

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 731 151**

51 Int. Cl.:

A61K 9/107 (2006.01)
A61K 47/14 (2007.01)
A61K 47/32 (2006.01)
A61K 47/44 (2007.01)
A61K 31/202 (2006.01)
A61K 31/201 (2006.01)
A61K 31/231 (2006.01)
A61K 31/232 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.04.2016 PCT/IT2016/000086**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.10.2016 WO16162894**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2016 E 16726669 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2019 EP 3280395**

54 Título: **Composiciones oftálmicas basadas en ácidos poliinsaturados y triacilgliceroles**

30 Prioridad:

08.04.2015 IT UB20150343

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

14.11.2019

73 Titular/es:

**FOR HEALTH PHARMA S.R.L. (100.0%)
Corso Italia 171
95127 Catania (CT), IT**

72 Inventor/es:

MANGIAFICO, SEBASTIANO

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones:

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

ES 2 731 151 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

Composiciones oftálmicas basadas en ácidos grasos poliinsaturados y triacilgliceroles

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a preparaciones oftálmicas basadas en ácidos grasos poliinsaturados y triacilgliceroles. Más específicamente, la invención se refiere a preparaciones para uso oftálmico tópico para la prevención y el tratamiento de patologías córneo-conjuntivas que tienen un componente inflamatorio, cuyas preparaciones contienen, como principios activos, ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y/o omega-6 en un vehículo oleoso disperso en un gel acuoso, y que son estables al almacenamiento a temperatura ambiente.

Antecedentes de la invención

Se sabe que la película lagrimal preocular es una estructura líquida compleja que recubre la superficie expuesta del globo ocular, así como la bulbar y la conjuntiva palpebral. Esta estructura resulta de la cooperación de una capa sólida, formada por el complejo de epitelio corneal y glucocálix (es decir, el recubrimiento de glicoproteína de las células epiteliales, que consiste en sus secreciones), con una capa líquida, que es más adecuadamente la película lagrimal. La capa sólida tiene la función de permitir la adhesión de la parte líquida de la película lagrimal a la superficie ocular, mientras que la capa líquida está formada a su vez por tres capas solapantes, de diferente constitución: una capa mucosa, una capa acuosa y una capa lipídica.

La capa mucosa interna de la película lagrimal fluida consiste en una mezcla de glicoproteínas hidratadas viscoelásticas (mucina), que se adhieren a dicha capa sólida y forman una superficie hidrófila. La capa acuosa es la porción intermedia de la película lagrimal, que se extiende sobre dicha superficie hidrófila y está hecha esencialmente de agua, sales orgánicas e inorgánicas, azúcares, proteínas, enzimas y otros biopolímeros de una estructura compleja, tal como las mucinas en sí. Las sustancias en solución en esta capa tienen funciones estructurales, osmóticas, amortiguadoras y nutritivas, y protegen la película lagrimal de los tejidos de la superficie ocular. Finalmente, la capa lipídica externa delgada está formada por ceras, ácidos grasos y ésteres de colesterol, y sirve para estabilizar la película lagrimal, controlando la pérdida de agua debido a la evaporación.

Como resultado de anomalías o desequilibrios de una o más de las capas descritas anteriormente, se puede producir la afección conocida como *síndrome del ojo seco* u *ojo seco*, que es un trastorno crónico que afecta principalmente a personas mayores, en su mayoría mujeres. Es una patología multifactorial caracterizada por modificaciones en la composición cualitativa y cuantitativa de la película lagrimal, que producen sensación de cuerpo extraño, síntomas de irritación (malestar), trastornos de la visión e inestabilidad de la película lagrimal, con posible deterioro de la superficie ocular. El ojo seco se acompaña de una hiperosmolaridad de la película lagrimal (con niveles que pueden alcanzar los 330-340 mOsm/l, contra un valor de referencia normal de aproximadamente 300 mOsm/l) y, a menudo, también de fenómenos inflamatorios, que se extienden desde la superficie ocular hasta la glándula lagrimal y las glándulas meibomianas.

El síndrome del ojo seco tiene en general un impacto significativo en la calidad de vida de los pacientes y costes sociales importantes, debido a la cronicidad de los síntomas, la reducción de la capacidad visual en el trabajo y en las actividades de la vida diaria (leer, ver la televisión, conducir), la necesidad de recurrir con frecuencia al examen realizado por un oftalmólogo y a los tratamientos médicos. Dado el aumento progresivo en la edad promedio de la población humana, dicha enfermedad tendrá una importancia cada vez mayor en el futuro.

Las terapias para el síndrome del ojo seco se centran principalmente en la restauración de la película lagrimal, mediante inserciones oculares de liberación lenta a insertar en el saco conjuntival y, más frecuentemente, con preparaciones oftálmicas líquidas, generalmente conocidas como "lágrimas artificiales", a instilar en gotas para sustituir o integrar la producción natural de lágrimas. En el caso más simple, dichas preparaciones solo tienen una acción humectante, ya que consisten en soluciones salinas fisiológicas, neutras e isotónicas con el líquido lagrimal, basadas solo en cloruro de sodio, o en mezclas equilibradas de diversos electrolitos. En otros casos, para superar el inconveniente de la reducción de la retención en el saco conjuntival y lubricar los tejidos y evitar más eficazmente la formación de áreas secas en el epitelio corneal, las formulaciones sustitutivas de lágrimas están enriquecidas con componentes de alto peso molecular que tienen funciones de agentes viscosificantes. Dichos componentes son normalmente polímeros solubles en agua de origen sintético, semisintético o natural, muchos de los cuales, tales como el ácido hialurónico y los derivados de celulosa, han alcanzado una difusión generalizada para el uso en cuestión.

Cabe señalar que en el caso de alteraciones o insuficiencia de la capa lipídica externa de la película lagrimal, la exposición continua de la película al ambiente externo puede causar la evaporación del componente acuoso, la exposición de la superficie ocular a agentes infecciosos y en consecuencia la inflamación de la misma superficie ocular. Estos mecanismos subyacen a los signos y síntomas clínicos del síndrome del ojo seco, pero también pueden producirse en individuos normales expuestos a ambientes con baja humedad y aire que fluye.

Debido al componente inflamatorio que generalmente está presente en el síndrome del ojo seco, los compuestos tales como los ácidos grasos poliinsaturados, en particular del tipo omega-3 y omega-6, son muy interesantes como candidatos para su inclusión en preparaciones sustitutivas de lágrimas. Como se sabe, los ácidos grasos poliinsaturados o PUFA son compuestos carboxílicos con cadena alifática que tienen dos o más enlaces dobles en la cadena, que se caracterizan por la posición del primer enlace doble a partir del átomo de carbono terminal de la cadena (posición ω). Entre los ácidos grasos poliinsaturados, omega-3 (o PUFA n-3) y omega-6 (o PUFA n-6) representan un grupo de ácidos grasos esenciales, indispensables para el buen funcionamiento del cuerpo. Los ejemplos de ácidos grasos omega-3 incluyen ácido α -linolénico (C18:3, n-3; ALA), ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3; EPA) y ácido docosahexaenoico (C22:6, n-3; DHA); Los ejemplos de ácidos grasos omega-6 incluyen ácido linoleico (C18:2, n-6; LA) y ácido γ -linolénico (C18:3, n-6; GLA).

Los suplementos nutracéuticos basados en ácidos grasos poliinsaturados, ricos en ácidos grasos omega-3, tomados de los aceites de pescado (en particular, aceites de salmón y arenque) y en ácidos grasos omega-6, principalmente de origen vegetal (grosella negra, borraja silvestre) son ampliamente empleados en vista de su actividad beneficiosa en el sistema cardiovascular, inmunológico y nervioso y también, específicamente, para su uso como suplementos en el tratamiento del ojo seco. Cabe señalar que, también en caso de indicaciones oftálmicas, estos productos son para la administración oral.

Es evidente que los productos para uso tópico en gotas oculares implican ventajas significativas para el tratamiento del ojo seco, al menos en vista de la mayor tolerabilidad de un producto oftálmico tópico en comparación con un producto para la administración oral, cuyo uso implica el tracto gastrointestinal. Sin embargo, la fabricación y comercialización de dichos productos, están condicionadas por las dificultades encontradas en la formulación de ácidos grasos del tipo de PUFA, especialmente por la poca solubilidad en agua y la escasa estabilidad química de estos principios activos.

Los ácidos grasos poliinsaturados, de hecho, son moléculas altamente lipófilas y poco solubles en agua, y su formulación en preparaciones comerciales para un uso oftálmico tópico implica dificultades considerables. Específicamente, la más notable de estas dificultades surge de la escasa solubilidad de estos compuestos en el agua y de su estabilidad reducida a los fenómenos de oxidación.

Las dificultades relacionadas con la escasa solubilidad en agua de los PUFA se han abordado en la técnica anterior utilizando la tecnología de emulsiones o dispersando el aceite en un medio acuoso viscoso, en particular un hidrogel.

Las emulsiones lipídicas, utilizadas desde hace mucho tiempo para las aplicaciones parenterales, se han estudiado para formular varios principios activos lipófilos y mejorar su biodisponibilidad ocular. Como es bien sabido, las emulsiones son sistemas dispersos formados por dos fases líquidas inmiscibles, preparadas mediante agitación mecánica. Dada la diferencia de interacción atractiva entre las diferentes moléculas de las dos fases líquidas, se genera una tensión interfacial en cada punto donde los dos líquidos están en contacto, y debido a dicha tensión las dos fases líquidas tienden a separarse entre sí, para minimizar la superficie de contacto. La tensión interfacial puede reducirse significativamente añadiendo moléculas anfífilas o agentes tensioactivos solubles en al menos una de las dos fases de la emulsión. Por lo tanto, la adición de un agente tensioactivo adecuado puede evitar la separación de la fase acuosa de la fase oleosa, o al menos puede ralentizar su avance.

Las emulsiones lipídicas para su uso como preparaciones medicinales, en particular las composiciones farmacéuticas que consisten en emulsiones del tipo aceite en agua para su uso como vehículo de principios activos lipófilos, se divulgan en el documento EP 0391369 (en nombre de Yissum Research Development Company de la Universidad Hebrea de Jerusalén, inventores B. Simon y L. Menashe). Dichas composiciones comprenden un vehículo oleoso que consiste en triglicéridos de cadena media (MCT), opcionalmente combinados con un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de soja, junto con fosfolípidos (por ejemplo, lecitina o fosfolípidos de soja) y tensioactivos, en particular tensioactivos no iónicos (tales como, por ejemplo, polisorbato 80 o Tween 80) y tensioactivos iónicos (en particular, ácido cólico y desoxicólico).

La aplicación de la tecnología anterior a las formulaciones que contienen PUFA como principios activos dio resultados insatisfactorios, ya que una emulsión basada en ácidos grasos omega-3 y omega-6 obtenidos de esta manera es bastante inestable desde el punto de vista físico, y tiende a evolucionar hacia la separación de fases. Además, y de manera más crítica, esta emulsión es inestable desde el punto de vista químico, ya que el título de los dos principios activos se reduce de manera considerable después de solo un mes de almacenamiento refrigerado (a una temperatura de 4 °C), muy probablemente como un resultado de la oxidación.

Más recientemente, la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO2006/007510 (en nombre de Scheppens Eye Research y Johnson & Johnson Vision Care, Inc., los inventores R. Dana *et. al.*) describieron composiciones oftálmicas tópicas basadas en ácidos grasos omega-6 y omega-3 como principios activos, a partir de la reconocida eficacia anti-inflamatoria de dichos agentes y del hallazgo de que una administración oral de los mismos, practicada durante mucho tiempo, puede ser mal tolerada o no deseada.

En las preparaciones ejemplificadas en dicho documento, los ácidos grasos omega-3 y omega-6 se emulsionan

directamente con tensioactivos adecuados, tales como, por ejemplo, ésteres de ácidos grasos de sorbitán polietoxilados (a saber, polisorbatos tales como "Tween") y metil glucósidos polietoxilados (tales como "Glucam"). En el procedimiento de preparación divulgado, se añade un primer tensoactivo a una solución salina tamponada y la mezcla se mantiene bajo agitación, a temperatura ambiente, durante un tiempo suficiente para obtener una solución transparente; luego se añade un segundo tensoactivo y posteriormente, después de un período adicional de mezcla, el ácido graso (o ácidos grasos, en el caso de que estos sean más de uno) se añade o añaden muy lentamente. Finalmente, se añade una gota de vitamina E (con función antioxidante) y la emulsión se mantiene bajo agitación durante algunas horas más.

10 Sin embargo, se ha verificado, mediante experimentación adicional, que las formulaciones basadas en EPA, DHA y GLA, obtenidas en emulsión de acuerdo con las enseñanzas del documento WO 2006/007510 sufren problemas de oxidación similares a los ya observados con las formulaciones en emulsión lipídica descritas anteriormente.

15 La precaria estabilidad física de las emulsiones, lograda solo con el uso de cantidades considerables de tensoactivo (potencialmente tóxico para la superficie corneal) y, especialmente, la inestabilidad química de los ácidos grasos poliinsaturados de interés, se ha abordado en la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO2010/106571 (Medivis srl). Este documento propone dispersar la emulsión de aceite en agua que contiene los PUFA en un medio acuoso viscoso, en particular un hidrogel acuoso formado a partir de polímeros hidrófilos, que son capaces de atrapar y suspender principios activos fuertemente hidrófobos, sin tener que recurrir a la tecnología de emulsión.

20 Lo anterior permite resolver el problema de la inestabilidad física de las composiciones basadas en PUFA para el uso oftálmico tópico. En lo que respecta a la estabilización a la oxidación, se recurre al uso de antioxidantes, en particular α -tocoferol o acetato de vitamina E. Más precisamente, en las formulaciones de acuerdo con el documento WO2010/106571 la vitamina E puede estar representada por cualquiera de los ocho componentes de su familia, es decir, α -, β -, γ -, tocoferol y α -, β -, γ -, δ - tocotrienol, pero se prefiere el α -tocoferol por su mayor disponibilidad comercial y su mayor actividad. Entre los ésteres relevantes, además del succinato y los ésteres con ácidos de cadena larga, el producto éster más barato y más popular es el acetato. Por lo tanto, el antioxidante preferente para las formulaciones del documento citado es el acetato de α -tocoferilo, que, en comparación con el α -tocoferol correspondiente, es más tolerable para una administración ocular tópica. En la superficie ocular, el acetato de α -tocoferilo proporciona α -tocoferol (vitamina E) por hidrólisis.

25 También la solicitud de patente internacional publicada con el n.º WO2014/035450 (Bausch & Lomb Inc.) describe preparaciones oftálmicas tópicas basadas en ácidos grasos omega-3 formulados en un vehículo de gel acuoso. En este caso, el gel está hecho de un polímero carboxílico débilmente reticulado (en particular, policarbófilo, conocido con el nombre comercial NOVEON AA) que tiene una concentración adecuada de componentes en forma de sales iónicas, tal como para mostrar una viscosidad que se reduce una vez que el producto se instila en el ojo y está en contacto con la película lagrimal, mejorando así la tolerabilidad ocular del producto.

40 Cabe señalar que la solicitud de patente citada toma en consideración el problema de la estabilidad física de la composición en gel (al observar que, una vez que se agita vigorosamente antes de usar, la preparación descrita mantiene en suspensión la fracción oleosa durante al menos dos semanas), pero no el problema de su estabilidad química. Las formulaciones descritas en el documento WO2014/035450 pueden contener ingredientes adicionales como tensioactivos o emulsionantes, reguladores de tonicidad (agentes osmotizantes), tampones, conservantes, co-disolventes y agentes viscosificantes, pero no se hace mención en el documento de ningún agente con funciones antioxidantes específicas. En particular, la vitamina E se menciona como un posible ingrediente opcional junto con otras vitaminas, incluidas las vitaminas A, C, B₆, B₁₂ etc., sin referirse indirectamente a ninguna prueba de estabilidad física, y mucho menos a las pruebas de estabilidad química, en la preparación.

50 Contrariamente a los dos últimos documentos de la técnica anterior mencionados anteriormente, la solicitud de patente US 2006/0251685 (Yu Zhi-Jian *et al.*) divulga formulaciones oftálmicas basadas en ácidos grasos omega-3 en emulsión de aceite que se basan en el uso convencional de cantidades significativas de tensioactivos. Las preparaciones descritas contienen glóbulos de aceite que incluyen un ácido graso omega-3, disperso en un vehículo acuoso, que puede contener opcionalmente un polímero gelificante. Este sistema se emulsiona gracias a la presencia de cantidades de tensioactivos que confieren a la mezcla oleosa la capacidad de autoemulsionarse. En consecuencia, los glóbulos de aceite que se forman en la preparación tienen dimensiones muy finas, en cualquier caso por debajo de una décima de micrómetro.

60 Sumario de la invención

En el marco de los estudios que llevaron a la presente invención, se consideró que si, por un lado, la presencia de un antioxidante tal como el α -tocoferol puede minimizar la formación de productos de oxidación en una preparación basada en PUFA como principio activo, por otro lado el tocoferol manual también puede actuar como un prooxidante (Rietjens IMCM *et al.*, the pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids, Environ. Toxicol. Pharmacol., 2002, 11, 321-333).

Dicho efecto antioxidante o prooxidante está fuertemente influenciado por la concentración del agente, la temperatura y el sistema físico constituido por la preparación en cuestión. Por ese motivo, en las preparaciones basadas en PUFA estabilizados con vitamina E, es necesario dosificar la vitamina E de tal manera que su concentración no sea excesiva, lo que daría como resultado un efecto prooxidante. Al mismo tiempo, dicha concentración no debe ser demasiado baja, en cuyo caso el agente se consumiría en poco tiempo y el sistema se dejaría, en un determinado punto, sin ninguna defensa antioxidante.

Algunos estudios preliminares a la presente invención han demostrado que la cantidad de vitamina E requerida para obtener preparaciones basadas en PUFA que son estables durante un tiempo suficientemente largo para permitir la comercialización (es decir, tener una vida útil de más de 18 meses) coincide, desafortunadamente, con la cantidad prooxidante. Por ese motivo, en las preparaciones que contienen α -tocoferol como antioxidante, como también sucede en muchas otras formulaciones con otros antioxidantes, no es posible implementar realmente las condiciones de estabilidad química adecuadas para los PUFA omega-3 y -6.

En las formulaciones descritas como preferentes en la solicitud de patente de Medivis (WO2010/106571), el uso de acetato de vitamina E mezclada con PUFA omega-3 y -6 garantiza en el tiempo, gracias al equilibrio de *acetato de vitamina E o vitamina E + acetato*, una concentración constante, no prooxidante, de α -tocoferol. Con el uso del derivado de acetato de vitamina E en el sistema particular descrito en el documento mencionado, se han logrado las condiciones antioxidantes y de larga duración, que son necesarias para una formulación basada en PUFA omega-3 y -6, químicamente estables durante al menos un determinado período de tiempo. A este respecto, debe subrayarse que en la formulación de la solicitud de patente citada, en ausencia de acetato de vitamina E, o en presencia de α -tocoferol solo, los ácidos grasos omega-3 y -6 son químicamente inestables. Los datos experimentales correspondientes se presentan a continuación en la parte experimental de esta descripción.

De acuerdo con los estudios realizados en las formulaciones oftálmicas con ácidos grasos omega-3 y omega-6 descritos en la solicitud de patente WO2010/106571, las preparaciones son estables cuando se almacenan a temperatura ambiente durante 12 meses. El estudio de estabilidad presentado en el documento muestra que a temperaturas de 4 °C y 25 °C, los PUFA se degradan débilmente durante 12 meses con una tendencia lineal. Sin embargo, el mismo estudio de estabilidad prolongado hasta 24 meses, presentado en detalle en la sección experimental de la presente descripción, todavía mostró una tendencia lineal para las formulaciones almacenadas a 4 °C, pero mostró una tendencia polinómica, indicativa de una rápida degradación, para las formulaciones almacenadas a 25 °C (**Figuras 1a y 1b** analizadas más adelante).

Por lo tanto, las preparaciones basadas en PUFA de la técnica anterior antes mencionada no son adecuadas para ser almacenadas a temperatura ambiente durante al menos 18 meses, como se requiere para una autorización de comercialización, pero tienen que comercializarse bajo la condición de ser almacenadas en un ambiente refrigerado.

Es evidente que la posibilidad de tener disponible una composición oftálmica tópica basada en PUFA que no solo sea bien tolerada por los pacientes sino también estable durante largos períodos de tiempo a temperatura ambiente, en condiciones de almacenamiento no refrigerado, tendría la ventaja de una reducción considerable de los costes de gestión, así como mejores oportunidades de comercialización, en particular mediante mostradores.

Se ha descubierto que es posible obtener formulaciones oftálmicas basadas en PUFA sorprendentemente estables en el tiempo, tanto física como químicamente, al usar como vehículo para la parte oleosa de una formulación en hidrogel similar a las preparaciones del documento WO2010/106571, medios oleosos, tanto vegetales como sintéticos, formados por triglicéridos de cadena media (MCT) o, posiblemente, que también contienen triglicéridos de cadena larga (LCT), siempre que sean líquidos a temperatura ambiente, en lugar de acetato de vitamina E. Específicamente, la estabilidad de las preparaciones propuestas de acuerdo con la invención resultó ser mayor que la estabilidad alcanzable anteriormente con el uso de antioxidantes tales como la vitamina E y el acetato de vitamina E.

El objeto de la presente invención es, por lo tanto, una formulación en un gel acuoso estable, que contiene PUFA como principios activos, preferentemente en forma de ésteres de alquilo o triglicéridos, en los que estos PUFA (omega 3 y/o omega-6) se disuelven en un aceite vegetal o sintético, en una concentración que puede variar del 5 % al 85 % en peso, y en los que no están presentes la vitamina E o sus ésteres con actividad antioxidante, ni están presentes tensioactivos en una cantidad total de más del 0,10 % en peso.

La mezcla de aceite y ácidos grasos poliinsaturados que forman la fase oleosa de la preparación de acuerdo con la invención se dispersa en un hidrogel acuoso formado a partir de uno o más polímeros hidrófilos adecuados para su uso oftálmico, por ejemplo, en un gel hecho de carbopol u otro polímero viscosificante o espesante que puede mantener la fase oleosa dispersa de manera estable. Las cantidades limitadas de uno o más agentes emulsionantes poliméricos y otros excipientes solubles en agua se añaden preferentemente a la fase de hidrogel acuoso, seleccionándose dichos excipientes de aquellos normalmente utilizados en productos para la administración oftálmica tópica.

Descripción detallada de la invención

- La presente invención, por lo tanto, proporciona específicamente una preparación oftálmica tópica indicada para la prevención y el tratamiento de patologías oftálmicas con un componente inflamatorio, en particular queratoconjuntivitis inflamatoria y síndrome del ojo seco, que contiene, como principios activos, uno o más ácidos grasos poliinsaturados seleccionados del grupo que consiste en: ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y ácidos grasos poliinsaturados omega-6, teniendo dichos ácidos grasos poliinsaturados una cadena alifática de 16 a 24 átomos de carbono, y derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos seleccionados de sus ésteres con grupos alquilo C₁-C₄ y sus triglicéridos, en solución, en un vehículo oleoso, consistiendo dicho vehículo oleoso en un aceite vegetal o sintético seleccionado del grupo que consiste en: triglicéridos de cadena media (MCT), lípidos de triglicéridos de cadena larga (LCT) a temperatura ambiente, aceites vegetales y sus mezclas, y que no contienen vitamina E o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos, dispersándose la dicha solución en forma de glóbulos de aceite en un hidrogel basado en un vehículo acuoso que contiene uno o más polímeros gelificantes, caracterizada porque dichos glóbulos de aceite tienen un diámetro promedio de 1-10 µm, y porque dicha preparación contiene una cantidad global de no más del 0,10 % en peso de tensioactivos y agentes emulsionantes, y es sustancialmente estable a temperatura ambiente, con un contenido restante de principios activos no degradados de no menos del 90 % en peso del contenido de inicio después de 18 meses desde la fecha de fabricación, cuando se almacena a 25 °C.
- En las preparaciones de acuerdo con la invención, los uno o más ácidos grasos poliinsaturados mencionados se disuelven generalmente en dicho vehículo oleoso en una concentración global del 5 % al 85 % en peso, preferentemente del 10 % al 60 % en peso y, más preferentemente, del 15 % al 50 % en peso.
- De acuerdo con algunas realizaciones específicas de la invención, los ácidos grasos omega-3 y omega-6 poliinsaturados usados en la formulación tienen cadenas alifáticas de 18 a 22 átomos de carbono, con tres, cinco o seis enlaces dobles distribuidos a lo largo de la cadena.
- De acuerdo con algunas realizaciones preferentes de la invención, dichos glóbulos de aceite de la fase dispersa en el gel tienen un diámetro medio de entre 1 y 5 µm, y preferentemente el diámetro promedio de los glóbulos de la fase oleosa dispersa es de 2 a 4 µm.
- Aún preferentemente, los tensioactivos y agentes emulsionantes están presentes en la formulación de acuerdo con la invención en una cantidad global de no más del 0,010 % en peso.
- La formulación de la invención también puede comprender uno o más agentes emulsionantes poliméricos, seleccionados, por ejemplo, a partir de poliacrilatos reticulados de alto peso molecular (tales como el producto conocido con el nombre comercial de "Pemulen", es decir, acrilatos de polímero reticulado/acrilatos de alquilo C₁₀-C₃₀), poloxámeros (copolímeros de bloque de polioxietileno-polioxipropileno, tales como los productos conocidos con el nombre comercial "Pluronic") y succinato de D-alfa-tocoferil polietilenglicol, conocido con el nombre abreviado de TPGS.
- En particular, las formulaciones de acuerdo con la invención pueden contener como principios activos ácido eicosapentaenoico (EPA) o un grupo de éster de alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado o su triglicérido y/o ácido docosahexaenoico (DHA) o un éster de alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado o su triglicérido. Al igual que el ácido graso poliinsaturado omega-6, las formulaciones anteriores pueden contener ácido α-linolénico (GLA) o su éster de alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado o su triglicérido.
- Las formulaciones preferentes para las preparaciones de la invención, en particular, contienen como principios activos EPA, DHA y opcionalmente GLA, o sus ésteres etílicos.
- Como se sabe, los PUFA de la familia omega-3 (tales como EPA y DHA) están fácilmente disponibles en altas concentraciones en aceites de pescado. Las fuentes adecuadas se pueden seleccionar entre aceite de salmón, aceite de caballa, aceite de pescado oleoso, aceite de krill y mezclas de los mismos. Los ácidos grasos de la familia omega-3 están normalmente contenidos en dichos aceites en porcentajes que varían entre 40 y 50 %.
- Las fuentes de ácidos grasos poliinsaturados enriquecidos en ácidos de la familia omega-6 (tal como GLA) se pueden seleccionar a su vez de los aceites vegetales, en los que también están presentes niveles más bajos de omega-3. Entre los aceites vegetales más utilizados para este fin están el aceite de linaza, aceite de borraja silvestre, aceite de germen de trigo, aceite de cáñamo, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de grosella negra y aceite de soja.
- El uso farmacéutico de los PUFA, y en particular EPA, GLA y DHA, requiere materias primas con un alto grado de pureza. En consecuencia, se separan de la mezcla de ácidos grasos de pescado y/o aceites vegetales para alcanzar una pureza del 90 % y 70 %, respectivamente, para EPA y GLA. Los procedimientos practicados en la actualidad incluyen la extracción, la destilación molecular y la cristalización a bajas temperaturas.

En las formulaciones de EPA y GLA o EPA, DHA y GLA, que se prefieren de acuerdo con la invención, se usa preferentemente Pemulen TR-1, a una concentración del 0,001 % al 0,15 % de la formulación total, prefiriéndose la concentración en el intervalo del 0,01 % y 0,10 % en peso.

5 El vehículo oleoso en el que se mezclan los PUFA para obtener las preparaciones de la invención consiste en triacilglicerol (triglicéridos), y preferentemente en MCT sintéticos o naturales, tales como el aceite de coco, o en aceites vegetales que contienen predominantemente LCT, normalmente junto con cantidades más pequeñas de MCT.

10 De acuerdo con las farmacopeas oficiales, los MCT consisten en mezclas de triglicéridos de ácidos grasos con cadenas de 6-12 átomos de carbono. El aceite vegetal que contiene la mayor proporción de MCT en su composición es el aceite de coco, mientras que también hay altas cantidades de MCT en el aceite de palma (aceite de almendra de palma). Los ejemplos de productos MCT en el mercado, que ya se utilizan en el campo oftálmico son Miglyol® (Dynamit Nobel, SE) y TCM® (Société des Oleagineux, FR).

15 Con la exclusión de los dos aceites vegetales mencionados anteriormente, la mayoría de los otros aceites vegetales contienen principalmente LCT, es decir, triglicéridos de ácidos grasos de cadena larga de 13 a 21 átomos de carbono. Por ejemplo, el aceite de oliva contiene principalmente triglicéridos de ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2 y ácido palmítico (C16:0).

20 Como se sabe, tanto los triglicéridos de origen vegetal como los MCT se usan ampliamente en productos oftálmicos, hasta el punto de estar presentes como tales y en ausencia total de agua en diversas formulaciones. Por ejemplo, la ciclosporina se ha formulado al 2 % en aceite de oliva (Diaz-Llopis, M. y Menezo, JL. Penetration of 2 % cyclosporin eyedrops into human aqueous humor. Br. J. Ophthalmol. 73, 600-603 (1989)), y en otros aceites vegetales (Lallemant, F., Felt-Baeyens, O., Besseghir, K., Behar-Cohen, F. y Gurny, R. Cyclosporine A delivery to the eye: to
25 Pharmaceutical challenge. Eur. J. Pharm. Biopharm. 56, 307-318 (2003)). De forma similar, la azitromicina para el uso oftálmico está disponible en el mercado no solo en una formulación acuosa, sino también en una preparación exclusivamente oleosa que se encuentra en MCT (patente europea EP 1377316, Laboratoires Théa).

30 De acuerdo con la presente invención, para aumentar la estabilidad química de los PUFA protegiéndolos de la oxidación sin tener que recurrir a antioxidantes basados en vitamina E, se han utilizado algunos triglicéridos en la formulación de la fase oleosa, con el objetivo de aislar los PUFA del oxígeno disuelto en agua. En la práctica, el mismo sistema en el se ha utilizado la conservación de alimentos en aceite es lograr una solución homogénea de PUFA en aceite, y la mezcla oleosa obtenida se dispersó en un medio acuoso en gel para su uso oftálmico. De
35 hecho, se puede suponer que la inhibición de la oxidación puede tener lugar debido al hecho de que, en la fase oleosa, los PUFA migran y se ocultan dentro de la gotita producida por los triglicéridos. En realidad, al menos en lo que respecta a los MCT, ya se ha demostrado que tienen una polaridad suficiente para tener una ligera solubilidad en agua (Galante, JH, y Tenor, RR, 2005, triglicéridos de cadena media. En CC Akoh (Ed.), Handbook of functional lipids, págs. 177-183, Boca Raton: CRC Press). Lo anterior llevaría a una superficie externa en contacto con el agua
40 formada por el triglicérido de cadena media, que actúa como un aislante del oxígeno y de todas las especies radicales presentes en la fase acuosa (Food Chemistry, 2014, 152, 378-385).

De acuerdo con algunas realizaciones específicas de la invención, por lo tanto, los aceites vegetales que se pueden usar como vehículos en la fase oleosa del producto incluyen aceite de coco, aceite de ricino, aceite de soja, aceite
45 de oliva, aceite de maíz, aceite de semillas de girasol (aceite de girasol), aceite de sésamo y sus mezclas.

En una preparación de acuerdo con la invención que contiene EPA y DHA o los ésteres etílicos de los mismos como principios activos, las concentraciones de EPA y DHA son cada una, preferentemente, del 0,001 % al 1,20 % en peso sobre el peso global de la preparación, y en particular, están en el intervalo del 0,01 % al 0,50 % en peso, y se
50 prefiere particularmente el intervalo del 0,01 % al 0,15 %. La concentración del vehículo oleoso es a su vez del 0,005 % al 2 % en peso, y en particular está en el intervalo del 0,10 % al 0,60 % en peso, formándose el resto por dicho hidrogel.

Los polímeros gelificantes propuestos para la formulación en hidrogel de acuerdo con la invención son, preferentemente, productos ya usados en la práctica médica común, en particular polímeros usados como
55 componentes de sustitutos de lágrimas y que tienen una actividad mucoadhesiva. Estos componentes se seleccionan de componentes que no solo no alteran la composición cualitativa de la película lagrimal, sino que pueden tener una actividad adyuvante a los antiinflamatorios de los ácidos grasos poliinsaturados. Entre los polímeros gelificantes que se pueden usar en la composición propuesta, también en combinación entre sí, se deben considerar preferentemente los siguientes: polímeros de carboxivinilo (conocidos como carbopol o carbómero), ácido hialurónico y sus sales con metales alcalinos o metales alcalinotérreos, ésteres y éteres de celulosa (tales como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etc.), goma de xantano, ácido algínico y alginatos, y los geláns. También se pueden usar otros polímeros gelificantes usados en la formulación de lágrimas artificiales adecuadas para evitar la evaporación excesiva de la capa lagrimal acuosa para los fines de la invención.

65 De acuerdo con algunas realizaciones preferentes de la invención, el agente gelificante es polímero de carbopol,

opcionalmente en combinación con ácido hialurónico.

Las preparaciones propuestas de acuerdo con la invención también pueden comprender, como es habitual, reguladores de pH (tal como por ejemplo tampón fosfato, tampón borato y tampón citrato), agentes secuestrantes tal como el EDTA y agentes osmotizantes (reguladores de tonicidad), elegidos de entre los que se utilizan actualmente en la tecnología farmacéutica. En las formulaciones preferentes de la invención, se usan glicerol y trehalosa como agentes osmotizantes en una cantidad tal como para obtener una formulación ligeramente hiposmótica. La ligera hipotonicidad es una característica útil para contrarrestar el sufrimiento funcional y anatómico de los epitelios de la superficie ocular, como lo confirma el hecho de que en los casos de hiper evaporación o producción reducida de líquido lagrimal, el aumento de la concentración de sal aumenta la osmolaridad de la película lagrimal, con consecuencias negativas en la superficie ocular.

De acuerdo con algunas realizaciones preferentes de la invención, por lo tanto, la preparación oftálmica tópica propuesta también incluye uno o más agentes de una o más de las siguientes categorías: reguladores de los agentes de tonicidad, agentes reguladores del pH, conservantes o agentes antimicrobianos.

Con respecto a la producción de las preparaciones del procedimiento de la invención, se sabe que la secuencia de adiciones de los diversos excipientes y los principios activos durante la preparación de un hidrogel puede afectar a algunas de las características físicas y químicas de la misma formulación, tales como la viscosidad, el tamaño de partícula, el grado de dispersión de los principios activos, así como la homogeneidad del sistema. El procedimiento de funcionamiento preferente se esquematiza en términos generales como sigue:

- disolución de uno o más agentes osmotizantes y del uno o más agente gelificante polimérico en agua;
- posible adición, de emulsionante polimérico bajo agitación;
- adición de la mezcla de ácidos grasos poliinsaturados ya mezclados con el vehículo oleoso;
- adición de una solución acuosa con el tampón y cualquier otra sal;
- gelificación por la adición de NaOH.

Como alternativa, la cantidad de NaOH requerida para la gelificación se puede mezclar de antemano con la solución salina que contiene el tampón, y la solución resultante se puede añadir a la dispersión oleosa en la solución de polímero previamente obtenida.

Todas las adiciones deben realizarse con agitación mecánica, preferentemente a 200 rpm. A partir de este procedimiento de preparación, se obtuvo una distribución del radio de los dominios de la fase oleosa entre 1 μm y 5 μm , con un valor promedio de aproximadamente 3 μm .

Las características específicas de la invención, así como las ventajas de la misma, se harán más evidentes con referencia a la descripción detallada presentada simplemente a modo de ejemplo a continuación, junto con los resultados de los experimentos realizados en ella y la comparación de datos con la técnica anterior. Algunos resultados experimentales también se ilustran en los dibujos adjuntos, donde:

las **Figuras 1a** y **1b** muestran, en forma de diagrama, los resultados de un estudio de la estabilidad química de una preparación de acuerdo con el Ejemplo 3 de la solicitud de patente WO2010/106571 (formulación MDV0705), almacenada a 4 °C y 25 °C durante 24 meses, respectivamente en términos de contenido de EPA y en términos de contenido de DHA;

las **Figuras 2a** y **2b** muestran, en forma de diagrama, los resultados de un estudio de la estabilidad química de una preparación de acuerdo con el Ejemplo 3 de la solicitud de patente WO2010/106571 (formulación MDV0705), en comparación con la preparación del Ejemplo 6 de la presente invención (formulación FHP-NEW) ambas almacenadas a 25 °C durante 24 meses, respectivamente en términos del contenido de EPA y el contenido de DHA;

la **Figura 3** muestra la secreción de lágrimas medida en términos de tiempo de ruptura (BUT) el día 0 y el día 7 en pacientes tratados con una preparación en hidrogel de acuerdo con la invención (FHP-NEW) en comparación con la formulación de la técnica anterior MDV0705; y

la **Figura 4** muestra la secreción de lágrimas medida con la prueba de Schirmer los días 0 y 7 en pacientes tratados con la preparación en hidrogel de acuerdo con la invención (FHP-NEW) en comparación con la formulación de la técnica anterior MDV0705.

Ejemplos 1-5

Composiciones con MCT y carbopol

Algunas preparaciones de acuerdo con la invención se han obtenido mediante el siguiente procedimiento:

- el agente osmotizante se pesó en un recipiente adecuado y luego se diluyó en agua;
- los polímeros de acuerdo con los ejemplos de formulación se añadieron a la solución previa a temperatura ambiente, añadiendo más tarde, cuando fue necesario, los polímeros con propiedades emulsionantes, y la

ES 2 731 151 T3

- mezcla se mantuvo bajo agitación a 200 rpm hasta la disolución completa de los polímeros;
- en un recipiente separado, se preparó la fase oleosa que consiste en los PUFA en mezcla con triglicéridos, etc.;
 - en un tercer recipiente, se preparó una solución acuosa básica de NaOH al 4 % y, cuando estuvieron presentes, se añadieron el tampón deseado y EDTA, y la mezcla completa se mantuvo bajo agitación hasta la disolución completa de las sales; la fase oleosa se añadió a la solución que contenía el polímero a temperatura ambiente y con agitación vigorosa, y la dispersión se mantuvo con agitación durante 30 minutos;
 - finalmente, la solución básica preparada previamente se añadió a la dispersión de solución de aceite/polímero, manteniendo una agitación vigorosa durante al menos 30 minutos.
- 5
- 10 Los productos resultantes del procedimiento descrito resultaron ser dispersiones estables de glóbulos de aceite que tienen el tamaño promedio de unos pocos micrómetros que contienen los principios activos, en una matriz acuosa de hidrogel.

Composición	Ejemplo 1	Ejemplo 2	Ejemplo 3	Ejemplo 4	Ejemplo 5
	% p/p				
EE EPA	0,05	0,05	0,15	0,05	0,01
EE DHA	0,01	0,01	0,015	0,01	0,03
MCT	0,25	0,40	0,60	0,25	0,20
Fase acuosa					
Carbopol	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Pemulen tr-1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Glicerol	0,70	0,70	0,90	0,70	0,70
Trehalosa	3,00	3,00	2,00	3,00	3,00
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	-	-	-	-	0,25
Citrato de sodio	0,10	0,10	0,10	-	-
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
NaOH	a pH 7				
Agua para inyección	a 100 g				

15 Ejemplos 6-9

Composiciones con MCT, carbopol y ácido hialurónico

Las siguientes preparaciones se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de operación de los Ejemplos 1-5.

20

Composición	Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 8	Ejemplo 9
	% p/p			
EE EPA	0,01	0,01	0,10	0,01
EE DHA	0,03	0,03	0,05	0,03
MCT	0,20	0,25	0,15	0,20
Fase acuosa				
Carbopol	0,20	0,20	0,10	0,20
Ácido hialurónico	0,075	0,075	0,05	0,075

Pemulen tr-1	0,01	0,01	0,01	-
Caproil hialuronato de sodio	-	-	-	0,02
Glicerol	0,70	0,70	-	0,70
Trehalosa	3,00	3,00	4,00	3,00
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	-	-	0,10	0,25
Citrato de sodio	0,10	0,05	-	-
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,02	0,01	0,02
NaOH	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7
Agua para inyección	a 100 g	a 100 g	a 100 g	a 100 g

Ejemplos 10-13

Preparaciones con MCT y otros polímeros gelificantes

- 5 Las siguientes preparaciones se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de operación de los ejemplos anteriores.

Composición	Ejemplo 10	Ejemplo 11	Ejemplo 12	Ejemplo 13
	% p/p			
EE EPA	0,15	0,15	0,10	0,10
EE DHA	0,01	0,15	0,05	0,05
MCT	0,35	0,40	0,25	0,35
Fase acuosa				
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,50	-	-	-
Carboximetilcelulosa	-	0,40	-	-
Policarbófilo	-	-	0,15	0,15
Ácido hialurónico	-	-	0,25	0,25
Pemulen tr-1	0,01	0,01	0,01	0,01
Caproil hialuronato de sodio	-	-	0,05	0,05
TPGS	-	-	0,01	0,01
Glicerol	0,70	0,90	-	-

Trehalosa	3,00	2,00	4,00	4,00
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,25	-	-	-
Borato de sodio	-	0,10	-	-
Citrato de sodio	-	-	0,05	0,05
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	-	0,01	-
NaOH	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7
Agua para inyección	a 100 g	a 100 g	a 100 g	a 100 g

10 **Ejemplos 14-17**

Preparaciones con aceite de coco y carbopol

- 15 Las siguientes preparaciones, donde el portador de la fase oleosa está constituido por aceite de coco, se han obtenido mediante el mismo procedimiento de operación de los ejemplos anteriores.

Composición	Ejemplo 14	Ejemplo 15	Ejemplo 16	Ejemplo 17
	% p/p			
EE EPA	0,05	0,10	0,01	0,40
EE DHA	0,01	0,40	0,03	0,40
Aceite de coco	0,25	0,50	0,20	0,70
Fase acuosa				
Carbopol	0,20	0,20	0,20	0,20
Ácido hialurónico			0,075	
Pemulen tr-1	0,01	0,01	0,01	0,01
Glicerol	0,70	1,15	0,70	-
Trehalosa	3,00	-	3,00	3,00
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,02	0,02	0,02
NaOH	a pH 7	a pH 7	a pH 7	a pH 7
Agua para inyección	a 100 g	a 100 g	a 100 g	a 100 g

Ejemplos 18-21

Preparaciones con aceite de ricino y carbopol

- 5 Las siguientes preparaciones, donde el portador de la fase oleosa consiste en aceite de ricino, se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de operación de los ejemplos anteriores.

Composición	Ejemplo 17	Ejemplo 18	Ejemplo 19	Ejemplo 20	Ejemplo 21
	% p/p				
EE EPA	0,20	0,075	0,075	0,30	0,10
EE DHA	0,10	0,075	0,075	0,20	0,05
Aceite de ricino	0,50	0,30	0,30	0,60	0,40
Fase acuosa					
Carbopol	0,20	0,20	0,20	0,30	0,10
Hidroxipropil guar	-	-	0,10	-	-
Ácido hialurónico	-	-	-	-	0,25
Pemulen tr-1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
TPGS	-	-	-	0,01	-
Glicerol	0,70	1,15	1,15	1,15	-
Trehalosa	3,00	0,50	-	-	4,0
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,25	0,25	0,25	-	-
Citrato de sodio	-	-	-	0,10	0,05
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,02	0,02	0,04	0,01
NaOH	a pH 7				
Agua para inyección	a 100 g				

Ejemplos 22-26

10

Preparaciones con aceite de ricino y otros polímeros gelificantes

Las siguientes preparaciones, donde el portador de la fase oleosa consiste en aceite de ricino y carbopol está sustituido por otros polímeros gelificantes, se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de operación de los ejemplos anteriores.

15

Composición	Ejemplo 22	Ejemplo 23	Ejemplo 24	Ejemplo 25	Ejemplo 26
	% p/p				
EE EPA	0,075	0,075	0,15	0,05	0,15
EE DHA	0,075	0,075	0,15	0,15	0,15
Aceite de ricino	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Fase acuosa					
Carbopol	-	-	-	-	0,05
Hidroxipropil guar	0,10	-	-	-	-
Goma de xantano	-	0,25	-	-	-
Hidroxipropilmetilcelulosa	-	-	-	0,25	-
Carboximetilcelulosa	-	-	0,40	-	0,40
Ácido hialurónico	0,25	-	-	0,15	-
Pemulen tr-1	0,01	0,05	0,10	0,10	0,10
Caproil hialuronato de sodio	-	-	-	0,02	-
TPGS	-	-	-	-	0,02
Glicerol	0,90	-	0,90	0,70	0,90
Trehalosa	2,00	4,0	2,00	3,00	2,00
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,25	0,25	-	-	-
Citrato de sodio	-	-	-	-	-
Borato de sodio	-	-	0,1	0,05	0,10

(continuación)

Composición	Ejemplo 22	Ejemplo 23	Ejemplo 24	Ejemplo 25	Ejemplo 26
	% p/p				
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,02	-	0,03	0,01
NaOH	a pH 7				
Agua para inyección	a 100 g				

Ejemplos 27-29

5 Preparaciones con aceite de soja

Las siguientes preparaciones, donde el portador de la fase oleosa consiste en aceite de soja, se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de operación de los ejemplos anteriores.

Composición	Ejemplo 27	Ejemplo 28	Ejemplo 29
	% p/p		
EE EPA	0,30	0,05	0,03
EE DHA	0,20	0,05	0,01
Aceite de soja	0,60	0,30	0,30
Fase acuosa			
Carbopol	0,30	0,30	0,10
Ácido hialurónico	-	-	0,15
Pemulen tr-1	0,01	0,10	0,10
Glicerol	1,15	0,90	0,70
Trehalosa	-	2,00	3,00
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	-	0,05	-
Citrato de sodio	0,10	-	-
Borato de sodio	-	-	0,05
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,04	-	0,03
NaOH	a pH 7	a pH 7	a pH 7
Agua para inyección	a 100 g	a 100 g	a 100 g

10

Ejemplos 30-32

Preparaciones con aceite de oliva

15 Las siguientes preparaciones, donde el portador de la fase oleosa consiste en aceite de oliva, se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de operación de los ejemplos anteriores.

Composición	Ejemplo 30	Ejemplo 31	Ejemplo 32
	% p/p		
EE EPA	0,05	0,10	0,05
EE DHA	0,01	0,40	0,01
Aceite de oliva	0,25	0,50	0,25
Fase acuosa			
Carbopol	0,20	0,20	-
Hidroxipropilmetilcelulosa	-	-	0,50
Pemulen tr-1	0,01	0,01	0,01
Glicerol	0,7	1,15	-
Trehalosa	3,0	-	3,0
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,25	0,25	0,25
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,02	0,02
NaOH	a pH 7	a pH 7	a pH 7

(continuación)

Composición	Ejemplo 30	Ejemplo 31	Ejemplo 32
	% p/p		
Agua para inyección	a 100 g	a 100 g	a 100 g

Ejemplos 33-37

5 Preparaciones con aceite de maíz

Las siguientes preparaciones, donde el portador de la fase oleosa consiste en aceite de maíz, se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de operación de los ejemplos anteriores.

Composición	Ejemplo 33	Ejemplo 34	Ejemplo 35	Ejemplo 36	Ejemplo 37
	% p/p				
EE EPA	0,35	0,30	0,1	0,35	0,35
EE DHA	0,35	0,20	0,05	0,35	0,35
Aceite de maíz	0,30	0,60	0,40	0,30	0,30
Fase acuosa					
Carbopol	0,20	0,20	-	-	-
Policarbófilo	-	-	0,15	-	-
Carboximetilcelulosa	-	-	-	0,40	-
Hidroxipropilmetilcelulosa	-	-	-	-	0,25
Ácido hialurónico	-	-	0,25	-	0,15
Pemulen tr-1	0,01	0,01	0,01	0,10	0,10
Glicerol	1,15	0,7	0,7	-	0,9
Trehalosa	-	3,0	3,0	4,0	2,0
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
NaOH	a pH 7				
Agua para inyección	a 100 g				

10

Ejemplo 38

Preparación con aceite de semilla de girasol

15 La siguiente preparación, donde el portador de la fase oleosa consiste en aceite de semilla de girasol, se obtuvo mediante el mismo procedimiento de operación de los ejemplos anteriores.

Composición	% p/p
EE EPA	1,20
EE DHA	0,80
Aceite de semilla de girasol	2,00
Fase acuosa	
Carbopol	0,2
Pemulen tr-1	0,01
Glicerol	1,15
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,25
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02
NaOH	a pH 7
Agua para inyección	a 100 g

Ejemplos 39-43

20

Presencia de un PUFA omega-6 (EE GLA)

ES 2 731 151 T3

Las siguientes preparaciones basadas en dos PUFA omega-3 y un PUFA omega-6, GLA, que contienen como portador oleoso MCT o aceite de ricino, se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de los Ejemplos 1-5.

Composición	Ejemplo 39	Ejemplo 40	Ejemplo 41	Ejemplo 42	Ejemplo 43
	% p/p				
EE EPA	0,01	0,30	0,10	0,15	0,05
EE DHA	0,03	0,20	0,05	0,15	0,15
EE GLA	0,03	0,10	0,05	0,15	0,30
Aceite de ricino	-	0,65	0,40		0,55
MCT	0,20			0,55	
Fase acuosa					
Carbopol	0,20	0,30	-	-	-
Policarbófilo	-	-	0,15	-	-
Carboximetilcelulosa	-	-	-	0,40	-
Hidroxipropilmetilcelulosa	-	-	-	-	0,25
Ácido hialurónico	0,075	-	0,25	-	0,15
Pemulen tr-1	-	-	-	0,10	0,10
Caproil hialuronato de sodio	0,02		0,01	0,05	
TPGS		0,01		0,02	0,03
Glicerol	0,70	1,15		0,9	0,70
Trehalosa	3,0		4,0	2,0	3,0
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,25				
Citrato de sodio		0,10	0,05		
Borato de sodio				0,1	0,05
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,04	<u>0,01</u>	-	0,03
NaOH	a pH 7				
Agua para inyección	a 100 g				

5 Ejemplos 44-48

Ejemplos con triglicéridos EPA (TG EPA) y triglicéridos DHA (TG DHA)

- 10 Las siguientes preparaciones basadas en triglicéridos de ácidos grasos omega-3 EPA y DHA y que contienen como portador oleoso MCT, se obtuvieron mediante el mismo procedimiento de los Ejemplos 1-5.

Composición	Ejemplo 44	Ejemplo 45	Ejemplo 46	Ejemplo 47	Ejemplo 48
	% p/p				
TG EPA	0,06	0,06	0,25	0,1	0,2
TG DHA	0,015	0,015	0,025	0,2	0,2
MCT	0,25	0,40	0,60	0,45	0,55
Fase acuosa					
Carbopol	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Pemulen tr-1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Glicerol	0,70	0,70	0,90	0,70	0,70
Trehalosa	3,00	3,00	2,00	3,00	3,00
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	-	-	-	-0,25	0,25
Citrato de sodio	0,10	0,10	0,10	-	-
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
NaOH	a pH 7				
Agua para inyección	a 100 g				

Como se muestra a continuación, las preparaciones de las formulaciones de los ejemplos anteriores mostraron una degradación a 25 °C de EPA y DHA con una tendencia lineal en el tiempo, con un valor del porcentaje de EPA y

DHA en cualquier caso, no menos del 75 % después de 24 meses de almacenamiento a temperatura ambiente.

Estudios de estabilidad y comparación con la técnica anterior

- 5 Las preparaciones en hidrogel con PUFA transportadas en aceites naturales o sintéticos de cadena media o larga y libres de antioxidantes basadas en vitamina E, obtenidas de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención, se compararon con las formulaciones de PUFA en hidrogel de la técnica anterior, en las que la estabilidad química de los principios activos se confía a la presencia de vitamina E.
- 10 Como se ha mencionado anteriormente, a partir de las composiciones descritas en la solicitud de patente WO2010/106571 de Medivis se ha demostrado, con la experimentación preliminar de la presente invención, que en ausencia de acetato de vitamina E, o en presencia de α -tocoferol solo, los ácidos grasos omega-3 y -6 son químicamente inestables. En particular, se ha considerado, como ejemplo, la composición del Ejemplo 3 de la formulación de MDV705, que se presenta en el documento de la técnica anterior como sigue

Tabla 1: Composición del Ejemplo 3 del documento WO2010/106571 (MDV0705)

Fase oleosa de la composición (% en peso)	
EE EPA	6,25
EE DHA	6,25
EE GLA	12,5
PUFA total	25
Acetato de vit. E	75
Composición global (% en peso)	
Fase oleosa (PUFA + acetato de vit. E)	1,001
Carbopol 980	0,20
Glicerol	1,15
Pemulen	0,007
NaOH	0,07
Fosfato de sodio disódico	0,10
Agua purificada	c.s.p 100

20 Para la evaluación de la estabilidad química, se determinó el curso temporal de la concentración porcentual de los principios activos en la preparación en comparación con la concentración inicial en las condiciones de almacenamiento de la preparación a 25 °C. Las determinaciones se llevaron a cabo mediante HPLC.

Los resultados en el caso de una formulación como la del Ejemplo 3, pero sin acetato de vitamina E se muestran en la siguiente Tabla 2, que muestra una rápida degradación en el tiempo de los tres principios activos.

25 **Tabla 2:** Estabilidad de la formulación del Ejemplo 3 de MDV0705 sin acetato de vitamina E.

Determinaciones		Omega 3: % EE EPA	Omega 3: % EE DHA	Omega 6: % EE GLA
Temperatura	Meses	% Título	% Título	% Título
25±2 °C HR: 60±5 %	1	93	89	91
	2	87	87	86
	3	70	71	70
	4	54	52	53
	5	30	27	31
	6	15	15	12

Aún más pronunciada es la degradación de los principios activos cuando en lugar del acetato de vitamina E, la formulación del Ejemplo 3 de la solicitud de patente anterior citada contiene α -tocoferol, como se muestra en la siguiente tabla.

30

Tabla 3: Estabilidad de la formulación del Ejemplo 3 por MDV0705 con α -tocoferol en lugar de acetato de vitamina E.

Determinaciones		Omega 3: % EE EPA	Omega 3: % EE DHA	Omega 3: % EE GLA
Temperatura	Meses	% Título	% Título	% Título
25±2 °C HR: 60±5 %	1	94	92	94
	2	54	52	54
	3	25	21	25
	4	abandonado	abandonado	abandonado

5 Teniendo en cuenta ahora las formulaciones con acetato de vitamina E descritas en la técnica anterior citada (MDV0705), es de destacar que son estables durante 12 meses. El estudio presentado en el propio documento muestra que a las temperaturas de 4 °C y 25 °C, los PUFA se degradan ligeramente durante 12 meses, con una tendencia lineal. Sin embargo, como ya se señaló, el estudio de estabilidad que luego se extendió hasta 24 meses aún muestra una tendencia lineal para las formulaciones almacenadas a 4 °C, mientras que los datos de estabilidad obtenidos a 25 °C describen una tendencia polinómica, que representa una rápida degradación.

10 En la siguiente **Tabla 4** se presenta el estudio de estabilidad total de los EE-EPA y EE-DHA de la formulación del Ejemplo 3 divulgado en la solicitud de patente de Medivis durante 24 meses. La representación gráfica de los mismos datos se muestra en las **Figuras 1a** y **1b** de los dibujos adjuntos.

15 **Tabla 4:** Estudio de estabilidad de las formulaciones MDV0705 de acuerdo con la solicitud de patente de Medivis a los 24 meses.

Determinación		Omega 3: % EE EPA	Omega 3: % EE DHA
Temperatura	Meses	% Título	% Título
4 °C	3	100	100
	6	101	101
	9	99	99
	12	100	100
	15	98	98
	18	97	97
	21	95	95
	24	92	90
Determinación		Omega 3: % EE EPA	Omega 3: % EE DHA
Temperatura	Meses	% Título	% Título
25 °C HR: 60±5 %	3	100	99
	6	100	99
	9	97	97
	12	95	96
	15	89	91
	18	70	74
	21	50	55
	24	25	21

20 En la **Tabla 5** a continuación, se presentan los resultados de un estudio de estabilidad similar en la preparación descrita en el Ejemplo 6 de la presente invención, donde los MCT reemplazan el acetato de vitamina E. Esta formulación se denomina a continuación formulación FHP-NEW. Los datos de la **Tabla 5** y en las **Figuras 2a** y **2b** de los dibujos adjuntos muestran la sorprendente mejora en la estabilidad a 25 °C de la formulación FHP-NEW que contiene MCT si se compara con la formulación MDV0705 que contiene acetato de vitamina E.

Tabla 1: Estabilidad a los 24 meses de la preparación FHP-NEW a 25 °C

Determinación		Omega 3: % EE EPA	Omega 3: % EE DHA
Temperatura	Meses	% Título	% Título
25 °C HR: 60±5 %	3	100	100
	6	99	100
	9	97	96
	12	96	97
	15	93	95
	18	94	93
	21	92	91
	24	90	89

Tolerancia ocular aguda de gotas oculares de acuerdo con la invención

- 5 La tolerancia ocular de las gotas oculares PHP-NEW en revisión se evaluó después de tres instilaciones a intervalos de 2 horas en los ojos de los conejos. Se instilaron dos gotas de colirio en el ojo derecho de cada animal por un total de 3 veces en el mismo día en intervalos de 2 horas. El grupo de conejos consistía en 8 animales (4 machos y 4 hembras).
- 10 La condición de los tejidos oculares se observó de acuerdo con la prueba de Draize. El examen se realizó después de la tercera instilación el día del tratamiento y luego a las 24, 48 y 72 horas después de la primera instilación, asignando puntuaciones arbitrarias a diversos aspectos de la conjuntiva del iris y la córnea.

Se observó un enrojecimiento significativo de la conjuntiva durante todo el período de la prueba, tanto en los ojos tratados con FHP-NEW como en los ojos tratados con placebo. No se detectó edema ni opacidad a nivel corneal. Además, no se observó afectación del iris. La presencia de material de drenaje se mantuvo en el nivel normal. Los resultados obtenidos muestran que la preparación oftálmica de acuerdo con la invención es bien tolerada después de la instilación repetida (tres en 6 horas), y que no hubo diferencias en comparación con el placebo.

20 Pruebas de tolerabilidad clínica

La instilación de gotas oculares PHP-NEW tres veces al día en un grupo de 20 individuos normales, es decir, sin ningún signo de dolor en la superficie ocular y con una secreción normal de lágrimas, no produjo efectos indeseables significativos. En particular, los individuos que recibieron FHP-NEW recibieron un cuestionario con dos preguntas a las que tuvieron que responder después de 1, 5, 10 y 60 minutos de la administración. A la pregunta 1 ("¿siente escozor después de la instilación de las gotas para los ojos?"), El 100 % de los individuos respondió "no" en cada control; a la pregunta 2 ("¿siente malestar después de la instilación de las gotas para los ojos?"), el 100 % de los individuos contestó "no" en cada control.

30 Evaluación de la efectividad de la preparación de acuerdo con la invención en el tratamiento del síndrome del ojo seco

Dado que la preparación PHP-NEW que contiene ácidos grasos omega-3 demostró poder tener características protectoras en la superficie ocular y reducir la inflamación, una vez que se evaluó la tolerabilidad, se evaluó su efectividad en el tratamiento de pacientes que padecen el síndrome de ojo seco.

El producto se comparó con las gotas para los ojos MDV0705 (Ejemplo 3 de la publicación Internacional WO2010/106571). La eficacia de FHP-NEW se evaluó en un grupo de pacientes (n = 5) con síndrome de ojo seco. Como grupo de control (n = 5), se utilizaron los pacientes con el síndrome de ojo seco tratado con gotas para los ojos MDV0705. Los pacientes se instilaron FHP-NEW y MDV0705 tres veces al día en ambos ojos y se realizaron controles después de siete días de tratamiento. Se utilizó el ojo derecho para el análisis estadístico de los resultados.

Los pacientes con síndrome de ojo seco se seleccionaron siguiendo los criterios de inclusión que son reconocidos internacionalmente (la definición y clasificación de la enfermedad del ojo seco. El Subcomité del Taller Internacional sobre Ojo Seco, Ocul. Surf. 2007; 5:75-92), y más precisamente:

- síntomas del ojo seco, medidos mediante un cuestionario, con un sistema codificado para la puntuación (Shiffman RM, Dale Christianson M, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index (OSDI), Arch. Ophthalmol. 2000; 118:615-21;
- tinción con fluoresceína de la córnea medida de acuerdo con la escala de taller NEI/industria > 3 (Lemp MA, informe del instituto nacional del ojo/taller de la industria sobre ensayos clínicos en ojos secos. CLAO J. 1995; 21:221-232);

- tiempo de ruptura (BUT) <10 segundos;
- Prueba de Schirmer I <8 mm a los 5 minutos.
- Criterios de exclusión: queratoconjuntivitis infecciosa, antecedentes de alergias oculares, cirugía ocular o de párpados en los tres meses anteriores al estudio, enfermedades nasolagrimales, uso de gotas de esteroides para los ojos en las cuatro semanas anteriores al estudio, gotas para los ojos antiglaucoma y en caso de diabetes.

Los parámetros utilizados para evaluar la efectividad de FHP-NEW en comparación con el control fueron los siguientes:

- Síntomas de ojo seco (medido por cuestionario);
- Tiempo de ruptura de la película lagrimal o *tiempo de ruptura* (BUT);
- Prueba de Schirmer I.

Procedimiento de evaluación del tiempo de ruptura (BUT)

El tiempo de ruptura de las lágrimas se considera un indicador de la estabilidad de la película lagrimal. La prueba consiste en observar con la lámpara de hendidura con un filtro de azul cobalto la superficie de la película después de la instilación de fluoresceína. Durante la prueba, el paciente mantiene los ojos abiertos sin parpadear y mirando al frente, y se mide el tiempo transcurrido entre el último parpadeo y la formación de pequeñas áreas secas (que parecen más oscuras) en la superficie corneal, luego se calcula el promedio de tres determinaciones sucesivas.

Prueba de Schirmer I

La prueba Schirmer I proporciona información sobre la secreción de lágrimas. Se lleva a cabo en una habitación con poca luz, colocando una tira de papel de filtro en la conjuntiva inferior, el fórnix en la esquina externa, y la impregnación del papel se comprueba después de 5 minutos. La prueba debe realizarse con un procedimiento estandarizado ya que hay muchas variables involucradas en la determinación del valor. La variable más importante proviene del hecho de que la absorción por la tira de papel de filtro y la longitud de la porción húmeda están influenciadas por la fuerza de la capilaridad y la humectabilidad de las fibras de celulosa, por lo que parece importante realizar la prueba con mapas validados.

Resultados experimentales de las pruebas BUT y Schirmer I realizadas en FHP-NEW frente a MDV0705

Los resultados del estudio observacional llevado a cabo para el BUT y la prueba Schirmer I se muestran respectivamente en las Figuras 3 y 4 de los dibujos adjuntos.

Los resultados en el séptimo día mostraron una mejora significativa de los síntomas y signos de la superficie ocular en pacientes con síndrome de ojo seco tratados con FHP-NEW a partir de los valores de referencia (día 0). Además, en el séptimo día, los pacientes tratados con FHP-NEW mostraron una mejoría significativa ($p < 0,05$) de los síntomas en comparación con el grupo de control.

En particular, el tiempo de ruptura de lágrimas (BUT) en el séptimo día mostró un aumento significativo desde el inicio (día 0) solo en el grupo de pacientes tratados con FHP-NEW (Figura 3).

La secreción de lágrimas medida por la prueba de Schirmer I mostró un aumento significativo en comparación con las condiciones iniciales solo en el grupo de pacientes tratados con FHP-NEW, mientras que el grupo de pacientes tratados con MDV0705 mostró un aumento no significativo en la producción de lágrimas a los siete días. La comparación en el séptimo día entre los pacientes tratados con FHP-NEW y los pacientes tratados con MDV0705 demostró un aumento significativo en el primer grupo con respecto al segundo grupo (Figura 4).

Resumiendo, se puede observar que la posibilidad de usar ácidos grasos omega-3 y omega-6 en gotas para los ojos es una innovación importante para el tratamiento de pacientes que padecen del síndrome de ojo seco, ya que reduce los síntomas de los que se quejan los pacientes, y mejora la estabilidad de la película lagrimal y, en consecuencia, las condiciones de la superficie del ojo. Dicha herramienta terapéutica beneficiosa está fácilmente disponible desde el punto de vista farmacéutico, gracias a la vida útil mejorada que se puede obtener con las formulaciones de acuerdo con la invención.

REIVINDICACIONES

1. Una preparación oftálmica tópica que contiene, como principios activos, uno o más ácidos grasos poliinsaturados seleccionados del grupo que consiste en: ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y ácidos grasos poliinsaturados omega-6, teniendo dichos ácidos grasos poliinsaturados una cadena alifática de 16 a 24 átomos de carbono, o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos seleccionados de sus ésteres con grupos alquilo C₁-C₄ y sus triglicéridos, en solución, en un vehículo oleoso, consistiendo dicho vehículo oleoso en un aceite vegetal o sintético seleccionado del grupo que consiste en: triglicéridos de cadena media (MCT), líquidos de triglicéridos de cadena larga (LCT) a temperatura ambiente, aceites vegetales y sus mezclas, y que no contienen vitamina E o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos, dispersándose dicha solución en forma de glóbulos de aceite en un hidrogel basado en un vehículo acuoso que contiene uno o más polímeros gelificantes, **caracterizada porque** dichos glóbulos de aceite tienen un diámetro promedio de 1-10 µm, y **porque** dicha preparación contiene una cantidad global de no más del 0,10 % en peso de tensioactivos y agentes emulsionantes, y es sustancialmente estable a temperatura ambiente, con un contenido restante de principios activos no degradados de no menos del 90 % en peso del contenido de inicio después de 18 meses desde la fecha de fabricación, cuando se almacena a 25 °C.
2. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 1, donde dichos uno o más ácidos grasos poliinsaturados están en solución en dicho vehículo oleoso en una concentración del 5 % al 85 % en peso.
3. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, donde dichos ácidos grasos omega-3 y omega-6 tienen cadenas alifáticas de 18 a 22 átomos de carbono.
4. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 3, donde dichos glóbulos de aceite tienen un diámetro promedio de 1 a 5 µm.
5. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 3, donde dichos tensioactivos y agentes emulsionantes están presentes en una cantidad global de no más del 0,010 % en peso.
6. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 5, donde dichos tensioactivos y agentes emulsionantes son agentes emulsionantes poliméricos seleccionados del grupo que consiste en: poliácridatos reticulados de alto peso molecular, copolímeros de bloque de polioxietileno-polioxipropileno, succinato de D-alfa-tocoferil polietilenglicol.
7. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 3, donde dicho vehículo oleoso consiste en triglicéridos de cadena media (MCT).
8. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 3, donde dicho aceite vegetal se selecciona del grupo que consiste en: aceite de coco, aceite de ricino, aceite de soja, aceite de oliva, aceite de maíz, aceite de semilla de girasol, aceite de sésamo y mezclas de los mismos.
9. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 3, que contiene, como ácido graso poliinsaturado omega-3, ácido eicosapentaenoico (EPA) o un éster de alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado o su triglicérido, y/o ácido docosahexaenoico (DHA) o un éster de alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado o su triglicérido, y, como ácido graso poliinsaturado omega-6, ácido γ-linolénico (GLA) o un éster de alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado o su triglicérido, o mezclas de los mismos.
10. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 9, que contiene, como principios activos, EPA, DHA y opcionalmente GLA, o los ésteres etílicos de los mismos.
11. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 10, donde las concentraciones de EPA y DHA son cada una del 0,001 % al 1,2 % en peso, y la concentración de dicho vehículo oleoso es del 0,005 % al 2 % en peso, constituyéndose el resto por dicho hidrogel.
12. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 3, donde dichos uno o más polímeros gelificantes se seleccionan de: polímeros de carboxivinilo, ácido hialurónico y las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos de los mismos, ésteres y éteres de celulosa, goma de xantano, geláns, ácido alginico y alginatos, y mezclas de los mismos.
13. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 7, donde dicho polímero gelificantes es carbopol.
14. Una preparación oftálmica tópica de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende además uno o más agentes de las siguientes categorías: agentes de ajuste de la tonicidad, agentes de ajuste del pH, conservantes o antimicrobianos.

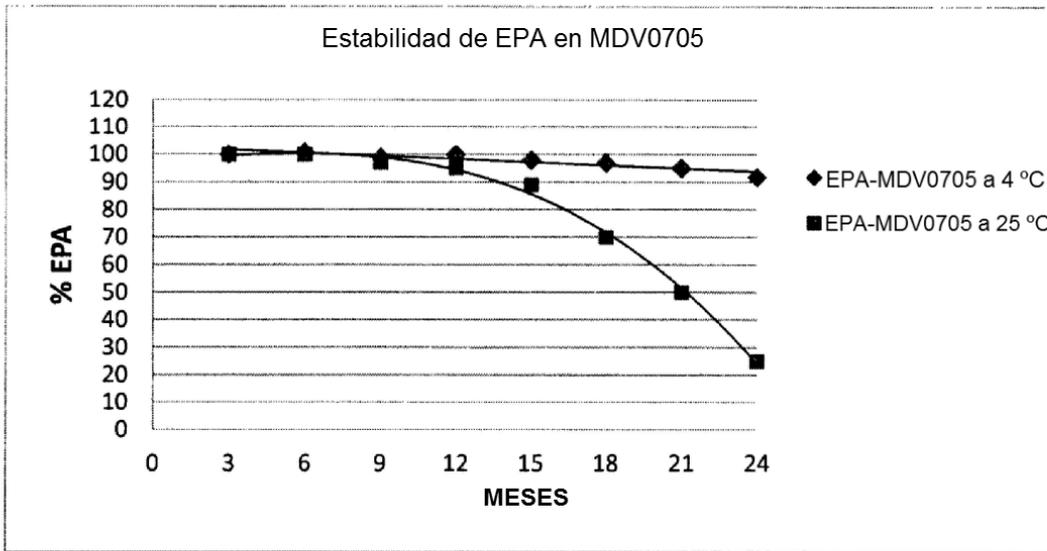


FIG. 1a

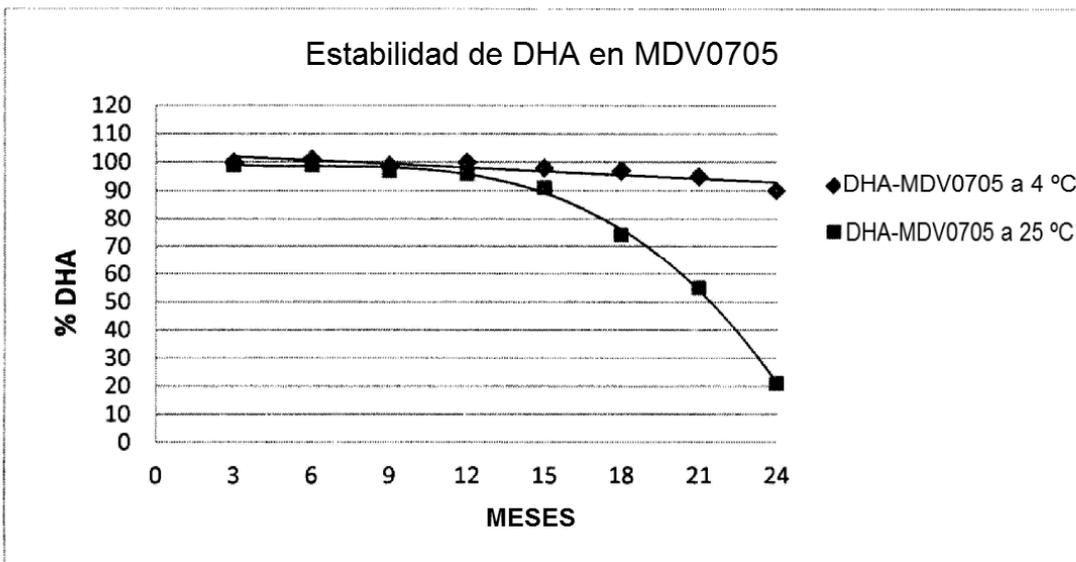


FIG. 1b

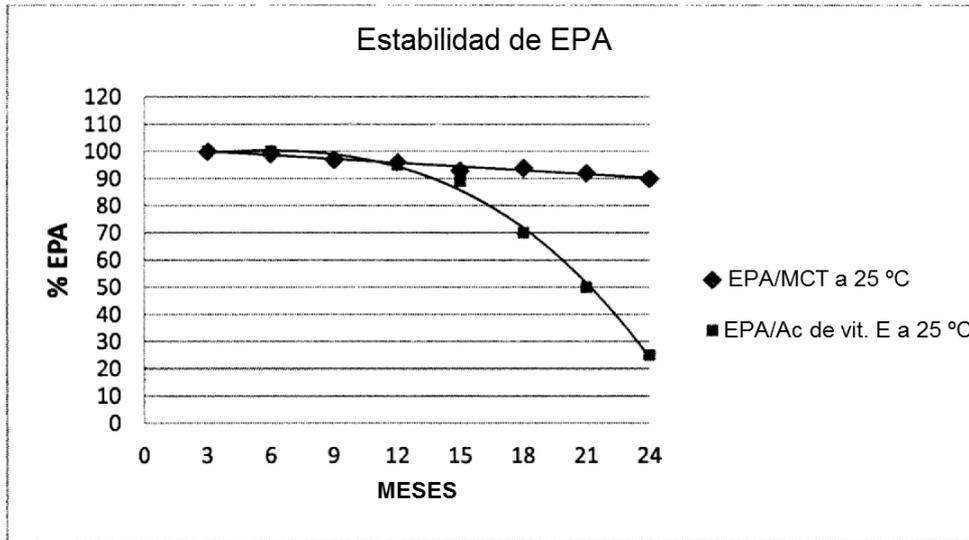


FIG. 2a

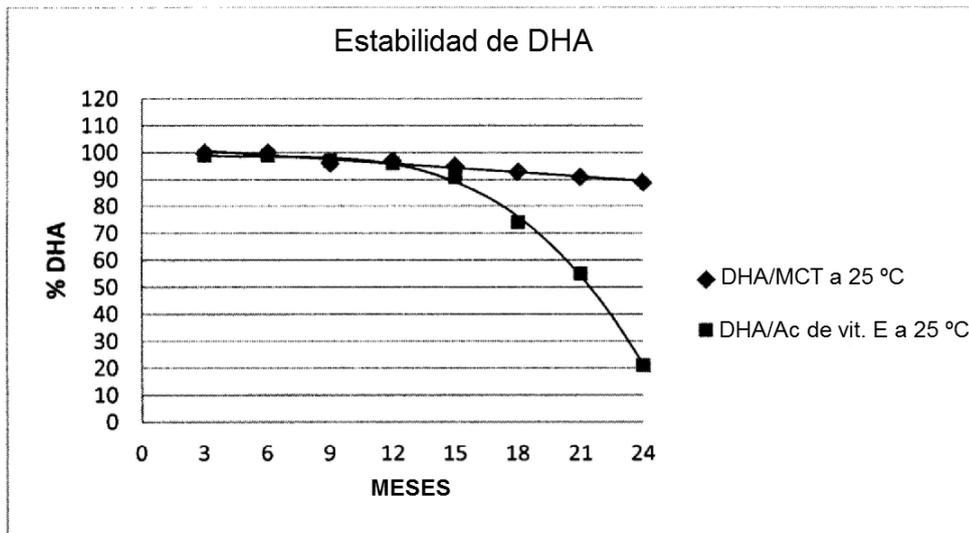


FIG. 2b

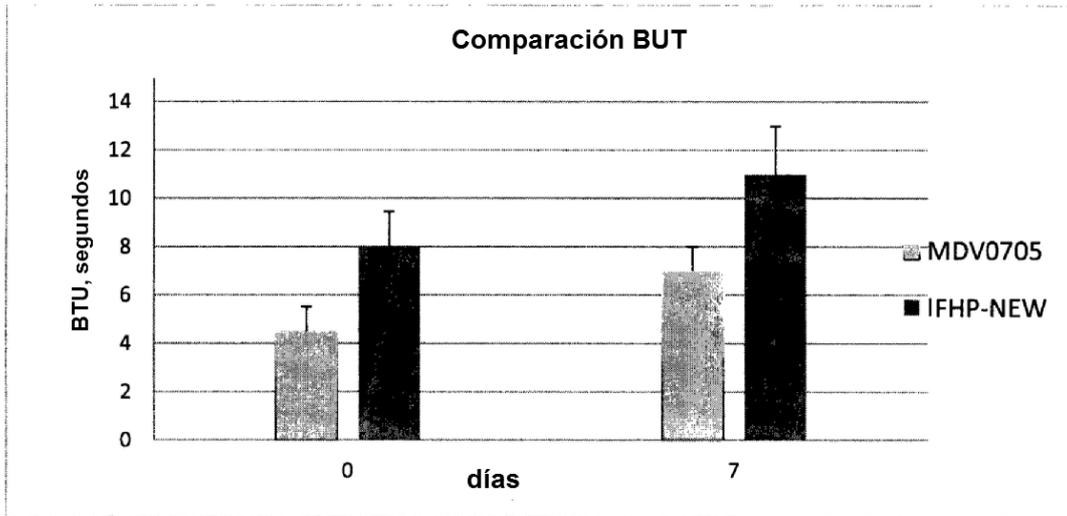


FIG. 3

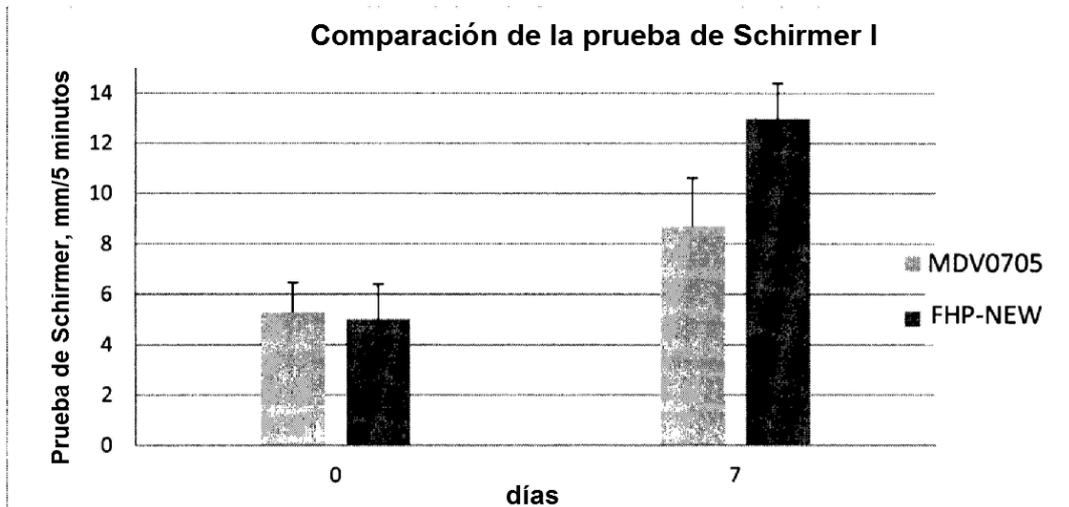


FIG. 4