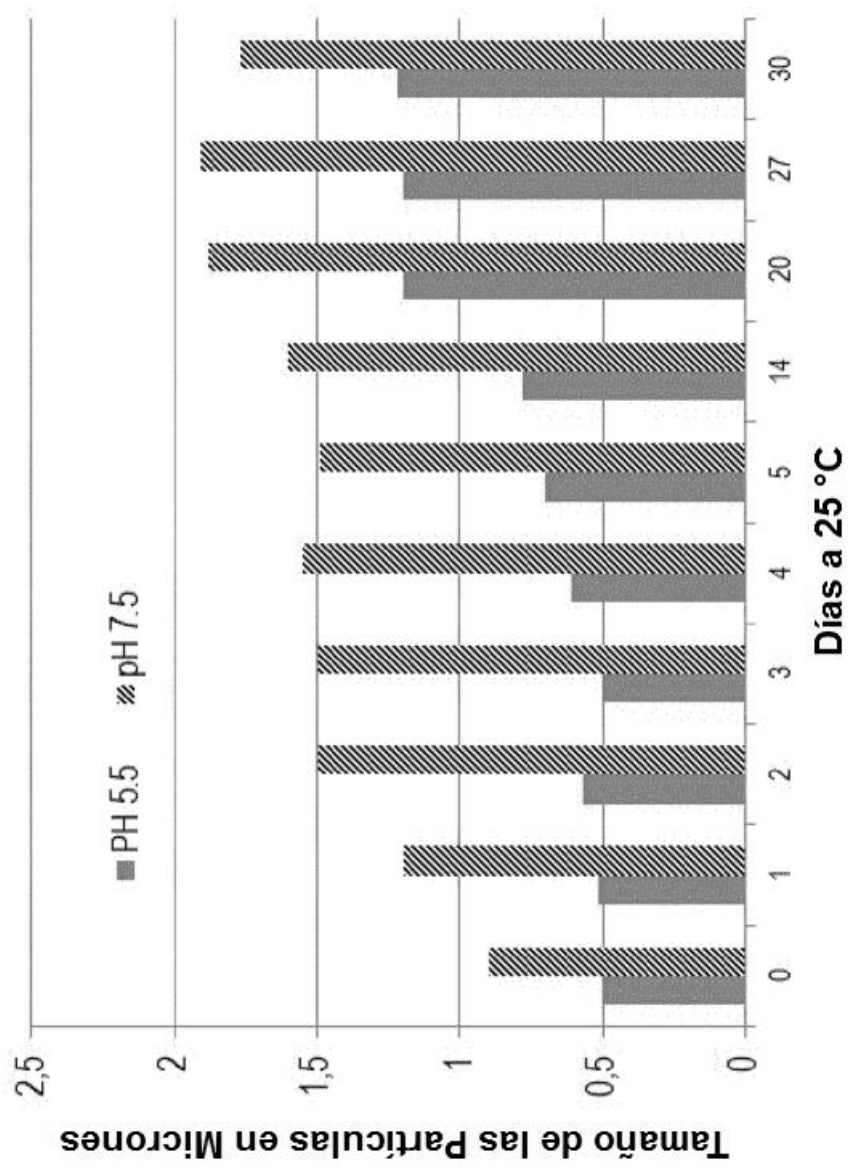


FIG. 9

Las nanopartículas de propionato de flutasona purificado no presentan un crecimiento de las partículas a lo largo del tiempo.

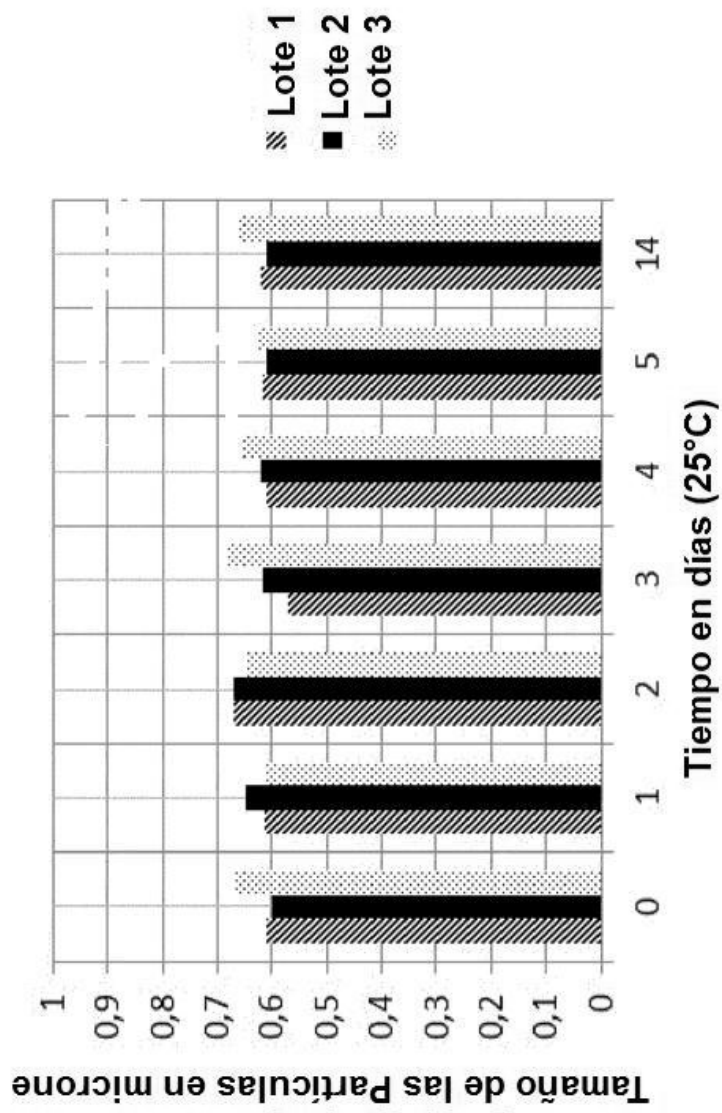


FIG. 10

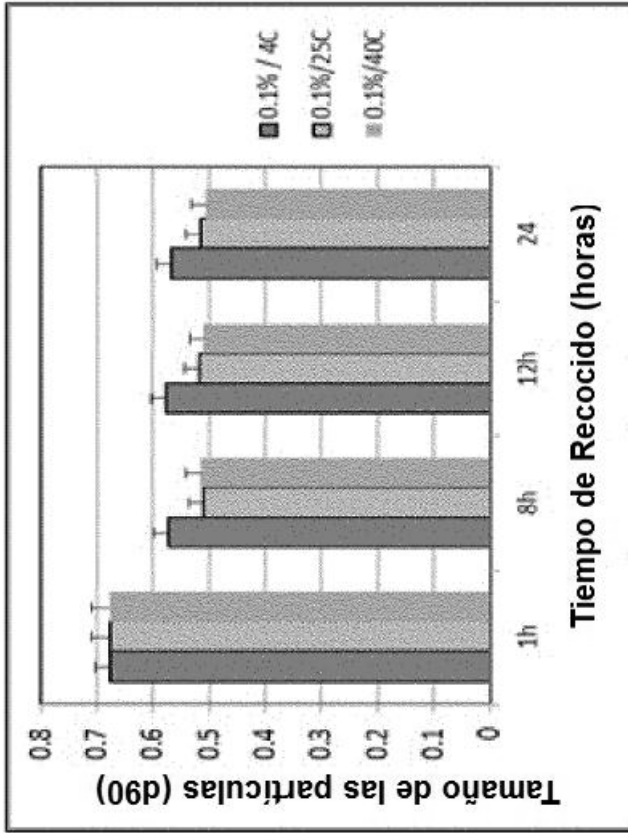


FIG. 12

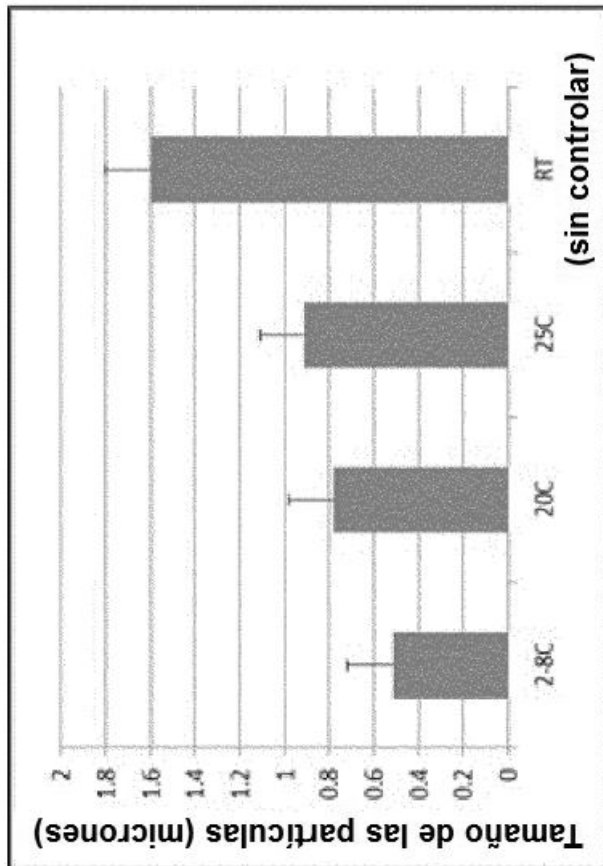


FIG. 11

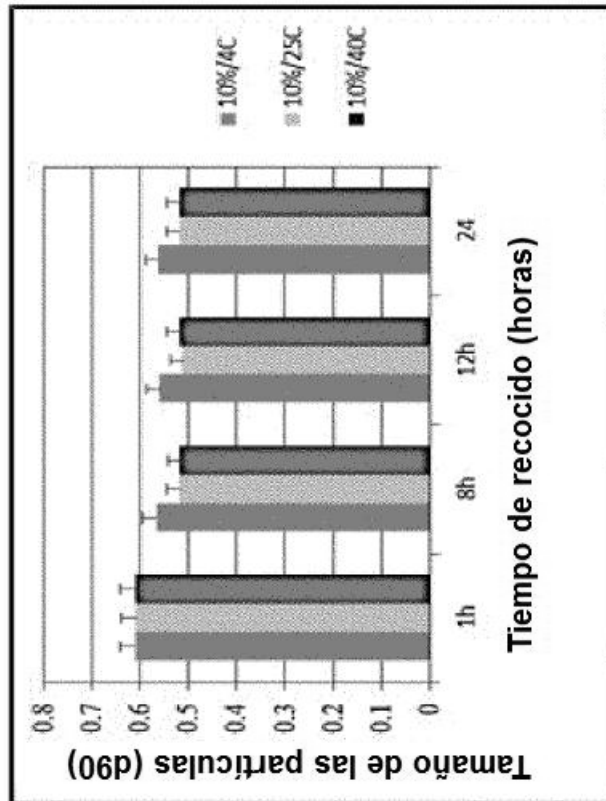


FIG. 13

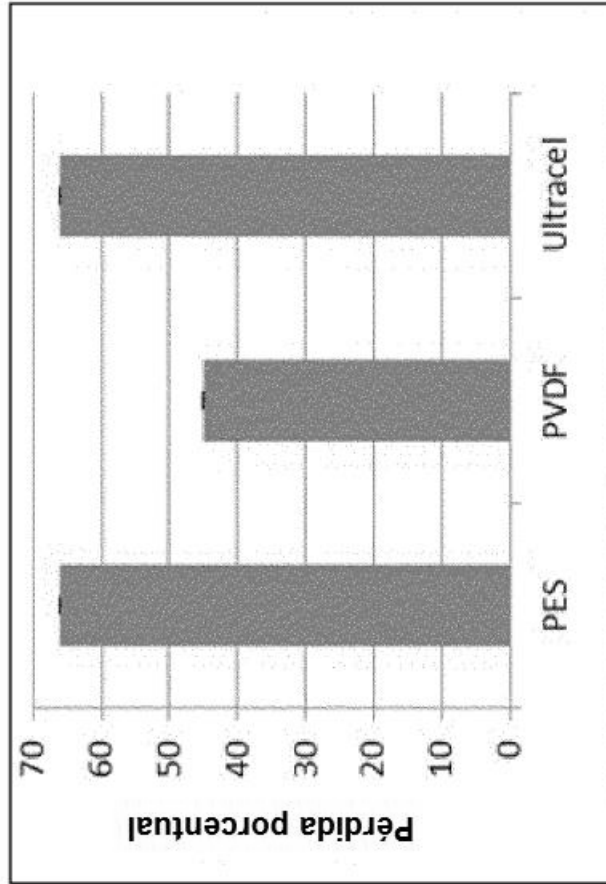


FIG. 14

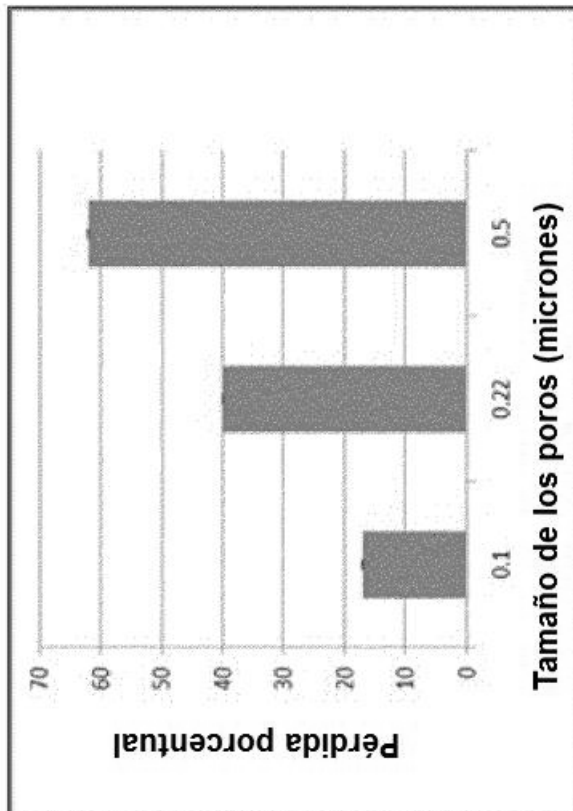


FIG. 15

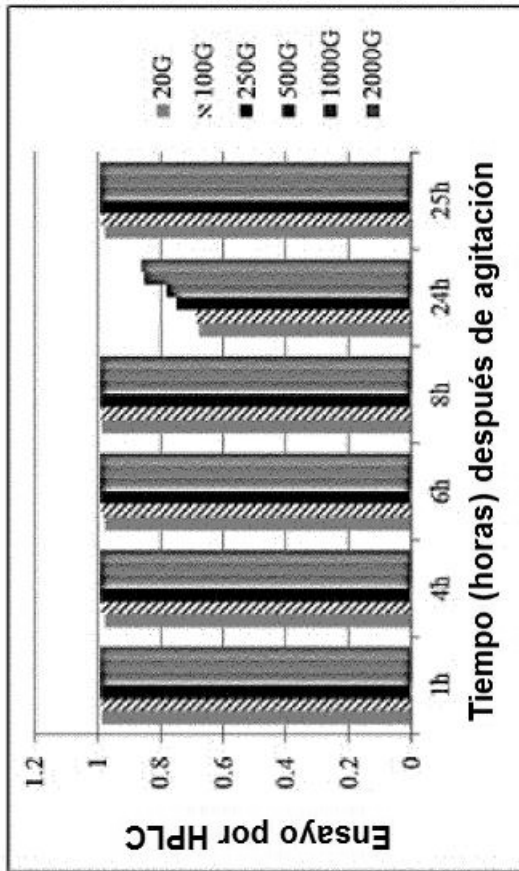


FIG. 16

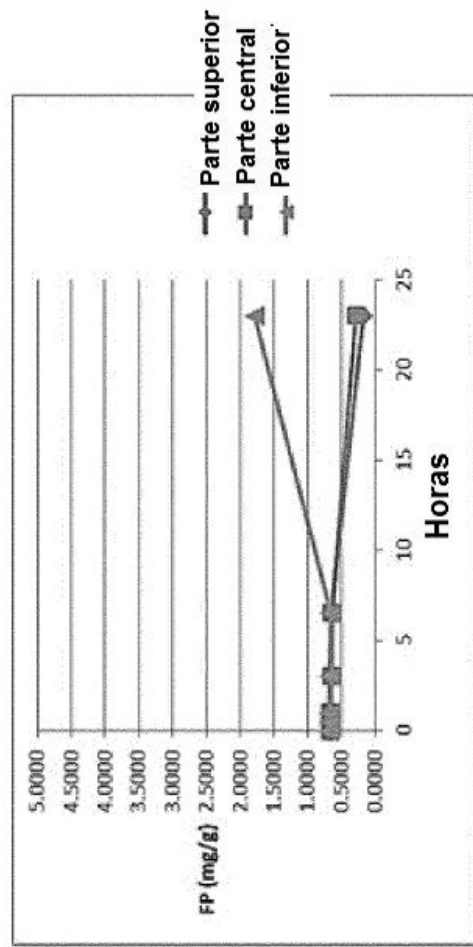


FIG. 18

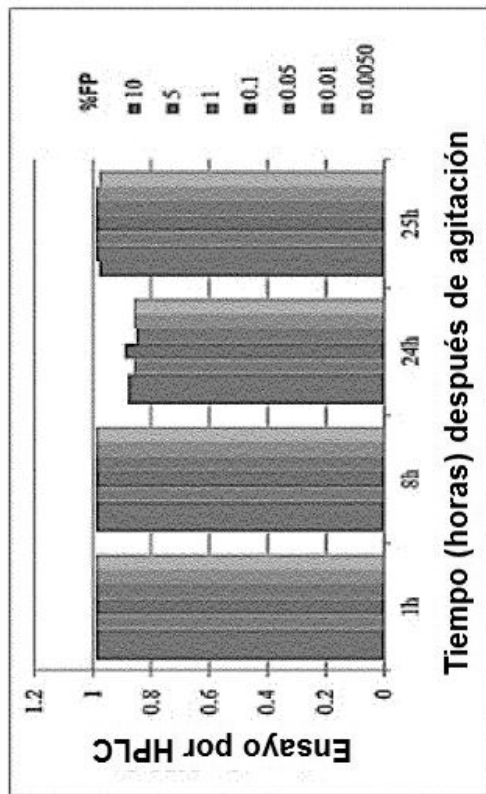


FIG. 17

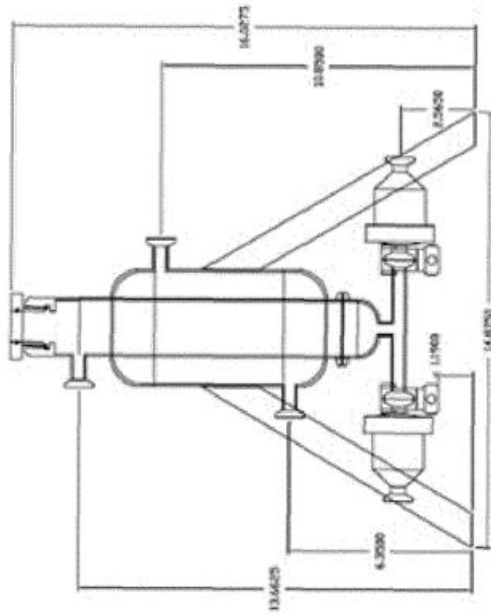


FIG. 19

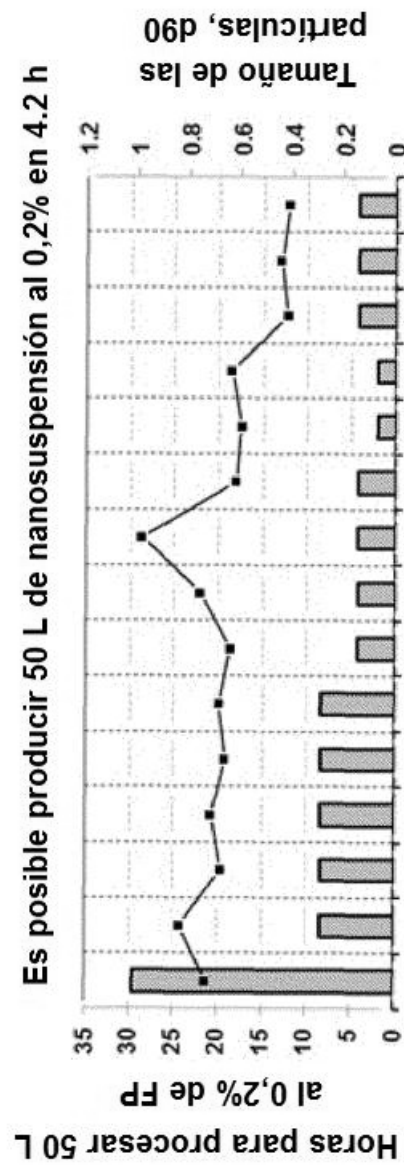


FIG. 20

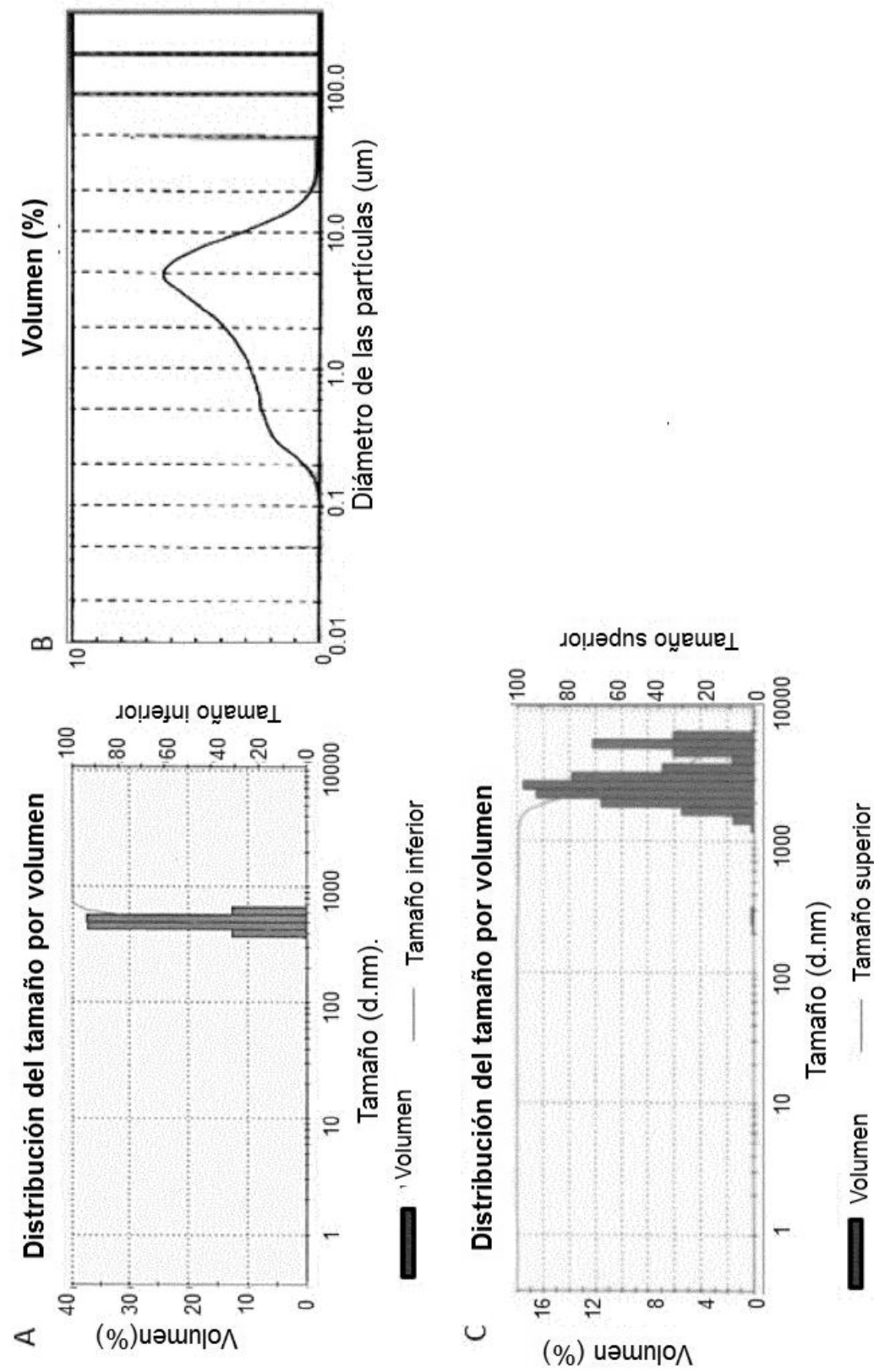


FIG. 21

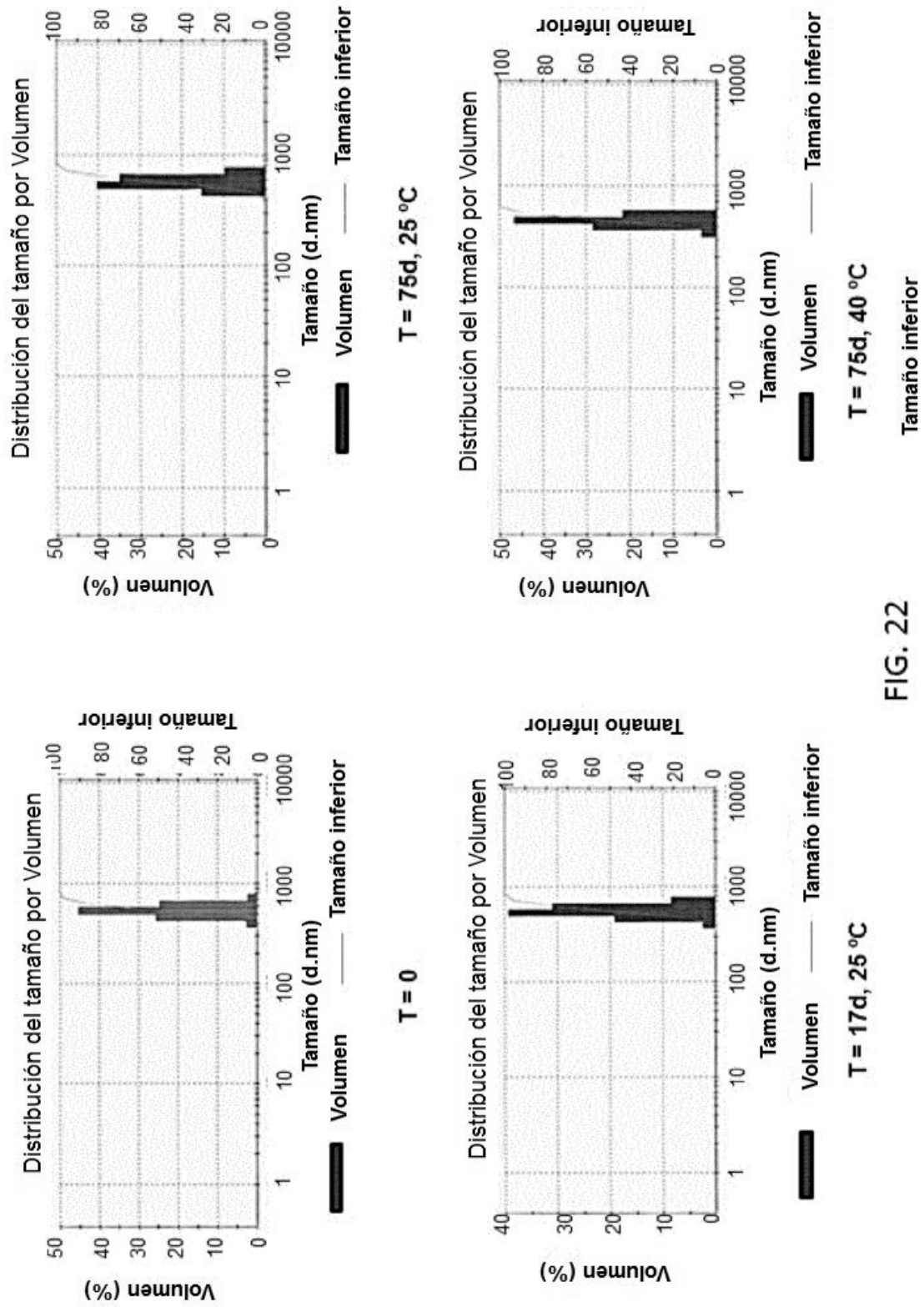


FIG. 22

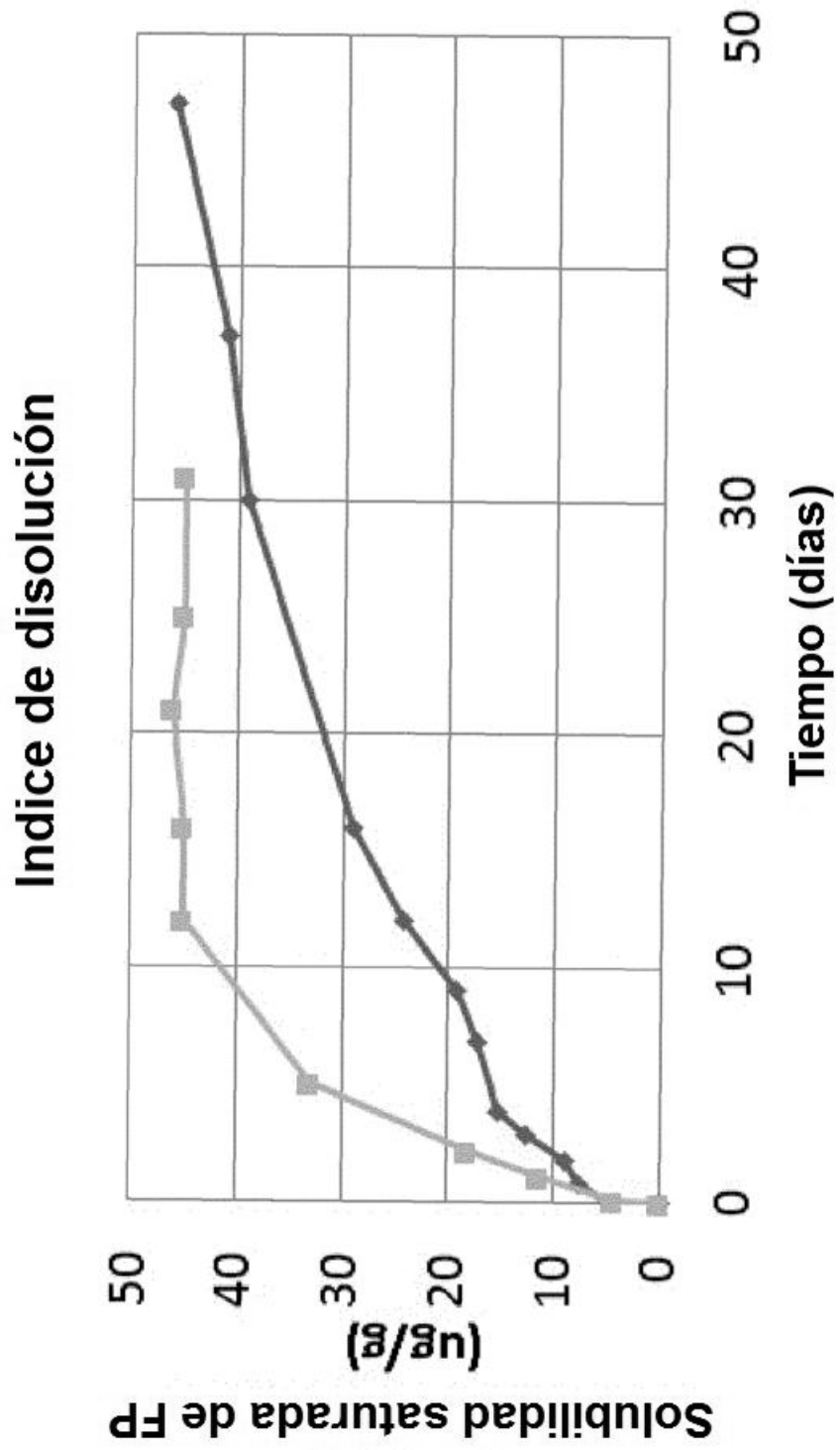


FIG. 23

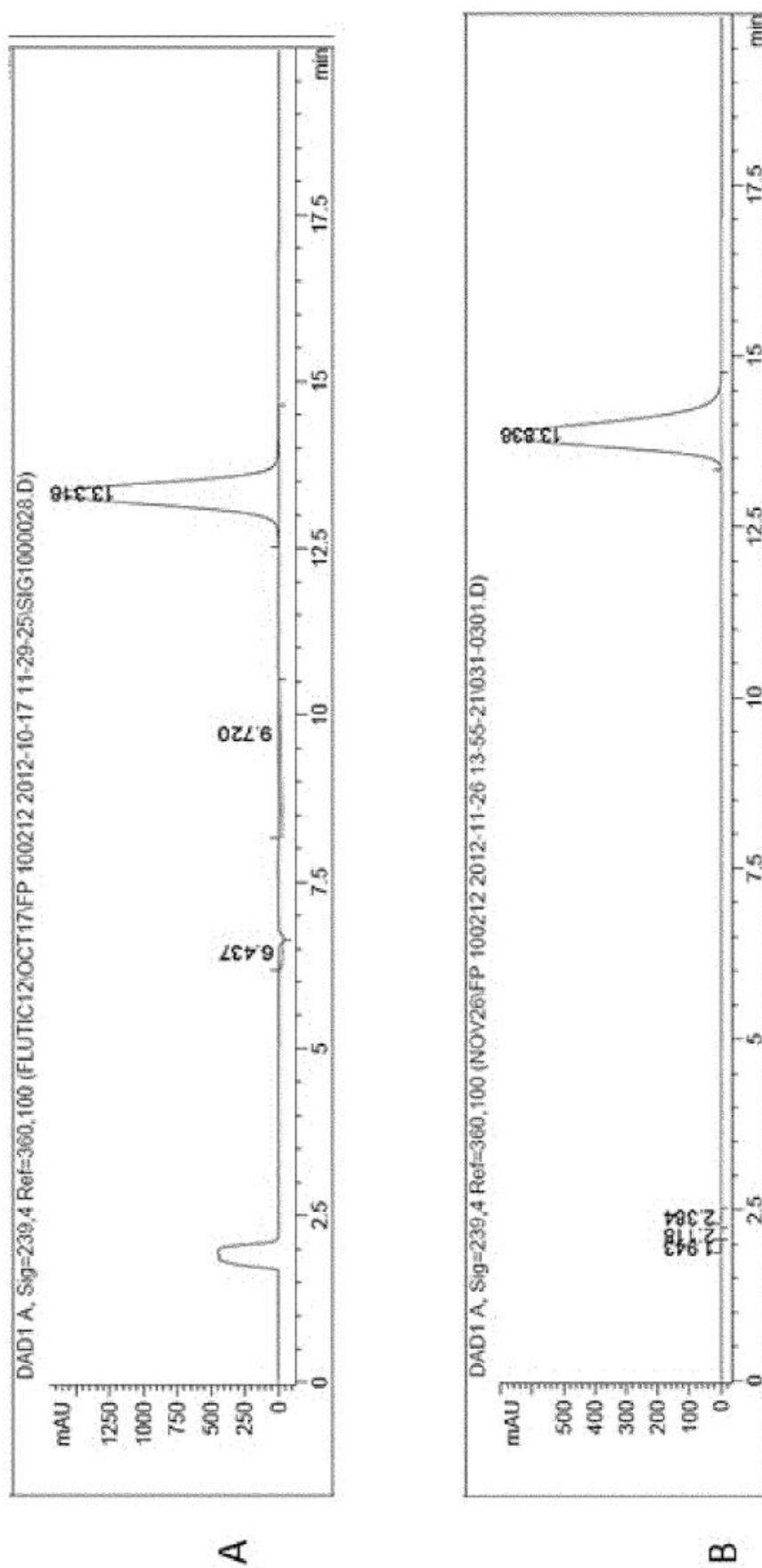


FIG. 24

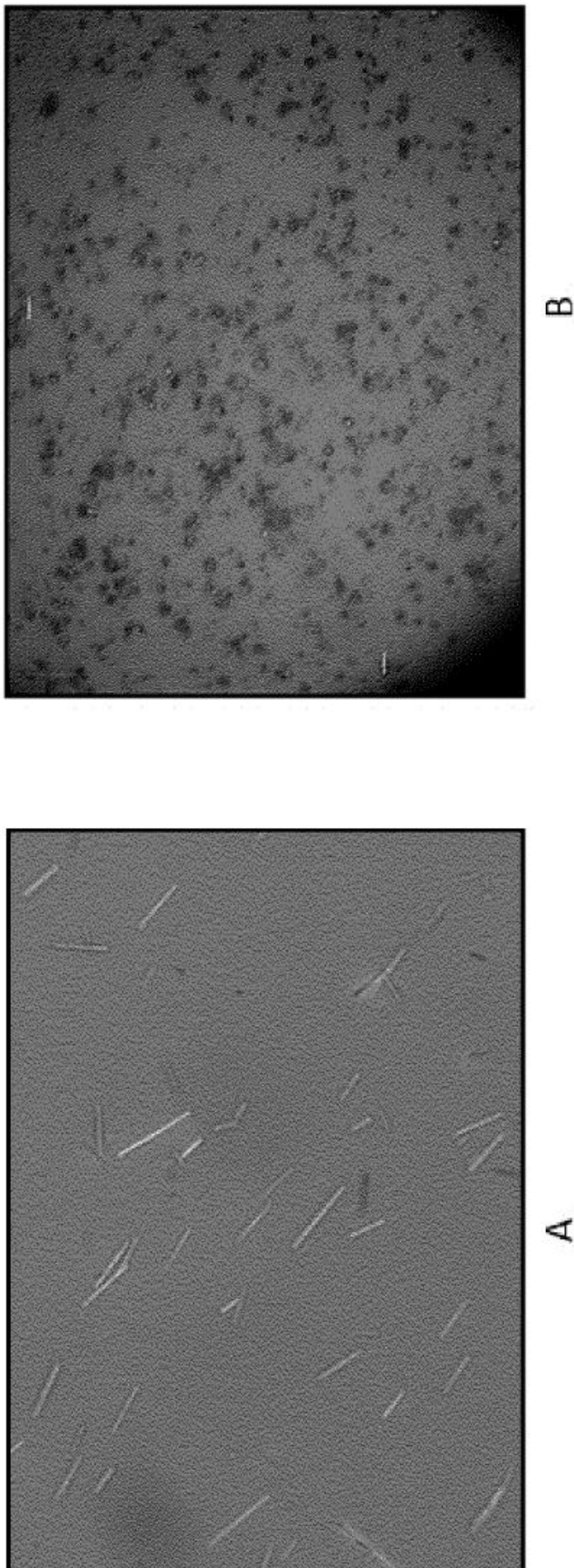


FIG. 25

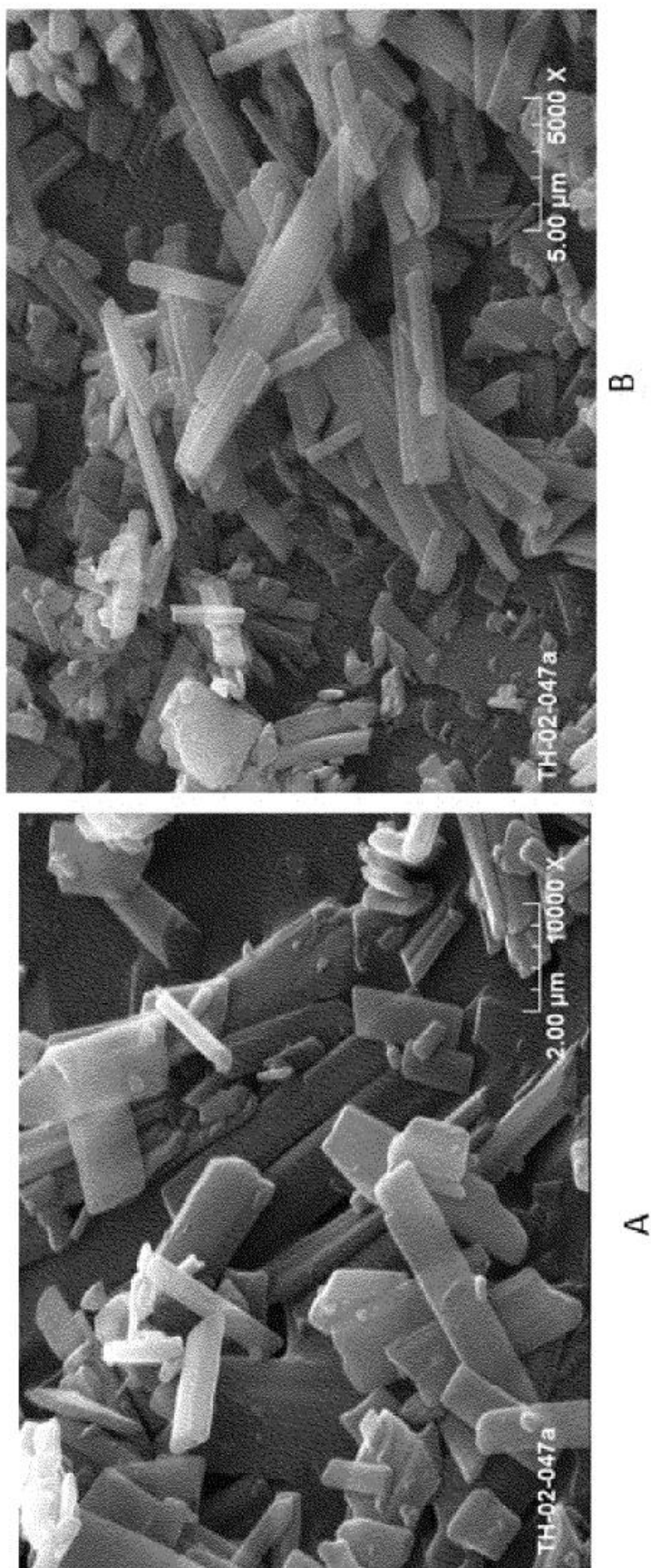
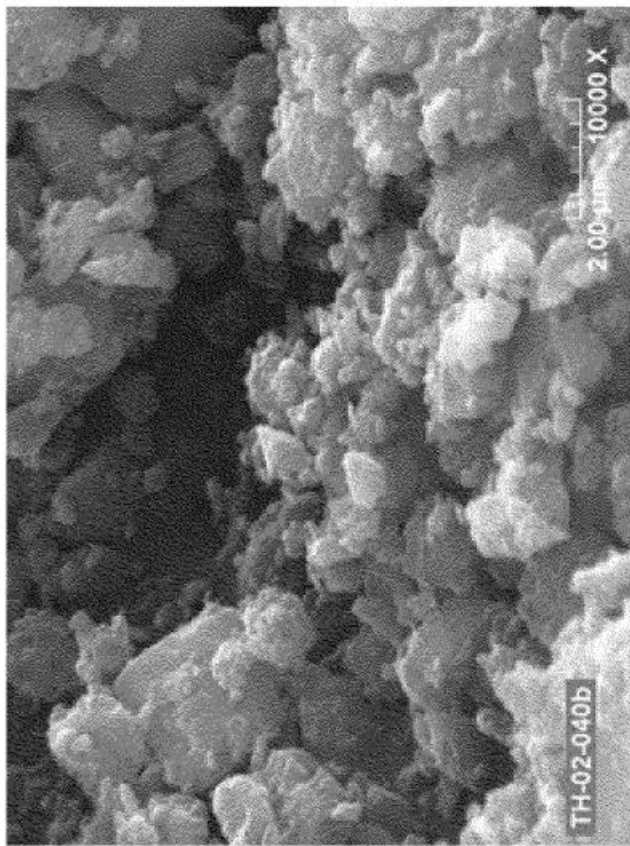
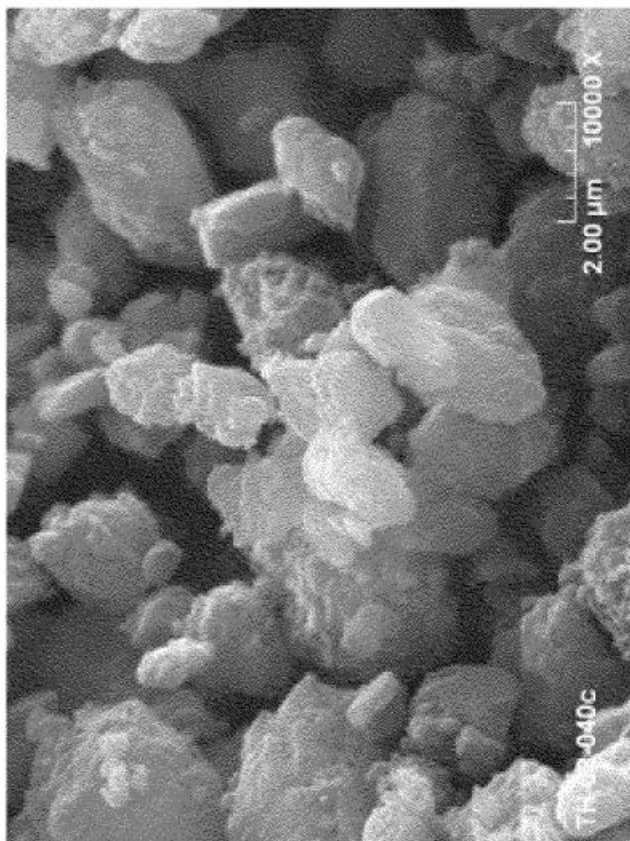


FIG. 26



B



A

FIG. 27

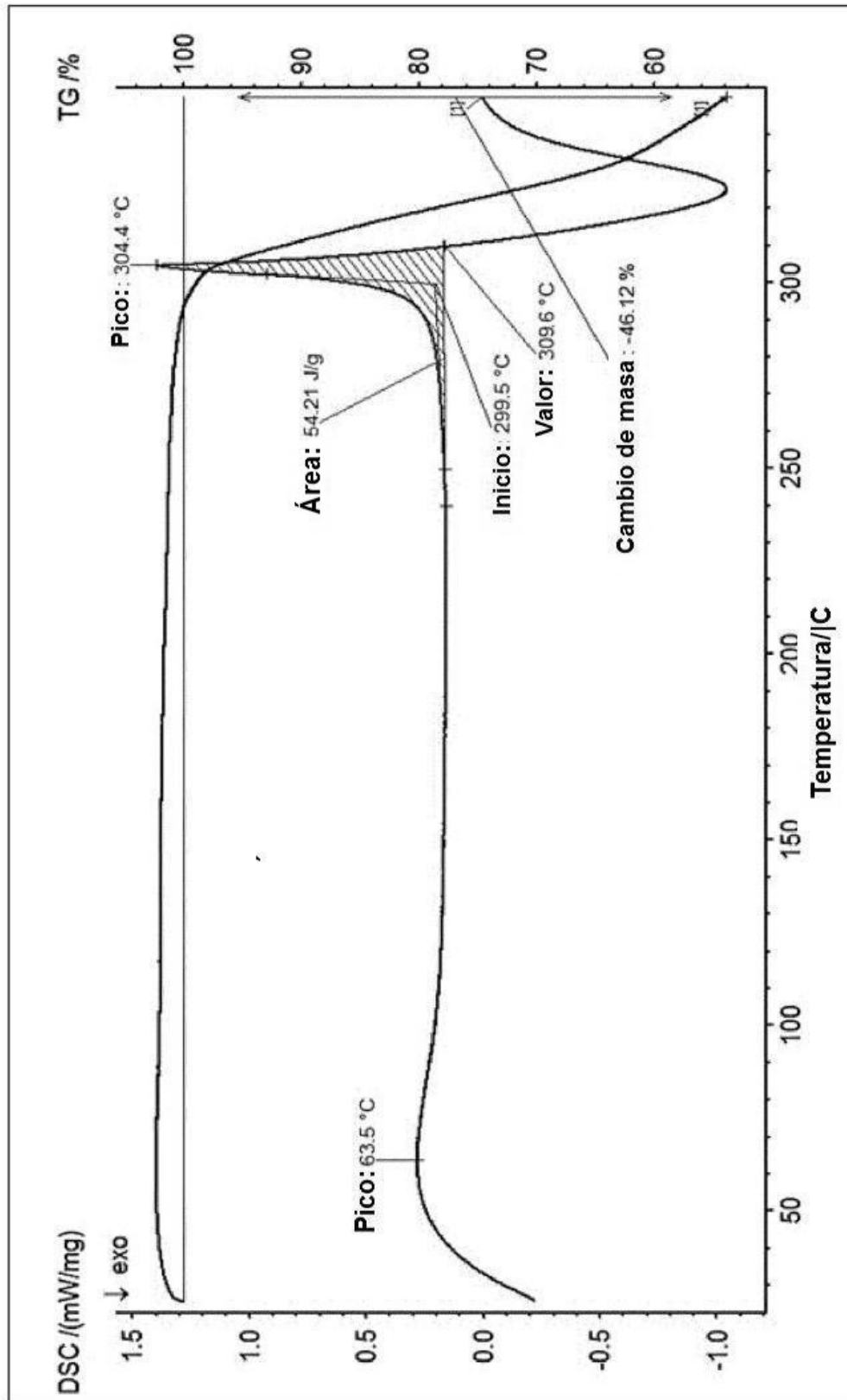


FIG. 28A

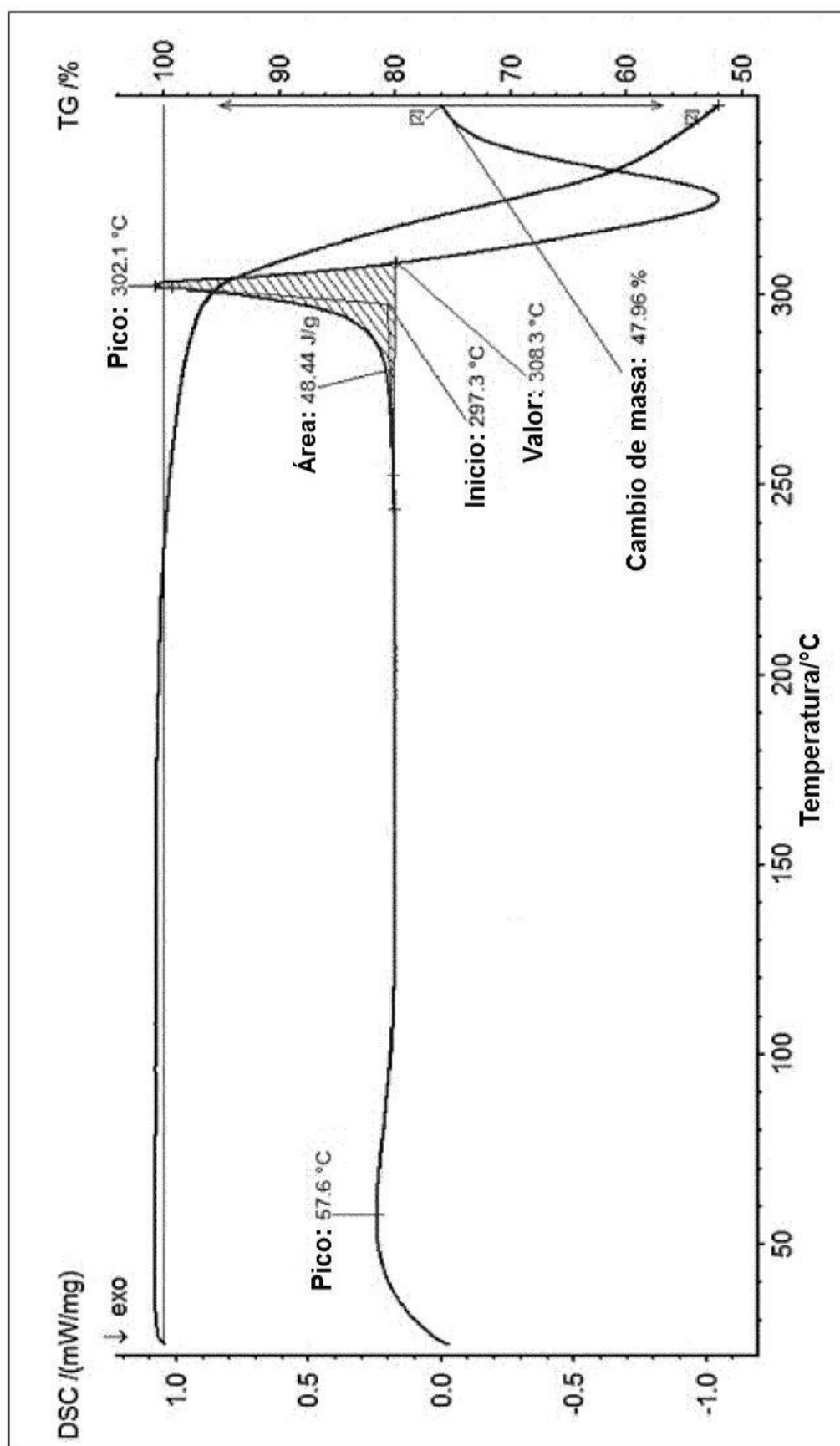


FIG. 28B

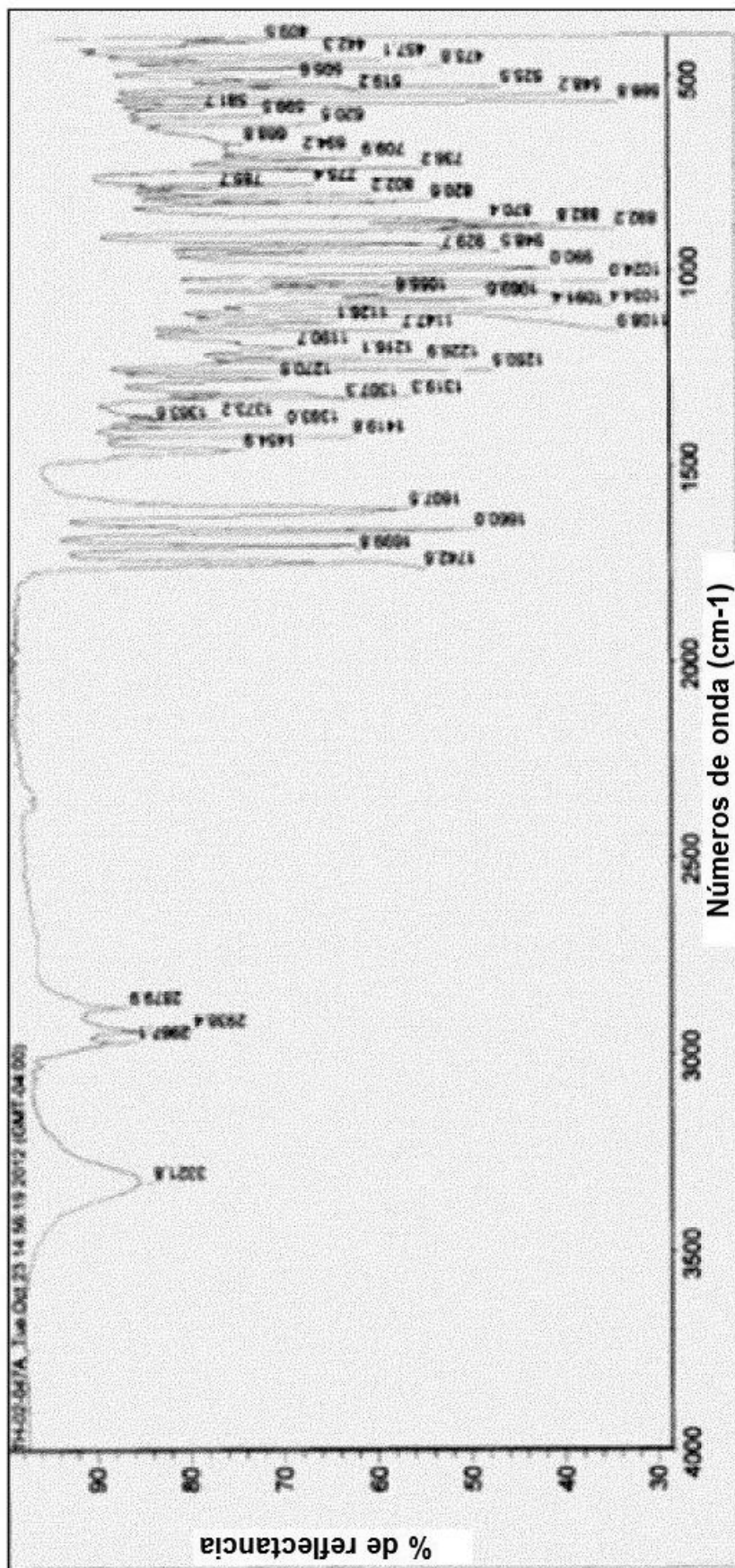


FIG. 29

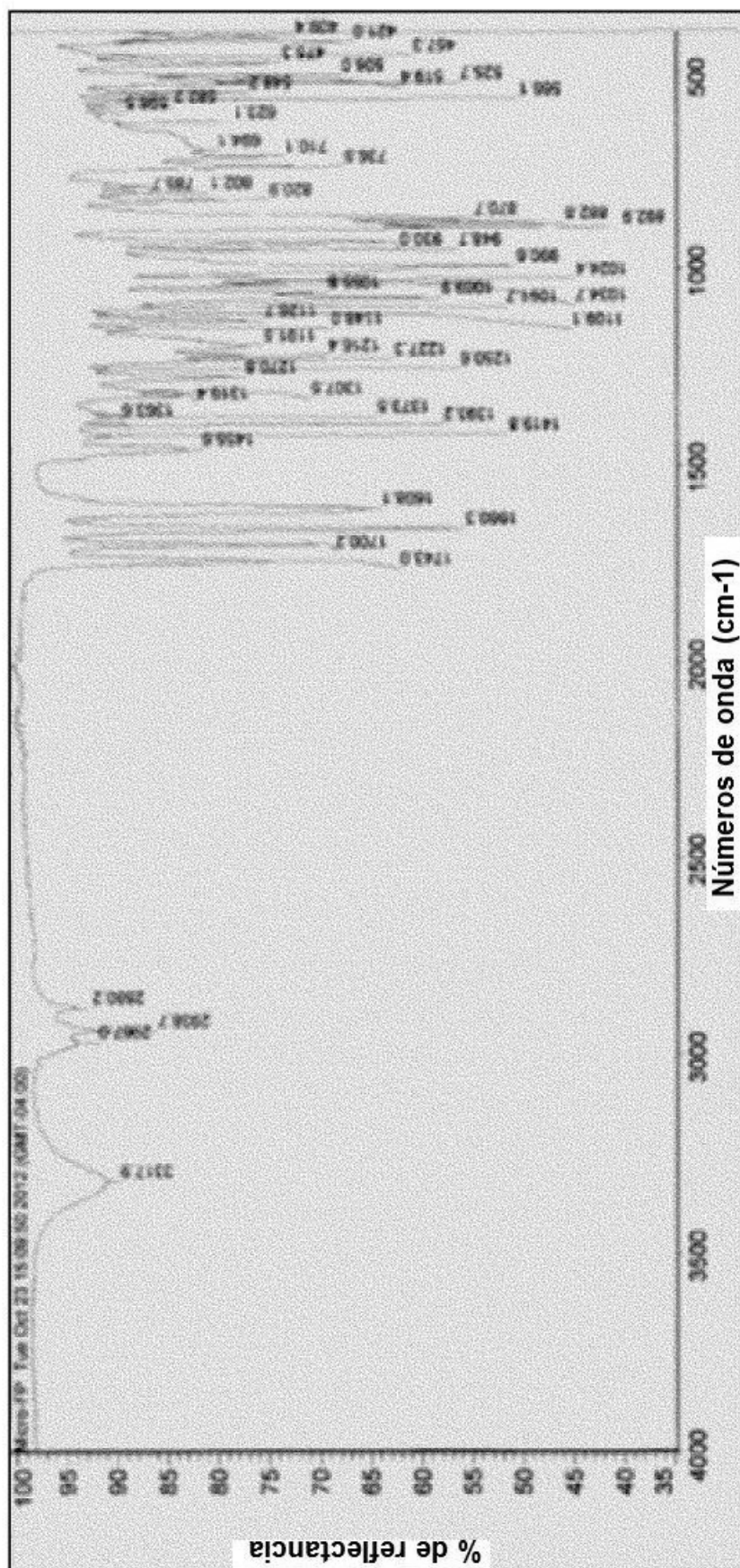


FIG. 30

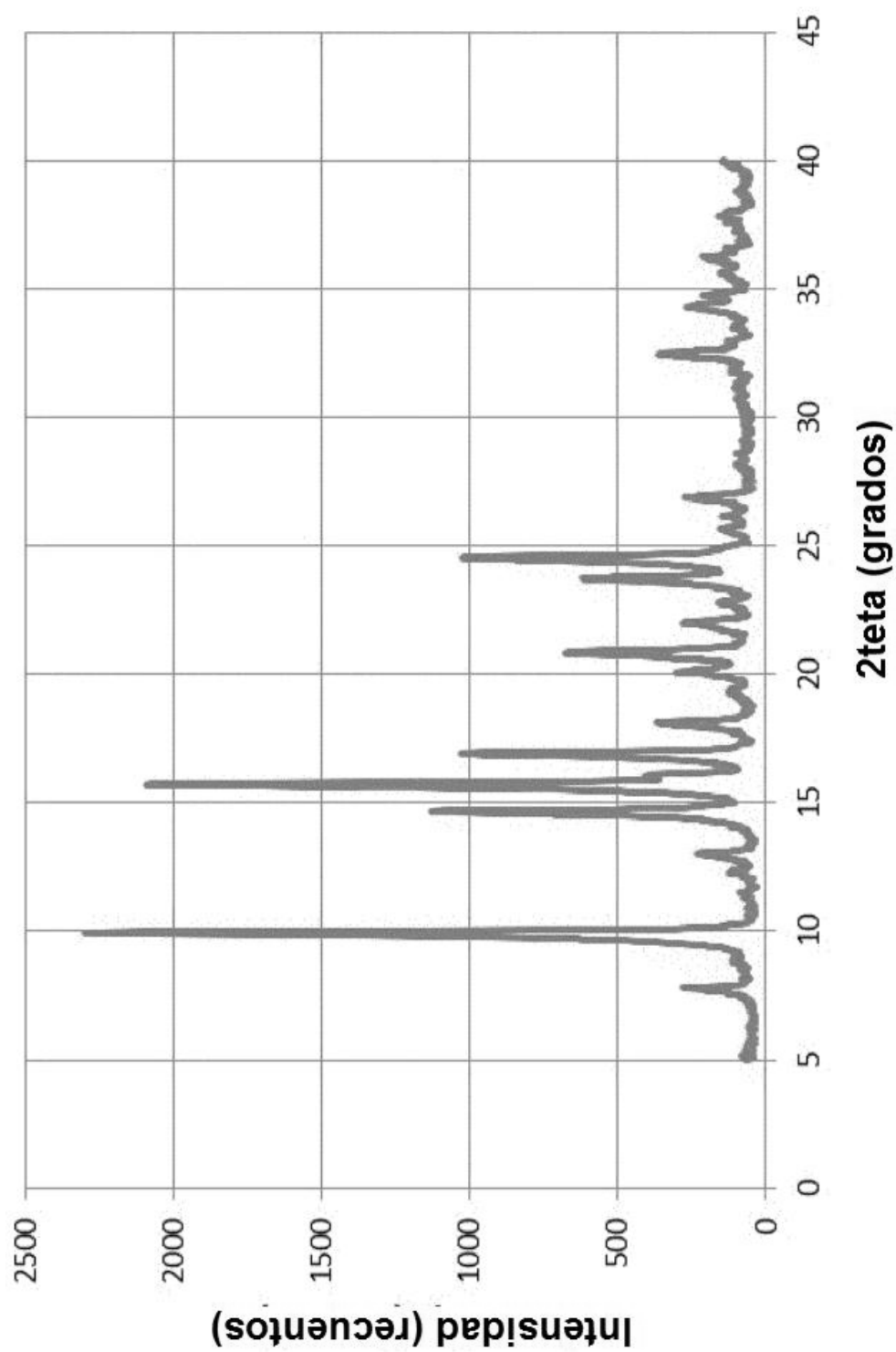


FIG. 31A

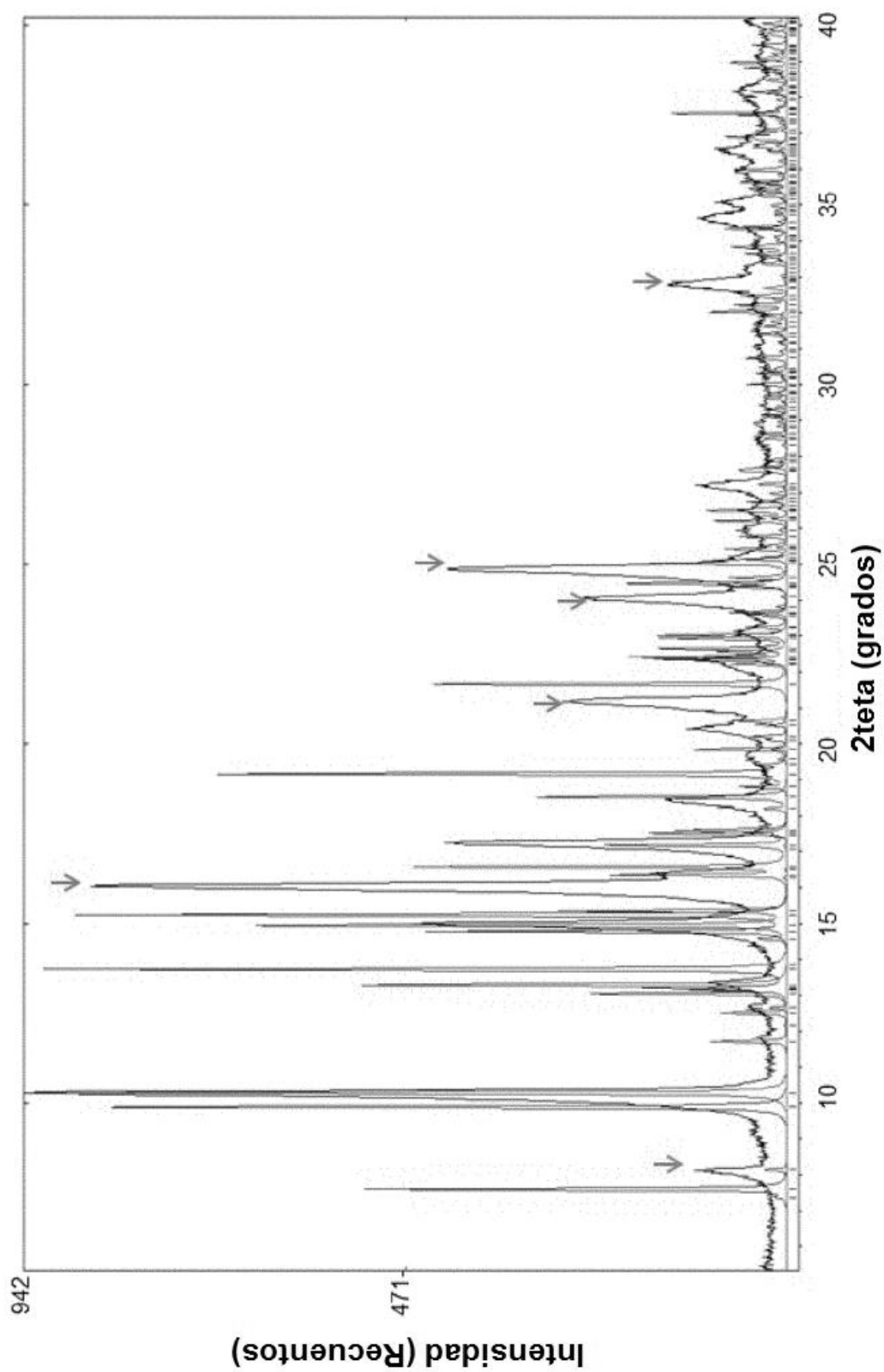


FIG. 31B

Diagrama Esquemático de Escalada de Producción y Purificación de Nanocristales
(Proceso continuo de flujo pasante de Sonicación)

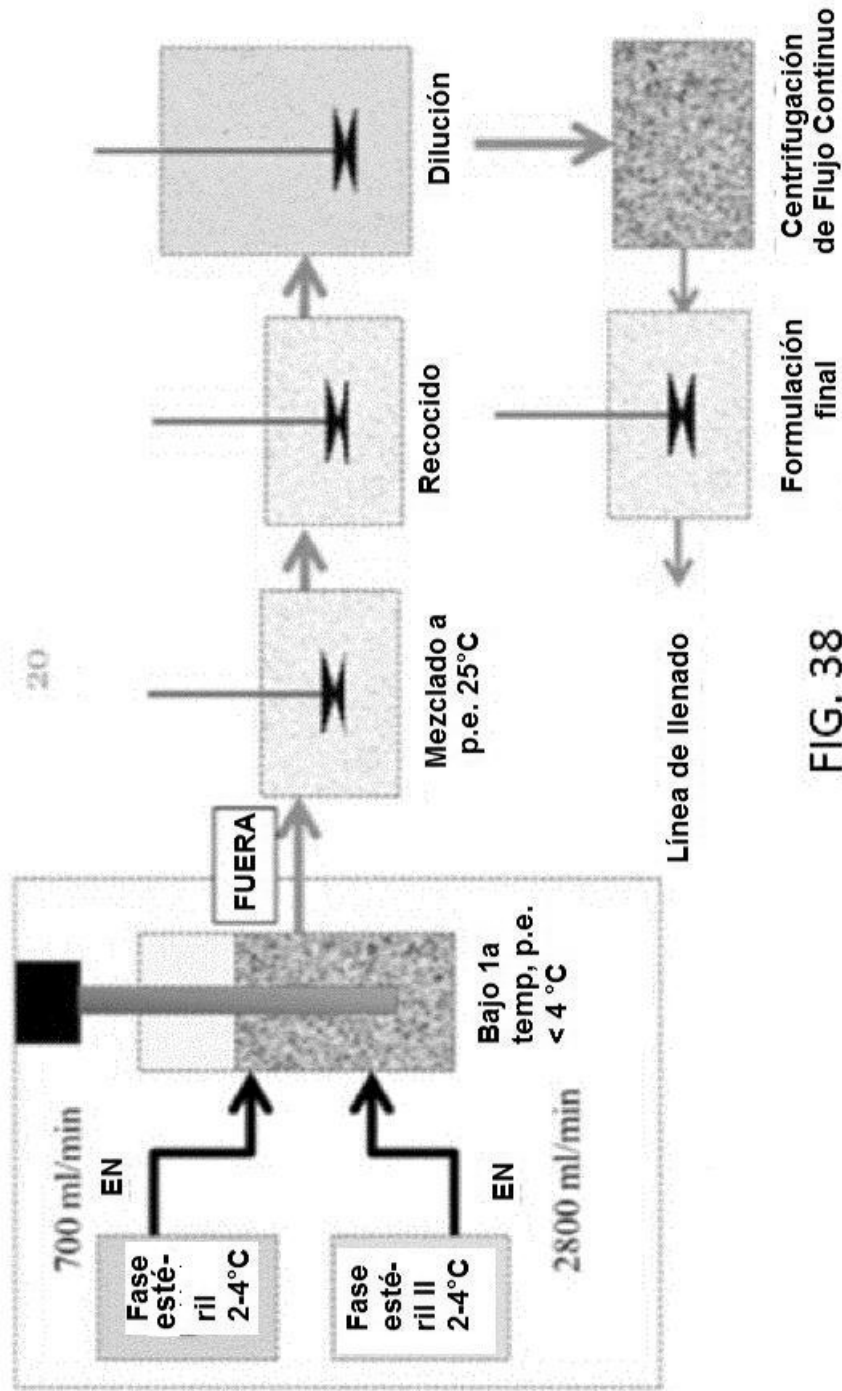


FIG. 38