

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 770 575**

51 Int. Cl.:

A61P 29/00 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 31/196 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

A61K 31/5415 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.10.2011 PCT/US2011/058169**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.05.2012 WO12058483**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.10.2011 E 11837126 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2020 EP 2632553**

54 Título: **Formulación de liberación sostenida de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo**

30 Prioridad:

28.10.2010 US 407872 P

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

02.07.2020

73 Titular/es:

**PACIRA PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
10450 Science Center Drive
San Diego, CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**GARCIA, LOUIE, DANIEL;
ZHU, LIANGJIN;
LAMBERT, WILLIAM, JOSEPH y
PATOUE, GARY**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 770 575 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

Formulación de liberación sostenida de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

10 La presente solicitud se refiere a formulaciones de liposomas multivesiculares (LMV) de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) que minimizan los efectos secundarios de los AINE, manteniendo o mejorando simultáneamente la eficacia. En particular, casos de la exposición se refieren a composiciones que comprenden AINE y liposomas multivesiculares, y a métodos de administración de las mismas. Se proporcionan, además, métodos de preparación de liposomas multivesiculares que contienen un AINE y su utilización como medicamentos. El alcance se define mediante las reivindicaciones. Cualesquiera referencias en la descripción a métodos de tratamiento se refieren a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para la utilización en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para el diagnóstico).

Información de los antecedentes

20 Los compuestos AINE, administrados por vía oral, son calmantes eficaces del dolor y la inflamación en una diversidad de contextos terapéuticos. Debido a su efectividad, la utilización de los AINE orales para el tratamiento del dolor e inflamación articular agudo y crónico está creciendo rápidamente (Bjorkman, Am. J. Med., 107(6A):3S-10S, 1999; Barnard et al., Drug Safety, 29(7):613-20, 2007; Bardou et al., Joint Bone Spine, 77(1):6-12, 2010). Los AINE se utilizan ampliamente para el tratamiento del dolor postoperatorio, típicamente administrados por vía intravenosa u oral. Sin embargo, el tratamiento con AINE orales se ha relacionado con una diversidad de complicaciones gastrointestinales graves, incluyendo la úlcera péptica, la perforación digestiva, la hemorragia, la úlcera colónica y la colitis (Hollenz et al., Dig Dis., 24(1-2):189-94, 2006; Yamagata et al., Nippon Rinsho, 65(10):1749-53, 2007; Shibuya et al., Colorectal Dis., 2009). Los síntomas gastrointestinales (GI) pueden aparecer dentro de las primeras dos semanas de terapia. Por lo tanto, resultan afectados los pacientes con condiciones tanto agudas como crónicas (Peris et al., Pharmacoeconomics 19(7):779-90, 2001). La toxicidad GI, y la morbilidad incrementada que resulta de ella, explica la mayoría de los costes asociados a la terapia con AINE (*Id.*). Amenaza tanto a la utilidad como a la viabilidad económica de la terapia de AINE para el tratamiento del dolor y la inflamación (Bjorkman, Am. J. Med. 107(6A):3S-10S, 1999). Se está explorando la coterapia gastroprotectora como una solución para el problema de la toxicidad GI; sin embargo, este enfoque actualmente se considera que presenta costes prohibitivos (*Id.*).

35 En general, la toxicidad GI es atribuible a la magnitud y duración de la exposición al fármaco tanto en el tracto GI después de la administración oral como con los niveles sistémicos elevados de fármaco necesarios para conseguir niveles de fármaco eficaces en el sitio de acción sinovial. La clave para mejorar la eficacia de la terapia de AINE y para reducir los efectos secundarios GI o relacionados con los opioides es desarrollar un tratamiento que proporcione niveles eficaces y prolongados de fármaco directamente en la cavidad sinovial articular o herida quirúrgica sin exposición GI o sistémica elevada. Los AINE eficaces tales como el diclofenac (DCF), el meloxicam (MLX) y el piroxicam (PRX) típicamente se administran sistémicamente a dosis de 100 a 150 mg/día, 7,5 a 15 mg/día y 20 mg/día, respectivamente. Estas dosis relativamente elevadas inductoras de efectos secundarios no resultan necesarias para conseguir niveles de fármaco eficaces en la cavidad sinovial o sitio de herida. Los niveles de fármaco alcanzados en la cavidad sinovial tras la administración sistémica de AINE se ha demostrado que son significativamente más bajos que los plasmáticos (Bannwart et al., Int. J. Clin. Pharmacol. Therapy 39(1):33-36, 2001; Hundal et al., Scand. J. Rheumatol. 22(4):183-187, 1993). La administración sistémica crónica de 100 mg/día de diclofenac, por ejemplo, produce niveles eficaces en líquido sinovial de 200 ng/ml o menos. En un espacio sinovial de 25 ml (este volumen representaría una rodilla enfermedad; el volumen normal son 2 ml), ello corresponde a una dosis intraarticular de aproximadamente 5 µg, una dosis fácilmente alcanzable con formulaciones indicadas en la presente memoria (Fowler, Eur. J. Clin. Pharmacol. 31(4):469-472, 1986). Para AINE más potentes, tales como MLX y PRX, las concentraciones sinoviales de fármaco requeridas para eficacia se espera que sean mucho más bajas.

55 El tiempo de residencia local del fármaco en la cavidad sinovial está estrechamente relacionado con la eficacia del fármaco (Foong et al., J. Pharm. Pharmacol., 40(7):464-468, 1988; Foong et al., J. Pharm. Pharmacol. 45(3):204-209, 1993). Sin embargo, los fármacos típicamente se lavan en cuestión de horas del líquido sinovial (Neander et al., Eur. J. Clin. Pharmacol., 42(3):301-305, 1992; Larsen et al., J. Pharm. Sci., 97(11):4622-4654, 2008). Por lo tanto, las dosis únicas de fármacos AINE no encapsulados, se administren por vía intraarticular u oral, presentan una oportunidad limitada de conseguir su efecto terapéutico.

60 No se describen métodos de preparación de liposomas que encapsulan agentes terapéuticos en Hwang et al., Int. J. Pharm. 179(1):85-95, 1999; Cullis et al., en: Liposomes from Biophysics to Therapeutics (Ostro, Ed.), Marcel Dekker Inc., páginas 60 a 65 y Zhang, Trends in Bio/Pharm. Ind., 4:19-24, 2008. El documento de patente nº EP 0280503 da a conocer un procedimiento general para producir vesículas multivesiculares de lípidos.

Las formulaciones y métodos de la invención resuelven las desventajas de la terapia y formulaciones actuales de AINE y también proporcionan otras ventajas.

5 DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona un procedimiento para preparar formulaciones liposomas multivesiculares, comprendiendo el procedimiento:

10 proporcionar una primera emulsión mediante la mezcla de una primera fase acuosa y una fase de solvente inmiscible en agua volátil, comprendiendo dicha fase de solvente por lo menos un lípido anfipático y por lo menos un lípido neutro,
mezclar y emulsionar dicha primera emulsión y una segunda fase acuosa, proporcionando una segunda emulsión, comprendiendo dicha segunda emulsión una fase acuosa continua; eliminar el solvente inmiscible en agua volátil
15 de la segunda emulsión, formando una composición de partículas liposómicas multivesiculares de blanco, y carga remota de uno o más fármacos antiinflamatorios no esteroideos ácidos en dichas liposomas multivesiculares, en el que se encuentra presente un gradiente de pH bajo fuera de las liposomas multivesiculares a pH alto dentro de los liposomas multivesiculares, impulsando el fármaco o fármacos antiinflamatorios no esteroideos ácidos hacia el interior de los liposomas multivesiculares, en el que el fármaco antiinflamatorio no esteroideo ácido se selecciona del grupo que consiste en diclofenac, piroxicam, meloxicam y ketorolac.

Los liposomas multivesiculares pueden comprender un modificador del pH seleccionado del grupo que consiste en un ácido inorgánico, un ácido orgánico, una base orgánica y una base inorgánica; por ejemplo, el modificador del pH se selecciona de lisina o ácido glutámico, o una combinación de los mismos, o, por ejemplo, el ácido glutámico se ajusta a un pH de 4,7 a 9,2. El fármaco antiinflamatorio no esteroideo ácido puede ser el meloxicam. El gradiente de pH puede ser de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 unidades de pH.

La presente invención proporciona además una formulación de obtenible mediante un procedimiento de la invención. El fármaco antiinflamatorio no esteroideo ácido es diclofenac, piroxicam, meloxicam o ketorolac.

Los liposomas multivesiculares pueden comprender uno o más fosfolípidos, o sales de los fosfolípidos, o una combinación de los mismos; uno o más triglicéridos, y colesterol; por ejemplo, el fosfolípido es una fosfatidilcolina o sales de la misma, un fosfatidilglicerol o sales del mismo, o combinaciones del mismo, o, por ejemplo, el triglicérido es trioleína, tricaprilina, o una combinación de los dos, o por ejemplo, el fosfatidilglicerol es DPPG, o por ejemplo, la fosfatidilcolina es DEPC.

Los liposomas multivesiculares pueden comprender además una ciclodextrina, por ejemplo, la ciclodextrina se encuentra a una concentración de entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 400 mg/ml formando complejo con el fármaco antiinflamatorio no esteroideo ácido dentro de los liposomas multivesiculares, y opcionalmente dicha ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en (2,6-ci-O-)etil-β-ciclodextrina, sal sódica de (2-carboxietil)-β-ciclodextrina, (2-hidroxietil)-β-ciclodextrina, (2-hidroxipropil)-α-ciclodextrina, sulfobutiléter-β-ciclodextrina, (2-hidroxipropil)-β-ciclodextrina, 6-monodesoxi-6-monoamino-β-ciclodextrina, 6-O-α-maltosil-β-ciclodextrina, butil-β-ciclodextrina, butil-γ-ciclodextrina, carboximetil-β-ciclodextrina, metil-β-ciclodextrina, succinil-α-ciclodextrina, succinil-β-ciclodextrina, triacetil-β-ciclodextrina, α-ciclodextrina, β-ciclodextrina y γ-ciclodextrina.

La formulación de liposomas multivesiculares obtenible mediante un procedimiento de la invención puede utilizarse en el tratamiento del dolor y la inflamación. Dichas formulaciones de liposomas multivesiculares para la utilización en el tratamiento del dolor y la inflamación pueden comprender un portador farmacéuticamente aceptable para inyección; por ejemplo, dicha inyección es inyección subcutánea, o por ejemplo, dicha inyección es inyección intramuscular, o por ejemplo, dicha inyección es inyección intraarticular, o por ejemplo, dicha inyección es infiltración en una herida mediante inyección local en un borde de herida, o instilación en una herida por incisión, o una combinación de las mismas. Las formulaciones de liposomas multivesiculares para la utilización en el tratamiento del dolor y la inflamación pueden utilizarse para tratar el dolor y la inflamación durante un periodo de tiempo prolongado mediante infiltración de heridas, que comprende administrar dicha formulación mediante inyección local en un borde de herida, o la instilación en una herida por incisión, o una combinación de las mismas.

En otros casos de la exposición, los liposomas multivesiculares comprenden además colesterol, uno o más fosfolípidos, incluyendo sales de los fosfolípidos, y uno o más triglicéridos. En determinados casos, el fosfolípido es una fosfatidilcolina, un fosfatidilglicerol y sales del mismo, o una combinación de ellos. En casos adicionales, el fosfatidilglicerol es DPPG. En un caso adicional, la fosfatidilcolina es DEPC. En un caso adicional, la fosfatidilcolina es DOPC. En algunos casos, el triglicérido es trioleína, tricaprilina o una combinación de las dos.

En otros casos, los liposomas multivesiculares comprenden además un modificador del pH. En un caso adicional, el modificador del pH es lisina o ácido glutámico, o una combinación de los mismos. En casos adicionales, el modificador del pH puede ser un ácido orgánico, un ácido inorgánico, una base orgánica o una base inorgánica.

En casos adicionales, los liposomas multivesiculares comprenden además una ciclodextrina. En algunos casos, la ciclodextrina se encuentra a una concentración de entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 400 mg/ml formando complejo con el fármaco antiinflamatorio no esteroideo dentro de los liposomas multivesiculares. En determinados casos, la ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en (2,6-di-O-)etil-β-ciclodextrina, sal sódica de (2-carboxietil)-β-ciclodextrina, (2-hidroxietil)-β-ciclodextrina, (2-hidroxipropil)-α-ciclodextrina, sulfobutiléter-β-ciclodextrina, (2-hidroxipropil)-β-ciclodextrina, 6-monodesoxi-6-monoamino-β-ciclodextrina, 6-O-α-maltosil-β-ciclodextrina, butil-β-ciclodextrina, butil-γ-ciclodextrina, carboximetil-β-ciclodextrina, metil-β-ciclodextrina, succinil-α-ciclodextrina, succinil-β-ciclodextrina, triacetil-β-ciclodextrina, α-ciclodextrina β-ciclodextrina y γ-ciclodextrina.

Otro caso proporciona un método de tratamiento del dolor y la inflamación, que comprende inyectar formulaciones de LMV-AINE descritas en la presente memoria en un sujeto que lo necesita. En algunos casos, el fármaco o fármacos antiinflamatorios no esteroideos se seleccionan del grupo que consiste en indometacina, sulindac, etodolac, ácido mefenámico, ácido meclofenámico, meclofenamato sódico, ácido flufenámico, tolmetina, ketorolac, diclofenac, diclofenac sódico, ibuprofeno, naproxeno, naproxeno sódico, fenoprofeno, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina, piroxicam, meloxicam, ampiroxicam, droxicam, pivoxicam, lornoxicam, cinoxicam, sudoxicam y tenoxicam. In other instances, the formulations of the method include a pharmaceutically acceptable carrier for injection.

En casos adicionales, los liposomas multivesiculares comprenden además colesterol, uno o más fosfolípidos, incluyendo sales del fosfolípido, y uno o más triglicéridos. En otros casos, los liposomas multivesiculares comprenden además DPPG, DEPC, DOPC, tricaprilina, lisina, ácido glutámico y combinaciones de los mismos.

En algunos casos, la administración puede ser una inyección subcutánea. En determinados casos, la administración puede ser mediante inyección intramuscular. En otros casos, la administración puede ser mediante inyección intraarticular. En algunos casos, la administración se infiltra directamente mediante inyección local en el borde de la herida o mediante instilación en la herida por incisión, o una combinación de las mismas tras cirugía. En algunos casos, la administración es tópica. En algunos casos, la administración tópica puede ser ocular, nasal u ótica. En otros casos, la administración es intraocular. En casos adicionales, la administración es cada 1 a 7 días.

Otro caso proporciona un procedimiento para preparar formulaciones de liposomas multivesiculares, comprendiendo el procedimiento proporcionar una primera emulsión mediante la mezcla de una primera fase acuosa y una fase solvente inmiscible en agua volátil, comprendiendo dicha fase solvente por lo menos un lípido anfipático y por lo menos un lípido neutro; mezclar y emulsionar dicha primera emulsión y una segunda fase acuosa, proporcionando una segunda emulsión, comprendiendo dicha segunda emulsión una fase acuosa continua; eliminar el solvente inmiscible en agua volátil de la segunda emulsión, formando una composición de partículas liposómicas multivesiculares de blanco; carga remota de uno o más fármacos antiinflamatorios no esteroideos en dichos liposomas multivesiculares, en el que se encuentra presente un gradiente de bajo pH fuera de las LMV a pH alto dentro de los LMV para impulsar los AINE al interior de los LMV.

En algunos casos, los liposomas multivesiculares comprenden además un modificador del pH. En casos adicionales, el modificador del pH es lisina o ácido glutámico, o una combinación de los mismos. En otros casos, el modificador del pH puede ser un ácido orgánico, un ácido inorgánico, una base orgánica, una base inorgánica o una combinación de los mismos. En casos adicionales, el ácido glutámico se ajusta a un pH de entre aproximadamente 4,7 y aproximadamente 9,2. En algunos casos, el gradiente de pH es de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 unidades de pH.

En un caso, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo puede ser el diclofenac. En otro caso, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo puede ser el piroxicam. En otro caso, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo puede ser el meloxicam. En otro caso, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo puede ser el ketorolac.

Otro caso proporciona un procedimiento para preparar formulaciones de liposomas multivesiculares, comprendiendo el procedimiento proporcionar una primera emulsión mediante la mezcla de por lo menos un AINE, una primera fase acuosa y una fase de solvente inmiscible en agua volátil, comprendiendo dicha fase de solvente por lo menos un lípido anfipático y por lo menos un lípido neutro; mezclar y emulsionar dicha primera emulsión y una segunda fase acuosa para proporcionar una segunda emulsión, comprendiendo dicha segunda emulsión una fase acuosa continua; eliminar el solvente inmiscible en agua volátil de la segunda emulsión, formando una composición de partículas liposómicas multivesiculares de blanco. En algunos casos, el AINE se añade a la primera solución acuosa antes de la mezcla. En algunos casos, el AINE se añade tanto a la primera solución acuosa como a la fase solvente inmiscible en agua volátil antes de la mezcla.

En algunos casos, los liposomas multivesiculares comprenden además un modificador del pH. En casos adicionales, el modificador del pH es lisina o ácido glutámico, o una combinación de los mismos. En otros casos, el modificador del pH puede ser un ácido orgánico, un ácido inorgánico, una base orgánica, una base inorgánica o una combinación de los mismos.

En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el diclofenac. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el piroxicam. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el meloxicam. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el ketorolac.

5 Otro caso proporciona las formulaciones liposómicas multivesiculares de la invención preparadas mediante un procedimiento que comprende proporcionar un volumen de primera emulsión mediante la mezcla de una primera fase acuosa y una fase de solvente inmiscible en agua volátil, comprendiendo dicha fase de solvente por lo menos un lípido anfipático y por lo menos un lípido neutro, proporcionar un volumen de segunda emulsión que comprende una fase acuosa continua mediante la mezcla y emulsión de dicha primera emulsión y una segunda fase acuosa, eliminar el solvente inmiscible en agua volátil de la segunda emulsión para formar una composición de partículas liposómicas multivesiculares, y carga remota de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo en dichos liposomas multivesiculares, en el que se encuentra presente un gradiente de pH bajo fuera de las LMV a pH elevado dentro de las LMV para impulsar los AINE hacia el interior de los LMV. En algunos casos, los liposomas multivesiculares comprenden además un modificador del pH. En casos adicionales, el modificador del pH es lisina o ácido glutámico, o una combinación de los mismos. En otros casos, el modificador del pH puede ser un ácido orgánico, un ácido inorgánico, una base orgánica y una base inorgánica, o una combinación de los mismos. En casos adicionales, el ácido glutámico se ajusta a un pH de entre aproximadamente 4,7 y aproximadamente 9,2. En algunos casos, el gradiente de pH es de aproximadamente 1 a aproximadamente 2. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el diclofenac. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo puede ser el piroxicam. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo puede ser el meloxicam. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo puede ser el ketorolac.

25 Otro caso proporciona las formulaciones liposómicas multivesiculares de la invención preparadas mediante un procedimiento que comprende proporcionar un volumen de primera emulsión mediante la mezcla de por lo menos un AINE, una primera fase acuosa y una fase de solvente inmiscible en agua volátil, comprendiendo dicha fase de solvente por lo menos un lípido anfipático y por lo menos un lípido neutro, proporcionar un volumen de segunda emulsión que comprende una fase acuosa continua mediante mezcla y emulsión de dicha primera emulsión y una segunda fase acuosa, y eliminar el solvente inmiscible en agua volátil de la segunda emulsión para formar una composición de partículas liposómicas multivesiculares. En algunos casos, el AINE se añade a la primera solución acuosa antes de la mezcla. En algunos casos, el AINE se añade a la fase de solvente inmiscible en agua volátil antes de la mezcla. En algunos casos, el AINE se añade tanto a la primera solución acuosa como a la fase solvente inmiscible en agua volátil antes de la mezcla. En algunos casos, los liposomas multivesiculares comprenden además un modificador del pH. En casos adicionales, el modificador del pH es lisina o ácido glutámico, o una combinación de los mismos. En otros casos, el modificador del pH puede ser un ácido orgánico, un ácido inorgánico, una base orgánica y una base inorgánica, o una combinación de los mismos. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el diclofenac. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el piroxicam. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el meloxicam. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el ketorolac.

40 Otro caso proporciona un método de tratamiento del dolor y la inflamación durante un periodo de tiempo prolongado mediante infiltración de la herida, que comprende administrar una formulación de liposomas multivesiculares (LMV) mediante inyección local en un borde de herida, o instilación en una herida por incisión, o una combinación de los mismos, en el que la formulación comprende uno o más fármacos antiinflamatorios no esteroideos y liposomas multivesiculares, en el que el fármaco o fármacos antiinflamatorios no esteroideos se encapsulan en los liposomas multivesiculares. En algunos casos, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo se selecciona del grupo que consiste en indometacina, sulindac, etodolac, ácido mefenámico, ácido meclofenámico, meclofenamato sódico, ácido flufenámico, tolmetina, ketorolac, diclofenac, diclofenac sódico, ibuprofeno, naproxeno, naproxeno sódico, fenoprofeno, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaproxina, piroxicam, meloxicam, ampiroxicam, droxicam, pivoxicam, lornoxicam, cinoxicam, sudoxicam y tenoxicam.

55 En un caso, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el diclofenac. En otro caso, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el piroxicam. En otro caso, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el meloxicam. En otro caso, el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el ketorolac.

60 En algunos casos, los liposomas multivesiculares comprenden además colesterol, uno o más fosfolípidos, incluyendo sales de los fosfolípidos, y uno o más triglicéridos. En algunos casos, el fosfolípido es una fosfatidilcolina, un fosfatidilglicerol y sales del mismo, o una combinación de los mismos. En un caso, el fosfatidilglicerol es DPPG. En otro caso; la fosfatidilcolina es DEPC. En otro caso, el triglicérido es trioleína, tricaprilina o una combinación de las mismas.

65 En algunos casos, los liposomas multivesiculares comprenden además un modificador del pH. En casos adicionales, el modificador del pH es lisina o ácido glutámico, o una combinación de los mismos. En otros casos, el modificador del pH puede ser un ácido orgánico, un ácido inorgánico, una base orgánica, una base inorgánica o una combinación de los mismos.

En algunos casos, los liposomas multivesiculares comprenden además una ciclodextrina. En casos adicionales, la ciclodextrina se encuentra a una concentración de entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 400 mg/ml formando complejo con el fármaco antiinflamatorio no esteroideo dentro de los liposomas multivesiculares. En determinados casos, la ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en (2,6-di-O-)etil-β-ciclodextrina, sal sódica de (2-carboxietil)-β-ciclodextrina, (2-hidroxietyl)-β-ciclodextrina, (2-hidroxiopropil)-α-ciclodextrina, sulfobutiléter-β-ciclodextrina, (2-hidroxiopropil)-β-ciclodextrina, 6-monodexoxi-6-monoamino-β-ciclodextrina, 6-O-α-maltosil-β-ciclodextrina, butil-β-ciclodextrina, butil-γ-ciclodextrina, carboximetil-β-ciclodextrina, metil-β-ciclodextrina, succinil-α-ciclodextrina, succinil-β-ciclodextrina, triacetil-β-ciclodextrina, α-ciclodextrina, β-ciclodextrina y γ-ciclodextrina.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención tal como se define en las reivindicaciones se refiere a un procedimiento para preparar formulaciones que comprenden liposomas multivesiculares (LMV) que contienen una cantidad de uno o más AINE que minimiza los efectos secundarios de los AINE, manteniendo o mejorando simultáneamente la eficacia (en lo sucesivo en la presente memoria formulaciones de LMV-AINE). La utilización de las formulaciones de LMV-AINE descrita en la presente memoria resulta en la liberación de AINE para el tratamiento del dolor y la inflamación durante un periodo prolongado.

La administración intraarticular de las formulaciones de LMV-AINE instantáneas resuelve la totalidad de las desventajas anteriormente indicadas de la terapia actual de AINE mediante la administración de fármaco directamente en el sitio de acción, reduciendo la concentración plasmática de fármaco y los efectos secundarios dependientes de la concentración, y prolongando la exposición a fármaco de la articulación afectada de horas a días o semanas, para conseguir un beneficio terapéutico incrementado. Las formulaciones indicadas en la presente memoria resultan útiles para el tratamiento agudo debido a lesión, exacerbación o cirugía, así como para condiciones crónicas, tales como la artritis reumatoide (AR) o la osteoartritis (OA), en las que la inflamación se localiza en un número limitado de articulaciones. Las formulaciones de LMV-AINE de liberación sostenida indicadas en la presente memoria proporcionan alivio del dolor y reducen la inflamación, evitando simultáneamente los efectos secundarios asociados a la terapia oral actual. Mediante la utilización de tecnología de liberación sostenida de liposomas multivesiculares, pueden administrarse formulaciones de LMV-AINE directamente en la articulación afectada o infiltrarse mediante inyección local en los bordes de la herida o instilarse en la herida por incisión tras la cirugía. Las formulaciones de LMV-AINE descritas en la presente memoria también pueden administrarse por otras vías de administración para tratar la inflamación local o el dolor. La administración local incluye la administración tópica, ocular, intraocular, nasal y ótica. La administración local reduce los requisitos de dosis significativamente, reduciendo de esta manera el potencial de toxicidad gástrica y sistémica asociado a la administración oral de AINE. Las formulaciones de LMV-AINE descritas en la presente memoria liberan fármaco hasta dos semanas, por lo que los pacientes requieren una administración infrecuente.

La infiltración post-quirúrgica de heridas de la formulación de LMV-AINE descrita en la presente memoria permite también una reducción de la utilización de opioides y, por lo tanto, una reducción de los efectos secundarios relacionados con opioides. La inyección directa o instilación de LMV-AINE en el sitio quirúrgico puede potenciar la acción local de los AINE mediante el incremento de la concentración local en los tejidos, reduciendo simultáneamente la administración global de AINE utilizada típicamente después de las cirugías.

La administración subcutánea o intramuscular de las formulaciones de LMV-AINE descritas en la presente memoria también permite el tratamiento sistémico del dolor como alternativa a la terapia oral. La ventaja de dicho enfoque es que la formulación de LMV puede proporcionar un perfil farmacocinético más plano que el de las formas de administración oral de liberación inmediata. De esta manera, la administración subcutánea o intramuscular proporcionar una duración más larga y menores efectos secundarios relacionados con la concentración plasmática.

A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria presentan el mismo significado entendido comúnmente por el experto ordinario en la materia a la que se refiere la presente solicitud. Aunque pueden utilizarse métodos y materiales similares a los indicados en la presente memoria en la práctica o ensayo de la presente solicitud, posteriormente se describen métodos y materiales adecuados. Además, los materiales, métodos y ejemplos son meramente ilustrativos y no pretenden ser limitativos.

Fármacos antiinflamatorios no esteroideos

En la presente memoria se describen fármacos antiinflamatorios no esteroideos encapsulados en LMV. Los AINE descritos en la presente memoria son AINE ácidos. Entre los AINE se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, indometacina, sulindac, etodolac, ácido mefenámico, ácido meclofenámico, meclofenamato sódico, ácido flufenámico, tolmetina, ketorolac, diclofenac, diclofenac sódico, derivados del ácido propiónico tales como ibuprofeno, naproxeno, naproxeno sódico, fenoprofeno, ketoprofeno, flurbiprofeno y oxaprozina, y ácidos enólicos, tales como piroxicam, meloxicam y otros oxicam, tales como ampiroxicam, droxicam, pivoxicam, lornoxicam, cinnoxicam, sudoxicam y tenoxicam. En particular, los AINE de las formulaciones instantáneas de la invención pueden incluir piroxicam (PRX). Los AINE de las formulaciones instantáneas pueden incluir además meloxicam (MLX). Los AINE de las formulaciones

instantáneas pueden incluir además diclofenac (DCF). Los AINE de las formulaciones instantáneas pueden incluir además ketorolac.

Liposomas multivesiculares

Las formas de realización instantáneas se refieren a LMV que contienen uno o más AINE tal como se definen en la presente memoria. Los LMV, informados en Kim et al. (Biochim, Biophys. Acta, 728:339-348, 1983), son un grupo de vesículas membranales sintéticas de gran diámetro que incluye otros sistemas de administración basados en lípidos, tales como liposomas unilamelares (Huang, Biochemistry, 8:334-352, 1969; Kim, et al., Biochim. Biophys. Acta, 646:1-10, 1981) y liposomas multilamelares (Bangham, et al., J Mol. Bio., 13:238-252, 1965). La diferencia estructural principal entre los liposomas multivesiculares y los liposomas unilamelares (también conocidos como vesículas unilamelares) es que los liposomas multivesiculares contienen múltiples cámaras acuosas en cada partícula. La diferencia estructural principal entre los liposomas multivesiculares y los liposomas multilamelares (también conocidos como vesículas multilamelares) es que en los liposomas multivesiculares, las múltiples cámaras acuosas en los liposomas multivesiculares son no concéntricas. Las diferencias estructurales entre liposomas unilamelares, multilamelares y multivesiculares se ilustran en Sankaram et al., patente US nº 5.766.627, publicada el 16 de junio, 1998, y Sankaram et al., patente US nº 6.132.766, publicada el 17 de octubre, 2000.

Las características estructurales y funcionales de los liposomas multivesiculares no son directamente predecibles del conocimiento actual sobre las vesículas unilamelares y las vesículas multilamelares. Los liposomas multivesiculares presentan una morfología interna muy peculiar, que puede surgir como consecuencia del método especial utilizado en la preparación. Topológicamente, los liposomas multivesiculares se definen como presentando múltiples cámaras no concéntricas dentro de cada partícula, similares a una matriz "de tipo esponjoso", mientras que las vesículas multilamelares contienen múltiples cámaras concéntricas dentro de cada partícula de liposoma, siendo similares a "las capas de una cebolla".

La presencia de membranas internas distribuidas como una red en todos los liposomas multivesiculares podría servir para proporcionar una resistencia mecánica incrementada a la vesícula. Las partículas mismas pueden ocupar una proporción muy grande del volumen total de la formulación. El volumen empaquetado de partícula (VEP) de LMV, que se mide de una manera análoga al hematócrito, representa el volumen de la formulación constituido por las partículas y puede alcanzar hasta el 80%. Típicamente, el VEP es de aproximadamente 50%. A un VEP de 50%, la formulación de liposomas multivesiculares típicamente consiste en menos de 5% p/p de lípido. De esta manera, el volumen encapsulado es de aproximadamente 50%, presentando simultáneamente una concentración de lípidos relativamente baja. La naturaleza multivesicular de los liposomas multivesiculares indica además que, al contrario que las vesículas unilamelares, una sola brecha en una vesícula membranal sintética no resultará en la liberación total del contenido acuoso interno.

De esta manera, las formulaciones de liposomas multivesiculares consisten en partículas esféricas microscópicas compuestas de numerosas cámaras acuosas no concéntricas que encapsulan el fármaco AINE que debe administrarse. Las cámaras individuales están separadas por membranas de bicapa lipídica compuestas de duplicados sintéticos de lípidos de origen natural, dando como resultado un vehículo de administración que es tanto biocompatible como biodegradable. Las formulaciones de LMV-AINE instantáneas proporcionan una administración en un sitio local o la administración sostenida sistémica, y pueden administrarse mediante varias vías, incluyendo subcutánea, en el tejido muscular y en las articulaciones. La preparación de los liposomas multivesiculares se ilustra en Sankaram et al. (patente US nº 5.766.627), publicada el 16 de junio, 1998, y Sankaram et al. (patente US nº 6.132.766), publicada el 17 de octubre, 2000.

Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas son moléculas de forma toroidal quirales formadas por la acción del enzima ciclodextrina transglucosilasa sobre el almidón. Dichos oligómeros cíclicos contienen entre 6 y 12 unidades de glucosa unidas mediante enlaces α -(1,4). Los tres homólogos más pequeños, α -ciclodextrina, β -ciclodextrina y γ -ciclodextrina, se encuentran disponibles comercialmente; los homólogos de mayor tamaño deben producirse y aislarse individualmente. Los grupos secundarios 2-hidroxi y 3-hidroxi revisten la boca de la cavidad de la ciclodextrina y presentan una orientación alternada. Los 6-hidroxilos primarios se encuentran en el extremo contrario de la molécula. El interior de la cavidad de la ciclodextrina es relativamente hidrofóbico, ya que todos los hidroxilos están dirigidos hacia el exterior de la molécula.

Muchos tipos diferentes de ciclodextrina podrían resultar útiles en las composiciones y métodos de los presentes casos. Entre dichas ciclodextrinas se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, (2,6-di-O)-etil- β -ciclodextrina, sal sódica de (2-carboxietil)- β -ciclodextrina, (2-hidroxi-etil)- β -ciclodextrina, (2-hidroxi-propil)- α -ciclodextrina, sulfobutiléter- β -ciclodextrina, (2-hidroxi-propil)- β -ciclodextrina, 6-monodesoxi-6-monoamino- β -ciclodextrina, 6-O- α -maltosil- β -ciclodextrina, butil- β -ciclodextrina, butil- γ -ciclodextrina, carboximetil- β -ciclodextrina, metil- β -ciclodextrina, succinil- α -ciclodextrina, succinil- β -ciclodextrina, triacetil- β -ciclodextrina, α -ciclodextrina, β -ciclodextrina y γ -ciclodextrina.

Generalmente, la concentración de ciclodextrina utilizada para preparar las LMV de la presente exposición es aquella

que proporciona una solubilidad adecuada o retrasa la liberación de compuestos farmacológicos a partir de las LMV tras la administración en un sujeto. Preferentemente, la ciclodextrina se encuentra presente en la composición de liposoma en una cantidad de entre aproximadamente 10 miligramos por ml y aproximadamente 400 miligramos por ml. Más preferentemente, la cantidad de ciclodextrina en el liposoma es de aproximadamente 100 mg/ml. La utilización de ciclodextrinas en la preparación de LMV se describe en Kim, patente US nº 5.759.573, publicada el 2 de junio, 1998.

Métodos de fabricación

10 Las formulaciones de la presente exposición utilizan liposomas multivesiculares con AINE encapsulado (en lo sucesivo en la presente memoria formulaciones de LMV-AINE) que encapsulan y proporcionan una liberación modulada y sostenida de los AINE indicados anteriormente. Las formulaciones de LMV-AINE instantáneas se preparan mediante el procedimiento siguiente.

15 Se forma una emulsión de tipo "agua-en-aceite" a partir de dos fases inmiscibles: una fase lipídica y una primera fase acuosa. La fase lipídica está constituida de por lo menos un lípido anfipático y por lo menos un lípido neutro en un solvente orgánico volátil, y opcionalmente colesterol y/o derivados de colesterol. La expresión "lípido anfipático" se refiere a moléculas que presentan un grupo "de cabeza" hidrofílico y un grupo "de cola" hidrofóbico y pueden presentar capacidad de formación de membranas. Tal como se utilizan en la presente memoria, entre los lípidos anfipáticos se incluyen aquellos con una carga negativa neta, una carga positiva neta y lípidos zwitteriónicos (que no presentan carga neta en su punto isoeléctrico). La expresión "lípido neutro" se refiere a aceites o grasas que no presentan capacidades de formación de vesículas por sí mismos y no presentan un grupo "de cabeza" cargado o hidrofílico. Entre los ejemplos de lípidos neutros se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, ésteres de glicol, ésteres de tocoferol, ésteres de esteroles que no presentan un grupo "de cabeza" cargado o hidrofílico, y alcanos y escualenos.

25 El lípido anfipático se selecciona de un amplio abanico de lípidos que presentan una región hidrofóbica y una región hidrofílica en la misma molécula. Son lípidos anfipáticos adecuados, los fosfolípidos zwitteriónicos, incluyendo fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, esfingomielinas, lisofosfatidilcolinas y lisofosfatidiletanolaminas. También resultan adecuados los fosfolípidos anfipáticos aniónicos, tales como fosfatidilgliceroles, fosfatidilserinas, fosfatidilinositoles, ácidos fosfatídicos y cardiolipinas. También resultan adecuados los lípidos anfipáticos catiónicos, tales como los acil trimetilamoniopropanos, diacil dimetilamoniopropanos, estearilamina, y similares. Entre los lípidos anfipáticos preferentes se incluyen dioleil fosfatidilcolina (DOPC), dierucoil fosfatidilcolina o 1,2-dierucoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DEPC) y dipalmitoilfosfatidilglicerol o 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo-rac-(1-glicero) (DPPG). En determinados casos, entre los lípidos anfipáticos para las formulaciones de LMV-AINE instantáneas se incluyen DOPC y DEPC junto con DPPG.

35 Son lípidos neutros adecuados, los triglicéridos, los ésteres de propilenglicol, los ésteres de etilenglicol y el escualeno. Entre los ejemplos de triglicéridos útiles en las formulaciones y métodos instantáneos, la trioleína (TO), la tripalmitoileína, la trimiristoleína, la trilinoleína, la tributirina, la tricaprína, la tricaprilina y la tricaprina. Los ácidos grasos en los triglicéridos útiles en la presente solicitud pueden ser todos iguales, o no todos iguales (triglicéridos de cadena mixta), incluyendo todos diferentes. Ambos ésteres de propilenglicol pueden ser diésteres mixtos de ácido caprílico y ácido cáprico.

45 Las concentraciones de los lípidos anfipáticos, lípidos neutros y colesterol presentes en el solvente inmiscible en agua utilizadas para preparar las LMV típicamente están comprendidas entre 1 y 40 mM, entre 2 y 40 mM y entre 0 y 60 mM, respectivamente. En algunos casos, las concentraciones de los lípidos anfipáticos, lípidos neutros y colesterol pueden ser de aproximadamente 30 mM, 25 mM y 25 mM, respectivamente. En el caso de que se incluya un lípido anfipático cargado, generalmente se encuentra presente a una concentración más baja que el lípido zwitteriónico.

50 Pueden utilizarse muchos tipos de solvente orgánico volátil en la presente solicitud, incluyendo éteres, ésteres, éteres halogenados, hidrocarburos, halohidrocarburos o freón. Por ejemplo, el éter dietílico, el cloroformo, el cloruro de metileno, el tetrahidrofurano, el acetato de etilo y cualesquiera combinaciones de los mismos resultan adecuados para la utilización en la preparación de las formulaciones.

55 Opcionalmente, aunque resulta altamente deseable, otros componentes están incluidos en la fase lipídica. Entre ellos se encuentran antioxidantes, conservantes antimicrobianos, colesterol o esteroles vegetales.

60 En determinados casos, la primera fase acuosa puede incluir uno o más AINE, modificadores del pH que incluyen ácidos y bases orgánicos o inorgánicos (por ejemplo, lisina y ácido glutámico), opcionalmente una ciclodextrina y agentes osmóticos (p.ej., cloruro sódico, sacarosa, glucosa, fructosa o mezclas de los mismos). La fase lipídica y la primera fase acuosa se mezclan mediante turbulencia mecánica, tal como mediante la utilización de paletas giratorias o vibratorias, agitación, extrusión por estructuras con deflectores o tuberías porosas, o mediante ultrasonidos, para producir una emulsión de agua-en-aceite. En el caso de que se incluyan los AINE, los AINE de la presente solicitud se encapsulan directamente (se cargan directamente) en la primera etapa de fabricación de los LMV.

65 A continuación, la emulsión de agua-en-aceite puede dispersarse en una segunda fase acuosa por los medios

indicados anteriormente, para formar esférulas de solvente suspendidas en la segunda fase acuosa, se forma una emulsión de agua-en-aceite-en-agua. La expresión “esférulas de solvente” se refiere a una gota esferoide microscópica de solvente orgánico, dentro de la cual se suspenden múltiples gotas más pequeñas de solución acuosa. La segunda fase acuosa puede contener componentes adicionales, tales como modificadores de pH, agentes osmóticos y combinaciones de los mismos. Entre los ejemplos no limitativos de modificadores del pH se incluyen lisina, arginina y similares. Entre los ejemplos no limitativos de agentes osmóticos se incluyen monosacáridos (p.ej., glucosa y similares), disacáridos (p.ej., sacarosa y similares) y polioles (p.ej., sorbitol, manitol y similares).

A continuación, el solvente orgánico volátil se elimina de las esférulas, por ejemplo mediante evaporación superficial a partir de la suspensión. Al evaporarse el solvente sustancialmente o por completo, se forman las LMV. Entre los gases que pueden utilizarse para la evaporación se incluyen nitrógeno, argón, helio, oxígeno, hidrógeno y dióxido de carbono, mezclas de los mismos, o aire comprimido limpio. Alternativamente, el solvente volátil puede eliminarse mediante lavado, evaporación rotatoria, diafiltración o utilizando membranas selectivas de solvente.

Los métodos de preparación de las formulaciones de LMV instantáneas también pueden encontrarse en los documentos nº WO99/25319, nº US2002-0039596 y nº US 2011-0250264.

Tal como se ha comentado anteriormente, pueden incorporarse AINE en los LMV mediante su inclusión en la primera fase acuosa. Los AINE también pueden incorporarse en los LMV mediante su inclusión en la fase lipídica o tanto en la fase lipídica como en la primera fase acuosa.

Inesperadamente, los AINE instantáneos pueden cargarse remotamente en LMV, proporcionando las formulaciones de LMV-AINE instantáneas. Debido a la complejidad estructural de los LMV, resulta inesperada la observación de que los AINE pueden pasarse por una multitud de capas de membranas de los LMV (por ejemplo, hasta cien capas). Los métodos instantáneos difieren de Hwang et al., comentado anteriormente. Por ejemplo, en la exposición instantánea, los LMV se utilizan como el receptor para los AINE, y sólo se utilizan gradientes de pH. Además, se encuentra presente un gradiente de pH bajo fuera de los LMV a pH alto dentro de los LMV, impulsando los AINE al interior de los LMV. Además, la exposición instantánea no se basa en la utilización de acetato cálcico o acetato sódico o en un mecanismo de precipitación. Una vez se han formado LMV de blanco (que no contienen compuesto activo) mediante los métodos indicados anteriormente, pueden prepararse formulaciones de LMV-AINE mediante la adición de una solución que contiene fármaco a la suspensión de LMV. En dicho caso, se encuentra presente un gradiente de pH bajo fuera de los LMV a pH alto dentro de los LMV, impulsando los AINE al interior de los LMV.

Además, la carga remota puede impulsarse mediante precipitación de los AINE una vez dentro de los LMV. En tal caso, se incluiría un catión en los LMV de blanco, que formaría una sal de baja solubilidad con los AINE. Entre los cationes puede incluirse, aunque sin limitación, sodio, calcio, magnesio, aluminio y similar.

Métodos de administración

Entre las modalidades actuales de analgesia postoperatoria se incluyen la infiltración de heridas con anestésicos locales en combinación con la administración sistémica de AINE y opioides. Las medicaciones de opioides, que presentan considerables desventajas, incluyendo el tiempo y los recursos necesarios para la monitorización y tratamiento de los efectos secundarios relacionados con los opioides. Resulta deseable una reducción de la utilización de opioides postoperatorios para reducir la incidencia y gravedad de los efectos adversos inducidos por opioides, tales como depresión respiratoria, náusea, vómitos, estreñimiento, somnolencia, prurito y retención urinaria. La exposición instantánea proporciona formulaciones de liberación prolongada de AINE en el sitio de herida, evitando de esta manera la utilización de opioides sistémicos.

En cualquiera de las realizaciones, las formulaciones de LMV-AINE instantáneas pueden administrarse mediante inyección de bolo, p.ej., la inyección de bolo subcutáneo, la inyección de bolo intraarticular, la inyección de bolo intramuscular, la inyección de bolo intradérmico y similares. En cualquiera de las realizaciones, la administración puede ser mediante infusión, p.ej., infusión subcutánea, infusión intraarticular, infusión intramuscular, infusión intradérmica, y similares. En cualquiera de las realizaciones, la administración puede ser la infiltración directa de heridas mediante inyección local en el borde de heridas o la instilación en la herida por incisión, o una combinación de las mismas. Las formulaciones de LMV-AINE también pueden administrarse por otras vías de administración para tratar inflamación o dolor local, incluyendo, aunque sin limitación, la administración tópica, ocular, intraocular, nasal y ótica.

La administración de las formulaciones de LMV-AINE indicadas en la presente memoria se lleva a cabo utilizando métodos y dispositivos estándares, p.ej., lápices, sistemas inyectoros, aguja y jeringa, un sistema de administración en puerto de inyección subcutánea, y similares. Ver, p.ej., las patentes US nº 3.547.119, nº 4.755.173, nº 4.531.937, nº 4.311.137 y nº 6.017.328.

En casos preferentes, las formulaciones de LMV-AINE se administran por vía subcutánea, intramuscular o intraarticular. Dicha administración puede realizarse a intervalos de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 7 días a una dosis de entre aproximadamente 7,5 mg y aproximadamente 200 mg para la utilización sistémica, y de entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 10 mg para la utilización intraarticular. Las dosis exactas variarán

dependiendo de factores del paciente, tales como la edad, el sexo, la condición general, y similares. El experto en la materia podrá considerar fácilmente dichos factores y utilizarlos para establecer las concentraciones terapéuticas eficaces sin recurrir a experimentación indebida.

5 Para la administración sistémica, la cantidad de DCF administrada al día es preferentemente de entre aproximadamente 150 mg y aproximadamente 200 mg. La cantidad de PRX administrada al día es preferentemente de aproximadamente 20 mg. La cantidad de MLX administrada al día es preferentemente de entre aproximadamente 7,5 mg y aproximadamente 15 mg.

10 Para la administración intraarticular, la cantidad de DCF, PRX y MLX administrada por dosis será significativamente más baja que para la administración subcutánea. Por ejemplo, la cantidad de DCF administrada al día puede ser de entre aproximadamente 0,5 mg y aproximadamente 2,0 mg. La cantidad de PRX administrada al día puede ser de aproximadamente 0,2 mg. La cantidad de MLX administrada al día es preferentemente de entre aproximadamente 0,075 mg y aproximadamente 0,15 mg.

15 En algunos casos, las formulaciones de LMV-AINE opcionalmente incluyen un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones inyectables eficaces que contienen dichos compuestos pueden encontrarse en forma de suspensión o de solución. En la preparación de formulaciones adecuadas se reconocerá que, en general, la solubilidad en agua de las sales de adición de ácido es superior a la de las bases libres. De manera similar, las bases son más solubles en ácidos diluidos o en soluciones ácidas que en soluciones neutras o básicas.

20 En la forma de solución, el compuesto se disuelve en un vehículo fisiológicamente aceptable. Dichos vehículos comprenden un solvente adecuado, un agente de tonicidad, tal como sacarosa o solución salina, conservantes tales como alcohol bencílico, en caso necesario, y tampones. Entre los solventes útiles se incluyen, por ejemplo, agua y alcoholes acuosos, glicoles y ésteres de carbonato, tales como carbonato de dietilo.

25 Las composiciones de suspensión inyectable requieren un medio de suspensión líquido, con o sin adyuvantes, como vehículo. El medio de suspensión puede ser, por ejemplo soluciones acuosas de cloruro sódico, sacarosa, polivinilpirrolidona, polietilenglicol o combinaciones de los anteriores.

30 Resultan necesarios adyuvantes fisiológicamente aceptables adecuados para mantener el compuesto suspendido en composiciones en suspensión. Los adyuvantes pueden seleccionarse de espesantes, tales como carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, gelatina y los alginatos. Muchos surfactantes también resultan útiles como agentes de suspensión. La lecitina, los aductos de alquilfenol-óxido de polietileno, naftalenosulfonatos, alquibencenosulfonatos y ésteres de polioxietilén-sorbitán son agentes de suspensión útiles.

35 Muchas sustancias que afectan a la hidrofiliidad, densidad y tensión superficial del medio de suspensión líquido pueden ayudar en la preparación de suspensiones inyectables en casos individuales. Por ejemplo, las siliconas antiespumantes, el sorbitol y los azúcares pueden ser agentes de suspensión útiles.

40 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "sujeto" incluye animales y seres humanos. En un caso preferente, el sujeto es un ser humano.

45 Aunque determinados agentes terapéuticos, composiciones y métodos de la presente invención se han descrito con especificidad de acuerdo con determinados casos, los ejemplos a continuación sirven únicamente para ilustrar las composiciones y métodos de la invención y no pretenden ser limitativos de la misma.

Ejemplos

50 Ejemplo 1. Carga remota.

Las formulaciones de LMV-AINE de carga remota se prepararon de la manera siguiente: las formulaciones de LMV de blanco se prepararon de una manera similar a la informada en Kim et al. (Biochim. Biophys. Acta, 728:339-348, 1983). Se prepararon LMV, en las que una solución acuosa, ajusta a un pH específico, y en algunos casos que contenía ciclodextrinas (Kim, patente US n° 5.759.573, publicada el 2 de junio, 1998), se emulsionaron con una solución de cloroformo que contenía lípidos, para formar una emulsión de agua-en-aceite (W/O). A continuación, la emulsión W/O se emulsionó en una segunda solución acuosa para producir una emulsión W/O/W. Seguidamente la emulsión W/O/W se agitó a 37°C bajo una corriente de nitrógeno para eliminar el cloroformo mediante evaporación. Los LMV de blanco resultantes se centrifugaron y el sobrenadante se sustituyó por solución salina normal. Tras el lavado, los LMV de blanco se diluyeron en solución salina normal, rindiendo un producto con aproximadamente un 50% de volumen empaquetado de partícula (VEP). El VEP es la fracción del volumen total de la formulación ocupado por las partículas de LMV.

65 A continuación, los compuestos AINE se cargaron remotamente en los LMV de blanco mediante incubación de las soluciones de AINE de pH ajustado indicadas en las Tablas 1, 2 y 3 con las suspensiones de partículas de LMV de blanco, bajo agitación suave. Las Tablas 1, 2 y 3 son resúmenes de los componentes y resultados para las

formulaciones de LMV-AINE, en las que los AINE son PRX, DCF y MLX, respectivamente. Tras dividir los AINE en los LMV de blanco, las suspensiones se lavaron en solución salina normal para eliminar los AINE no encapsulados, o libres.

5 Además, las formulaciones de LMV de la Tabla 2, anteriormente, se prepararon utilizando un gradiente interior:exterior de pH con una magnitud de aproximadamente 1,5. Las soluciones interna y externa se ajustaron a un pH más alto, proporcionando una solubilidad mejorada en DCF. La solución de carga contenía 4,2 mg/ml de DCF en NaHPO₄, pH 7,5, y la solución interna contenía lisina-ácido glutámico, pH 9 a 9,2. Utilizando dichas condiciones de gradiente reducido-pH más alto, se obtuvieron recuperaciones de DCF significativamente más elevadas que las indicadas en Hwang et al., anteriormente, de 17% a 61% (ver la Tabla 2):

15 La recuperación de AINE en los LMV instantáneos se analizó mediante, en primer lugar, el lisado de los LMV que contenían AINE, mediante la mezcla de una parte de suspensión con tres partes de alcohol isopropílico, agitación con vórtex hasta la disolución, seguido de la dilución adicional con seis partes del tampón de migración de RP-HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa), tal como se indica en el método de la Farmacopea estadounidense para cada AINE.

Tabla 1. Composiciones en solución y atributos de producto final para formulaciones de LMV-PRX.

| | Componente | Formulación nº 1 | Formulación nº 2 | Formulación nº 3 | Formulación nº 4 |
|--|---------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 1a solución acuosa de placebo | Lisina (mM) | 115 | 199 | 94 | 99 |
| | Ácido glutámico, mM | 58 | 100 | 47 | 40 |
| | HPB-ciclodextrina (%) | 10 | 0 | 13 | 13 |
| | pH | 9,1 | 9,1 | 9,0 | 9,2 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg | 295 | 297 | 296 | 298 |
| Solución de carga de PRX | Piroxicam (mg/ml) | 4,6 | 4,6 | 4,6 | 4,6 |
| | NaHPO ₄ (mM) | 121 | 121 | 121 | 121 |
| | pH | 7,6 | 7,6 | 7,6 | 7,6 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg | 300 | 300 | 300 | 300 |
| Combinación de lípidos | Tricaprilina (mM) | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | Colesterol (mM) | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | DPPG-Na ⁺ (mM) | 13 | 13 | 13 | 13 |
| | DEPC (mM) | 26,4 | 26,4 | 26,4 | 26,4 |
| 2ª solución acuosa | Lisina (mM) | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | Sorbitol (%) | 4,7 | 4,7 | 4,7 | 4,7 |
| | pH | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg | 291 | 291 | 291 | 291 |
| Distribución de tamaños de partícula (DTP) | d10 | 6,4 | 11,8 | 6,3 | 6,1 |
| | d50 | 13,2 | 20,4 | 12,7 | 12,3 |
| | d90 | 25,5 | 34,1 | 24,1 | 23,5 |
| Resultados analíticos | Potencia total (mg/ml) | 4,9 | 3,9 | 4,6 | 5,5 |
| | Recuperación de PRX (%) | 54,3 | 44,7 | 51,3 | 61,8 |
| | % de AINE libre | 0,4 | 1,2 | 0,4 | 0,4 |
| | PPV% | 54,2 | 54,9 | 53,5 | 52,8 |

20

Tabla 2. Composiciones en solución y atributos de producto final para formulaciones de LMV-DCF.

| | Componente | Formulación nº 5 | Formulación nº 6 | Formulación nº 7 | Formulación nº 8 |
|-------------------------------|-------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 1a solución acuosa de placebo | Lisina (mM) | 115 | 78 | 94 | 99 |
| | Ácido glutámico, mM | 58 | 39 | 47 | 40 |
| | HPB-ciclodextrina (%) | 10 | 15 | 13 | 13 |
| | pH | 9,1 | 9,0 | 9,0 | 9,2 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg | 295 | 296 | 296 | 298 |
| Solución de carga de DCF | Diclofenac (mg/ml) | 4,2 | 4,2 | 4,2 | 4,2 |
| | NaHPO ₄ (mM) | 121 | 121 | 121 | 121 |
| | pH | 7,5 | 7,5 | 7,5 | 7,5 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg | 302 | 302 | 302 | 302 |

Tabla 2 (continuación)

| | Componente | Formulación nº 5 | Formulación nº 6 | Formulación nº 7 | Formulación nº 8 |
|--------------------------------------|---------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Combinación de lípidos | Tricaprilina (mM) | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | Colesterol (mM) | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | DPPG-Na ⁺ (mM) | 13 | 13 | 13 | 13 |
| | DEPC (mM) | 26,4 | 26,4 | 26,4 | 26,4 |
| 2ª solución acuosa | Lisina (mM) | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | Sorbitol (%) | 4,7 | 4,7 | 4,7 | 4,7 |
| | pH | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg | 291 | 291 | 291 | 291 |
| Distribución de tamaños de partícula | d10 | 6,4 | 5,6 | 5,6 | 6,6 |
| | d50 | 11,9 | 10,6 | 11,0 | 13,0 |
| | d90 | 21,0 | 18,9 | 19,6 | 24,3 |
| Resultados analíticos | Recuperación de DCF (%) | 17 | 26 | 29 | 61 |
| | Potencia total (mg/ml) | 5,8 | 4,9 | 5,4 | 6,9 |
| | % de AINE libre | 2,6 | 1,9 | 1,6 | 0,8 |
| | PPV% | 47,2 | 47,9 | 46,5 | 46,5 |

Tabla 3. Composiciones en solución y atributos de producto final para formulaciones de LMV-MLX.

| Componente | Formulación nº 9 | Formulación nº 10 | Formulación nº 11 | Formulación nº 12 | Formulación nº 13 | Formulación nº 14 |
|--------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 1a solución acuosa de placebo | Lisina (mM) 40 | 40 | 40 | 40 | 115 | 40 |
| | Ácido glutámico, mM 20 | 20 | 20 | 20 | 58 | 20 |
| | HPB-CD (%) 20 | 10 | 9,5 (SBE)* | 10 | 10 | 20 |
| | pH 9,0 | 9,0 | 9,1 | 9,0 | 9,1 | 9,0 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg 301 | 292 | 302 | 301 | 298 | 297 |
| | Meloxicam (mg/ml) 6 | 6 | 6 | 4,8 | 4,8 | 4,8 |
| | NaHPO ₄ (mM) 126 | 126 | 126 | 120 | 120 | 120 |
| | pH 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg 304 | 304 | 304 | 295 | 295 | 295 |
| Combinación de lípidos | Tricaprilina (mM) 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | Colesterol (mM) 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | DPPG-Na ⁺ (mM) 11,2 | 11,2 | 11,2 | 11,2 | 11,2 | 11,2 |
| | DEPC (mM) 26,4 | 26,4 | 26,4 | 26,4 | 26,4 | 26,4 |
| 2a solución acuosa | Lisina (mM) 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | Sorbitol (%) 4,8 | 4,8 | 4,8 | 4,8 | 4,8 | 4,8 |
| | pH 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg 291 | 291 | 291 | 291 | 291 | 291 |
| Distribución de tamaños de partícula | d10 6,1 | 6,3 | 9,7 | 6,8 | 7,6 | 6,7 |
| | d50 12,3 | 13,1 | 18,3 | 14,1 | 16,0 | 13,8 |
| | d90 24,2 | 24,9 | 33,9 | 28,3 | 46,0 | 31,7 |
| Resultados analíticos | Potencia total (mg/ml) 3,4 | 2,9 | 2,2 | 2,7 | 3,4 | 3,2 |
| | Recuperación de MLX (%) 56,4 | 49,3 | 37,4 | 55,4 | 71,2 | 67,1 |
| | % Libre 0,8 | 1,0 | 2,8 | 0,9 | 1,1 | 1,0 |
| | PPV% 55 | 55 | 56 | 52 | 51 | 51 |
| | pH 7,1 | 7,0 | 7,0 | 6,9 | 7,5 | 7,3 |

* SBE significa sulfobutiléter β-ciclodextrina

5 Tal como se muestra en la Tabla 4, posteriormente, en las formulaciones que contenían lisina/ácido glutámico 182 mM (acetato cálcico (Ca(OAc)₂ 5 mM), la carga de DCF era más alta en las formulaciones que comprendían fosfatidilcolina de cadena más larga (83% vs 0% de recuperación en DEPC versus dioleilfosfatidilcolina (DOPC)). Las formulaciones que contenían lisina/ácido glutámico a una concentración más alta (182 vs 93 mM) y un gradiente de pH incrementado (9,0 vs 7,5) presentaban una carga de DCF mejorada (recuperación de 78% vs 43%). En las formulaciones de lisina/ácido glutámico 300 mM, el incremento de la concentración de carga de DCF a 4,6 mg/ml resultó en el fallo del lote. En las formulaciones de lisina/ácido glutámico 100 mM, el encapsulado y la recuperación se redujeron con una concentración creciente de DCF en la solución de carga. El encapsulado y la recuperación mejoraron significativamente mediante la adición de entre aproximadamente 2% y aproximadamente 10% de HPB-CD. En algunos casos, puede añadirse 2% HPB-CD. En casos adicionales, puede añadirse 3% HPB-CD. De manera similar, puede añadirse 4% HPB-CD. En casos adicionales, puede añadirse entre aproximadamente 5% y aproximadamente 9% HPB-CD. En casos adicionales, puede añadirse entre aproximadamente 6% y aproximadamente 15% HPB-CD. En casos adicionales, puede añadirse entre aproximadamente 2% y aproximadamente 15% HPB-CD.

15 En formulaciones de sólo lisina/ácido glutámico, la adición de 15% HPB-CD con ajuste de la osmolaridad permitió un incremento del encapsulado de DCF de las partículas a 4,6 mg/ml (recuperación de 67%). No resultaba necesario HPB-CD para conseguir un encapsulado elevado (7,2 mg/ml) con otros AINE (es decir, PRX). En formulaciones de lisina/ácido glutámico que contienen HPB-CD, las condiciones de tampón de concentración más elevada todavía proporcionaron un encapsulado y recuperación mejorados.

20

Tabla 4. Impacto de la longitud de cadena de fosfatidilcolina (PC), concentración de tampón y HPB-CD sobre el encapsulado de AINE.

| Fármaco | Formulación | Composición de partículas de blanco | Conc. de fármaco de solución de carga ^a (mg/ml) | Solución de carga, pH | PC | Potencia de fármaco final (mg/ml) | % de recuperación |
|---------|-------------|--|--|-----------------------|------|-----------------------------------|-------------------|
| DCF | A | Ca(OAc) ₂ 5 mM, LysGlut 182 mM, pH 9,0 | 0,52 | 7,0 | DEPC | 0,43 | 83 |
| DCF | B | Ca(OAc) ₂ 5 mM, LysGlut 182 mM, pH 9,0 | 0,65 | 7,0 | DOPC | na | fallo |
| DCF | C | Ca(OAc) ₂ 5 mM, LysGlut 182 mM, pH 9,0 | 1,1 | 6,9 | DEPC | 0,85 | 78 |
| DCF | D | Ca(OAc) ₂ , 5 mM, LysGlut 93 mM, pH 7,5 | 1,1 | 6,9 | DEPC | 0,46 | 43 |
| DCF | E | LysGlut 300 mM, HBP-CD 0% pH 9, | 4,6 | 7,5 | DEPC | na | Fallo |
| DCF | F | LysGlut 100 mM, 2% HBP-CD | 1,1 | 7,0 | DEPC | 0,9 | 83 |
| DCF | G | LysGlut 100 mM, 10% HBP-CD, pH 9 | 1,1 | 7,0 | DEPC | 1,0 | 96 |
| DCF | H | LysGlut 100 mM, 2% HBP-CD | 3,2 | 7,4 | DEPC | 2,0 | 62 |
| DCF | I | LysGlut 100 mM, 10% HBP-CD, pH 9 | 3,2 | 7,4 | DEPC | 2,3 | 72 |
| DCF | J | LysGlut 117 mM, 15% HBP-CD, pH 9 | 4,6 | 7,5 | DEPC | 4,6 | 67 |
| DCF | K | LysGlut 60 mM, 15% HBP-CD, pH 9 | 4,6 | 7,5 | DEPC | 3,1 | 46 |
| PRX | L | LysGlut 300 mM, 0% HBP-CD | 4,5 | 7,5 | DEPC | 7,2 | 80 |
| PRX | M | LysGlut 173 mM, 10% HBP-CD, pH 9 | 4,5 | 7,5 | DEPC | 5,0 | 55 |

^aLas soluciones de carga de fármaco se prepararon en fosfato sódico 150 mM, a menos que se indique lo contrario.

25 Además de las formulaciones preparadas utilizando soluciones de lisina-ácido glutámico, también se prepararon LMV de blanco utilizando soluciones de lisina-ácido acético (tal como se resume en la Tabla 5, posteriormente). La Tabla 5 es un resumen de los componentes y resultados para las formulaciones de LMV-DCF cargadas remotamente utilizando lisina y ácido acético. También se investigó un LMV de blanco de bajo pH interno. El pH del LMV de blanco

era de tan sólo 2,1 unidades inferior al de la solución de carga. Se utilizó una concentración significativamente más baja de la solución de lisina-ácido acético (10-25 mM frente a 120-150 mM de acetato de calcio o sodio, tal como informa Hwang). Este enfoque de utilización de una concentración más baja de la solución de lisina-ácido acético condujo a la carga de AINE mediante la utilización de un ácido permeable en membranas, tal como ácido acético. La recuperación en formulaciones de LMV-AINE fue más elevada en solución con un pH más elevado, tal como se ejemplifica a continuación, en la Tabla 5.

Tabla 5. Partículas de LMV-CDF cargadas remotamente utilizando lisina y ácido acético.

| | Componente | Formulación nº 15 | Formulación nº 16 | Formulación nº 17 |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Partículas de blanco | Lisina (mM) | 25 | 25 | 25 |
| | Ácido acético (mM) | 20 | 20 | 20 |
| | pH interno de partícula | 4,7 | 7,7 | 8,7 |
| Solución de carga de DCF | DCF-Na (mg/ml) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| | NaPO ₄ (mM) | 150 | 150 | 150 |
| | pH | 6,9 | 6,9 | 6,9 |
| | gradiente de pH (interno:externo) | -2,2 | 0,8 | 1,8 |
| Solución de lípidos | Tricaprilina (mM) | 10 | 10 | 10 |
| | Colesterol (mM) | 25 | 25 | 25 |
| | DPPG-Na ⁺ (mM) | 5,6 | 5,6 | 5,6 |
| | DEPC (mM) | 26,4 | 26,4 | 26,4 |
| Segunda solución acuosa | Lisina (mM) | 45 | 45 | 45 |
| | Ácido acético (mM) | 20 | 20 | 20 |
| | Sorbitol (%) | 4,2 | 4,2 | 4,2 |
| | pH | 9,2 | 9,2 | 9,2 |
| | Osmolalidad, mOsm/kg | 301 | 301 | 301 |
| Solución de lavado/almacenamiento | Lisina (mM) | 20 | 20 | 20 |
| | Ácido acético (mM) | 40 | 20 | 20 |
| | pH | 4,6 | 7,0 | 8,7 |
| | Osmolaridad (mOsm/kg) | 288 | 288 | 290 |
| Producto final | Recuperación de DCF (%) | 36 | 74 | 71 |
| | Potencia total (mg/ml) | 0,34 | 0,70 | 0,67 |
| | % de AINE libre | 5,1 | 4,5 | 3,5 |
| | PPV% | 45,1 | 46,5 | 46,5 |

10

Ejemplo 2. Carga directa (comparativo respecto a las reivindicaciones)

Las formulaciones de LMV-AINE de carga directa se prepararon de la manera siguiente: Se produjeron LMV que contenían un AINE, mediante los métodos tradicionales de carga directa, en los que el fármaco activo (AINE) se disuelve en la primera solución acuosa y después se encapsula tal como se indica en Hartouian et al. (documento nº WO99/25319 (PCT/US98/2426), publicado el 27 de mayo, 1999 y documento nº US 2002-0039596, publicado el 4 de abril, 2002). Tal como se muestra en la Tabla 6, este enfoque rindió partículas de LMV con AINE encapsulado a eficiencias bajas o nada en absoluto.

20

Tabla 6. Carga directa de AINE en LMV.

| Fármaco | Formulación | 1a solución acuosa | Composición de lípidos (PC) | Potencia (mg/ml) | % de recuperación |
|---------|-------------|--|-----------------------------|------------------|--------------------|
| PRX | N | PRX 2 mg/ml en LysGlut 70 mM, pH 8,3 | DEPC | 0,021 | 2 |
| DCF | O | DCF 10 mg/ml en MegluminaPO ₄ 50 mM, pH 7,5 | DOPC | 0 | fallo ^a |
| DCF | P | DCF 4 mg/ml en megluminaPO ₄ 50 mM, pH 7,5 | DOPC/DEPC | 0 | fallo ^a |
| DCF | Q | DCF 1 mg/ml en PBS 20 mM, pH 6,5 | DOPC/DEPC | 0 | 0 |
| DCF | R | DCF*Na 1mg/ml en ArgininaGlut 293 mM, 3% HBP-CD, pH 9 | DOPC | 0 | fallo ^a |
| DCF | S | DCF*Na 0,2 mg/ml en LysGlut 149 mM, pH 8,5 | DEPC | 0 | 0 |
| DCF | T | DCF*Na 1 mg/ml en LysGlut 149 mM, pH 8,5 | DEPC | 0 | 0 |
| DCF | U | DCF*Na 1 mg/ml en LysGlut 100 mM, 20% HBP-CD, pH 9 | DEPC | 0,032 | <6 |

^aFallo indica que las partículas de LMV no estaban formadas o estaban extremadamente agregadas.

También se produjeron LMV que contenían DCF introduciendo AINE en la solución de lípidos sola (a concentraciones hasta la solubilidad en el solvente) o partes del AINE tanto en la primera solución acuosa como en la solución de lípidos (ver la Tabla 7, a continuación). Este enfoque resultó útil para la preparación de LMV, produciendo con frecuencia concentraciones finales de AINE de entre 0,1 y 1 mg/ml.

Tabla 7. Partición de DCF a partir de la solución de lípidos (o fases lipídica y acuosa) en LMV.

| Fármaco | Formulación | 1a solución acuosa ± DCF | Conc. de DCF (mg/ml) en solución de lípidos | Potencia (mg/ml) | % de recuperación |
|---------|-------------|--|---|------------------|-------------------|
| DCF | V | LisinaGlutamato 148 mM, pH 8,5 | DCF-A 2 mg/ml en solución de lípidos DEPC | 0 | 0 |
| DCF | W | LisinaGlutamato 148 mM, pH 8,5 | DCF-A 8 mg/ml en solución de lípidos DEPC | 0,04 | 1,1 |
| DCF | X | LisinaGlutamato 149 mM, pH 8,5 | DCF-A 20 mg/ml en solución de lípidos DEPC | 0,14 | 1,2 |
| DCF | Y | LisinaGlutamato 148 mM, pH 8,5 | DCF-A 16 mg/ml en solución de lípidos DEPC | 0,18 | 2,9 |
| DCF | Z | DCF*Na 0,5 mg/ml en LisinaGlutamato 148 mM, pH 8,5 | DCF-A 16 mg/ml en solución de lípidos DEPC | 0,18 | 2,8 |
| DCF | AA | DCF ácido libre (DCF-A) en lisina 26 mM, pH 9,1 | DCF-A 20 mg/ml en solución de lípidos DEPC | 0,22 | 1,5 |
| DCF | BB | DCF-A 3,8 mg/ml en LisinaGlutamato 29 mM, pH 9 | DCF-A 20 mg/ml en solución de lípidos DEPC | 0,78 | 6,6 |

10 Ejemplo 3. Estabilidad.

La estabilidad de las formulaciones de LMV-AINE instantáneas (almacenadas en viales de vidrio borosilicato de tipo I, selladas con tapones de butilo gris con cara de ETFE) resulta aceptable según los estándares industriales. Los datos de estabilidad para las formulaciones en las Tablas 1 y 2, anteriormente, se muestran en las Tablas 8 y 9, posteriormente. Las propiedades evaluadas incluían el contenido de fármaco ("Total") y el porcentaje de fármaco no encapsulado (% libre) mediante métodos de RP-HPLC, volumen empaquetado de partícula (VEP), que se evalúa de una manera análoga al hematocrito, y tamaño de partícula, que se evalúa mediante dispersión de luz láser. A las temperaturas de refrigeración (5°C) no se observaron cambios significativos durante 3 meses.

20

Tabla 8. Estabilidad de almacenamiento de LMV-DCF a 5°C.

| Formulación | Breve descripción de componentes | Rendimiento | Tiempo de incubación (d) | [DCF] total (mg/ml) | % de VEP | % Libre DCF | d10 | d50 | d90 | Sup. pH | pH Int. |
|------------------|---|-------------|--------------------------|---------------------|----------|-------------|-----|------|------|---------|---------|
| Formulación nº 5 | (10%HPB-CD, pH 9,0) 115:58 Lisina:Ácido glut. | 17,2 | 0 | 5,82 | 47,2 | 2,58 | 6,4 | 11,9 | 21,0 | 6,8 | 8,38 |
| | | | 30 | 5,74 | 43,0 | 6,01 | 6,6 | 13,0 | 24,0 | 7,53 | 8,34 |
| | | | 97 | 5,91 | 42,9 | --- | --- | --- | --- | --- | 7,15 |
| Formulación nº 6 | (15% HPB-CD, pH 9,0) 78:39 Lisina: Ácido glut. | 26,0 | 0 | 4,90 | 47,9 | 1,92 | 5,6 | 10,6 | 18,9 | 6,75 | 8,15 |
| | | | 30 | 4,60 | 41,0 | 3,87 | 5,7 | 11,0 | 19,6 | 7,28 | 8,08 |
| | | | 97 | 5,10 | 45,0 | 2,78 | --- | --- | --- | --- | 7,45 |
| Formulación nº 7 | (13% HPB-CD, pH 9,0) 94:47 Lisina: Ácido glut. | 28,8 | 0 | 5,39 | 46,5 | 1,60 | 5,6 | 11,0 | 19,6 | 6,64 | 8,20 |
| | | | 30 | 5,26 | 42,0 | 4,24 | 5,7 | 10,9 | 19,4 | 7,45 | 8,21 |
| | | | 97 | 5,65 | 44,3 | 2,99 | --- | --- | --- | --- | 7,09 |
| Formulación nº 8 | (13% HPB-CD, pH 9,2) 99:40 Lisina: Ácido glut. | 61,3 | 0 | 6,90 | 46,5 | 0,83 | 6,6 | 13,0 | 24,3 | 6,50 | 8,21 |
| | | | 30 | 6,69 | 42,0 | 4,73 | 6,5 | 12,2 | 21,4 | 7,44 | 8,32 |
| | | | 97 | 6,86 | 43,6 | 3,93 | --- | --- | --- | --- | 6,95 |

Tabla 9. Estabilidad de almacenamiento de LMV-PRX a 5°C.

| Formulación | Breve descripción | Rendimiento | Temp. de incubación | Tiempo de incubación (d) | [PRX] total (mg/ml) | % VEP | % Libre PRX | Int. pH | d10 | d50 | d90 |
|------------------|-------------------------------------|-------------|---------------------|--------------------------|---------------------|-------|-------------|---------|------|------|------|
| Formulación nº 1 | de componentes (10% HPB-CD, pH 9,0) | 54,3% | 5°C | 0 | 4,94 | 54,2 | 0,42 | 8,27 | 6,4 | 13,2 | 25,5 |
| | 115:58 mM Lisina:Ácido glut. | | 5°C | 30 | 5,14 | 52,0 | 2,03 | 8,23 | 6,5 | 13,5 | 26,0 |
| | | | 5°C | 97 | 4,86 | 55,7 | 2,29 | 8,24 | --- | --- | --- |
| Formulación nº 2 | (Sólo tampón, pH 9,0) | 44,7% | 5°C | 0 | 3,91 | 54,9 | 1,22 | 8,69 | 11,8 | 20,4 | 34,1 |
| | 199:100mM Lisina:Ácido glut. | | 5°C | 30 | 4,06 | 48,0 | 5,56 | 8,69 | 12,3 | 21,1 | 35,3 |
| | | | 5°C | 97 | 3,78 | 52,1 | 6,06 | 8,69 | --- | --- | --- |
| Formulación nº 3 | (13% HPB-CD, pH 9,0) | 51,3% | 5°C | 0 | 4,60 | 53,5 | 0,37 | 8,14 | 6,3 | 12,7 | 24,1 |
| | 94:47mM Lisina:Ácido glut. | | 5°C | 30 | 4,79 | 51,0 | 2,15 | 8,09 | 6,5 | 13,0 | 24,8 |
| | | | 5°C | 97 | 4,44 | 52,9 | 2,93 | 8,10 | --- | --- | --- |
| Formulación nº 4 | (13% HPB-CD, pH 9,2) | 61,8% | 5°C | 0 | 5,45 | 52,8 | 0,36 | 8,32 | 6,1 | 12,3 | 23,5 |
| | 99:40mM Lisina:Ácido glut. | | 5°C | 30 | 5,73 | 50,0 | 2,20 | 8,30 | 6,2 | 12,4 | 23,5 |
| | | | 5°C | 97 | 5,62 | 52,1 | 1,92 | 8,28 | --- | --- | --- |

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de formulaciones de liposomas multivesiculares, comprendiendo el procedimiento:
 - 5 proporcionar una primera emulsión mediante la mezcla de una primera fase acuosa y una fase de solvente inmiscible en agua volátil, comprendiendo dicha fase de solvente por lo menos un lípido anfipático y por lo menos un lípido neutro,
 - mezclar y emulsionar dicha primera emulsión y una segunda fase acuosa para proporcionar una segunda emulsión, comprendiendo dicha segunda emulsión una fase acuosa continua,
 - 10 eliminar el solvente inmiscible en agua volátil de la segunda emulsión para formar una composición de partículas liposómicas multivesiculares de blanco, y
 - carga remota de uno o más fármacos antiinflamatorios no esteroideos ácidos en dichas liposomas multivesiculares, en el que se encuentra presente un gradiente de pH bajo fuera de las liposomas multivesiculares a pH alto dentro de los liposomas multivesiculares, impulsando el fármaco o fármacos antiinflamatorios no esteroideos ácidos hacia el interior de los liposomas multivesiculares, en el que el fármaco antiinflamatorio no esteroideo ácido se selecciona del grupo que consiste en diclofenac, piroxicam, meloxicam y ketorolac.
- 20 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que los liposomas multivesiculares comprenden un modificador del pH seleccionado del grupo que consiste en un ácido inorgánico, un ácido orgánico, una base orgánica y una base inorgánica; por ejemplo, el modificador del pH se selecciona de lisina o ácido glutámico, o una combinación de los mismos, o por ejemplo, el ácido glutámico se ajusta a un pH de 4,7 a 9,2.
- 25 3. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el fármaco antiinflamatorio no esteroideo es el meloxicam.
4. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el gradiente es de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2 unidades de pH.
- 30 5. Formulación de liposomas multivesiculares obtenible mediante un procedimiento según la reivindicación 1.
6. Formulación de liposomas multivesiculares según la reivindicación 5, en la que los liposomas multivesiculares comprenden uno o más fosfolípidos, o sales de los fosfolípidos, o una combinación de los mismos, uno o más triglicéridos y colesterol; por ejemplo, el fosfolípido es una fosfatidilcolina o sales de la misma, un fosfatidilglicerol o sales del mismo, o combinaciones del mismo, o por ejemplo, el triglicérido es trioleína, tricaprilina o una combinación de los dos, o por ejemplo, el fosfatidilglicerol es DPPG, o por ejemplo, la fosfatidilcolina es DEPC.
- 35 7. Formulación de liposomas multivesiculares según la reivindicación 5, en la que los liposomas multivesiculares comprenden además una ciclodextrina, por ejemplo la ciclodextrina se encuentra a una concentración de entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 400 mg/ml formando complejo con el fármaco antiinflamatorio no esteroideo ácido dentro de los liposomas multivesiculares, y opcionalmente dicha ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en (2,6-Di-O-) etil- β -ciclodextrina, sal sódica de (2-carboxietil)- β -ciclodextrina, (2-hidroxi-etil)- β -ciclodextrina, (2-hidroxi-propil)- α -ciclodextrina, sulfobutiléter- β -ciclodextrina, (2-hidroxi-propil)- β -ciclodextrina, 6-monodesoxi-6-monoamino- β -ciclodextrina, 6-O- α -maltosil- β -ciclodextrina, butil- β -ciclodextrina, butil- γ -ciclodextrina, carboximetil- β -ciclodextrina, metil- β -ciclodextrina, succinil- α -ciclodextrina, succinil- β -ciclodextrina, triacetil- β -ciclodextrina, α -ciclodextrina, β -ciclodextrina y γ -ciclodextrina.
- 40 8. Formulación de liposomas multivesiculares según la reivindicación 5 para la utilización en el tratamiento del dolor y la inflamación.
9. Formulación de liposomas multivesiculares para la utilización según la reivindicación 8, en la que dicha formulación de liposomas multivesiculares comprende un portador farmacéuticamente aceptable para la inyección; por ejemplo, dicha inyección es inyección subcutánea, o por ejemplo, dicha inyección es inyección intramuscular, o por ejemplo, dicha inyección es inyección intraarticular, o por ejemplo, dicha inyección es infiltración en una herida mediante inyección local en un borde de una herida, o instilación en una herida por incisión, o una combinación de las mismas.
- 55 10. Formulación de liposomas multivesiculares para la utilización según la reivindicación 8 en el tratamiento del dolor y la inflamación durante un periodo de tiempo prolongado mediante infiltración en una herida, que comprende la administración de dicha formulación mediante inyección local en el borde de una herida, o la instilación en una herida por incisión, o una combinación de las mismas.