

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 793 905**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06	(2006.01)	A61K 9/16	(2006.01)
A61K 9/50	(2006.01)		
A61K 9/51	(2006.01)		
A61K 31/137	(2006.01)		
A61K 31/167	(2006.01)		
A61K 31/40	(2006.01)		
A61K 31/4704	(2006.01)		
A61K 31/573	(2006.01)		
A61K 9/00	(2006.01)		
A61K 9/14	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.09.2015 PCT/EP2015/070660**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2016 WO16038116**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2015 E 15762595 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2020 EP 3191081**

54 Título: **Formulación que comprende glicopirrolato, método y aparato**

30 Prioridad:

09.09.2014 EP 14184164

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

17.11.2020

73 Titular/es:

**VECTURA LIMITED (100.0%)
1 Prospect West
Chippenham, Wiltshire SN14 6FH, GB**

72 Inventor/es:

MANFORD, FERGUS

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 793 905 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 que comprende glicopirrolato, método y aparato

Introducción

5 La presente invención se refiere a procesos mejorados para preparar formulaciones en polvo seco inhalables de glicopirrolato como se define por las reivindicaciones.

Antecedentes

10 El glicopirrolato es un agente antimuscarínico que es útil en el tratamiento de afecciones tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis quística (FQ) y enfermedades de las vías respiratorias relacionadas. El glicopirrolato también es útil como un agente reductor de la frecuencia cardíaca cuando se administra por inhalación a pacientes, en particular pacientes con afecciones tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis quística (FQ) y enfermedades de las vías respiratorias relacionadas. Se conoce proporcionar formulaciones de glicopirrolato en forma de formulaciones en polvo seco, para administración usando inhaladores de polvo seco. Frecuentemente se usan sales de glicopirrolato, tales como bromuro de glicopirronio.

15 El glicopirrolato está comercialmente disponible o se puede preparar usando el método descrito en la patente de Estados Unidos 2956062. La configuración más físicamente estable es cuando las partículas son cristalinas y contienen algunas regiones amorfas sobre sus superficies.

Se ha encontrado que el glicopirrolato tiene un problema agudo con respecto a su estabilidad, especialmente inmediatamente tras un proceso de micronización convencional.

20 La micronización del glicopirrolato implica la molienda de un polvo fuente relativamente grueso en un sistema que implica múltiples colisiones de alta velocidad o de alta energía. Normalmente, los polvos fuente de glicopirrolato no micronizado existirán en tamaños de partículas sustancialmente superiores a 10 μm , con distribuciones típicas que se parecen a $D_{10} > 10 \mu\text{m}$, $D_{50} > 90$, $D_{90} > 250 \mu\text{m}$. El objetivo primario del proceso de micronización es reducir el tamaño de partículas primarias a un tamaño que sea lo suficientemente pequeño para administrar a las vías respiratorias. Por ejemplo, se conoce que un tamaño adecuado puede ser donde la mayoría de las partículas como se mide en masa o volumen entran dentro del intervalo inhalable de 0,1 μm a 10 μm , preferentemente 0,1 μm a 6 μm o más preferentemente 0,5 μm a 5 μm .

25 Las múltiples colisiones que ocurren con la micronización de alta velocidad o alta energía proporcionan la acción de molienda que se requiere para romper las partículas hasta el tamaño apropiado. También se conoce bien que dicha acción de molienda también puede inducir la generación de material no cristalino, especialmente sobre la superficie de las partículas donde las partículas han colisionado o entre sí como en el caso de la molienda con chorro, o con el medio de molienda como en el caso de la molienda con bolas, o con la máquina de molienda como en el caso de la molienda con cuchillas. Dicho material no cristalino puede ser material amorfo.

30 La presencia de regiones no cristalinas o amorfas en el material de glicopirrolato puede conducir a inestabilidad física significativa.

35 La solicitud de patente internacional WO2001076575 desvela una composición farmacéutica para administración pulmonar que comprende glicopirrolato en una formulación de liberación controlada, en donde, tras la administración, el glicopirrolato ejerce su efecto farmacológico durante un periodo superior a 12 horas.

40 La publicación de EE. UU. número US 2014/0080890 desvela glicopirrolato para su uso como un agente reductor de la frecuencia cardíaca y más particularmente, pero no exclusivamente, para su uso en pacientes que padecen afecciones respiratorias tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Desvela la realización de micronización a elevada humedad relativa (HR) para reducir la formación de material amorfo.

La solicitud de patente internacional WO2005105043 desvela composiciones de polvo seco que presentan estabilidad mejorada con el tiempo, y métodos de producción de las mismas.

45 La solicitud de patente internacional WO2008000482 desvela un proceso de preparación de formulaciones en polvo seco de una sal de glicopirronio para inhalación que tienen buena estabilidad. El proceso implica (a) micronizar una sal de glicopirronio junto con un agente antiadherente, y (b) mezclar las partículas de vehículo para formar la formulación en polvo seco.

50 La solicitud de patente internacional WO2008000482 desvela un proceso de reducción de la tendencia de un principio activo a la agregación y/o aglomeración durante el almacenamiento. El proceso implica micronizar el principio activo dando un tamaño medio de partículas inferior a aproximadamente 10 μm , y exponer el principio activo micronizado a un entorno seco a una temperatura elevada entre 40 $^{\circ}\text{C}$ y 120 $^{\circ}\text{C}$ durante al menos seis horas.

También se ha sugerido que realizar la micronización con aire humidificado u otro gas puede ayudar a reducir la generación de materiales amorfos. Tanto el documento WO1999054048 como WO2000032165 desvelan que la

molienda de partículas cristalinas, especialmente polvos de medicamento previstos para administración por inhalación a elevada humedad, puede reducir la generación de material amorfo. El documento de patente WO2000032313 desvela la molienda de material altamente cristalino, ejemplificado con acetónido de triamcinolona a temperatura reducida usando helio o una mezcla de helio y otro gas para reducir la formación de material amorfo.

5 Sumario de la invención

La presente solicitud enseña un método de preparación de formulación en polvo seco, comprendiendo el método la molienda conjunta por chorro de glicopirrolato sin micronizar y estearato de magnesio con gas que tiene una humedad inferior a 20 % de humedad relativa para producir partículas compuestas micronizadas, en donde las partículas compuestas micronizadas se someten entonces a una etapa de acondicionamiento que incluye la exposición de las partículas compuestas micronizadas a humedad a temperaturas entre 5 °C y 88 °C durante al menos 60 minutos como se define por las reivindicaciones.

En otra realización de la presente invención, se desvela un método de preparación de una formulación en polvo seco, como se define por las reivindicaciones, comprendiendo el método la molienda conjunta por chorro de glicopirrolato sin micronizar y

estearato de magnesio con gas de molienda desecado que tiene una humedad inferior a 20 % de HR para producir partículas compuestas micronizadas, en donde las partículas compuestas micronizadas se someten entonces a una etapa de acondicionamiento que incluye la exposición de las partículas compuestas micronizadas a humedad a temperaturas entre 5 °C y 88 °C durante al menos 60 minutos.

En otra realización de la presente invención, se desvela un método de preparación de una formulación en polvo seco, como se define por las reivindicaciones,

comprendiendo el método la molienda conjunta por chorro de glicopirrolato sin micronizar y estearato de magnesio con gas de molienda desecado que tiene una humedad inferior a 20 % de HR para producir partículas compuestas micronizadas, en donde las partículas compuestas micronizadas se someten entonces a una etapa de acondicionamiento que incluye la exposición de las partículas compuestas micronizadas a humedad a temperaturas entre 5 °C y 88 °C durante al menos 90 minutos.

En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde el acondicionamiento se inicia en el plazo de 30 minutos desde que se completó la molienda, en el plazo de 25 minutos, en el plazo de 20 minutos, en el plazo de 15 minutos, preferentemente en el plazo de 10 minutos, más preferentemente en el plazo de 5 minutos, lo más preferentemente el acondicionamiento se inicia inmediatamente después de completarse la molienda conjunta por chorro del glicopirrolato y el estearato de magnesio.

En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde la fracción de la formulación molida por chorro conjunta acondicionada que es mayor que 10 µm es inferior a 20 % en volumen o masa, preferentemente en donde la fracción que es mayor que 10 µm es inferior a 15 % en volumen o masa, más preferentemente en donde la fracción que es mayor que 10 µm es inferior a 10 % en volumen o masa, o más preferentemente en donde la fracción que es mayor que 10 µm es inferior a 5 % en volumen o masa, inmediatamente después de la molienda conjunta por chorro y después del proceso de acondicionamiento como se determina adecuadamente por un Mastersizer de Malvern o equipo de difracción láser similar.

En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde el estearato de magnesio se muele conjuntamente por chorro con glicopirrolato en una cantidad de desde 1 hasta 25 % (p/p), más preferentemente desde 2 hasta 20 % (p/p), más preferentemente 3 a 15 % (p/p), más preferentemente 4 a 10 % (p/p) pero lo más preferentemente desde 5 hasta 7,5 % (p/p) en peso de la combinación molida por chorro conjunta de glicopirrolato y estearato de magnesio.

La humedad de acondicionamiento está en el intervalo de 10 %-95 % de HR, preferentemente 30-90 % de HR, 45-90 % de HR o 50-88 % de HR o más preferentemente 60-87 % de HR.

En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde el acondicionamiento comprende además someter las partículas compuestas micronizadas a una atmósfera de ventilación que tiene HR en el intervalo de 10 %-95 % de HR, preferentemente 30-90 % de HR, 45-90 % de HR o 50-88 % de HR o más preferentemente 60-87 %, preferentemente en donde la atmósfera es aire, en donde la atmósfera de ventilación pasa por encima y a través de las partículas compuestas micronizadas a una tasa de inferior a 100 cm³/s, inferior a 10 cm³/s, inferior a 5 cm³/s, inferior a 2 cm³/s, inferior a 1 cm³/s, preferentemente inferior a 0,8 cm³/s, preferentemente inferior a 0,6 cm³/s, preferentemente inferior a 0,4 cm³/s, preferentemente inferior a 0,2 cm³/s, preferentemente inferior a 0,1 cm³/s, más preferentemente aproximadamente 0,001 cm³/s, en donde la relación volumétrica entre la atmósfera de ventilación y el polvo a granel vertido es superior a 1: 1, preferentemente superior a superior a 10: 1, preferentemente superior a superior a 100: 1, preferentemente superior a superior a 1.000:1, preferentemente superior a 10.000:1, preferentemente superior a 100.000:1, preferentemente superior a 1.000.000:1, más preferentemente superior a 10.000.000:1.

- 5 En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde la etapa de acondicionamiento se lleva a cabo durante al menos 30 minutos, preferentemente durante al menos 60 minutos, preferentemente durante al menos 1,5 horas, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 12 horas, al menos 18 horas, preferentemente al menos 24 horas, preferentemente durante al menos 36 horas o más preferentemente durante al menos 48 horas.
- 10 En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde la etapa de acondicionamiento incluye exponer las partículas compuestas micronizadas a una temperatura en el intervalo desde 10 °C hasta 50 °C, más preferentemente 24 °C a 50 °C.
- 15 En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde la etapa de acondicionamiento tiene lugar distribuyendo las partículas compuestas micronizadas sobre una superficie, opcionalmente en donde la etapa de acondicionamiento tiene lugar en una bandeja.
- En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde la etapa de acondicionamiento implica exponer las partículas compuestas micronizadas a la humedad durante un tiempo suficiente para que el glicopirrolato amorfo recristalice después de la molienda conjunta por chorro, como se ha determinado por sorción dinámica de vapor (DVS).
- 20 En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde la etapa de acondicionamiento implica la agitación del polvo, opcionalmente en donde la agitación es agitación intermitente del polvo, en donde la agitación del polvo tiene lugar en el plazo de 30 minutos desde que se completó la molienda, en el plazo de 25 minutos, en el plazo de 20 minutos, en el plazo de 15 minutos, preferentemente en el plazo de 10 minutos, más preferentemente en el plazo de 5 minutos, lo más preferentemente inmediatamente después de completarse la molienda del glicopirrolato y el estearato de magnesio.
- 25 En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde el gas de molienda tiene una humedad preferentemente inferior a 15 % de HR, preferentemente inferior a 10 % de HR, preferentemente inferior a 5 % de HR, más preferentemente inferior a 2,5 % de HR.
- En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde el gas de molienda es preferentemente aire, nitrógeno o helio, o combinación de los mismos.
- 30 En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde la molienda conjunta por chorro se lleva a cabo a una tasa de alimentación promedio de polvo de entre 0,1 y 50 g/min, preferentemente a una tasa de alimentación de entre 0,5 y 40 g/min, preferentemente a una tasa de alimentación de entre 1 y 30 g/min, preferentemente a una tasa de alimentación de entre 1,5 y 25 g/min, preferentemente a una tasa de alimentación de entre 0,1 y 20 g/min, preferentemente a una tasa de alimentación de entre 0,5 y 15 g/min, preferentemente a una tasa de alimentación de entre 1 y 10 g/min, preferentemente a una tasa de alimentación de entre 1,5 y 5 g/min.
- 35 En otra realización de la presente invención, se desvela un método en donde la formulación comprende además un agonista de los adrenorreceptores beta-2, preferentemente en donde el agonista de los adrenorreceptores beta-2 es albuterol (salbutamol), metaproterenol, terbutalina, salmeterol fenoterol, procaterol, preferentemente formoterol, carmoterol y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, más preferentemente en donde el agonista de los adrenorreceptores beta-2 es maleato de (R)-5-[2-(5,6-dietil-indan-2-ilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona.

Figuras

- 40 La Figura 1 muestra la distribución del tamaño de partículas para glicopirrolato sin micronizar que se ha almacenado en condiciones cerradas, $D_{10} = 11,3 \mu\text{m}$, $D_{50} = 98,0 \mu\text{m}$, $D_{90} = 281 \mu\text{m}$. La fracción acumulada bajo $5 \mu\text{m}$ fue 4,68 %.
- La Figura 2 muestra la distribución del tamaño de partículas para glicopirrolato recién molido por chorro solo, la fracción acumulada bajo $5 \mu\text{m}$ fue 85,75 %.
- 45 La Figura 3 muestra la distribución del tamaño de partículas para glicopirrolato molido por chorro sin estearato de magnesio que se ha vaciado como una pila compacta de polvo y la pila de polvo se expuso a 40 °C a 75 % de HR durante 1 hora en una bandeja, previniendo así que el entorno de acondicionamiento alcanzara las partículas internas en la pila de polvo. La fracción acumulada bajo $5 \mu\text{m}$ fue 1,44 %.
- La Figura 4 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 1, glicopirrolato molido por chorro solo; $t = 0$ horas.
- 50 La Figura 5 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 1, glicopirrolato molido por chorro solo; acondicionada a 25 °C a 60 % de HR durante 49 horas, analizada 72 horas después de la micronización.

ES 2 793 905 T3

- La Figura 6 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 1, glicopirrolato molido por chorro solo; acondicionada a 25 °C a 60 % de HR durante 52 horas, analizada 72 horas después de la micronización, la fracción acumulada bajo 5 µm fue 62,22 %.
- 5 La Figura 7 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 1, glicopirrolato molido por chorro solo; acondicionada a 25 °C a 60 % de HR durante 71 horas, analizada 72 horas después de la micronización, la fracción acumulada bajo 5 µm fue 63,69 %.
- La Figura 8 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 2, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, t = 0 horas.
- 10 La Figura 9 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 2, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro; acondicionada a 25 °C a 60 % de HR durante 49 horas, analizada 72 horas después de la micronización conjunta.
- La Figura 10 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 2, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro; acondicionada a 25 °C a 60 % de HR durante 52 horas, analizada 72 horas después de la micronización conjunta, la fracción acumulada bajo 5 µm fue 88,66 %.
- 15 La Figura 11 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 2, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro; acondicionada a 25 °C a 60 % de HR durante 71 horas, analizada 72 horas después de la micronización conjunta, la fracción acumulada bajo 5 µm fue 89,54 %.
- La Figura 12 muestra una comparación de los valores de D₉₀ para la Formulación 1 y la Formulación 2 acondicionadas durante 5 minutos hasta 71 horas, todas las muestras se analizaron a 72 horas.
- 20 La Figura 13 muestra una comparación de los valores de D₅₀ para la Formulación 1 y la Formulación 2 acondicionadas durante 5 minutos hasta 71 horas, todas las muestras se analizaron a 72 horas.
- La Figura 14 muestra una comparación de los valores de D₅₀ para la Formulación 1 y la Formulación 2 acondicionadas durante 5 minutos hasta que 72 horas en donde el eje x muestra valores desde 45 minutos hasta 71 horas, todas las muestras se analizaron a 72 horas.
- 25 La Figura 15 muestra una comparación de los valores de D₁₀ para la Formulación 1 y la Formulación 2 acondicionadas durante 5 minutos hasta 71 horas, todas las muestras se analizaron a 72 horas.
- La Figura 16 muestra una comparación de los valores de D₁₀ para la Formulación 1 y la Formulación 2 acondicionadas durante 5 minutos hasta 71 horas, todas las muestras se analizaron a 72 horas en donde el eje x muestra valores desde 45 minutos hasta que 72 horas.
- 30 La Figura 17 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 3, glicopirrolato molido por chorro solo, t = 0 horas.
- La Figura 18 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 3, glicopirrolato molido por chorro solo; acondicionada a 50 °C a 50 % de HR durante 49 horas, analizada 49 horas después de la micronización conjunta.
- 35 La Figura 19 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 4, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, t = 0 horas.
- La Figura 20 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 4, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro; acondicionada a 50 °C a 50 % de HR durante 49 horas, analizada 49 horas después de la micronización conjunta.
- 40 La Figura 21 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 5, glicopirrolato molido por chorro solo.
- La Figura 22 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 5, glicopirrolato molido por chorro solo; acondicionada a 6 °C a 86 % de HR durante 49 horas, analizada 49 horas después de la micronización.
- 45 La Figura 23 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 6, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, t = 0 horas.
- La Figura 24 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 6, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro; acondicionado a 6 °C a 86 % de HR durante 49 horas, analizada 49 horas después de la micronización conjunta.

- La Figura 25 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 7, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro; acondicionada a 24 °C a 45 % de HR en una bandeja durante 72 horas, analizada 72 horas después de la micronización conjunta.
- 5 La Figura 26 muestra la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 8, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro; acondicionada a 24 °C a 45 % de HR en un vial de vidrio abierto durante 144 horas, analizada 144 horas después de la micronización conjunta.
- La Figura 27 muestra el trazado de DVS para la Formulación 1, glicopirrolato molido por chorro solo, el análisis comenzó inmediatamente después de la molienda por chorro. La presencia de múltiples picos es un indicador fiable de la presencia de material amorfo.
- 10 La Figura 28 muestra el trazado de DVS para la Formulación 1, glicopirrolato molido por chorro solo, acondicionada a 25 °C a 60 % de HR durante 49 horas, el análisis comenzó 49 horas después de la molienda por chorro. La ausencia de múltiples picos es un indicador fiable de la ausencia de material amorfo.
- La Figura 29 muestra el trazado de DVS para la Formulación 2, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, el análisis comenzó inmediatamente después de la molienda conjunta por chorro.
- 15 La Figura 30 muestra el trazado de DVS para la Formulación 2, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, acondicionada a 25 °C a 60 % de HR durante 49 horas, el análisis comenzó 49 horas después de la molienda conjunta por chorro.
- La Figura 31 muestra el trazado de DVS para la Formulación 4, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, acondicionada a 50 °C a 50 % de HR durante 49 horas, el análisis comenzó 49 horas después de la molienda conjunta por chorro.
- 20 La Figura 32 muestra el trazado de DVS para la Formulación 5, glicopirrolato molido por chorro solo, acondicionada a 6 °C a 86 % de HR durante 49 horas, el análisis comenzó 49 horas después de la molienda por chorro.
- La Figura 33 muestra el trazado de DVS para la Formulación 6, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, acondicionada a 6 °C a 86 % de HR durante 49 horas, el análisis comenzó 49 horas después de la molienda conjunta por chorro.
- 25 La Figura 34 muestra el trazado de DVS para la Formulación 7, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, acondicionada a 24 °C ± 3 °C a 45 % de HR ± 5 % de HR durante 72 horas, el análisis comenzó 72 horas después de la molienda conjunta por chorro.
- 30 La Figura 35 muestra el trazado de DVS para la Formulación 8, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, el análisis comenzó inmediatamente después de la molienda conjunta por chorro.
- La Figura 36 muestra el trazado de DVS para la Formulación 8, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, acondicionada a 24 °C ± 3 °C a 45 % de HR ± 5 % de HR durante 144 horas y se analizó 144 horas después de la micronización conjunta. La ausencia de múltiples picos es un indicador fiable de la ausencia de material amorfo.
- 35 La Figura 37 muestra el trazado de DVS para la Formulación 13a, glicopirrolato molido por chorro solo usando un gas de molienda que tiene humedad < 20 % de HR (2,8-3,5 % de HR) y se analizó inmediatamente después de la micronización.
- La Figura 38 muestra el trazado de DVS para la Formulación 13b, glicopirrolato molido por chorro solo usando un gas de molienda que tienen una elevada humedad (31,6 - 36,2 % de HR) y luego se analizó inmediatamente después de la micronización.
- 40 La Figura 39 muestra el trazado de DVS para la Formulación 13c, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro usando un gas de molienda que tiene una elevada humedad (32,4 - 37,1 % de HR) y luego se analizó inmediatamente después de la micronización conjunta.
- 45 La Figura 40 muestra el trazado de DVS para la Formulación 13d, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro usando un gas de molienda que tiene humedad < 20 % de HR (3,4-3,9 % de HR) y luego se analizó inmediatamente después de la micronización conjunta.
- La Figura 41 muestra una comparación de los valores de D₉₀ para las Formulaciones 13a-d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.
- 50 La Figura 42 muestra una comparación específica de los valores de D₉₀ para la Formulación 13b y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.

- La Figura 43 muestra una comparación específica de los valores de D_{90} para la Formulación 13c y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.
- La Figura 44 muestra una comparación de los valores de D_{50} para las Formulaciones 13a-d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.
- 5 La Figura 45 muestra una comparación específica de los valores de D_{50} para la Formulación 13b y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.
- La Figura 46 muestra una comparación específica de los valores de D_{50} para la Formulación 13c y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.
- 10 La Figura 47 muestra una comparación de los valores de D_{10} para las Formulaciones 13a-d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.
- La Figura 48 muestra una comparación específica de los valores de D_{10} para la Formulación 13b y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.
- La Figura 49 muestra una comparación específica de los valores de D_{10} para la Formulación 13c y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis seco de Malvern.
- 15 La Figura 50 muestra una comparación de los valores de D_{90} para las Formulaciones 13a-d analizadas usando el método de análisis húmedo de Malvern. El error del operario produjo la pérdida de la muestra de 10 minutos para la Formulación 13a.
- La Figura 51 muestra una comparación específica de los valores de D_{90} para la Formulación 13b y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis húmedo de Malvern.
- 20 La Figura 52 muestra una comparación específica de los valores de D_{90} para la Formulación 13c y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis húmedo de Malvern.
- La Figura 53 muestra una comparación de los valores de D_{50} para las Formulaciones 13a-d analizadas usando el método de análisis húmedo de Malvern. El error del operario produjo la pérdida de la muestra de 10 minutos para la Formulación 13a.
- 25 La Figura 54 muestra una comparación específica de los valores de D_{50} para la Formulación 13c y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis húmedo de Malvern.
- La Figura 55 muestra una comparación de los valores de D_{10} para las Formulaciones 13a-d analizadas usando el método de análisis húmedo de Malvern. El error del operario produjo la pérdida de la muestra de 10 minutos para la Formulación 13a.
- 30 La Figura 56 muestra una comparación específica de los valores de D_{10} para la Formulación 13c y la Formulación 13d analizadas usando el método de análisis húmedo de Malvern.
- La Figura 57 muestra el trazado de DVS para el material conjuntamente micronizado usado en las Formulaciones 14a y 14b, glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, el análisis de DVS comenzó inmediatamente después de la molienda conjunta por chorro.
- 35 La Figura 58 muestra una comparación de la fracción de partículas finas (% de FPF(ED) < 5 μm) para las Formulaciones 14a y 14b. Media \pm intervalo, n=3. FPF se evaluó inmediatamente, 24 horas y 1 semana después de la fabricación.
- La Figura 59 muestra una comparación de la fracción de partículas finas (% de FPF(ED) < 3 μm) para las Formulaciones 14a y 14b. Media \pm intervalo, n=3. FPF se evaluó inmediatamente, 24 horas y 1 semana después de la fabricación.
- 40

Descripción detallada de la invención

- En la presente invención los presentes inventores han determinado que la molienda de glicopirrolato con estearato de magnesio produce una distribución más útil del perfil del tamaño de partículas que moler glicopirrolato en ausencia de estearato de magnesio debido a que la formulación molida conjuntamente por chorro tiene una distribución del tamaño de partículas (PSD) con una porción superior a 10 μm que es inferior a 20 % en volumen o masa. La molienda conjunta por chorro de glicopirrolato con estearato de magnesio también produce una formulación inhalable con valores D_{10} , D_{50} y D_{90} adecuados (D_{50} < 10 μm), pero la molienda conjunta por chorro con estearato de magnesio reduce significativamente la fracción > 10 μm . Esto da como resultado una formulación de material compuesto en donde casi toda la formulación molida conjuntamente por chorro es inferior a 10 μm como se determina adecuadamente por un Mastersizer de Malvern o equipo de difracción láser similar. El posterior acondicionamiento del activo en presencia del
- 45
- 50

estearato de magnesio permite un perfil mejorado de la distribución del tamaño de partículas del tamaño de partículas del activo a mantener.

Sin desear quedar ligado a teoría, los presentes inventores consideran que la presencia del estearato de magnesio ayuda a reducir la fracción > 10 µm durante el proceso de molienda y entonces también ayuda a mantenerla durante el acondicionamiento, debido a que ayuda en la conversión de superficies amorfas físicamente inestables a superficies cristalinas físicamente estables y permite que el acondicionamiento actúe rápidamente sobre las partículas molidas de glicopirrolato.

(1) En primer lugar, el estearato de magnesio facilita un flujo de polvo más coherente en la cámara de molienda que promueve una acción de molienda más congruente. Una acción de molienda más eficiente garantiza que la energía de molienda sea capaz de actuar más uniformemente a través de todas las partículas en vez de una acción de molienda puntualizada como se observa cuando el polvo se introduce no uniformemente en la cámara de molienda. Por consiguiente, los tamaños de partículas son más pequeños para las formulaciones micronizadas conjuntamente con un estearato de magnesio, como se demuestra por los valores D₁₀, D₅₀ y D₉₀ ejemplificados a continuación. Además, las distribuciones del tamaño de partículas son más estrechas para las formulaciones micronizadas conjuntamente con estearato de magnesio, como se demuestra por los valores D₁₀, D₅₀ y D₉₀, especialmente cuando se calculan usando la ecuación del alcance:

$$Alcance = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{90}}$$

(2) En segundo lugar, el recubrimiento de estearato de magnesio sobre el glicopirrolato actúa de espaciador físico entre las partículas de glicopirrolato, permitiendo que el entorno de acondicionamiento permee el lecho de polvo de glicopirrolato más eficientemente que una formulación de glicopirrolato solo. Esta mayor eficiencia de permeación ayuda en la conversión de superficies amorfas físicamente inestables a superficies cristalinas físicamente estables, minimizando las apariciones cuando las partículas de glicopirrolato están en contacto entre sí,

(3) En tercer lugar, el estearato de magnesio puede cubrir regiones de material de glicopirrolato amorfo. Puesto que el estearato de magnesio está presente durante el proceso de micronización, es capaz de minimizar inmediatamente el contacto entre superficies amorfas en partículas vecinas cubriendo las superficies amorfas. Esto da como resultado una tendencia reducida para que las superficies amorfas se unan entre sí tras la recristalización como se mide por una fracción reducida > 10 µm. Puesto que las partículas son tan pequeñas, el entorno de acondicionamiento (por ejemplo, humedad y temperatura) es todavía capaz de permear por las parte no cubiertas, en particular la unión entre el glicopirrolato y el estearato de magnesio sobre la parte de glicopirrolato de material compuesto y facilitar la conversión de sus partes amorfas inestables para crear una partícula cristalina físicamente estable, y

(4) Finalmente, el entorno de molienda desecado, especialmente un entorno de molienda con una humedad inferior a 20 % de HR, suspende o retarda una inversión de las superficies amorfas de glicopirrolato físicamente inestables a superficies cristalinas físicamente estables de las partículas compuestas micronizadas, mientras están en la cámara de molienda y el recipiente de recogida asociado.

La reducción de la fracción de activo superior a 10 µm reduce el desperdicio de principio activo farmacéutico (API) debido a que de otro modo la fracción > 10 µm podría tener que ser físicamente retirada antes de la mezcla con otro API o excipiente.

El proceso de la invención proporciona un material de partida más predecible debido a que ya no existe una fracción > 10 µm apreciable. Además, la estabilidad conferida por el proceso de la invención garantiza que es menos probable desarrollar una fracción > 10 µm. Opcionalmente, este proceso mejorado retira la necesidad de procesamiento adicional antes de la mezcla con un vehículo, acelerando así la fabricación de la formulación.

Una posible ventaja adicional de la presente invención es que permite la administración de dosis incluso más pequeñas de las previamente usadas. La reducción de la dosis se hace posible por la administración más coherente y predecible del glicopirrolato, por ejemplo, a través de una fracción de partículas fina coherentemente mejorada (FPF(MD) o FPF(ED)) y dosis de partículas finas (FPD) en comparación con la observada a propósito de las formulaciones convencionales. Por consiguiente, mientras que la dosis dispensada es más pequeña, la cantidad de agente activo que se administra a las partes deseadas de las vías respiratorias es la misma, lográndose el mismo efecto terapéutico.

Molienda

Preferentemente, el glicopirrolato y el estearato de magnesio se mezclan previamente para dar una mezcla aproximadamente homogénea antes de molerse conjuntamente por chorro como se mide como un porcentaje del coeficiente de variación, como se conoce en la técnica, inferior a 25 %, preferentemente inferior a 20 %, más preferentemente inferior a 15 %.

Los términos "micronizar conjuntamente" y "moler conjuntamente por chorro" son sinónimos cuando se usan en el presente documento.

El equipo de mezcla adecuado para cualquier premezcla inicial del estearato de magnesio y el glicopirrolato incluye mezcladoras de volteo de bajo cizallamiento tales como una mezcladora de polvo Turbula® y mezcladoras de alto cizallamiento tales como una mezcladora de polvo MiPro® o una Diosna®.

La micronización reduce el tamaño de partículas del glicopirrolato hasta un tamaño que es adecuado para administración por inhalación. El diámetro de estas partículas inhalables es preferentemente inferior a 10 µm, preferentemente 0,1 µm a 10 µm, y preferentemente 0,1 µm a 6 µm, o más preferentemente 0,5 µm a 5 µm, como se mide en masa o volumen como se determina adecuadamente por un Mastersizer de Malvern o equipo de difracción láser similar. Es probable que las partículas que tienen diámetros superiores a aproximadamente 10 µm golpeen las paredes de la garganta y, en general, no lleguen al pulmón. Las partículas que tienen diámetros en el intervalo de aproximadamente 2 µm a aproximadamente 5 µm se depositarán, en general, en los bronquiolos respiratorios, mientras que es probable que las partículas más pequeñas que tienen diámetros en el intervalo de aproximadamente 0,5 µm a aproximadamente 2 µm se depositen en los alvéolos y sean absorbidas en la circulación sanguínea.

La molienda conjunta por chorro de glicopirrolato con estearato de magnesio reduce significativamente la tendencia del principio activo micronizado a formar agregados/ aglomerados > 10 µm inmediatamente después de la molienda. Cuando se muelen conjuntamente por chorro, las partículas de estearato de magnesio forman un recubrimiento de partículas físicamente fusionado y sobresaliente sobre las partículas de glicopirrolato, y crean espacios entre partículas entre las partículas de glicopirrolato. Se cree que estos espacios facilitan la permeación de la atmósfera de acondicionamiento en el lecho de polvo de glicopirrolato durante la etapa de acondicionamiento. La presencia de este recubrimiento se puede establecer por espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (EDX). La presencia de partículas de material compuesto se puede determinar aerosolizando una muestra de un inhalador en un impactador de próxima generación (NGI) a 90 L/min (equivalente a una caída de presión de 4 kPa). Se disponen lengüetas conductoras de carbono de recubrimiento doble directamente debajo de las boquillas de aire de las platinas 5, 6 y 7 del NGI para capturar las partículas de polvo más pequeñas. Las lengüetas adhesivas de recubrimiento doble previenen el movimiento de la lengüeta durante la evaluación de NGI, pero también son lo suficientemente pequeñas de manera que no se afecten adversamente las características generales del flujo de aire de la vía NGI. Una vez hechas, las lengüetas conductoras de carbono recubiertas de polvo se pueden transferir a montajes de especímenes de carbono de SEM, o similares. La muestra se puede visualizar usando SEM y EDX que buscan específicamente la localización conjunta de magnesio y bromo, en el caso de estearato de magnesio y bromuro de glicopirronio.

Cuando se completa la etapa de acondicionamiento, la fracción > 10 µm del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro y acondicionados conjuntamente sigue siendo adecuadamente inferior a 15 % en volumen o masa, más preferentemente inferior a 10 % en volumen o masa, o más preferentemente inferior a 5 % en volumen o masa después de 6 meses, 12 meses, 24 meses o 36 meses, adecuadamente después del envasado en un blíster o cápsula o inhalador cuando se almacena en condiciones ambiente, que se considera que son entre 20 y 26 °C; las humedades relativas dependen de la temperatura específica y la presión del sistema de interés, pero normalmente son 50 % y 60 %.

Cuando se completa la etapa de acondicionamiento, el alcance, como se ha definido anteriormente, del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro y acondicionados conjuntamente sigue siendo adecuadamente inferior a 150, más preferentemente inferior a 120, o más preferentemente inferior a 100. Preferentemente, el alcance del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro y acondicionados conjuntamente es inferior a 150, más preferentemente inferior a 120, más preferentemente inferior a 100, o más preferentemente inferior a 50 antes de la mezcla con las partículas de vehículo.

La molienda por chorro implica el suministro de gas, tal como nitrógeno, helio o aire a presiones en la región de aproximadamente 6 a 12 bares y las partículas a moler son arrastradas en el gas de alimentación. La operación de molienda por chorro ocurre cerca de la presión atmosférica, y tiene una duración de la molienda medida en milisegundos. La temperatura de salida final de la molienda por chorro es normalmente a aproximadamente temperatura ambiente (preferentemente 10 °C y 35 °C, más preferentemente 20 °C y 26 °C). El gas de molienda se introduce en el molino a aproximadamente temperatura ambiente, y sale del molino a aproximadamente la misma temperatura. Durante el proceso, sin embargo, el gas cambiará la temperatura significativamente a medida que sale de la boquilla supersónica (menor presión y temperatura) y posteriormente se calentará por la energía liberada en la operación de molienda por chorro. Preferentemente, la temperatura de molienda conjunta es superior a 0 °C.

Según el estado de la técnica, el documento de patente US 8.235.314 B2, por ejemplo, considera ventajoso realizar el proceso de micronización con gas humidificado (normalmente aire o nitrógeno) para producir las mejores partículas en términos de tamaño, estabilidad y otras propiedades valiosas. El estado de la técnica, y el documento de patente US 8.235.314 B2 en particular, consideraron ventajoso maximizar la cantidad de vapor de agua presente durante el proceso de micronización, sin producir condensado líquido.

A diferencia, los presentes inventores han encontrado que cuando se muele conjuntamente por chorro con estearato de magnesio es particularmente preferido adoptar diferentes parámetros de molienda. Una realización preferida es un

método que comprende la molienda conjunta por chorro de glicopirrolato sin micronizar y estearato de magnesio con un gas de molienda desecado, en particular el gas de molienda desecado que tiene HR reducida, preferentemente una humedad inferior a 20 % de HR, preferentemente inferior a 15 % de HR, preferentemente inferior a 10 % de HR, preferentemente inferior a 5 % de HR, más preferentemente inferior a 2,5 % de HR.

- 5 La etapa de acondicionamiento se lleva a cabo preferentemente antes de mezclar con cualquier partícula cargada de humedad, por ejemplo antes de la adición de lactosa o en particular alfa-lactosa monohidratada. Por tanto, el acondicionamiento se lleva a cabo en ausencia de lactosa o alfa-lactosa monohidratada. Si las partículas de glicopirrolato sin acondicionar o parcialmente acondicionadas se mezclan prematuramente con partículas cargadas de humedad, cualquier glicopirrolato amorfo puede volver a material cristalino mientras está en contacto con las partículas cargadas de humedad y se fusionan con estas otras partículas, formando aglomerados. Por consiguiente, el rendimiento de aerosol será inversamente afectado debido a que el tamaño de partículas habrá aumentado. Esto es particularmente problemático cuando las partículas cargadas de humedad incluyen el vehículo lactosa, por ejemplo alfa-lactosa monohidratada, debido a que el glicopirrolato seguirá unido al vehículo y entonces será tragado en vez de inhalado en las vías respiratorias.
- 10
- 15 En una realización preferida, el glicopirrolato cristalino se muele por chorro en un molino de chorro opuesto al lecho fluido Hosokawa Alpine® 100 AFG. Otro equipo de molienda por chorro adecuado incluye, por ejemplo, los molinos de chorro MC 44 IR Chrispro® Jet-Mill (Micromacinazione SA), Hosokawa's Alpine® AS-50, AS-100, AFG 140, AFG200, AFG280 y AFG400.

- Las tasas de alimentación de polvo de molienda conjunta por chorro para un molino de chorro de 50 mm de diámetro, por ejemplo un Hosokawa AS-50, se deben mantener bajas (preferentemente < 20 g/min) para garantizar un recubrimiento óptimo del glicopirrolato por el estearato de magnesio. Tasas de alimentación superiores a 20 g/min todavía logran el recubrimiento por el estearato de magnesio, pero serán inferiores a las últimas debido a que demasiado polvo pasa a través del molino para garantizar la suficiente energía aplicada a cada partícula para lograr el recubrimiento con estearato de magnesio deseado. Cuando se usan tasas de alimentación superiores a 20 g/min, se debe emplear el factor de acondicionamiento de polvo (vi) mencionado más adelante, opcionalmente con factores de acondicionamiento del polvo (i) - (viii). Las tasas de alimentación variarán dependiendo del tamaño del molino usado. Por consiguiente, los molinos de chorro con diámetros de 100 mm, por ejemplo un molino de chorro en espiral Hosokawa AS-100, serán capaces de acomodar tasas de alimentación más altas, normalmente < 50 g/min. La molienda por chorro se puede llevar a cabo a una tasa de alimentación promedio de polvo de preferentemente entre 0,1 y 50 g/min, preferentemente a una tasa de alimentación de entre 0,5 y 40 g/min, preferentemente entre 1 y 30 g/min, preferentemente entre 1,5 y 25 g/min, preferentemente entre 0,1 y 20 g/min, preferentemente entre 0,5 y 15 g/min, preferentemente entre 1 y 10 g/min, preferentemente entre 1,5 y 5 g/min.
- 20
- 25
- 30

- Las partículas micronizadas conjuntamente extraídas del proceso de micronización se pueden recoger y se pueden transportar a un recipiente de acondicionamiento adecuado, en el que se pueden usar los factores de acondicionamiento del polvo (i) - (viii) mencionados más adelante. En dicho sistema, las partículas se exponen todas preferentemente a la humedad durante un tiempo suficiente, como se detalló en el presente documento, tal como al menos 10 minutos. Preferentemente, todo el polvo permanece en el recipiente desde el principio hasta el final de este proceso.
- 35

- Según una realización preferida de la presente invención, la formulación en polvo seco que comprende glicopirrolato se prepara por la molienda conjunta por chorro con estearato de magnesio, luego se somete a cualquiera de las etapas de acondicionamiento de polvo (i) - (viii) mencionadas más adelante.
- 40

En una realización preferida, el glicopirrolato se mezcla con el estearato de magnesio dando una mezcla homogénea antes de molerse conjuntamente por chorro, entonces la mezcla se muele conjuntamente por chorro y luego se somete a una cualquiera de las etapas de acondicionamiento del polvo (i) - (viii) mencionadas más adelante.

- 45 Preferentemente, el glicopirrolato se muele conjuntamente por chorro con desde 1 hasta 25 % (p/p), más preferentemente desde 2 hasta 20 % (p/p), más preferentemente 3 a 15 % (p/p), más preferentemente 4 a 10 % (p/p), pero lo más preferentemente desde 5 hasta 7,5 % (p/p) de estearato de magnesio.

Donde sea necesario o útil, el glicopirrolato y/o el estearato de magnesio se tamizan antes de la molienda conjunta por chorro.

- 50 Acondicionamiento

Para producir una formulación mejorada, después de la micronización conjunta, el glicopirrolato y el estearato de magnesio se someten a variables de acondicionamiento que podrían incluir:

(i) Humedad relativa (HR)

- 55 La presente invención utiliza humedad para ayudar en el acondicionamiento del glicopirrolato. En una realización de la invención, el acondicionamiento implica exponer el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro a humedad dentro de los intervalos de humedad de 10 %-95 % de HR, preferentemente 40-90 % de HR,

45-90 % de HR o 50-88 % de HR o más preferentemente 60-87 %. En una realización preferida de la invención, la humedad de acondicionamiento es mayor que la humedad ambiente, preferentemente superior a 50 % de HR.

(ii) Temperatura

5 En una realización de la invención, la temperatura de acondicionamiento está preferentemente en el intervalo 5 °C a 88 °C, más preferentemente 10 °C a 50 °C, más preferentemente 24 °C a 50 °C.

10 La HR a estas temperaturas puede estar en el intervalo de 20 a 100 %, preferentemente 30 a 97 %, más preferentemente 40 a 95 %, más preferentemente 45 a 95 % y lo más preferentemente 50 a 90 %, adecuadamente siempre que el entorno de acondicionamiento se mantenga por encima de la temperatura del punto de rocío (T_d). La temperatura del punto de rocío es la temperatura a la que el vapor de agua en aire a presión barométrica constante condensa en agua líquida a la misma tasa a la que se evapora. A temperaturas inferiores al punto de rocío, el agua abandonará el aire y condensará sobre una superficie sólida disponible que es de temperatura adecuada. El agua condensada sobre el glicopirrolato micronizado debe ser cuidadosamente controlada y, por consiguiente, se deben elegir los parámetros de acondicionamiento seleccionados de temperatura y humedad para evitar este problema.

15 El acondicionamiento se puede proporcionar por condiciones ambiente o por armarios de estabilidad o por disoluciones de sal supersaturadas, todos los cuales se ejemplifican más adelante.

(iii) Superficie de acondicionamiento

20 En una realización de la invención, el polvo de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se dispone preferentemente en una bandeja o superficie equivalente. El intervalo más amplio de las condiciones implica que el polvo se agite o gire preferentemente para garantizar que todas las partículas están igualmente expuestas a la atmósfera de acondicionamiento. El giro o la agitación también ayuda a evitar o reducir la aglomeración de las partículas durante el proceso de acondicionamiento. Cuando se seleccionan entornos de acondicionamiento más energéticos para el acondicionamiento en una bandeja o superficie equivalente, la frecuencia de giro o agitación puede necesitar ser preferentemente cada algunos minutos, preferentemente cada algunos segundos o más preferentemente continua hasta la formación de un material estable, por ejemplo donde cualquier superficie amorfa del glicopirrolato micronizado vuelva a un estado cristalino, adecuadamente como se ha determinado por sorción dinámica de vapor.

25 El recipiente de acondicionamiento puede ser, por ejemplo, una bandeja, o una superficie adecuada para retener el polvo molido conjuntamente por chorro. Alternativamente, el recipiente de acondicionamiento puede ser una bolsa.

(iv) Duración

30 El acondicionamiento del polvo de glicopirrolato molido por chorro conjunto tiene lugar preferentemente durante un periodo de al menos aproximadamente 60 minutos, al menos aproximadamente 65 minutos, al menos aproximadamente 70 minutos, al menos aproximadamente 80 minutos, al menos aproximadamente 85 minutos, al menos aproximadamente 90 minutos, 2 horas, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 18, 24, 36 o al menos 48 horas. El intervalo más amplio implica un periodo de al menos aproximadamente 10 minutos. Se reitera que la duración del acondicionamiento requerido se afecta, en general, por la energía proporcionada por el entorno de acondicionamiento.

35 Los entornos de acondicionamiento altamente energéticos pueden dar como resultado una aparición más rápida de los cambios en el material que se acondiciona.

(v) Periodo para iniciar el acondicionamiento

40 En una realización preferida, el acondicionamiento se inicia en el plazo de 30 minutos desde que se completó la molienda, en el plazo de 25 minutos, en el plazo de 20 minutos, en el plazo de 15 minutos, preferentemente en el plazo de 10 minutos, más preferentemente en el plazo de 5 minutos, más preferentemente en el plazo de 2 minutos de completarse la molienda conjunta por chorro de glicopirrolato y antiadherente. El intervalo más amplio implica el acondicionamiento inmediatamente después de completarse la molienda conjunta por chorro del glicopirrolato y el antiadherente.

(vi) Asegurar que todas las partículas se exponen a la humedad

45 El recipiente de acondicionamiento debe permitir preferentemente la exposición de todas las partículas compuestas micronizadas a la humedad aplicada de la atmósfera de acondicionamiento. El polvo puede estar agitado o no agitado. Si el polvo no se agita, se debe colocar preferentemente en una bandeja o superficie amplia adecuada, y preferentemente se extiende uniformemente en una delgada capa sobre la bandeja asegurando que se minimice el contacto de las partículas. El intervalo más amplio de condiciones implica una superficie amplia adecuada.

50 (vii) Un lecho fluidizado

Como alternativa, el polvo de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se puede transferir a un sistema que crea un lecho fluidizado del polvo molido conjuntamente por chorro. Dichos sistemas se conocen en la técnica. Puede ser difícil de fluidizar el polvo molido conjuntamente por chorro y, por consiguiente, se añaden ventajosamente medios de

fluidización, tales como metal, plástico, vidrio o perlas cerámicas, normalmente con diámetros en el intervalo 100 µm a 5 mm.

Una técnica de aerosol en lecho fluidizado para este fin podría ser una como se describe por Morton et al. (J. Aerosol Science, Vol. 26, No. 3, p353 y referencias citadas en su interior).

- 5 En una realización preferida, el acondicionamiento tiene lugar usando una mezcladora de resonancia acústica (RAM), opcionalmente en donde el acondicionamiento del polvo se inicia en el plazo de 30 minutos desde que se completó la molienda, en el plazo de 25 minutos, en el plazo de 20 minutos, en el plazo de 15 minutos, preferentemente en el plazo de 10 minutos, más preferentemente en el plazo de 5 minutos, preferentemente en el plazo de 2 minutos o más preferentemente, y en el intervalo más amplio el acondicionamiento se inicia inmediatamente después de completarse la molienda conjunta por chorro del glicopirrolato y estearato de magnesio.

(viii) Ventilación

15 Inmediatamente después de la molienda conjunta por chorro, las muestras de glicopirrolato poseen numerosas regiones amorfas que contienen humedad extraída del entorno. Cuando las regiones de glicopirrolato amorfo vuelven al estado cristalino, la matriz de cristal extruye la humedad unida sobre la superficie de la partícula de glicopirrolato. Pequeños envases herméticamente sellados en donde la relación entre el volumen del espacio de cabeza (cm³) y el volumen de polvo a granel libremente compactado (cm³) es inferior a 1:1 se consideran condiciones no ventiladas. Las muestras de glicopirrolato que se almacenan en envases herméticamente sellados, viales de vidrio por ejemplo, son menos eficientes en liberar esta humedad en la atmósfera y queda sobre la superficie de la partícula. Esta humedad retenida es entonces capaz de interaccionar adversamente con las regiones amorfas en partículas vecinas de glicopirrolato y catalizar las inversiones adicionales de amorfo a cristalino. Esto es particularmente problemático cuando las partículas de glicopirrolato permanecen en contacto entre sí, mientras que las regiones amorfas experimentan inversión de amorfas a cristalinas debido a que las regiones amorfas sobre partículas forman entonces puentes sólidos a medida que cristalizan, los puentes sólidos dan como resultado aglomerados.

20 A diferencia, una atmósfera de acondicionamiento ventilada permite la retirada permanente de esta humedad superficial lejos de la superficie de la partícula después de que las regiones amorfas de glicopirrolato hayan experimentado inversión de amorfa a cristalina. Por consiguiente, existe humedad insuficiente para provocar una aglomeración significativa. La ventilación es el movimiento generalizado de atmósfera insaturada entre partículas estacionarias que comprenden el lecho del polvo.

25 Una realización preferida utiliza una atmósfera de ventilación para ayudar en el acondicionamiento del glicopirrolato molido conjuntamente por chorro. Se prefiere que el lecho de glicopirrolato polvo se someta a una atmósfera ventilada para garantizar la retirada permanente de humedad superficial del glicopirrolato molido conjuntamente por chorro. La atmósfera de ventilación está insaturada y siempre tiene la capacidad de absorber más humedad del lecho de polvo. Esta capacidad para absorber humedad se encuentra con una atmósfera de ventilación que tiene humedad relativa en el intervalo de 10 %-95 % de HR, preferentemente 30-90 % de HR, 45-90 % de HR o 50-88 % de HR o más preferentemente 60-87 %. El intervalo más amplio implica una atmósfera de ventilación que tiene humedad relativa en el intervalo de 20 %-95 % de HR.

30 En una realización preferida, el acondicionamiento implica exponer el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro a una atmósfera de ventilación, preferentemente en donde la atmósfera pasa por encima y a través de las partículas de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro. Preferentemente, la atmósfera de ventilación es aire; preferentemente, la atmósfera de ventilación es aire que tiene humedad relativa en el intervalo de 10 %-95 % de HR, preferentemente 30-90 % de HR, 45-90 % de HR o preferentemente 50-88 % de HR o más preferentemente 60-87 % de HR.

35 En una realización preferida, el acondicionamiento implica exponer el agente de glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro a una atmósfera de ventilación, preferentemente en donde la atmósfera de ventilación pasa por encima y a través del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro a una tasa inferior a 100 cm³/s, inferior a 10 cm³/s, inferior a 5 cm³/s, inferior a 2 cm³/s, inferior a 1 cm³/s, preferentemente inferior a 0,8 cm³/s, preferentemente inferior a 0,6 cm³/s, preferentemente inferior a 0,4 cm³/s, preferentemente inferior a 0,2 cm³/s, preferentemente inferior a 0,1 cm³/s, más preferentemente aproximadamente 0,001 cm³/s.

40 En una realización preferida, el acondicionamiento implica exponer el agente de glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro a una atmósfera de ventilación, preferentemente en donde la atmósfera de ventilación pasa por encima y a través del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro. La atmósfera de ventilación es más de lo necesario, por ejemplo, proporcionada por un gran volumen (> 0,5 m³), por ejemplo un caldo de control de polvo, de manera que la humedad liberada por el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro a la atmósfera de ventilación no altere la humedad relativa en más de 5 % de HR, preferentemente no más de 4 % de HR, preferentemente no más de 3 % de HR, preferentemente no más de 2 % de HR, preferentemente no más de aproximadamente 1 % de HR.

Durante el acondicionamiento, la atmósfera de ventilación puede experimentar suplementación parcial o completa.

- En una realización preferida, el acondicionamiento implica exponer el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro a una atmósfera de ventilación, preferentemente en donde la atmósfera de ventilación pasa por encima y a través del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro. Preferentemente, la relación volumétrica entre la atmósfera de ventilación (cm³) y el polvo a granel libremente compactado (cm³) es superior a 1:1, preferentemente superior a superior a 10:1, preferentemente superior a superior a 100:1, preferentemente superior a superior a 1.000:1, preferentemente superior a 10.000:1, preferentemente superior a 100.000:1, preferentemente superior a 1.000.000:1, más preferentemente superior a 10.000.000:1.
- Como indican los ejemplos tratados a continuación, una combinación de dos o más de estas medidas (i) a (viii) conduce a resultados aceptables.
- En una realización preferida para el acondicionamiento del glicopirrolato molido conjuntamente por chorro, los factores de acondicionamiento del polvo (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi), (vii) y (viii) anteriores se seleccionan todos para el acondicionamiento del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, usando los intervalos más amplios de condiciones, donde sea relevante.
- En una realización preferida para el acondicionamiento del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, los factores de acondicionamiento del polvo incluyen 60-87 % de HR, 24 °C a 50 °C, el polvo de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se dispone preferentemente sobre la superficie durante al menos aproximadamente 1 hora, en donde el recipiente de acondicionamiento debe permitir preferentemente la exposición de todo el polvo molido conjuntamente por chorro a la humedad aplicada de la atmósfera de acondicionamiento.
- Agente de control de la fuerza
- En una realización adicional más, el método para la fabricación de la formulación en polvo seco que comprende glicopirrolato comprende además un material aditivo adicional, tal como un denominado agente de control de la fuerza. Un agente de control de la fuerza es un agente que reduce la cohesión entre las partículas finas dentro de la formulación en polvo, promoviendo así la desaglomeración tras dispensar el polvo del inhalador de polvo seco. Agentes de control de la fuerza adecuados se desvelan en el documento WO1996023485 y consisten preferentemente en material fisiológicamente aceptable, a pesar del hecho que el material pueda no siempre llegar al pulmón.
- El agente de control de la fuerza puede comprender o consistir en uno o más compuestos seleccionados de aminoácidos y derivados de los mismos, y péptidos y derivados de los mismos, teniendo los péptidos preferentemente un peso molecular desde 0,25 hasta 1000 Kda. Los aminoácidos, péptidos y derivados de péptidos son fisiológicamente aceptables y dan liberación aceptable o desaglomeración de las partículas de material activo tras la inhalación. Donde el agente de control de la fuerza comprenda un aminoácido, puede ser uno o más de cualquiera de los siguientes aminoácidos: leucina, isoleucina, lisina, valina, metionina y fenilalanina. El agente de control de la fuerza puede ser una sal o un derivado de un aminoácido, por ejemplo aspartamo o acesulfamo K. También se pueden usar las formas D y DL de aminoácidos.
- Los agentes de control de la fuerza que son particularmente adecuados para su uso en la presente invención incluyen aminoácidos que incluyen leucina, lisina, arginina, histidina, cisteína y sus derivados, lecitina y fosfolípidos. La inclusión de estos agentes de control de la fuerza puede mejorar la eficacia del glicopirrolato para tratar trastornos respiratorios tales como EPOC, asma o FQ.
- Los agentes de control de la fuerza pueden incluir una o más sustancias solubles en agua. Esto ayuda a la absorción del agente de control de la fuerza por el cuerpo si llega al pulmón inferior. El agente de control de la fuerza puede incluir iones dipolares, que pueden ser iones bipolares. También es ventajoso incluir un agente de extensión como un agente de control de la fuerza, para ayudar con la dispersión de la composición en los pulmones.
- Los agentes de extensión adecuados incluyen tensioactivos tales como tensioactivos pulmonares conocidos (por ejemplo, ALEC, marca registrada) que comprenden fosfolípidos, por ejemplo, mezclas de DPPC (dipalmitoilfosfatidilcolina) y PG (fosfatidilglicerol). Otros tensioactivos adecuados incluyen, por ejemplo, dipalmitoilfosfatidiletanolamina (DPPE), dipalmitoilfosfatidilinositol (DPPI).
- El agente de control de la fuerza puede incluir o consistir en uno o más materiales tensioactivos, en particular materiales que son tensioactivos en el estado sólido, que pueden ser solubles en agua o dispersables en agua, por ejemplo lecitina, en particular lecitina de soja, o sustancialmente insolubles en agua, por ejemplo ácidos grasos en estado sólido, tales como ácido oleico, ácido láurico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido erúcido, ácido behénico, o derivados (tales como ésteres y sales) de los mismos tales como behenato de glicerilo. Los ejemplos específicos de dichos materiales son fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilgliceroles y otros ejemplos de tensioactivos de pulmón naturales y sintéticos; ácido láurico y sus sales, por ejemplo, laurilsulfato de sodio, laurilsulfato de magnesio; triglicéridos tales como Dynsan 118 y Cutina HR; y ésteres de azúcar en general. Alternativamente, el agente de control de la fuerza puede ser colesterol.
- Otros posibles agentes de control de la fuerza incluyen benzoato de sodio, aceites hidrogenados que son sólidos a temperatura ambiente, talco, dióxido de titanio, dióxido de aluminio, dióxido de silicio y almidón. También son útiles

como agentes de control de la fuerza los agentes formadores de película, ácidos grasos y sus derivados, así como lípidos y materiales de tipo lípido.

5 La inclusión de un material aditivo en la formulación en polvo seco puede conferir adecuadamente uno o más de los siguientes beneficios: potenciar la dispersabilidad del polvo; proteger la formulación de la entrada de humedad; potenciar la velocidad y reproducibilidad del proceso de acondicionamiento.

En una realización preferida, el estearato de magnesio se localiza adecuadamente sobre la superficie del glicopirrolato después de la molienda. Donde un material aditivo adicional esté presente, también se localiza adecuadamente sobre la superficie del glicopirrolato.

10 Los finos de lactosa también modifican la interacción entre las partículas de glicopirrolato y de vehículo que afectan el rendimiento de los aerosoles. En una realización, la formulación en polvo seco puede comprender lactosa fina que está en una cantidad de preferentemente $>3\%$ (p/p), más preferentemente $>5\%$ (p/p) más preferentemente $>8\%$ (p/p) de formulación que se encuentra en un blíster o cápsula u otro receptáculo de dispensación adecuado.

Almacenamiento de polvo

15 Se envasan adecuadamente formulaciones de glicopirrolato molidas conjuntamente por chorro para el almacenamiento y/o la administración y preferentemente son estables durante al menos 1, 2 o 3 años cuando se almacenan a temperaturas y humedades ambiente, es decir, las formulaciones envasadas o productos que comprenden las formulaciones no se tienen que almacenar en un entorno controlado para presentar la estabilidad deseada.

20 Según un aspecto, la formulación de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro es estable durante un periodo de al menos 6 meses, preferentemente al menos 1 año, más preferentemente un periodo de al menos 2 años y lo más preferentemente un periodo de al menos 3 años como se ha determinado por una fracción de partículas finas (FPF(MD)) ($< 5\ \mu\text{m}$), adecuadamente en donde la FPF no disminuye preferentemente en más de 20 %, preferentemente más de 15 %, preferentemente más de 10 % o más preferentemente en más de 5 % de la FPF presentada por la formulación molida conjuntamente por chorro recién fabricada.

25 En un aspecto, la formulación de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se puede dispersar coherentemente durante periodos de al menos 6 meses, preferentemente 1 año, preferentemente al menos 2 años o preferentemente al menos 3 años cuando se almacena a temperatura ambiente y humedad ambiente, que significa que la FPF no disminuye en preferentemente más de 20 %, preferentemente más de 15 %, preferentemente más de 10 % o más preferentemente en más de 5 % de la FPF presentada por la formulación recién envasada.

30 En un aspecto, la formulación de glicopirrolato molida conjuntamente por chorro tiene una distribución del tamaño de partículas coherente como se mide por, por ejemplo, Mastersizer de Malvern que significa que D_{90} no aumenta preferentemente en más de 20 %, preferentemente más de 15 %, preferentemente más de 10 % o más preferentemente en más de 5 % del D_{90} presentado por la formulación molida conjuntamente por chorro recién fabricada.

35 En un aspecto, la formulación de glicopirrolato molida conjuntamente por chorro tiene una FPF o FPD coherente con respecto al mismo periodo de tiempo, que significa que la FPF o FPD no disminuye preferentemente en más de 20 %, preferentemente más de 15 %, preferentemente más de 10 % o más preferentemente en más de 5 % de la FPF o FPD presentada por la formulación molida conjuntamente por chorro recién envasada.

40 En una realización, la formulación de glicopirrolato molida conjuntamente por chorro tiene una distribución del tamaño de partículas que tiene el perfil de $D_{10} < 10\ \mu\text{m}$, $D_{50} < 15$, $D_{90} < 30\ \mu\text{m}$, durante un periodo de al menos 6 meses, preferentemente 1 año, preferentemente al menos 2 años o preferentemente al menos 3 años después de que se haya completado el proceso de acondicionamiento, cuando se almacena a temperatura ambiente y humedad ambiente.

45 En una realización de la invención, la FPF ($< 5\ \mu\text{m}$) de la formulación de glicopirrolato molida conjuntamente por chorro es mayor que aproximadamente 30 % durante un periodo de al menos 6 meses, al menos 1 año, al menos 2 años o al menos 3 años cuando se almacena a temperatura ambiente y humedad ambiente.

En otra realización de la invención, la FPF ($< 5\ \mu\text{m}$) de la formulación de glicopirrolato molida conjuntamente por chorro es mayor que aproximadamente 40 % durante un periodo de al menos 1 año, al menos 2 años o al menos 3 años cuando se almacena a temperatura ambiente y humedad ambiente.

50 Preferentemente, la fracción de partículas finas FPF(MD) ($< 5\ \mu\text{m}$) de la formulación de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro es coherentemente superior a 30 % o superior a 40 % cuando las formulaciones de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro y acondicionado conjuntamente se almacenan en condiciones de ensayo estándar, tales como 25 °C/60 % de HR durante 1 año, 30 °C/60 % de HR durante 6 meses, o 40 °C/70 % de HR durante 3 meses o 40 °C/75 % de HR durante 3 meses. Estas condiciones de ensayo estándar se emplean
55 después de que se haya acondicionado y estabilizado el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro,

preferentemente en donde el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se ha acondicionado y formulado con lactosa y envasado en un recipiente adecuadamente para ser administrado de un inhalador.

Partículas de vehículo

5 Las formulaciones en polvo seco para inhalación en el tratamiento de enfermedades respiratorias se formulan, en general, mezclando un principio activo farmacéutico micronizado con partículas gruesas de vehículo para dar una mezcla ordenada. Las partículas de vehículo hacen el principio activo farmacéutico micronizado menos cohesivo y mejoran su fluidez. Esto hace que el polvo sea más fácil de manipular durante el proceso de fabricación. Las partículas activas micronizadas tienden a adherirse a la superficie de las partículas de vehículo cuando se almacenan en un dispositivo inhalador de polvo seco, pero se dispersan de las superficies de las partículas de vehículo tras la inhalación en las vías respiratorias dando un aerosol fino. Las partículas de vehículo más grandes impactan sobre la garganta debido a su inercia y son principalmente depositadas en la cavidad orofaríngea.

10 Una realización puede incluir partículas de vehículo que se mezclan con el glicopirrolato micronizado conjuntamente en una relación de desde 2000:1 hasta 5:1 en masa, especialmente desde 200:1 hasta 20:1 en masa. Las partículas de vehículo se pueden componer de cualquier material farmacológicamente inerte o combinación de materiales que sea aceptable para inhalación. Están adecuadamente compuestos de uno o más azúcares cristalinos que incluyen monosacáridos, disacáridos, polisacáridos y alcoholes de azúcar tales como arabinosa, glucosa, fructosa, ribosa, manosa, sacarosa, trehalosa, lactosa, maltosa, almidones, dextrano, manitol o sorbitol. Un vehículo especialmente preferido es lactosa, por ejemplo lactosa monohidratada o alfa-lactosa monohidratada o lactosa anhidra.

15 Preferentemente, sustancialmente todas (en peso o volumen) las partículas de vehículo tienen un diámetro de 20 a 1000 μm , más preferentemente 50 a 500 μm , pero especialmente 20 a 250 μm . El diámetro de sustancialmente todas (en peso) las partículas de vehículo es adecuadamente inferior a 355 μm . Esto proporciona buen flujo y características de arrastre y liberación mejorada de las partículas activas en las vías respiratorias para aumentar la deposición de partículas activas en el pulmón inferior.

20 Se entenderá que en toda esta memoria descriptiva el diámetro de las partículas denominado es el diámetro de las partículas como se determina adecuadamente por un Mastersizer de Malvern o equipo de difracción láser similar.

Principios activos adicionales

25 Las formulaciones preparadas por el método como se define por las reivindicaciones pueden incluir uno o más agentes activos adicionales, además del glicopirrolato. Clases adiciones especialmente preferidas de agentes activos pueden incluir agentes farmacéuticamente activos que se conocen por ser útiles en el tratamiento de trastornos respiratorios, tales como agonistas β_2 , esteroides, anticolinérgicos, inhibidores de fosfodiesterasa-4, agonistas A_{2a} , inhibidores de IL-13 y bloqueantes de calcio y similares. En una realización, la formulación de la presente invención no incluye formoterol.

30 En un aspecto adicional, el glicopirrolato y el agente antiadherente se micronizan juntos con al menos un principio activo adicional (preferentemente uno, dos o tres) para dar una combinación de dosis fija. Ese o cada principio activo adicional se selecciona preferentemente del grupo que consiste en principios activos antiinflamatorios, broncodilatadores, antihistamínicos, descongestionantes y antitusivos que son adecuados para administración por inhalación, por ejemplo, para el tratamiento de una enfermedad respiratoria.

35 Los agonistas de β_2 -adrenoceptores adecuados incluyen albuterol (salbutamol), metaproterenol, terbutalina, salmeterol, fenoterol, indacaterol, procaterol, y especialmente, formoterol, carmoterol, TA-2005, GSK159797 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

40 En un aspecto adicional, la formulación preparada por el método como se define por las reivindicaciones comprende glicopirrolato y estearato de magnesio micronizados y acondicionados conjuntamente, y se formulan posteriormente con el agonista de β_2 -adrenoceptor maleato de indacaterol.

45 En una realización alternativa, un medicamento comprende glicopirrolato y estearato de magnesio micronizados conjuntamente y acondicionados conjuntamente, y el agonista de β_2 -adrenoceptor trifenato de vilanterol, para administración simultánea o secuencial en el tratamiento de una enfermedad de las vías respiratorias inflamatoria u obstructiva, opcionalmente en donde cualquier formulación individual, o cualquier formulación combinada, comprende al menos un vehículo en partículas farmacéuticamente aceptable.

50 Los fármacos broncodilatadores que se pueden usar junto con glicopirrolato incluyen agentes anticolinérgicos o antimuscarínicos, en particular bromuro de umeclidinio, bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, sales de tiotropio, CHF 4226 (Chiesi) y SVT-40776.

Los esteroides que se pueden usar junto con glicopirrolato incluyen glucocorticosteroides tales como budesonida, beclometasona, fluticasona, ciclesonida o mometasona.

Los inhibidores de PDE4 que se pueden usar junto con glicopirrolato incluyen cilomilast (Ariflo® GlaxoSmithKline), Roflumilast (Byk Gulden), V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), Arofylline (Almirall Prodesfarma), PD189659 / PD168787 (Parke-Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo), VM554IUM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo) y GRC 3886 (Oglemilast, Glenmark).

En una realización preferida, cualquier principio activo adicional es salmeterol, indacaterol o mometasona.

Las combinaciones triples preferidas de activo contienen glicopirrolato, salmeterol y mometasona; glicopirrolato, indacaterol y mometasona; glicopirrolato salmeterol y ciclesonida; glicopirrolato, indacaterol y ciclesonida; glicopirrolato, salmeterol y éster (6S,9R,10S,11S,13S,16R,17R)-9-cloro-6-fluoro-11-hidroxi-17-metoxicarbonil-10,13,16-trimetil-3-oxo-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dodeca-hidro-3H-ciclopenta[a]fenantren-17-ílico de ácido 3-metil-tiofeno-2-carboxílico; o glicopirrolato, indacaterol y éster (6S,9R,10S,11S,13S,16R,17R)-9-cloro-6-fluoro-11-hidroxi-17-metoxicarbonil-10,13,16-trimetil-3-oxo-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dodeca-hidro-3H-ciclopenta[a]fenantren-17-ílico de ácido 3-metiltiofeno-2-carboxílico.

En una realización preferida, el medicamento comprende glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro, que se acondiciona, y luego se combina con furoato de fluticasona y trifenatato de vilanterol, y la combinación se usa en el tratamiento de una enfermedad de las vías respiratorias inflamatoria u obstructiva, opcionalmente para administración simultánea o secuencial.

Envasado

El glicopirrolato acondicionado se puede llenar en cápsulas. Las cápsulas se pueden preparar con hipromelosa (también conocida como hidroxipropilmetilcelulosa, HPMC) u otras celulosas o derivados de celulosa que no se basan en humedad como plastificante. El contenido de humedad de dichas cápsulas es adecuadamente 10 % o menos, tal como inferior a 10 %, o incluso inferior a 5 % o 3 %, y esto hace que dichas cápsulas sean más adecuadas para su uso con glicopirrolato.

Se conoce que las cápsulas de gelatina contienen del orden de 10 a 15 % de agua y que proporcionan una fuente suficiente de agua para crear un problema de inestabilidad a la humedad. También se pueden preparar cápsulas de gelatina usando uno o más plastificantes distintos de agua, tales como PEG, glicerol, sorbitol, propilenglicol u otros polímeros y copolímeros similares, que permiten, por tanto, que el contenido de humedad se reduzca a menos de 10 %, o incluso menos de 5 % o 3 %, y tales cápsulas se prefieren para su uso en la invención.

Alternativamente, las cápsulas para su uso con la formulación de la invención se pueden preparar a partir de plásticos o termoplásticos sintéticos (polietileno o policarbonato o plásticos relacionados) que contienen un contenido reducido de humedad inferior a 10 %, o incluso inferior a 5 % o 3 %. Las cápsulas alternativas adicionales con contenido reducido de humedad se fabrican a partir de almidón o derivados de almidón o quitosano.

En un enfoque adicional para resolver el problema de la absorción de humedad por formulaciones de glicopirrolato de polvo seco, se puede usar un dispositivo inhalador que incluye un medio para proteger la formulación de la humedad, por ejemplo almacenamiento dentro de una bolsa de blíster sellada, tal como una bolsa de blíster de aluminio, con sellado adecuado para prevenir o reducir la entrada de humedad. Preferentemente, el recipiente que contiene el polvo (cápsula o blíster) se almacena dentro de una bolsa de blíster sellada, tal como una bolsa de blíster sellada con aluminio, con sellado adecuado para prevenir o reducir la entrada de humedad.

Los dispositivos inhaladores adecuados para administrar formulaciones inhalables de glicopirrolato incluyen, por ejemplo, los dispositivos Breezhaler (Novartis), Turbuhaler (AstraZeneca), GyroHaler® (Vectura), Diskus, Evohaler, Accuhaler o Ellipta (GSK) o Easi-Breathe®, Autohaler® o Genuair (Teva).

Así, en una realización preferida adicional de la presente invención, la formulación en polvo seco que comprende glicopirrolato molido conjuntamente por chorro, luego acondicionado, se almacena en un envase hecho de un material que él mismo tiene un contenido de humedad inferior a 10 %, preferentemente inferior a 5 % y más preferentemente inferior a 3 %.

En una realización alternativa, la formulación en polvo seco se dispensa de un dispositivo inhalador de polvo seco multidosis en donde el polvo se almacena en un depósito, a diferencia de dosis individualmente envasadas. En dicha realización, el dispositivo debe ofrecer protección de humedad superior en comparación con los dispositivos de depósito convencionales. Por ejemplo, el dispositivo debe incluir una o más de las siguientes características: una cámara de depósito sellada (por ejemplo, que incluye una junta sellante para sellar la cámara de depósito), materiales de plástico que presentan permeabilidad a la humedad muy baja (para formar las paredes de la cámara del depósito) y un desecante.

Rendimiento del aerosol en polvo

Preferentemente, la FPF(MD) de las formulaciones en polvo seco preparadas por el método como se define por las reivindicaciones de la presente invención es al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al

menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 % o al menos aproximadamente 80 %, adecuadamente como se mide usando un inhalador de polvo seco Monohaler usado a 60 L/min en un NGI (Copley Scientific).

5 La dosis emitida (ED) del glicopirrolato en las formulaciones en polvo seco preparadas por el método como se define por las reivindicaciones de la presente invención es coherentemente entre 30 y 60 µg, entre 33 y 56 µg, entre 36 y 53 µg, entre 39 y 50 µg, entre 42 y 46 µg o preferentemente entre 43 y 45 µg como se mide usando un inhalador de polvo seco Monohaler usado a 60 L/min en un NGI (Copley Scientific).

10 La dosis de partículas finas (FPD) del glicopirrolato en las formulaciones en polvo seco preparadas por el método como se define por las reivindicaciones de la presente invención es coherentemente al menos aproximadamente 9 µg, al menos aproximadamente 10 µg, al menos aproximadamente 11 µg, al menos aproximadamente 12 µg, o preferentemente al menos aproximadamente 13 µg como se mide usando un inhalador de polvo seco Monohaler usado a 60 L/min en un NGI (Copley Scientific).

Los términos usados en la memoria descriptiva tienen los siguientes significados:

Glicopirrolato

15 Glicopirrolato se usa en el presente documento para referirse a cualquier composición que comprende, o capaz de crear en el cuerpo, el catión glicopirrolato. Este término incluye sales de glicopirronio, previstas para englobar cualquier forma de sal o contraión de glicopirronio, que incluye, pero no se limita a, bromuro de glicopirronio, cloruro de glicopirronio, o yoduro de glicopirronio, así como todos y cada uno de los estereoisómeros aislados y mezclas o estereoisómeros de los mismos. También están englobados los derivados de las sales de glicopirronio. Los
20 contraiones adecuados son contraiones farmacéuticamente aceptables que incluyen, por ejemplo, fluoruro, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato, fosfato, formiato, acetato, trifluoroacetato, propionato, butirato, lactato, citrato, tartrato, malato, maleato, succinato, benzoato, p-clorobenzoato, difenil-acetato o trifenilacetato, o-hidroxibenzoato, p-hidroxibenzoato, l-hidroxinaftaleno-2-carboxilato, 3-hidroxinaftaleno-2-carboxilato, metanosulfonato y benceno-sulfonato.

25 El bromuro de glicopirronio tiene dos centros estereogénicos y, por tanto, existe en cuatro formas isoméricas, concretamente bromuro de (3R,2'R)-, (3S,2'R)-, (3R,2'S)- y (3S,2'S)-3-[(ciclopentil-hidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetilpirrolidinio. La presente invención engloba el uso de una o más de estas formas isoméricas, especialmente el isómero 3S,2'R, el isómero 3R,2'R o el isómero 2S,3'R, incluyendo así enantiómeros individuales, mezclas de diaestereómeros, o racematos, especialmente bromuro de (3S,2'R/3R,2'S)-3-[(ciclopentil-hidroxifenilacetil)oxi]-1,1-dimetilpirrolidinio. En una realización, el glicopirrolato no es R,R-glicopirrolato.
30

Dosis medida

"Dosis medida" o "MD" de una formulación en polvo seco como se usa en el presente documento es la masa total de agente activo presente en la forma medida presentada por el dispositivo inhalador en cuestión. Por ejemplo, la MD
35 podría ser la masa de la sal de glicopirronio presente en una cápsula para un inhalador de polvo seco particular, o en un blíster de aluminio para su uso en un dispositivo inhalador de polvo seco particular. La dosis medida también se denomina la dosis nominal.

Dosis emitida

"Dosis emitida" o "ED" como se usa en el presente documento es la masa total del agente activo emitida del dispositivo tras su activación. No incluye el material dejado dentro de o sobre las superficies del dispositivo. La ED se mide
40 recogiendo la masa emitida total del dispositivo en un aparato frecuentemente denominado un aparato de muestreo de uniformidad de dosis (DUSA), y recuperando ésta por un ensayo químico en húmedo cuantitativo validado.

Dosis de partículas finas

"Dosis de partículas finas" o "FPD", como se usa en el presente documento, es la masa total de agente activo que se emite del dispositivo tras la activación que está presente en un tamaño de partículas aerodinámico más pequeño que un límite definido. Se toma, en general, que este límite es 5 µm si no se establece explícitamente que sea un límite alternativo, tal como 1 µm o 3 µm, etc. El FPD se mide usando un impactador, tal como un impactador de doble etapa (TSI), impactador de líquidos multietapa (MSLI), impactador en cascada de Andersen (ACI) o un NGI. Cada impactador tiene un corte del conjunto de tamaños de partículas aerodinámicos predeterminado para cada etapa. El valor de FPD se obtiene por interpretación de la recuperación de agentes activos etapa por etapa cuantificada por un ensayo químico húmedo cuantitativo validado donde o se usa un corte de etapa simple para determinar FPD o se usa una interpolación matemática más compleja de la deposición etapa por etapa.

Fracción de partículas finas

"Fracción de partículas finas" o "FPF", como se usa en el presente documento, se define normalmente como la FPD dividida entre ED y expresada como un porcentaje. En el presente documento, la FPF de ED se denomina FPF(ED) y se calcula como $FPF(ED) = (FPD/ED) \times 100 \%$. "Fracción de partículas finas" también se puede definir como la FPD dividida entre MD y expresada como un porcentaje. En el presente documento, la FPF de MD se denomina FPF(MD), y se calcula como $FPF(MD) = (FPD/MD) \times 100 \%$. Se debe entender que los valores de FPF específicos citados en el presente documento se logran probando 25 mg de polvo dentro de una cápsula de HPMC de tamaño 3 suministrada de un dispositivo inhalador de polvo seco Monohaler probado usando un NGI establecido a 90 L/minuto durante 2,67 segundos, para lograr una caída de presión de 4 kPa a través de la boquilla.

Condiciones ambiente

Se definen "condiciones ambiente", como se usa en el presente documento, como 22 °C ± 5 °C y 40-50 % de HR. Los términos "temperatura ambiente" y "humedad ambiente", como se usan en el presente documento, se definen como 22 °C ± 5 °C y 40-50 % de HR, respectivamente.

Se entenderá que las realizaciones particulares descritas en el presente documento se muestran a modo de ilustración y no como limitaciones de la invención. Las principales características de la presente invención se pueden emplear en diversas realizaciones sin apartarse del alcance de la invención. Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando no más que estudio rutinario, numerosos equivalentes a los procedimientos específicos descritos en el presente documento. Se considera que dichos equivalentes están dentro del alcance de la presente invención y se cubren por las reivindicaciones. Todas las publicaciones y solicitudes de patente mencionadas en la memoria descriptiva son indicativas del nivel de experiencia de los expertos en la técnica a la que se refiere la presente invención. Todas las publicaciones y solicitudes de patente se incorporan en el presente documento como referencia al mismo grado que si se indicara específica e individualmente que cada publicación o solicitud de patente individual se incorpora como referencia. El uso de la palabra "un" o "una", cuando se usa junto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva, puede significar "uno," pero también está de acuerdo con el significado de "uno o más", "al menos uno" y "uno o más de uno". El uso del término "o" en las reivindicaciones se usa para significar "y/o", a menos que se indique explícitamente que se refiere a alternativas solo o las alternativas son mutuamente exclusivas, aunque la divulgación soporta una definición que se refiere a solo alternativas e "y/o". En toda la presente solicitud, el término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la variación inherente de error para la medición, siendo el método empleado para determinar el valor, o la variación que existe entre los sujetos del estudio.

Como se usa en esta memoria descriptiva y la(s) reivindicación (reivindicaciones), las palabras "comprender" (y cualquier forma de comprender, tal como "comprenden" y "comprende"), "tener" (y cualquier forma de tener, tal como "tienen" y "tiene"), "incluir" (y cualquier forma de incluir, tal como "incluye" e "incluyen") o "contener" (y cualquier forma de contener, tal como "contiene" y "contienen") son inclusivas o de extremos abiertos y no excluyen elementos sin citar o etapas de método adicionales.

El término "o combinaciones de los mismos", como se usa en el presente documento, se refiere a todas las permutaciones y combinaciones de los artículos enumerados que preceden al término. Por ejemplo, "A, B, C o combinaciones de los mismos pretenden incluir al menos uno de: A, B, C, AB, AC, BC, o ABC, y si el orden es importante en un contexto particular, también BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC, o CAB. Continuando con este ejemplo, se incluyen explícitamente combinaciones que contienen repeticiones de uno o más artículos o términos, tales como BB, AAA, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB, y demás. El experto entenderá que normalmente no existe límite en el número de artículos o términos en cualquier combinación, a menos que sea de otro modo aparente del contexto.

Todos los métodos desvelados y reivindicados en el presente documento se pueden hacer y ejecutar sin excesiva experimentación en vista de la presente divulgación.

Ejemplos

Ahora se explicarán realizaciones seleccionadas de la presente invención con referencia a los ejemplos. Será evidente para los expertos en la técnica a partir de la presente divulgación que las descripciones siguientes de las realizaciones son para ilustración solo y no con el fin de limitar la invención como se define por las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

Los ejemplos a continuación ilustran cómo se pueden acondicionar las partículas de fármaco micronizadas, para reducir el material no cristalino superficial presente.

Formulación de control 0 (glicopirrolato solo)

Se determinó la distribución del tamaño de partículas para glicopirrolato sin micronizar por análisis con Mastersizer de Malvern (Mastersizer 3000 de Malvern, usando el método de dispersión en seco con Aero S a 4 bares) y se encontró que era $D_{10} = 11,3 \mu\text{m}$, $D_{50} = 98,0 \mu\text{m}$, $D_{90} = 281 \mu\text{m}$ (véase la Figura 1).

Se añadió una muestra de 25 g del mismo lote de glicopirrolato sin micronizar a la entrada de polvo de un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando aire que tenía una humedad inferior a 20 % de HR y el glicopirrolato molido por chorro se recuperó de un filtro de bolsa con un tamaño de poro de 0,2 μm . Se determinó como antes la distribución del tamaño de partículas para este glicopirrolato recién micronizado y se encontró que era $D_{10} = 0,315 \mu\text{m}$, $D_{50} = 2,05 \mu\text{m}$, $D_{90} = 5,81 \mu\text{m}$ (véase la Figura 2) con una fracción acumulada bajo 5 μm de 85,75 %.

Se dio la vuelta este glicopirrolato recién micronizado como una pila compacta de polvo y la pila de polvo se expuso a 40 °C a 75 % de HR durante 1 hora en una bandeja, previniendo así que el entorno de acondicionamiento alcanzara las partículas internas en la pila de polvo. Se determinó como antes la distribución del tamaño de partículas para el glicopirrolato recién micronizado y se encontró que era $D_{10} = 88,4 \mu\text{m}$, $D_{50} = 389 \mu\text{m}$, $D_{90} = 963 \mu\text{m}$ (véase la Figura 3) con una fracción acumulada bajo 5 μm de 1,44 %.

Formulación 1 (glicopirrolato solo; 25 °C a 60 % de HR) y Formulación 2 (Glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p); 25 °C a 60 % de HR)

Se añadió glicopirrolato sin micronizar 25 g ($D_{10} = 11,3 \mu\text{m}$, $D_{50} = 98,0 \mu\text{m}$, $D_{90} = 281 \mu\text{m}$) (véase la Figura 1) a la entrada de polvo de un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando aire que tenía una humedad inferior a 20 % de HR y el glicopirrolato molido por chorro se recuperó de un filtro de bolsa con un tamaño de poro de 0,2 μm . La Formulación 2 se produjo como antes para la Formulación 1, pero en su lugar se usó glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p) que se mezclaron previamente en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización conjunta.

Se determinaron las distribuciones del tamaño de partículas para la Formulación 1 ($D_{10} = 0,283 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,66 \mu\text{m}$, $D_{90} = 5,40 \mu\text{m}$) y la Formulación 2 ($D_{10} = 0,270 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,41 \mu\text{m}$, $D_{90} = 3,66 \mu\text{m}$) por análisis con Mastersizer de Malvern (Mastersizer 3000 de Malvern, usando el método de dispersión en seco con Aero S a 4 bares). Éstas se informan en las Figuras 4 y 8, respectivamente, y la Tabla 1 más adelante.

Se determinó la presencia de material amorfo para el glicopirrolato molido o molido conjuntamente por chorro ($t=0$) por DVS y se informa en la Figura 27 (Formulación 1) y Figura 29 (Formulación 2).

Se preparó un armario de estabilidad (Vindon Scientific, 5600S, número de serie 16743) y se equilibró a 25 °C a 60 % de HR. Una vez micronizado, el glicopirrolato se sometió inmediatamente a un tratamiento posmicronización asegurando que las partículas se expusieran igualmente a estas condiciones. Se monitorizaron los niveles de humedad durante la duración del proceso de equilibración y acondicionamiento usando una minúscula etiqueta electrónica dispuesta dentro del armario de estabilidad.

Se acondicionaron el glicopirrolato molido (Formulación 1) y el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro (Formulación 2) por exposición a 25 °C a 60 % de HR durante 71 horas, siendo las muestras tomadas a los intervalos indicados en la Tabla 2 y apartadas en viales sellados para el análisis 72 horas después de la molienda. Durante el acondicionamiento, se movió regularmente el lecho de polvo rastrillando con una espátula metálica.

Se determinaron las distribuciones del tamaño de partículas para las muestras acondicionadas por análisis con Mastersizer de Malvern (como antes) y se informan en las Figuras 5, 6, 7, 9, 10 y 11, y en las Tablas 1 y 2 a continuación.

Se determinó la presencia de material amorfo para el glicopirrolato acondicionado o glicopirrolato molido conjuntamente por chorro ($t=49$ horas) por DVS, informado en las Figuras 28 y 30.

Formulación 3 (glicopirrolato solo; 50 °C a 50 % de HR) y Formulación 4 (Glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p); 50 °C a 50 % de HR)

ES 2 793 905 T3

- 5 Se añadieron 15 g de glicopirrolato sin micronizar ($D_{10} = 11,3 \mu\text{m}$, $D_{50} = 98,0 \mu\text{m}$, $D_{90} = 281 \mu\text{m}$) a la entrada de polvo de un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando aire que tenía una humedad inferior a 20 % de HR y el glicopirrolato molido por chorro se recuperó de un filtro de bolsa con un tamaño de poro de 0,2 μm . La Formulación 4 se produjo como antes para la Formulación 3, pero en su lugar se usó glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p) que se mezclaron previamente en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización conjunta.
- 10 Se determinaron las distribuciones del tamaño de partículas para la Formulación 3 ($D_{10} = 0,283 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,75 \mu\text{m}$, $D_{90} = 7,41 \mu\text{m}$) y la Formulación 4 ($D_{10} = 0,266 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,22 \mu\text{m}$, $D_{90} = 3,07 \mu\text{m}$) por análisis con Mastersizer de Malvern (como antes) y se informan en las Figuras 17 y 19, y en la Tabla 1 más adelante.
- 15 Se preparó el armario de estabilidad y se equilibró a 50 °C a 50 % de HR. Una vez micronizado, el glicopirrolato o el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se sometió inmediatamente (< 5 minutos) a un tratamiento posmicronización asegurando que las partículas se expusieran igualmente a estas condiciones. Se monitorizaron los niveles de humedad durante la duración del proceso de equilibración y acondicionamiento como antes.
- 20 Se acondicionó cada uno del glicopirrolato molido (Formulación 3) y glicopirrolato molido conjuntamente por chorro (Formulación 4) por exposición a 50 °C a 50 % de HR durante al menos 49 horas. Se movió regularmente el lecho de polvo rastrillando con una espátula metálica. Después de 49 horas, se recuperaron para el análisis muestras del glicopirrolato acondicionado y glicopirrolato molido conjuntamente por chorro.
- 25 Se determinaron las distribuciones del tamaño de partículas (t=49 horas) por análisis con Mastersizer de Malvern como antes ($D_{10} = 1,94 \mu\text{m}$, $D_{50} = 16,5 \mu\text{m}$, $D_{90} = 327 \mu\text{m}$ para la Formulación 3 y $D_{10} = 0,437 \mu\text{m}$, $D_{50} = 3,74 \mu\text{m}$, $D_{90} = 269 \mu\text{m}$ para la Formulación 4) y se informan en las Figuras 18 y 20, y Tabla 1 más adelante.
- 30 Se determinó la presencia de material amorfo para el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro acondicionado (t=49 horas) por DVS, informado en la Figura 31.
- 35 Formulación 5 (glicopirrolato solo; 6 °C a 86 % de HR) y Formulación 6 (Glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p); 6 °C a 86 % de HR)
- 40 Se añadió glicopirrolato sin micronizar 15 g ($D_{10} = 11,3 \mu\text{m}$, $D_{50} = 98,0 \mu\text{m}$, $D_{90} = 281 \mu\text{m}$) a la entrada de polvo de un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando aire que tenía una humedad inferior a 20 % de HR y el glicopirrolato molido por chorro se recuperó de un filtro de bolsa con un tamaño de poro de 0,2 μm . La Formulación 6 se produjo como antes para la Formulación 5, pero en su lugar se usó glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p) que se mezclaron previamente en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización conjunta.
- 45 Se determinó la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 5 (informada como $D_{10} = 96,7 \mu\text{m}$, $D_{50} = 569 \mu\text{m}$, $D_{90} = 1580 \mu\text{m}$) y la Formulación 6 ($D_{10} = 0,276 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,52 \mu\text{m}$, $D_{90} = 3,97 \mu\text{m}$) para el glicopirrolato molido (t=0) por análisis con Mastersizer de Malvern como antes y se informan en las Figuras 21 y 23, y Tabla 1 más adelante.
- 50 Se preparó un refrigerador y se equilibró a 6 °C a 86 % de HR. Una vez micronizado, el glicopirrolato o el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se sometió inmediatamente (< 5 minutos) a un tratamiento posmicronización asegurando que las partículas se expusieran igualmente a estas condiciones. Se monitorizaron los niveles de humedad durante la duración del proceso de equilibración y acondicionamiento como antes.
- 55 Se acondicionó el glicopirrolato molido y molido conjuntamente por chorro por exposición a 6 °C a 86 % de HR durante 49 horas. Se movió regularmente el lecho de polvo rastrillando con una espátula metálica. Después de 49 horas, se recuperaron muestras del glicopirrolato acondicionado para el análisis.
- 60 Se determinó la distribución del tamaño de partículas para la Formulación 5 (informada como $D_{10} = 0,410 \mu\text{m}$, $D_{50} = 3,03 \mu\text{m}$, $D_{90} = 253 \mu\text{m}$) y la Formulación 6 (informada como $D_{10} = 0,314 \mu\text{m}$, $D_{50} = 2,01 \mu\text{m}$, $D_{90} = 70,8 \mu\text{m}$) para el glicopirrolato acondicionado (t=49 horas) por análisis con Mastersizer de Malvern como antes y se informa en la Figura 22 (Formulación 5), Figura 24 (Formulación 6) y Tabla 1 más adelante.
- 65 Se determinó la presencia de material amorfo para el glicopirrolato acondicionado (t=49 horas) por DVS y se informa en las Figuras 32 y 33 para las Formulaciones 5 y 6, respectivamente.
- 70 Formulación 7 (glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p); 24 °C a 45 % de HR)
- 75 Se mezclaron previamente 15 g de glicopirrolato sin micronizar ($D_{10} = 11,3 \mu\text{m}$, $D_{50} = 98,0 \mu\text{m}$, $D_{90} = 281 \mu\text{m}$) con estearato de magnesio en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización en un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando aire que tenía una humedad inferior a 20 % de HR y el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se recuperó de un filtro de bolsa con un tamaño de poro de 0,2 μm .

Se acondicionó el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro por exposición a condiciones ambiente de laboratorio (24 °C ± 3 °C a 45 % de HR ± 5 % de HR) durante 72 horas vaciando el polvo micronizado del molino de chorro sobre una bandeja de acero inoxidable. No se agitó en absoluto el lecho de polvo durante este tiempo. Después de 72 horas, se recuperó una muestra de glicopirrolato.

- 5 Se determinó la distribución del tamaño de partículas (informada como $D_{10} = 0,272 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,53 \mu\text{m}$, $D_{90} = 3,96 \mu\text{m}$) para el glicopirrolato acondicionado por análisis con Mastersizer de Malvern como antes y se informó en la Figura 25 y la Tabla 1 más adelante.

Se determinó la presencia de material amorfo para el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro acondicionado por DVS y se informa en la Figura 34 más adelante.

- 10 Formulación 8 (glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p); 24 °C a 45 % de HR; vial de vidrio abierto)

Se mezclaron previamente 25 g de glicopirrolato sin micronizar ($D_{10} = 11,3 \mu\text{m}$, $D_{50} = 98,0 \mu\text{m}$, $D_{90} = 281 \mu\text{m}$) con estearato de magnesio en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización en un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando aire que tenía una humedad inferior a 20 % de HR y el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se recuperó de un filtro de bolsa con un tamaño de poro de 0,2 μm .

- 15 Se determinaron las distribuciones del tamaño de partículas (informadas como $D_{10} = 0,270 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,41 \mu\text{m}$, $D_{90} = 3,66 \mu\text{m}$) para el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro ($t=0$) por análisis con Mastersizer de Malvern como antes y se informa en la Figura 8 y Tabla 1 más adelante.

- 20 Se acondicionó una muestra del glicopirrolato molido conjuntamente por chorro (aproximadamente 5 g) por exposición a condiciones ambiente del laboratorio (24 °C ± 3 °C a 45 % de HR ± 5 % de HR) durante 144 horas en un vial de vidrio sin sellar. No se agitó en absoluto el lecho de polvo durante este tiempo. Después de 144 horas, se recuperó una muestra del glicopirrolato acondicionado molido conjuntamente por chorro.

- 25 Se determinó la distribución del tamaño de partículas (informada como $D_{10} = 0,289 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,70 \mu\text{m}$, $D_{90} = 8,73 \mu\text{m}$) para el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro acondicionado por análisis con Mastersizer de Malvern como antes y se informa en la Figura 26 y Tabla 1 más adelante.

Se determinó la presencia de material amorfo para $t=0$ y las muestras de glicopirrolato molido conjuntamente por chorro acondicionado por DVS y se informó en las Figuras 35 y 36, respectivamente.

Formulación 9 (glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p) conjuntamente micronizados, luego inmediatamente mezclados con lactosa, luego rendimiento de FPF)

- 30 Para ilustrar la mejora de la invención desvelada por la Formulación 10, se puede preparar la siguiente formulación de control del siguiente modo:

Se mezclan previamente 25 g de glicopirrolato sin micronizar con estearato de magnesio (95:5) en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización en un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando aire que tiene una humedad inferior a 20 % de HR y el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se recupera de un filtro de bolsa con un tamaño de poro de 0,2 μm .

- 35 Se mezclan inmediatamente partículas de vehículo de lactosa Lactohale® 100 (49,85 g) con el glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro (0,15 g) usando una Diosna (250 ml) a 1000 rpm durante 10 minutos para dar un polvo seco inhalable.

- 40 El polvo seco inhalable resultante se llena en cápsulas de HPMC de tamaño 3 en alícuotas de 25 mg.

Formulación 10 (glicopirrolato y estearato de magnesio (95:5 p/p) conjuntamente micronizados, luego inmediatamente acondicionada, luego mezclada con lactosa, luego evaluada para rendimiento de FPF)

- 45 Se somete una muestra (20 g) de la formulación de glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro ($t=0$) producida en el Ejemplo 9 (es decir, la formulación antes de que se añadan las partículas de vehículo de lactosa Lactohale® 100) a un proceso de acondicionamiento.

- 50 Se prepara un armario de estabilidad (Vindon Scientific, 5600S, número de serie 16743) y se equilibra a 25 °C a 60 % de HR. Una vez micronizado, la muestra de glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro se somete inmediatamente a un tratamiento posmicronización asegurando que las partículas se expongan igualmente a estas condiciones. Se monitorizan los niveles de humedad durante la duración del proceso de equilibración y acondicionamiento usando una minúscula etiqueta electrónica dispuesta dentro del armario de estabilidad.

Se acondiciona el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro por exposición a 25 °C a 60 % de HR. Se sacan muestras (0,15 g) de este glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro sometidos a

ES 2 793 905 T3

acondicionamiento después de 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 24 horas y 48 horas y se mezclan con partículas de vehículo de lactosa Lactohale® 100 (49,85 g μm) usando una Diosna (250 ml) a 1000 rpm durante 10 minutos para dar un polvo seco inhalable.

Los polvos secos inhalables resultantes se llenan en cápsulas de HPMC de tamaño 3 en alícuotas de 25 mg.

- 5 Formulación 11 (glicopirrolato molido conjuntamente con estearato de magnesio (95:5 p/p), luego acondicionada a 25 °C a 60 % de HR sobre una bandeja de acero (sin agitación) durante 1 h, luego mezclada con lactosa)

Para ilustrar la mejora de la invención, se puede preparar la siguiente formulación de control usando una técnica de molienda alternativa del siguiente modo:

- 10 Se mezclaron previamente 25 g de glicopirrolato sin micronizar con estearato de magnesio (95:5) en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la molienda conjunta con un molino de cuchillas (velocidad del rotor = 1500 rpm, duración = 10 minutos) y se recupera el glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente de la cámara de molienda conjunta.

- 15 Se prepara un armario de estabilidad (Vindon Scientific, 5600S, número de serie 16743) y se equilibra a 25 °C a 60 % de HR. El glicopirrolato y estearato de magnesio conjuntamente molidos se someten inmediatamente a un tratamiento posterior a la molienda asegurando que las partículas sean igualmente expuestas a estas condiciones. Se monitorizan los niveles de humedad durante la duración del proceso de equilibración y acondicionamiento usando una minúscula etiqueta electrónica dispuesta dentro del armario de estabilidad.

No se agita el lecho de polvo.

- 20 Se acondicionan el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por exposición a 25 °C a 60 % de HR durante 5 minutos hasta al menos 49 horas, y se apartan en viales sellados para el análisis 72 horas después de la molienda.

Formulación 12 (glicopirrolato micronizado conjuntamente con estearato de magnesio (95:5 p/p), luego almacenada bajo entorno desecado a 25 °C a 0 % de HR (sin agitación), luego mezclada con lactosa)

- 25 Se mezclan previamente 25 g de glicopirrolato sin micronizar con estearato de magnesio en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización en un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando aire que tenía una humedad inferior a 20 % de HR y el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se recupera de un filtro de bolsa con un tamaño de poro de 0,2 μm .

- 30 Una vez micronizado, el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro se someten inmediatamente a un tratamiento posmicronización que implica poner el polvo en una bandeja abajo en una cámara sellada que contiene el desecante pentóxido de fósforo en exceso. No se combinan el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro y el pentóxido de fósforo.

- 35 La cámara sellada está a 25 °C con 0-5 % de HR mientras que se asegura que las partículas sean igualmente expuestas a estas condiciones durante la duración de este tratamiento. Se monitorizan los niveles de humedad durante la duración de la equilibración de la cámara y el proceso de tratamiento usando una minúscula etiqueta electrónica dispuesta dentro del armario de estabilidad.

No se agita el lecho de polvo.

Experimento de control: Formulación 12a

- 40 Se mezclan inmediatamente partículas de vehículo de lactosa Lactohale® 100 (49,85 g) con una muestra del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro (0,15 g) tratada usando una Diosna (250 mL) a 1000 rpm durante 10 minutos para dar un polvo seco inhalable.

El polvo seco inhalable resultante se llena en cápsulas de HPMC de tamaño 3 en alícuotas de 25 mg.

Formulación 12b

- 45 Una vez se toma la muestra del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro tratada (desecada) para la Formulación 12a, se somete el glicopirrolato y el estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro (Formulación 12b) tratados restantes al acondicionamiento.

Se prepara un armario de estabilidad (Vindon Scientific, 5600S, número de serie 16743) y se equilibra a 25 °C a 60 % de HR. Se monitorizan los niveles de humedad durante la duración del proceso de equilibración y acondicionamiento usando una minúscula etiqueta electrónica dispuesta dentro del armario de estabilidad.

ES 2 793 905 T3

Se acondiciona el glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro (Formulación 12b) tratados (desechados) por exposición a 25 °C a 60 % de HR durante 71 horas, siendo tomadas muestras a intervalos regulares y estas muestras se apartan en viales sellados para el análisis 72 horas desde el comienzo del proceso de acondicionamiento. Durante el acondicionamiento, el lecho de polvo se mueve regularmente rastrillando el lecho de polvo con una espátula metálica.

5

Se mezclan inmediatamente las partículas de vehículo de lactosa Lactohale® 100 (49,85 g) con muestras del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro (0,15 g) ahora acondicionados usando una Diosna (250 ml) a 1000 rpm durante 10 minutos dando un polvo seco inhalable.

El polvo seco inhalable resultante se llena en cápsulas de HPMC de tamaño 3 en alícuotas de 25 mg.

10 Datos resumen (PSDs de partida)

Tabla 1: Distribuciones del tamaño de partículas (µm)

	D₁₀ (µm)	D₅₀ (µm)	D₉₀ (µm)	Volumen < 5 µm (%)
Formulación 1 (t= 0 horas)	0,283	1,66	5,40	88,56
Formulación 1 (t= 49 horas)*	0,410	3,10	475	64,33
Formulación 2 (t= 0 horas)	0,270	1,41	3,66	95,63
Formulación 2 (t= 49 horas)*	0,308	1,87	69,6	82,35
Formulación 3 (t= 0 horas)	0,283	1,75	7,41	84,53
Formulación 3 (t= 49 horas)	1,940	16,5	327	32,77
Formulación 4 (t= 0 horas)	0,266	1,22	3,07	98,45
Formulación 4 (t= 49 horas)	0,437	3,74	269	54,44
Formulación 5 (t= 0 horas)	96,7	569	1580	5,26
Formulación 5 (t= 49 horas)	0,410	3,03	253	64,27
Formulación 6 (t= 0 horas)	0,276	1,52	3,97	94,88
Formulación 6 (t= 49 horas)	0,314	2,01	70,8	81,08
Formulación 7 (t= 0 horas)	No hecha	No hecha	No hecha	No hecha
Formulación 7 (t= 72 horas)*	0,272	1,53	3,96	94,81
Formulación 8 (t= 0 horas)	0,270	1,41	3,66	95,63
Formulación 8 (t= 144 horas)	0,289	1,70	8,73	86,94

* = Análisis a 72 horas desde la molienda por chorro / por chorro conjunta

Tabla 2: Distribuciones del tamaño de partículas (μm) para la Formulación 1 y la Formulación 2 durante el periodo 5 minutos hasta 4260 minutos (71 horas) de acondicionamiento

Tiempo (Minutos/horas)	Formulación 1				Formulación 2			
	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	Alcance	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	Alcance
5	0,602	4,38	791	180,5	1,05	186	1230	6,6
10	0,468	3,61	659	182,4	0,601	42,7	859	20,1
15	0,415	3,14	493	156,9	0,437	3,42	662	193,4
20	0,392	2,9	394	135,7	0,643	51,6	859	16,6
30	0,404	3,05	480	157,2	0,501	4,82	847	175,6
45	0,409	3,14	530	168,7	0,471	3,98	731	183,6
60 (1)	0,405	3,06	507	165,6	0,341	2,23	345	154,6
90 (1,5)	0,410	3,11	500	160,6	0,292	1,73	20,2	11,5
120 (2)	0,413	3,18	536	168,4	0,315	2,00	104	51,8
150 (2,5)	0,416	3,20	529	165,2	0,294	1,71	44,2	25,7
180 (3)	0,410	3,13	502	160,3	0,291	1,68	46,7	27,6
240 (4)	0,396	2,98	422	141,5	0,299	1,72	148	85,9
300 (5)	0,404	3,05	451	147,7	0,279	1,52	3,70	2,3
360 (6)	0,402	3,06	451	147,3	0,28	1,59	4,16	2,4
1440 (24)	0,421	3,22	515	159,8	0,286	1,65	5,11	2,9
1560 (26)	0,415	3,16	495	156,5	0,298	1,77	63,8	35,9
1680 (28)	0,429	3,29	568	172,5	0,33	2,03	349	171,8
1800 (30)	0,432	3,33	568	170,4	0,305	1,79	28,1	15,5
2940 (49)	0,410	3,10	475	153,1	0,308	1,87	69,6	37,1
3120 (52)	0,424	3,26	552	169,2	0,289	1,68	5,73	3,2
4260 (71)	0,415	3,16	497	157,1	0,295	1,7	5,17	2,9

Discusión: Formulaciones 0 - 8

- 5 El glicopirrolato recién micronizado es inhalable (véase la Figura 2 y la Figura 4), pero posee cantidades significativas de material amorfo (véase la Figura 27) que dan como resultado el glicopirrolato no inhalable aglomerado si no se acondiciona (véase la Figura 3). Para demostrar este fenómeno, se molió por chorro la Formulación 0 y luego se dio la vuelta como una pila compacta de polvo. No se acondicionó la pila de glicopirrolato micronizado, pero en su lugar la pila compacta se expuso a 40 °C a 75 % de HR durante 1 hora en una bandeja. La disposición física del polvo como una pila previno el acondicionamiento de las partículas micronizadas internas dejando una humedad intrínseca dentro de la pila de glicopirrolato micronizado para provocar la rápida recristalización y aglomeración como se muestra por un PSD de D₁₀ = 88,4 μm , D₅₀ = 389 μm y D₉₀ = 963 μm . Las distribuciones iniciales del tamaño de partículas (t = 0) de glicopirrolato recién micronizado tienen un volumen significativo de partículas inferior a 5 μm (véanse las Formulaciones 1, 3 y 5). A diferencia, las formulaciones molidas conjuntamente por chorro según la invención tienen incluso mejores distribuciones iniciales del tamaño de partículas (t = 0) (véanse las Formulaciones 2, 4, 6 y 8). Estas distribuciones del tamaño de partículas superiores para las Formulaciones 2, 4, 6, 7 y 8 se retienen después del acondicionamiento, que incluye la exposición del glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro a humedad a temperaturas entre 5 °C y 88 °C durante al menos 60 minutos.

Se prepararon las formulaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 usando diversos parámetros de acondicionamiento y todos tienen cantidades significativas de glicopirrolato inhalable (> 30 % en volumen de la formulación es inferior a 5 µm). Los parámetros de acondicionamiento comprendían intervalos de temperatura desde 6 °C hasta 50 °C e intervalos de humedad desde 50 % hasta 86 % de HR. Las formulaciones 2, 4, 6, 7 y 8 según la invención tienen mejores resultados que las Formulaciones 1, 3 y 5.

Los trazados de D_{90} , D_{50} y D_{10} para las Formulaciones 1 y 2 proporcionan mayor detalle del producto superior obtenido cuando el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro se acondiciona exponiendo el glicopirrolato molido conjuntamente por chorro y el agente antiadherente a humedad a una temperatura de 25 °C y humedad relativa de 60 % de HR durante al menos 60 minutos. La Figura 12 muestra que la Formulación 1 (glicopirrolato solo) empezó con un alto D_{90} de 791 µm, pero este se reduce rápidamente hasta 394 µm después de 20 minutos de acondicionamiento y el D_{90} permanece dentro de este intervalo durante el periodo de acondicionamiento restante. A diferencia, la Formulación 2 (glicopirrolato y estearato de magnesio molidos conjuntamente por chorro) empezaron con un D_{90} más alto de 1230 µm que solo se redujo hasta 859 µm después de 20 minutos y permaneció por encima de la Formulación 1 hasta 60 minutos desde el acondicionamiento. A partir de esto, los presentes inventores pueden llegar a la conclusión de que la Formulación 1 alcanzó un D_{90} estable mucho más rápidamente que la Formulación 2. Sin desear quedar ligado a teoría, se cree que el estearato de magnesio retarda el proceso de acondicionamiento como se demuestra por la Figura 12. Sorprendentemente, sin embargo, el D_{90} para la Formulación 2 continúa disminuyendo muy por debajo de esa Formulación 1, alcanzando un D_{90} que es solo 4 % del D_{90} de la Formulación 1 después de 90 minutos. El D_{90} para la Formulación 2 continúa siendo significativamente más bajo que el de la Formulación 1 durante el proceso de acondicionamiento restante. Las partículas acondicionadas son cristalinas y físicamente estables; por consiguiente, el D_{90} para las Formulaciones 1 y 2 posteriormente acondicionadas continuará siendo distinguible.

Similarmente, los valores de D_{90} y D_{10} para la Formulación 2 también son superiores en comparación con la Formulación 1 después de 60 minutos del acondicionamiento; los trazados nunca se cruzan otra vez, que indica que es posible distinguir entre un "producto molido y acondicionado" y un "producto molido por chorro y acondicionado conjuntamente" basándose en distribuciones del tamaño de partículas (véanse las Figuras 13, 14, 15 y 16).

La muestra de $t=0$ que se tomó de la Formulación 5 para análisis tuvo una fracción acumulada inicial bajo 5 µm que fue solo 5,26 % y muy inferior a las otras formulaciones de control, Formulación 1 y 3. Hubo un retraso antes de que esta muestra se analizara permitiendo que se completara la aglomeración, ilustrando así el reto técnico experimentado con la manipulación del glicopirrolato (véase la Figura 21).

Las metodologías usadas para crear las Formulaciones 7 y 8 demuestran que la molienda conjunta por chorro con magnesio confiere mayor flexibilidad al proceso de acondicionamiento, negando la necesidad de agitación o rotación de la formulación durante el proceso de acondicionamiento (véase la Figura 25 y la Figura 26).

El alcance para la Formulación 2 es, en general, superior a la Formulación 1, pero el cálculo del alcance se afecta por valores de D_{90} desproporcionadamente altos. La Tabla 2 demuestra claramente que un producto molido por chorro y acondicionado conjuntamente es capaz de tener un valor de alcance inferior a 50 antes de la mezcla con las partículas de vehículo.

Además de los datos sobre el tamaño de partículas, el análisis de DVS se realizó en muchas de las muestras de glicopirrolato, tanto directamente después de la molienda como después del acondicionamiento. Estos trazados de DVS demuestran que inmediatamente después de la molienda, el glicopirrolato micronizado es físicamente inestable, adsorbiendo y absorbiendo humedad, a pesar de que inicialmente posee una distribución aceptable del tamaño de partículas (véanse las Figuras 4 y 27). A diferencia, el glicopirrolato micronizado acondicionado adsorbe humedad sobre su superficie en un modo ordenado y predecible (representado por el trazado sólido curvado) en respuesta a los cambios en vapor presentes en la cámara de DVS (representado por el trazado de puntos angular) y libera similarmente esta humedad superficial cuando las condiciones son moderadas (véanse las Figuras 28, 30 y 32). El análisis de DVS también muestra que un "producto molido por chorro y acondicionado conjuntamente" mientras que inicialmente posee cantidades significativas de material amorfo (véase Figuras 29 y 35), también logra un estado físicamente estable (véanse las Figuras 30, 31, 33, 34 y 36). En algunos casos, todavía pueden estar presentes picos en el trazado de DVS (línea continua) para el material acondicionado, pero estos son menos en número que para el material de partida, que indica una reducción en el material amorfo como resultado del proceso de acondicionamiento. Un indicador adicional de que el material amorfo se ha reducido es la altura de estos picos. La altura de picos reducida corresponde a un cambio reducido en la masa durante la duración del procedimiento de análisis de DVS que significa que se ha absorbido menos humedad por la muestra (véase la Figura 29 o la Figura 35). Esta comparación es posible debido a que las formulaciones tienen áreas superficiales similares.

Formulaciones 13a-d

Se prepararon cuatro formulaciones de glicopirrolato separadas y se analizaron del siguiente modo:

Análisis del tamaño de partículas (análisis seco)

Se determinó la distribución del tamaño de partículas para las formulaciones de glicopirrolato micronizadas por análisis con Mastersizer de Malvern (Malvern Mastersizer 3000, usando el método de dispersión en seco con Aero S a 4 bares y una tasa de alimentación de entre 30-40 %). Las propiedades ópticas usadas incluyeron un índice de refracción de 1,52 y un valor de absorción de 1,0.

Análisis del tamaño de partículas (análisis húmedo)

Se determinó la distribución del tamaño de partículas para las formulaciones de glicopirrolato micronizadas por Mastersizer 3000 de Malvern usando la unidad de dispersión en húmedo Hydro MV del siguiente modo: se llenó la unidad de dispersión con iso-octano (2,2,4-trimetilpentano). Se estableció la velocidad de la bomba a 3000 rpm. Se añadieron diez mililitros de 0,1 % de lecitina en iso-octano a aproximadamente 10 mg de la formulación de glicopirrolato micronizado, entonces se sonicó esta dispersión previa durante 3 minutos usando una sonda sónica Sonopuls a 50 % de intensidad. Las partículas dispersadas se añadieron a la unidad de dispersión para alcanzar un oscurecimiento de 5-15 %. Las propiedades ópticas usadas incluyeron un índice de refracción de 1,52 y un valor de absorción de 1,0 para el glicopirrolato, y un índice de refracción de 1,45 y un valor de absorción de 1,0 para el estearato de magnesio y un índice de refracción de 1,391 para el iso-octano. Se realizaron seis duplicados por medición.

Sorción dinámica de vapor

Se evaluó el contenido amorfo de glicopirrolato micronizado por DVS usando un instrumento SMS DVS Advantage que se estableció a una temperatura de 25 °C. La humedad aumentó desde 0-90 % de HR, luego volvió a 0 % de HR en las etapas de 10 % de HR, cambios entre etapas que fueron desencadenados por un cambio de masa de 0,0001 (% de dm/dt).

Formulaciones 13a (gas de molienda seco) y 13b (gas de molienda húmedo)

Se agitó previamente glicopirrolato sin micronizar (15 g, $D_{10} = 20,6 \mu\text{m}$, $D_{50} = 148,7 \mu\text{m}$, $D_{90} = 409,7 \mu\text{m}$ determinado por el método de análisis en húmedo en Mastersizer 3000 de Malvern) en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización en un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min). Se produjo la Formulación 13a usando un gas de molienda en seco que tenía una humedad < 20 % de HR (2,8-3,5 % de HR). La Formulación 13b se produjo usando un gas de molienda a elevada humedad (31,6 - 36,2 % de HR). Las humedades se midieron por un higrómetro portátil con la sonda dispuesta en la corriente de gas de salida en la salida del recipiente de recogida. Se analizaron inmediatamente las muestras del glicopirrolato recién micronizado usando DVS, análisis en húmedo y en seco del tamaño de partículas. Entonces se acondicionaron inmediatamente las formulaciones micronizadas en un frasco abierto en el que cada formulación de glicopirrolato micronizado se sometió a los siguientes parámetros de acondicionamiento: 21,8 °C, con aire de ventilación a 43,2 % de HR pasando sobre y a través del lecho de polvo a una tasa de inferior a 0,1 cm³/s siendo la relación volumétrica entre la atmósfera de ventilación y el polvo a granel libremente compactado superior a 1:1. Mientras se sometía a estos parámetros de acondicionamiento, entonces se analizaron las muestras de la formulación micronizada usando análisis en húmedo y seco del tamaño de partículas 10, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después de la molienda.

Formulaciones 13c (gas de molienda en húmedo y estearato de magnesio) y 13d (gas de molienda en seco y estearato de magnesio)

Se agitó previamente glicopirrolato sin micronizar (14,25 g, $D_{10} = 20,6 \mu\text{m}$, $D_{50} = 148,7 \mu\text{m}$, $D_{90} = 409,7 \mu\text{m}$ determinado por el método de análisis en húmedo en Mastersizer 3000 de Malvern) con estearato de magnesio (0,75 g, $D_{10} = 2,8 \mu\text{m}$, $D_{50} = 8,8 \mu\text{m}$, $D_{90} = 27,4 \mu\text{m}$ determinado por el método de análisis en húmedo en Mastersizer 3000 de Malvern) en un vaso de precipitados de vidrio usando una espátula de metal durante 30 segundos antes de la micronización en un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min). Se produjo la Formulación 13c usando un gas de molienda a elevada humedad (32,4 - 37,1 % de HR). La Formulación 13d se produjo usando un gas de molienda en seco que tenía una humedad < 20 % de HR (3,4-3,9 % de HR). Las humedades se midieron por un higrómetro portátil con la sonda dispuesta en la corriente de gas de salida en la salida del recipiente de recogida. Se analizaron inmediatamente las muestras del glicopirrolato recién micronizado usando DVS, análisis en húmedo y en seco del tamaño de partículas. Entonces se acondicionaron inmediatamente las formulaciones micronizadas en un frasco abierto en el que cada formulación de glicopirrolato micronizado conjuntamente se sometió a los siguientes parámetros de acondicionamiento: 21,8 °C, con aire de ventilación a 43,2 % de HR pasando sobre y a través del lecho de polvo a una tasa inferior a 0,1 cm³/s, siendo la relación volumétrica entre la atmósfera de ventilación y el polvo a granel libremente compactado superior a 1:1. Mientras se sometía a estos parámetros de acondicionamiento, entonces se analizaron las muestras de la formulación micronizada usando análisis en húmedo y en seco del tamaño de partículas 10, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después de la micronización conjunta.

Resultados: Formulación 13a-d

Tabla 3: Distribuciones del tamaño de partículas (μm) para la Formulación 13a tras el análisis en húmedo (columna a mano izquierda) o análisis en seco (columna a mano derecha) usando el Mastersizer de Malvern.

Tiempo (minutos)	D ₁₀		D ₅₀		D ₉₀	
0	0,81	1,11	2,05	250	3,9	1340
10	---	187	---	762	---	1860
30	1,18	141	3,47	610	74,9	1100
45	1,2	162	3,49	680	10,6	1500
60	1,18	104	3,38	563	7,88	1070
90	1,25	120	3,64	618	11,2	1300
120	1,22	91,3	3,45	610	8,82	1360

5 Tabla 4: Distribuciones del tamaño de partículas (μm) para la Formulación 13b tras el análisis en húmedo (columna a mano izquierda) o análisis en seco (columna a mano derecha) usando el Mastersizer de Malvern.

Tiempo (minutos)	D ₁₀		D ₅₀		D ₉₀	
0	1,38	0,355	4,06	2,74	9,08	9,17
10	1,39	0,339	4,41	2,55	10,5	8,91
30	1,38	0,387	4,77	2,82	20,5	11,1
45	1,47	0,372	4,85	2,68	13,1	9,45
60	1,34	0,38	4,54	2,79	15,9	9,70
90	1,41	0,381	4,94	2,81	20,4	9,58
120	1,39	0,385	4,77	2,81	18,7	9,55

Tabla 5: Distribuciones del tamaño de partículas (μm) para la Formulación 13c tras el análisis en húmedo (columna a mano izquierda) o análisis en seco (columna a mano derecha) usando el Mastersizer de Malvern.

Tiempo (minutos)	D ₁₀		D ₅₀		D ₉₀	
0	1,7	2,12	12,8	41,3	224	267
10	1,61	1,98	11,9	50,6	137	282
30	1,42	2,40	7,74	54,9	54,8	306
45	1,46	2,34	8,34	49,9	61,4	271
60	1,43	2,32	7,75	49,0	51,3	275
90	1,56	2,26	10,5	46,5	133	259
120	1,53	2,19	9,57	43,4	120	256

Tabla 6: Distribuciones del tamaño de partículas (μm) para la Formulación 13d tras el análisis en húmedo (columna a mano izquierda) o análisis en seco (columna a mano derecha) usando el Mastersizer de Malvern.

Tiempo (minutos)	D ₁₀		D ₅₀		D ₉₀	
0	0,626	0,269	1,52	1,35	2,91	4,56
10	0,630	0,268	1,50	1,28	2,77	3,70
30	0,635	0,271	1,50	1,31	2,78	4,19
45	0,617	0,272	1,47	1,32	2,73	4,71
60	0,619	0,271	1,48	1,28	2,73	3,86
90	0,616	0,278	1,47	1,38	2,73	6,20
120	0,631	0,264	1,50	1,25	2,77	3,40

Discusión: Formulaciones 13a-d

- 5 Cuando se trituran en condiciones secas, el glicopirrolato recién molido por chorro contiene cantidades sustanciales de material amorfo como se confirmó por los datos de DVS para la Formulación 13a (Figura 37). Es la presencia de este material amorfo en compañía de la humedad que, si no se controla correctamente, conduce a la formación de grandes aglomerados en un modo impredecible (Figura 41, véase la Formulación 13a). En el caso de la Formulación 13a, se tomaron tres muestras separadas del polvo molido por chorro y se transportaron brevemente en viales de centelleo sellados para análisis de DVS, PSD en húmedo y PSD en seco. Primero, se empezó el análisis de DVS, seguido por el análisis de PSD en húmedo y en seco. La Formulación 13a desarrolló una cantidad significativa de grandes aglomerados en los viales de centelleo sellados antes del análisis de PSD en seco como se muestra por los valores de D₉₀ y D₅₀ (Figuras 41 y 44, respectivamente). El análisis de PSD en seco también demuestra que la Formulación 13a tuvo valores de D₁₀ equivalentes a las otras Formulaciones 13b-d, demostrando que la Formulación 13a todavía tuvo un componente micronizado (Figura 47). El análisis de PSD en húmedo muestra que la Formulación 13a tuvo valores de PSD pequeños antes y durante el proceso de acondicionamiento que indican que estos aglomerados fueron de estructura débil (Figuras 50, 53 y 55). Los grandes aglomerados débiles permanecieron durante todo el proceso de acondicionamiento con un D₉₀ que nunca bajó por debajo de 1070 μm (Figura 41) como se mide por el análisis del tamaño de partículas en seco (Tabla 3).
- 10
- 15
- 20 Cuando se muelen en condiciones húmedas, las formulaciones recién molidas por chorro de glicopirrolato no contienen material amorfo; así, de acuerdo con la enseñanza de los documentos de patente WO1999054048, WO2000032165 y WO2000032313, las condiciones de molienda en húmedo reducen la formación de material amorfo sobre la superficie de glicopirrolato micronizado. El trazado de DVS demuestra que no estuvo presente material amorfo en este glicopirrolato recién micronizado ($t=0$) (véase la Figura 38). Sin este material amorfo sobre la superficie de glicopirrolato micronizado, las partículas no forman grandes aglomerados y permanecen respirables (es decir, D₅₀ inferior a 5 μm , véase la Tabla 4, Figura 42, Figura 45 y Figura 48). El análisis en húmedo y en seco del tamaño de partículas mostró que esta formulación de glicopirrolato recién micronizada siguió siendo estable durante todo el proceso de acondicionamiento con un D₉₀ que nunca superó 11,1 μm (Tabla 4).
- 25
- 30 Similarmente, formulaciones de glicopirrolato y estearato de magnesio recién molidos conjuntamente por chorro contienen material amorfo mínimo cuando se muelen conjuntamente por chorro en condiciones húmedas (Formulación 13c), como es evidente a partir del trazado de DVS (Figura 39). Sin este material amorfo sobre la superficie de glicopirrolato micronizado, las partículas micronizadas conjuntamente no forman grandes aglomerados (D₉₀ > 1000 μm) a diferencia de la Formulación 13a. La combinación de la humedad y el estearato de magnesio, sin embargo, reduce la eficiencia de la molienda dando como resultado un D₅₀ inicial de 12,8 μm para la Formulación 13c (véase la Tabla 5, análisis en húmedo) en comparación con 2,05 μm , 4,06 μm y 1,52 μm (análisis en húmedo para las Formulaciones 13a, b y d respectivamente).
- 35
- 40 Como era de esperar, las formulaciones de glicopirrolato y estearato de magnesio recién molidos conjuntamente por chorro contienen material amorfo cuando se muelen conjuntamente por chorro en condiciones secas, como es evidente a partir del trazado de DVS para la Formulación 13d (Figura 40). Sorprendentemente, sin embargo, el análisis en húmedo y en seco del tamaño de partículas mostró que la Formulación 13d tuvo coherentemente la mejor distribución del tamaño de partículas como se muestra por D₁₀, D₅₀ o D₉₀ a través de todos los puntos de tiempo cuando se compara con las Formulaciones 13a-c de control y siguió siendo estable y sin aglomerar durante todo el proceso de acondicionamiento con un D₉₀ que nunca subió por encima de 6,2 μm (véase la Tabla 6).

Por tanto, sorprendentemente, la Formulación 13d en la que estuvo presente material amorfo después de la molienda, produjo una mejor distribución del tamaño de partículas que la Formulación 13c, en la que estuvo presente poco material amorfo después de la molienda.

Formulaciones 14a-b

5 Se mezcló glicopirrolato sin micronizar, 50 g ($D_{10} = 20,6 \mu\text{m}$, $D_{50} = 148,7 \mu\text{m}$, $D_{90} = 409,7 \mu\text{m}$ determinado por el método de análisis en húmedo con Mastersizer 3000 de Malvern) con estearato de magnesio, 1,85 g, ($D_{10} = 2,8 \mu\text{m}$, $D_{50} = 8,8 \mu\text{m}$, $D_{90} = 27,4 \mu\text{m}$ determinado por el método de análisis en húmedo con Mastersizer 3000 de Malvern) en una mezcladora Turbula® durante 5 horas.

10 Se micronizó conjuntamente una muestra del glicopirrolato y estearato de magnesio mezclados por volteo usando un molino de chorro en espiral AS-50 (presión de entrada = 5 bares, presión de trituración = 3 bares, tasa de alimentación promedio = 2 g/min) usando un gas de molienda en seco (3,5 - 3,8 % de HR) como se mide por un higrómetro portátil con la sonda dispuesta en la corriente del gas de salida en la salida del recipiente de recogida. Se analizaron inmediatamente las muestras de este glicopirrolato recién micronizado conjuntamente usando DVS y análisis en húmedo del tamaño de partículas ($D_{10} = 0,601 \mu\text{m}$, $D_{50} = 1,42 \mu\text{m}$, $D_{90} = 2,80 \mu\text{m}$). El trazado de DVS (Figura 57) demuestra que inicialmente estuvieron presentes cantidades significativas de material amorfo en este glicopirrolato recién micronizado conjuntamente.

Experimento de control: Formulación 14a (molienda conjunta por chorro con gas seco, luego mezcla con lactosa)

20 Entonces se mezcló inmediatamente una muestra del glicopirrolato y estearato de magnesio recién micronizados conjuntamente con lactosa LH200 (99,7 % p/p de composición final) usando una mezcladora TRV de alto cizallamiento (1 L) durante 10 minutos a 8 m/s de velocidad de la punta. La formulación resultante se llenó en alícuotas de 25 mg en cápsulas de HPMC de tamaño 3. Las cápsulas resultantes se probaron para el rendimiento de aerosol (% de FPF(ED)) usando el NGI a un caudal de 90 L/min disparado de un Monohaler de baja resistencia, bien inmediatamente, 24 horas o 1 semana (168 horas) después de la fabricación con FPF(ED) $_{<5\mu\text{m}}$ y FPF(ED) $_{<3\mu\text{m}}$ calculado en estos puntos de tiempo (Figura 58 y Figura 59, respectivamente).

25 Formulación 14b (molienda conjunta por chorro con gas seco, luego acondicionamiento, luego mezcla con lactosa)

30 Entonces se sometió inmediatamente una muestra del glicopirrolato y estearato de magnesio recién micronizados conjuntamente a una etapa de acondicionamiento usando aire de ventilación a 22,0 °C / 47,0 % de HR pasando sobre y a través del lecho de polvo a una tasa de inferior a 0,1 cm³/s siendo la relación volumétrica entre la atmósfera de ventilación y el polvo a granel libremente compactado superior a 1:1 como parámetros de acondicionamiento durante 1 h. Entonces se mezcló con lactosa LH200 (99,7 % p/p de composición final) y se analizó según el Ejemplo 14a (Figura 58 y Figura 59, respectivamente).

Discusión: Formulación 14a y 14b

35 Las Figuras 58 y 59 muestran la reducción en FPF durante el transcurso de una semana en ambas formulaciones, que se atribuye a la relajación de polvo debido a la disipación estática. La máquina de mezcla TRV de alta energía es muy eficiente en romper aglomerados difíciles; particularmente, una partícula activa amorfa que se adhiere a un vehículo de lactosa pero que no confiere estática a la formulación recién mezclada.

40 La formulación preparada según el Ejemplo 14b tiene una media de datos, intervalo de datos y tasa de disminución en FPF(ED) $_{<5\mu\text{m}}$ o FPF(ED) $_{<3\mu\text{m}}$ que son todos distintos y superiores al Ejemplo 14a después de 24 horas y 1 semana, demostrando que existe un beneficio de acondicionar el glicopirrolato micronizado conjuntamente antes de la mezcla con la lactosa.

REIVINDICACIONES

1. Un método de preparación de una formulación en polvo seco, comprendiendo el método la molienda conjunta por chorro de glicopirrolato sin micronizar y estearato de magnesio con gas de molienda que tiene una humedad inferior a 20 % de humedad relativa para producir partículas compuestas micronizadas, en donde las partículas compuestas micronizadas se someten entonces a una etapa de acondicionamiento que incluye la exposición de las partículas compuestas micronizadas a humedad en el intervalo de 10 %-95 % de humedad relativa a temperaturas entre 5 °C y 88 °C durante al menos 60 minutos.
2. El método según la reivindicación 1, en donde el acondicionamiento se inicia en el plazo de 30 minutos desde que se completó la molienda, en el plazo de 25 minutos, en el plazo de 20 minutos, en el plazo de 15 minutos, preferentemente en el plazo de 10 minutos, más preferentemente en el plazo de 5 minutos, lo más preferentemente inmediatamente después de completarse la molienda conjunta por chorro del glicopirrolato y estearato de magnesio.
3. El método según las reivindicaciones 1 a 2, en donde el estearato de magnesio se muele conjuntamente por chorro en una cantidad de desde 1 hasta 25 % (p/p), más preferentemente desde 2 hasta 20 % (p/p), más preferentemente 3 a 15 % (p/p), más preferentemente 4 a 10 % (p/p), pero lo más preferentemente desde 5 hasta 7,5 % (p/p) de estearato de magnesio en peso de la combinación molida por chorro conjunta de glicopirrolato y estearato de magnesio.
4. El método según las reivindicaciones 1 a 3, en donde el método comprende además someter las partículas compuestas micronizadas a una atmósfera de ventilación que tiene humedad relativa en el intervalo de 10 %-95 % de HR, preferentemente 30-90 % de HR, 45-90 % de HR o 50-88 % de HR, o más preferentemente 60-87 %, preferentemente en donde la atmósfera es aire.
5. El método según la reivindicación 4, en donde atmósfera de ventilación pasa por encima y a través de un lecho de polvo que comprende partículas compuestas micronizadas a una tasa inferior a 100 cm³/s, inferior a 10 cm³/s, inferior a 5 cm³/s, inferior a 2 cm³/s, inferior a 1 cm³/s, preferentemente inferior a 0,8 cm³/s, preferentemente inferior a 0,6 cm³/s, preferentemente inferior a 0,4 cm³/s, preferentemente inferior a 0,2 cm³/s, preferentemente inferior a 0,1 cm³/s, más preferentemente aproximadamente 0,001 cm³/s.
6. El método según las reivindicaciones 1 a 5, en donde la etapa de acondicionamiento implica la agitación del polvo, opcionalmente en donde la agitación es agitación intermitente del polvo.
7. El método según la reivindicación 6, en donde la agitación del polvo tiene lugar en el plazo de 30 minutos desde que se completó la molienda, en el plazo de 25 minutos, en el plazo de 20 minutos, en el plazo de 15 minutos, preferentemente en el plazo de 10 minutos, más preferentemente en el plazo de 5 minutos, lo más preferentemente inmediatamente después de completarse la molienda del glicopirrolato y estearato de magnesio.
8. El método según cualquier reivindicación precedente, en donde la formulación comprende además un agonista de los adrenoceptores beta-2, preferentemente en donde el agonista de los adrenoceptores beta-2 es salbutamol, metaproterenol, terbutalina, salmeterol, fenoterol, procaterol, preferentemente, formoterol, carmoterol y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, más preferentemente en donde el agonista de los adrenoceptores beta-2 es maleato de (R)-5-[2-(5,6-dietil-indan-2-ilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona.
9. El método según cualquier reivindicación precedente, en donde la formulación comprende además indacaterol y mometasona, preferentemente maleato de indacaterol y furoato de mometasona.
10. Un método de preparación de una formulación en polvo seco, comprendiendo el método la molienda conjunta por chorro de glicopirrolato sin micronizar y estearato de magnesio con gas de molienda que tiene una humedad inferior a 20 % de humedad relativa para producir partículas compuestas micronizadas, en donde las partículas compuestas micronizadas se someten entonces a una etapa de acondicionamiento que incluye la exposición de las partículas compuestas micronizadas a humedad en el intervalo de 10 %-95 % de HR a temperaturas entre 5 °C y 88 °C durante al menos 10 minutos.
11. El método según las reivindicaciones 1 a 10, en donde las partículas compuestas micronizadas se mezclan con un vehículo, preferentemente lactosa, más preferentemente lactosa anhidra, más preferentemente alfa-lactosa monohidratada, opcionalmente después de la etapa de acondicionamiento.
12. El método según la reivindicación 11, en donde las partículas compuestas micronizadas están presentes en una cantidad inferior a 5 %, inferior a 4 %, inferior a 3 %, preferentemente inferior a 2 %, preferentemente inferior a 1 %, preferentemente inferior a 0,75 %, preferentemente inferior a 0,5 % en peso de la formulación.
13. El método según las reivindicaciones 1 a 12, en donde la etapa de acondicionamiento tiene lugar distribuyendo las partículas compuestas micronizadas sobre una superficie, opcionalmente en donde la etapa de acondicionamiento tiene lugar en una bandeja.

14. El método según las reivindicaciones 1 a 13, en donde la etapa de acondicionamiento implica exponer las partículas compuestas micronizadas a la humedad durante un tiempo suficiente para que el glicopirrolato amorfo recristalice después de la molienda conjunta por chorro, como se ha determinado por sorción dinámica de vapor.

5 15. El método según las reivindicaciones 1 a 14, en donde el gas de molienda tiene una humedad preferentemente inferior a 15 % de humedad relativa, preferentemente inferior a 10 % de humedad relativa, preferentemente inferior a 5 % de humedad relativa, más preferentemente inferior a 2,5 % de humedad relativa.

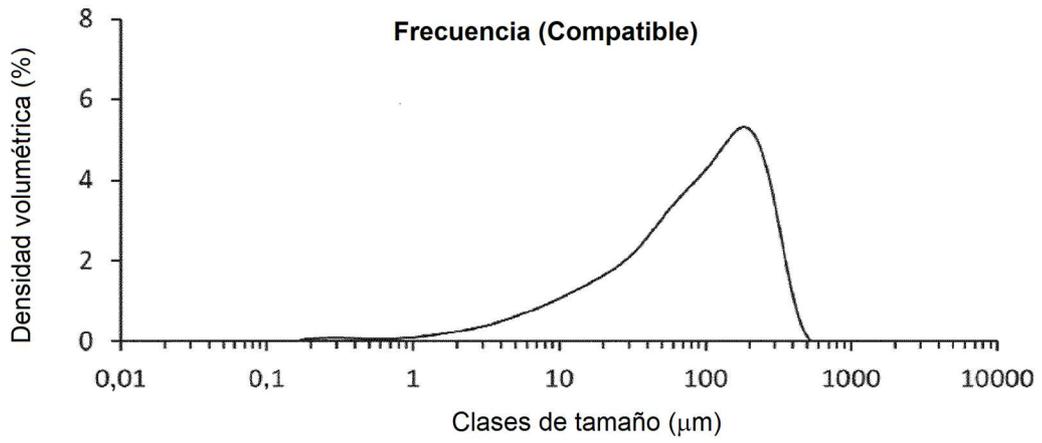


Figura 1

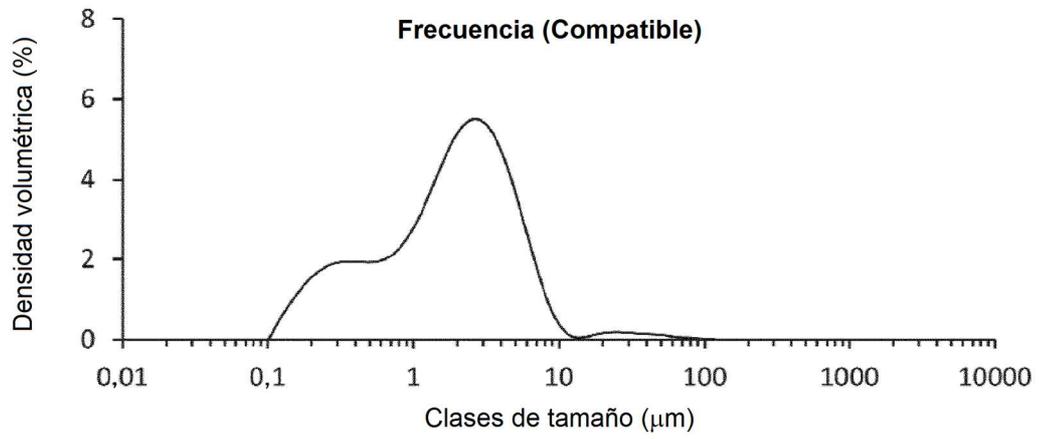


Figura 2

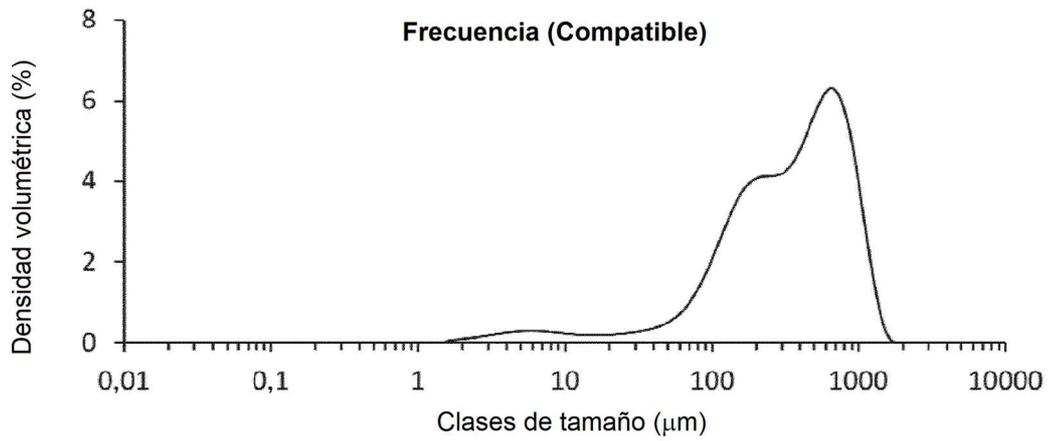


Figura 3

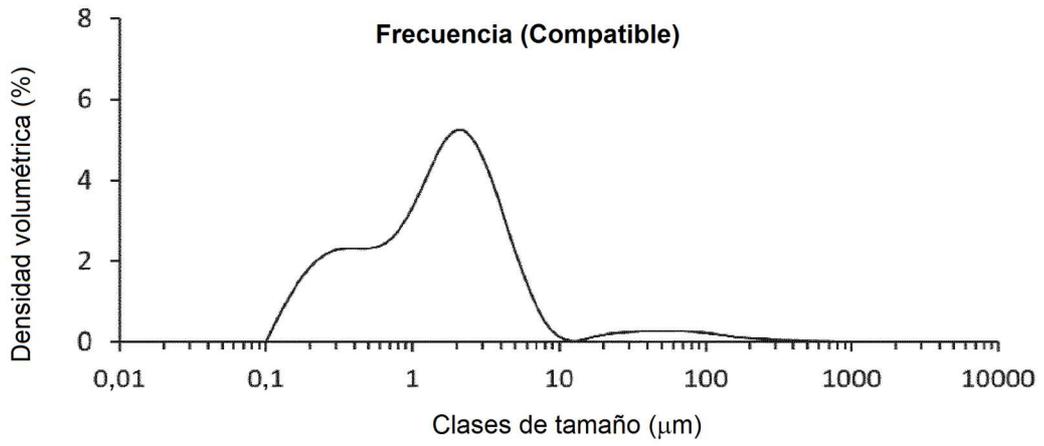


Figura 4

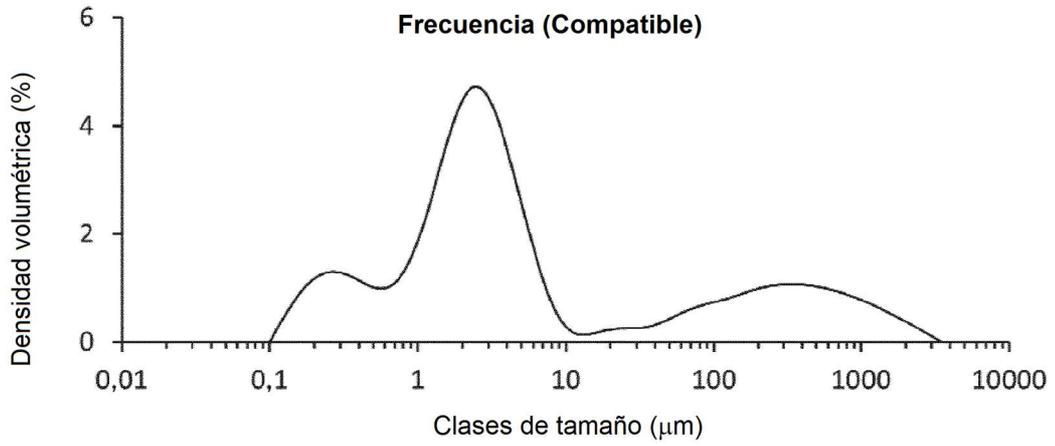


Figura 5

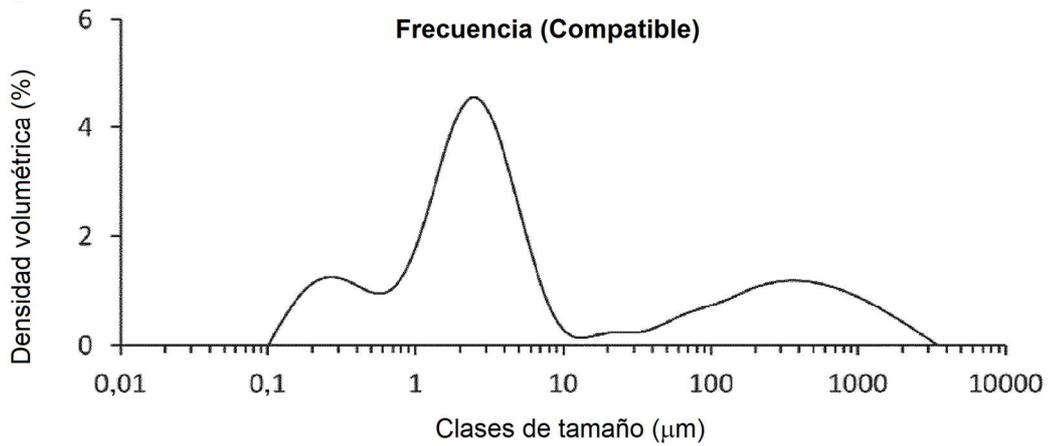


Figura 6

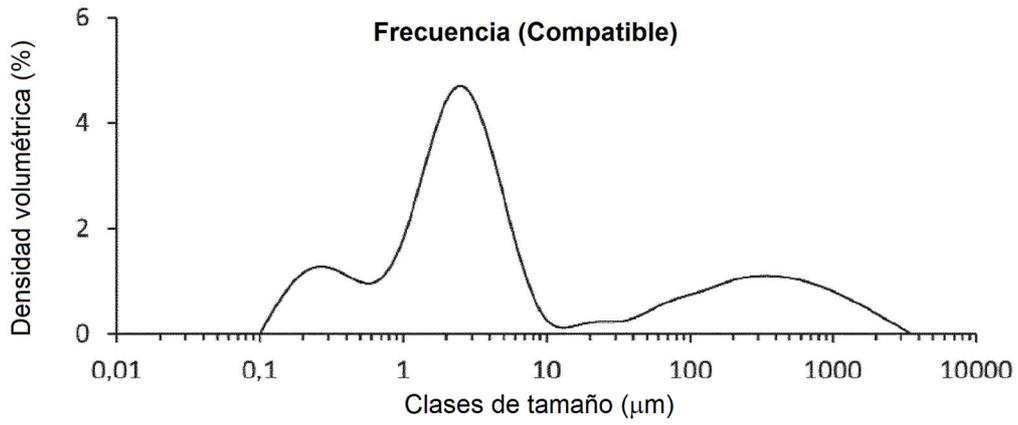


Figura 7

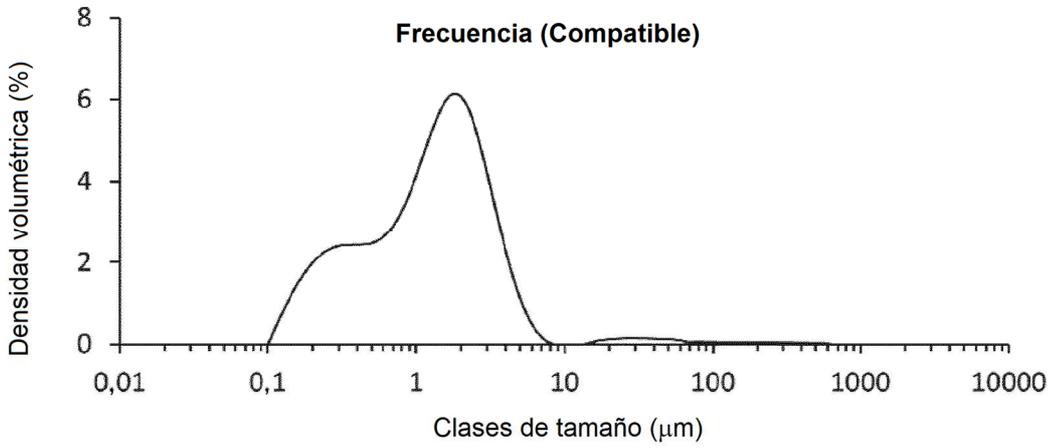


Figura 8

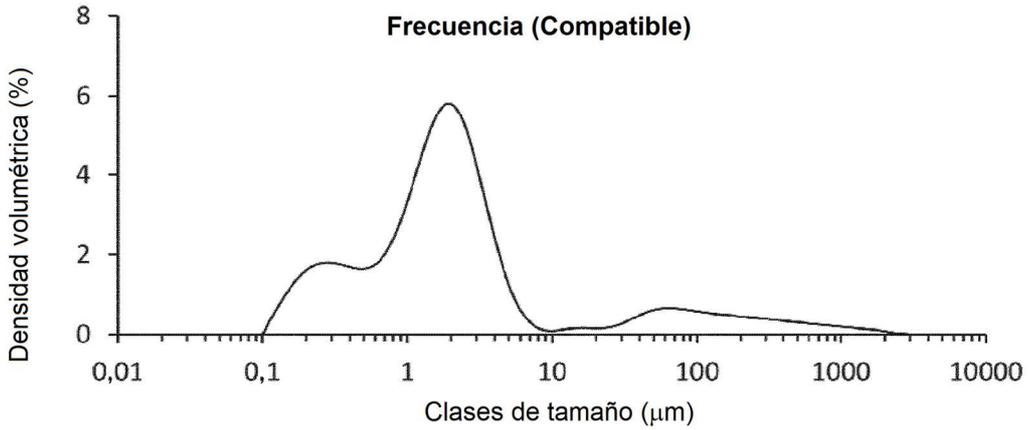


Figura 9

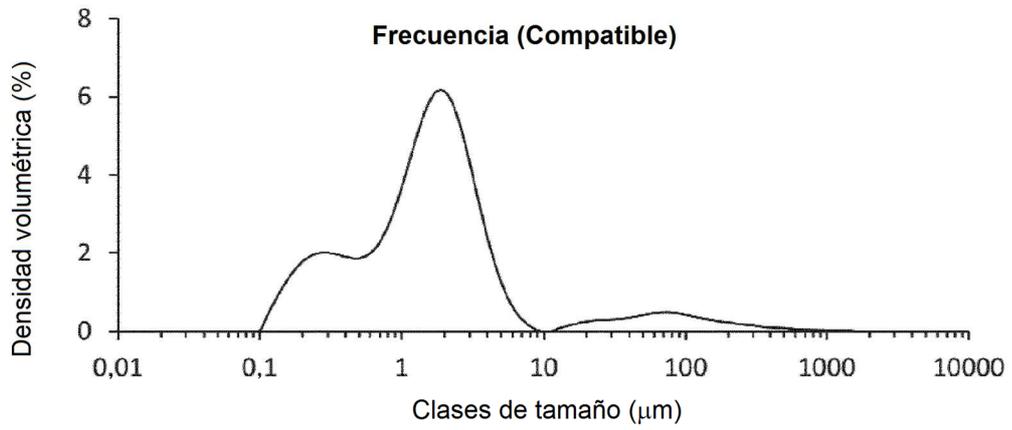


Figura 10

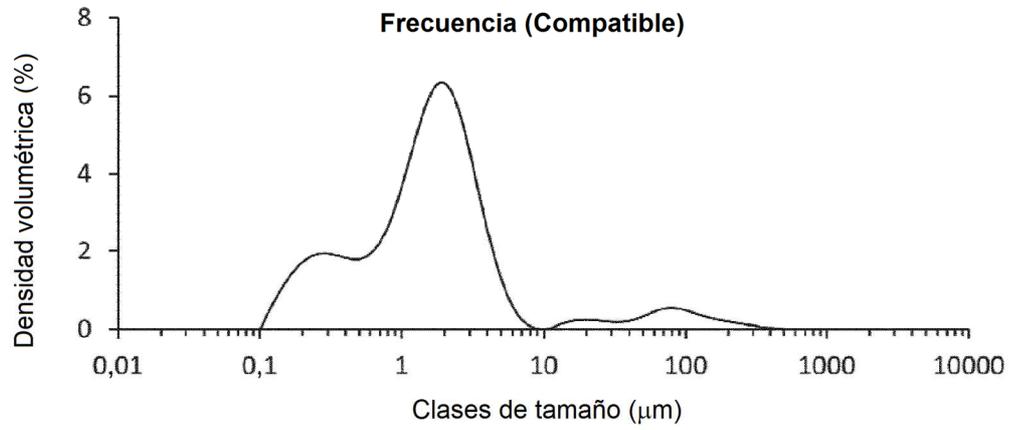


Figura 11

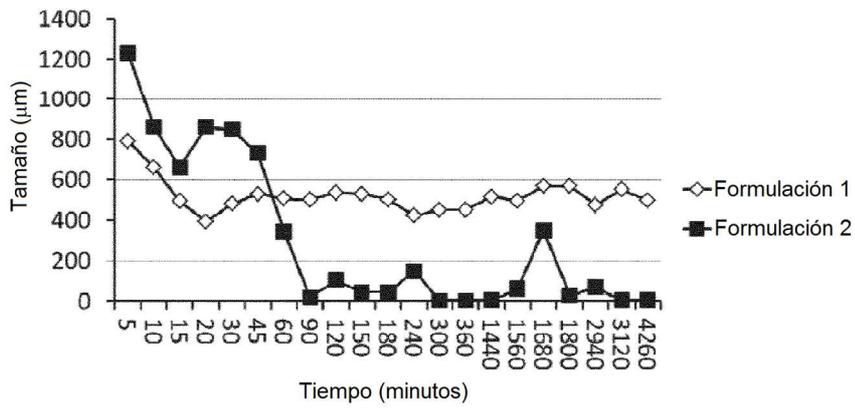


Figura 12

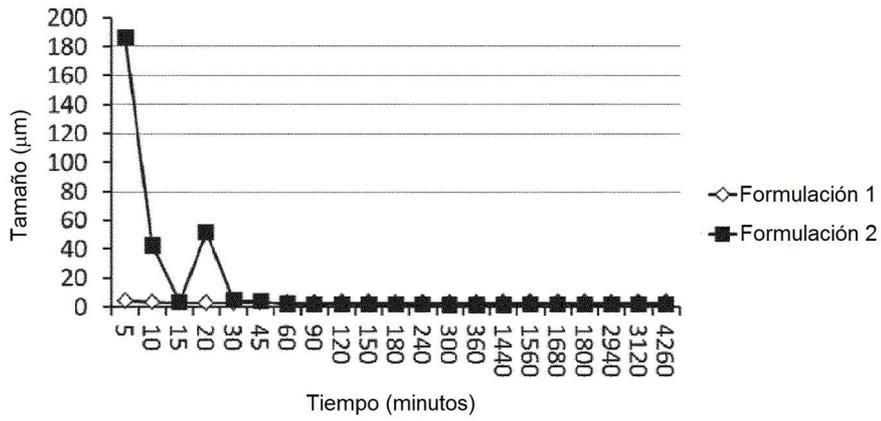


Figura 13

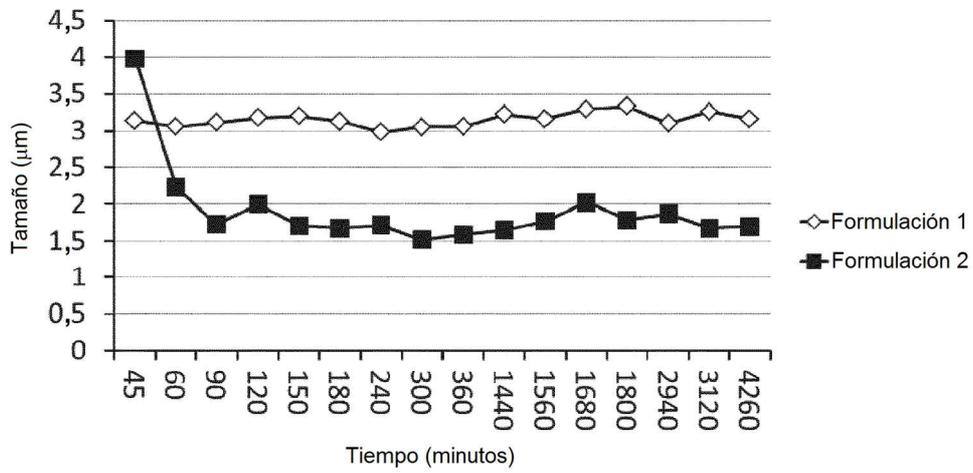


Figura 14

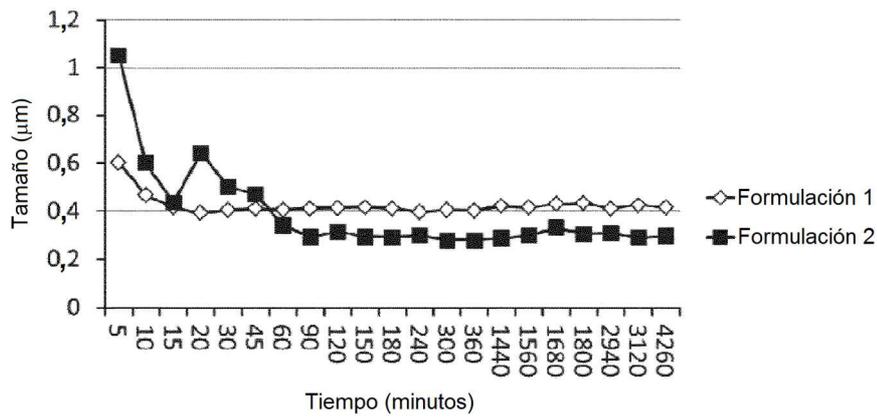


Figura 15

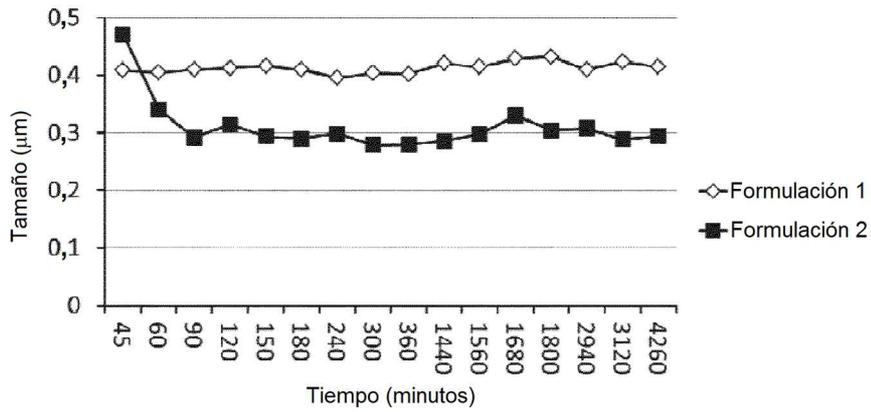


Figura 16

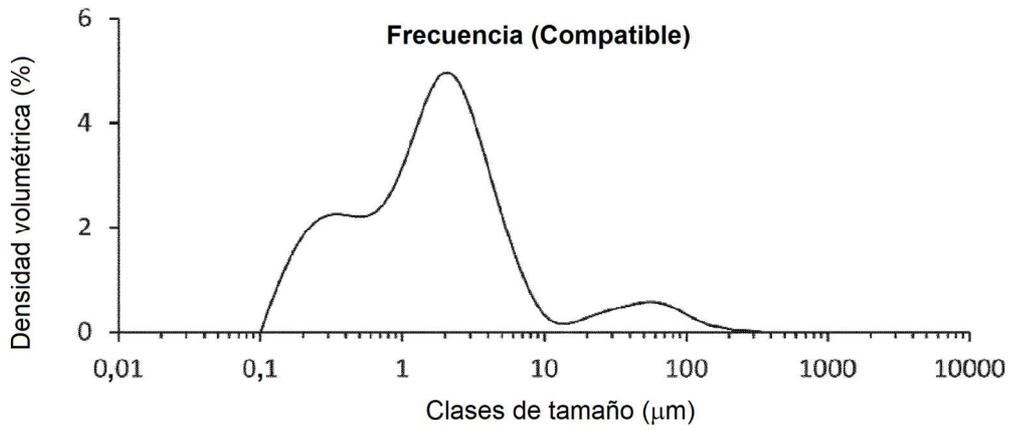


Figura 17

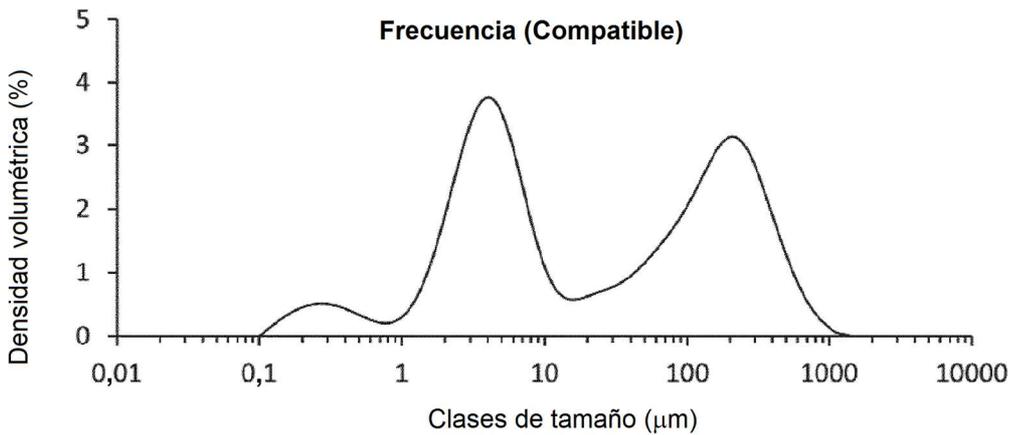


Figura 18

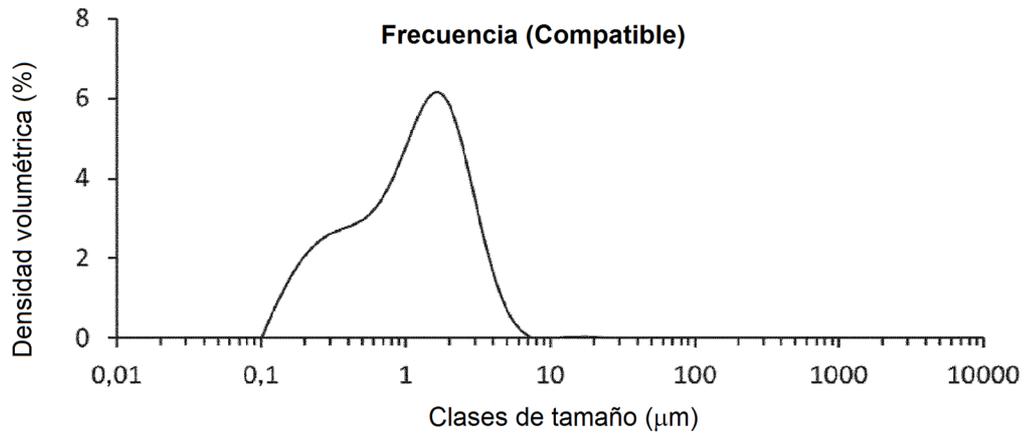


Figura 19

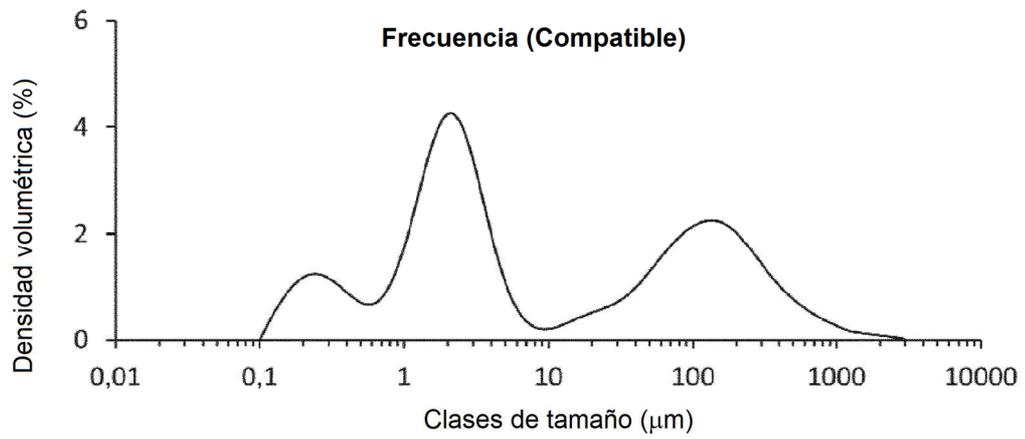


Figura 20

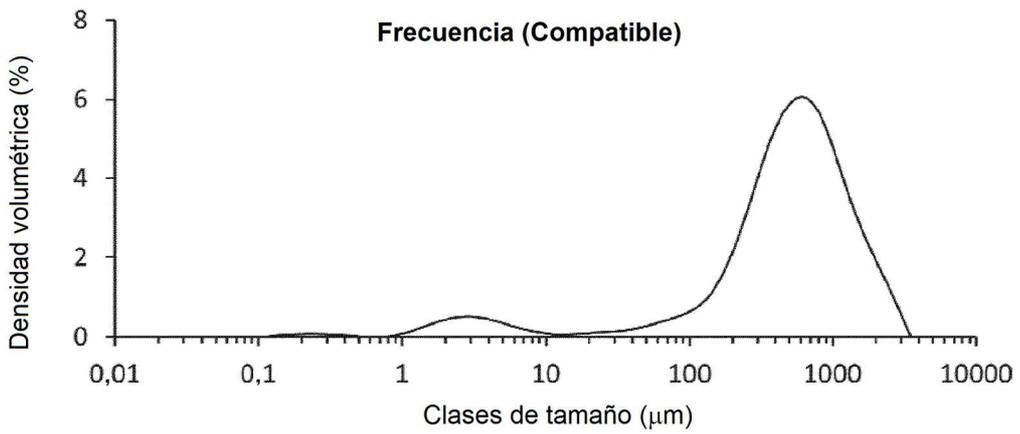


Figura 21

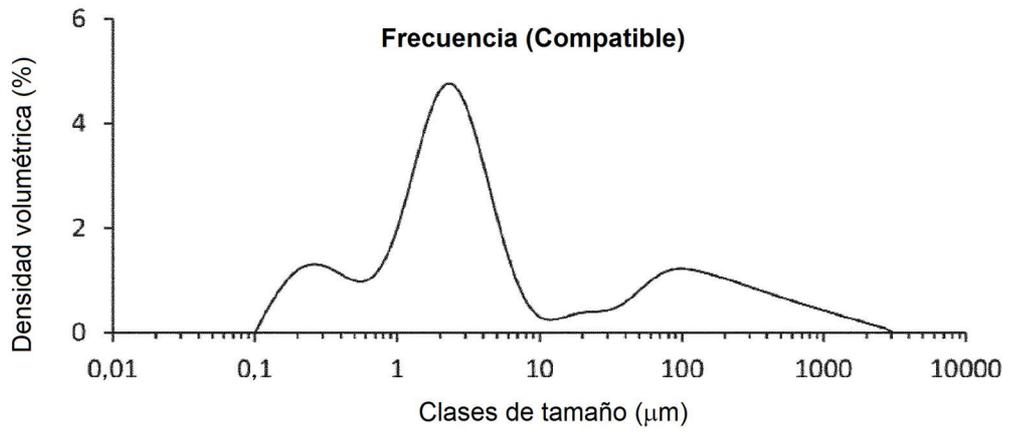


Figura 22

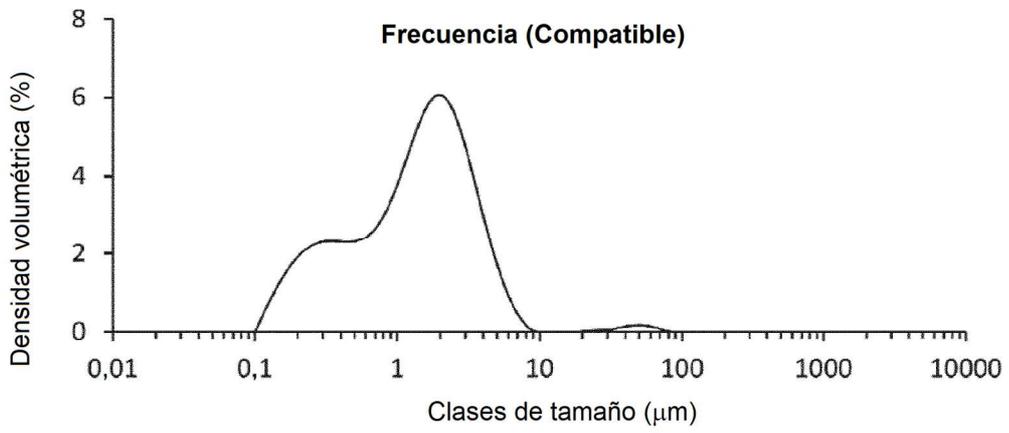


Figura 23

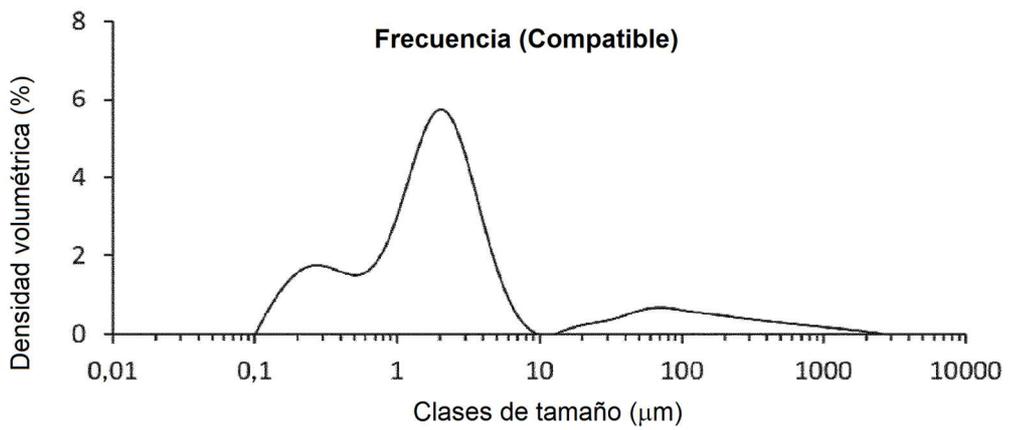


Figura 24

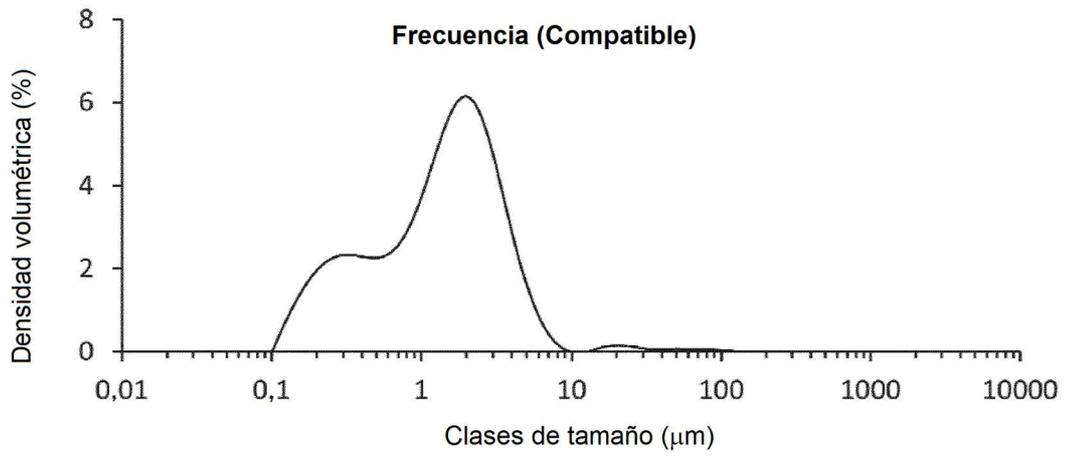


Figura 25

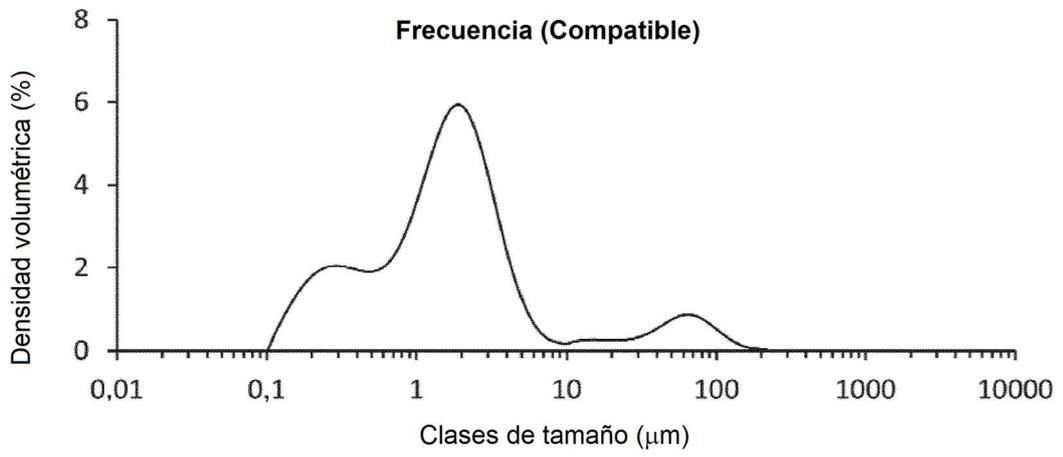


Figura 26

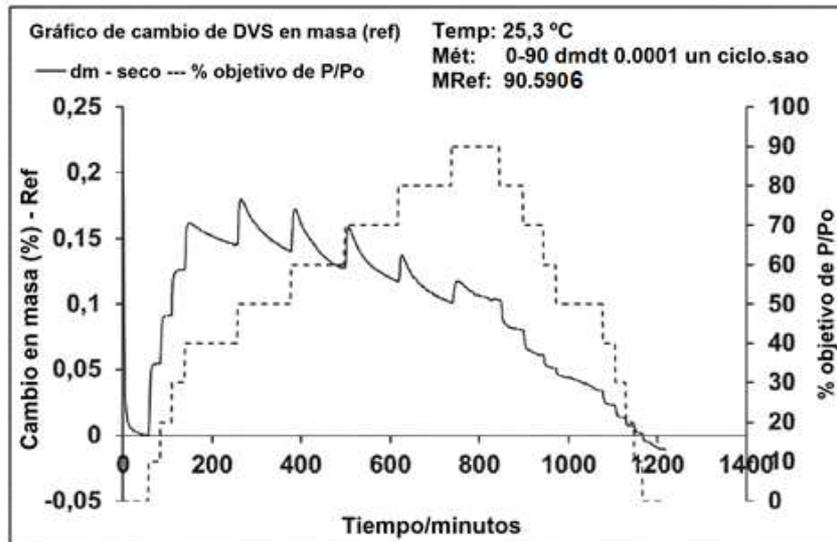


Figura 27

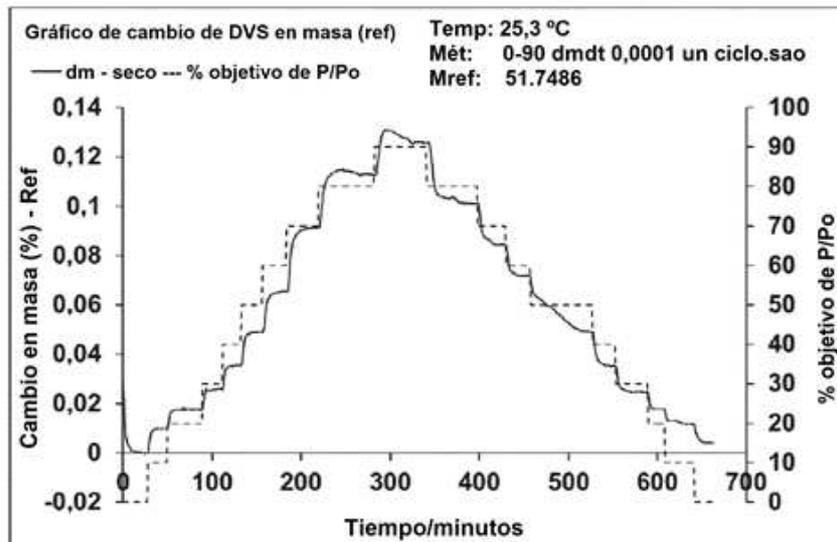


Figura 28

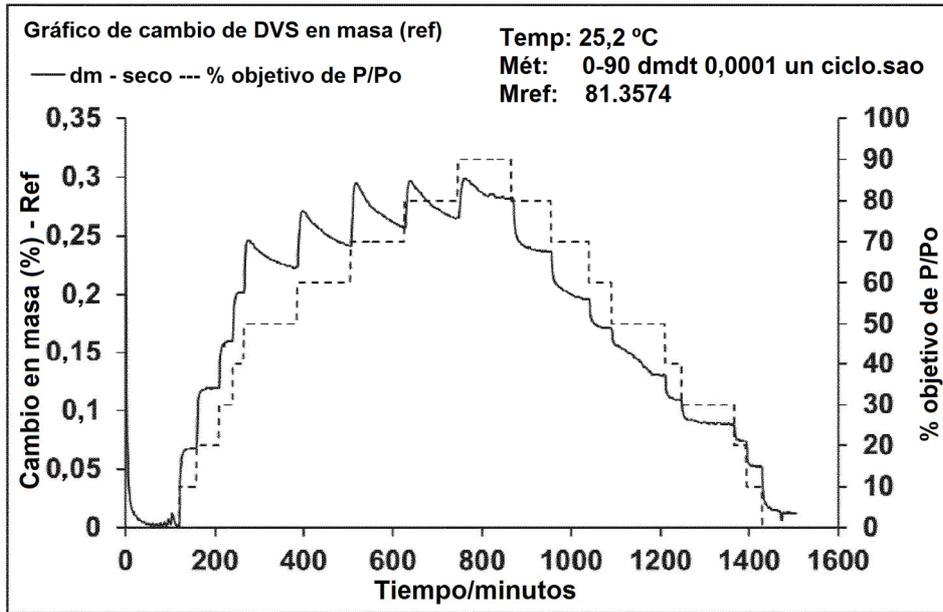


Figura 29

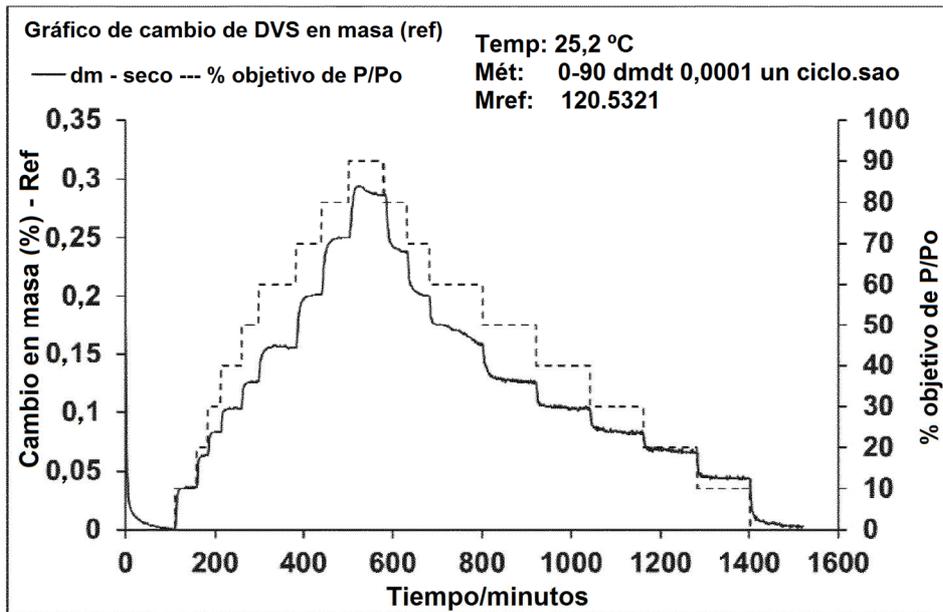


Figura 30

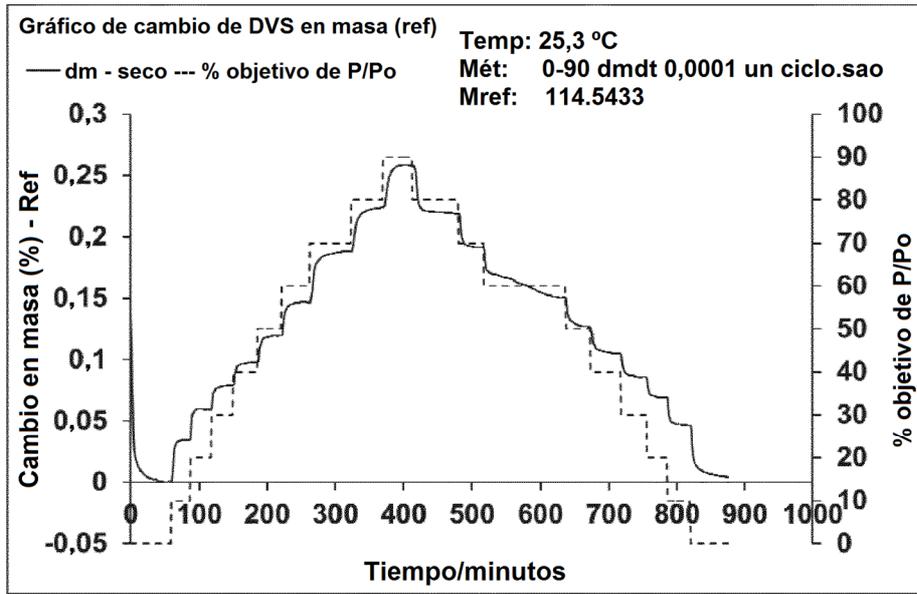


Figura 33

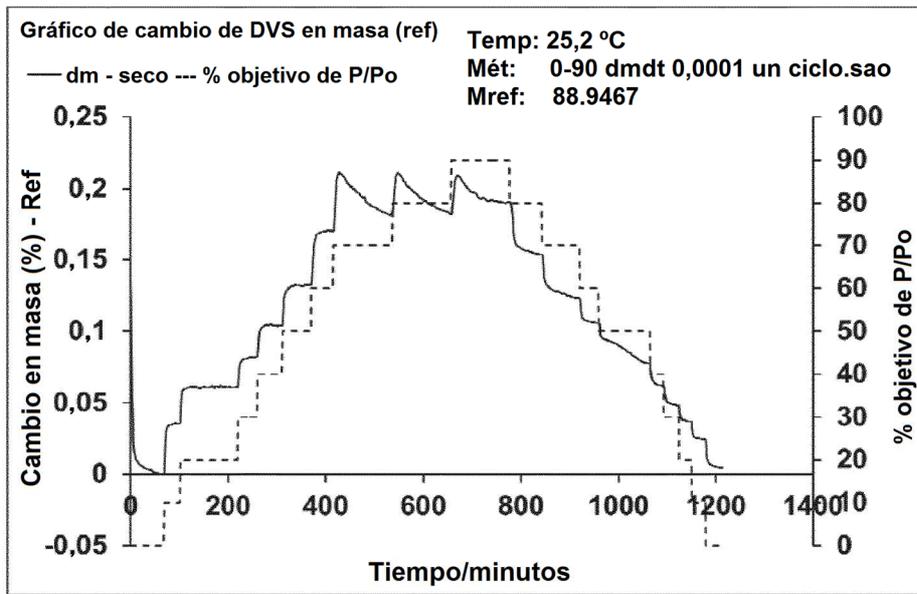


Figura 34

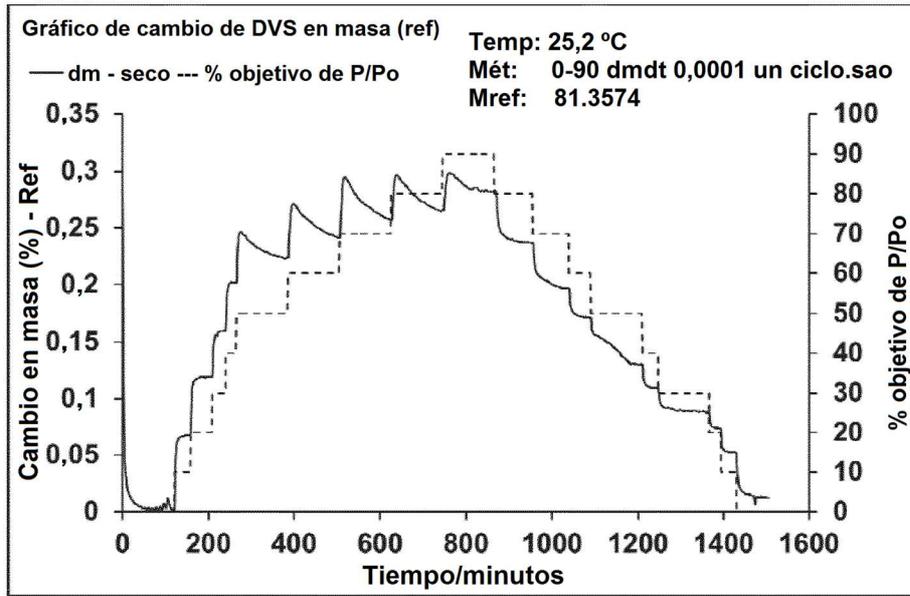


Figura 35

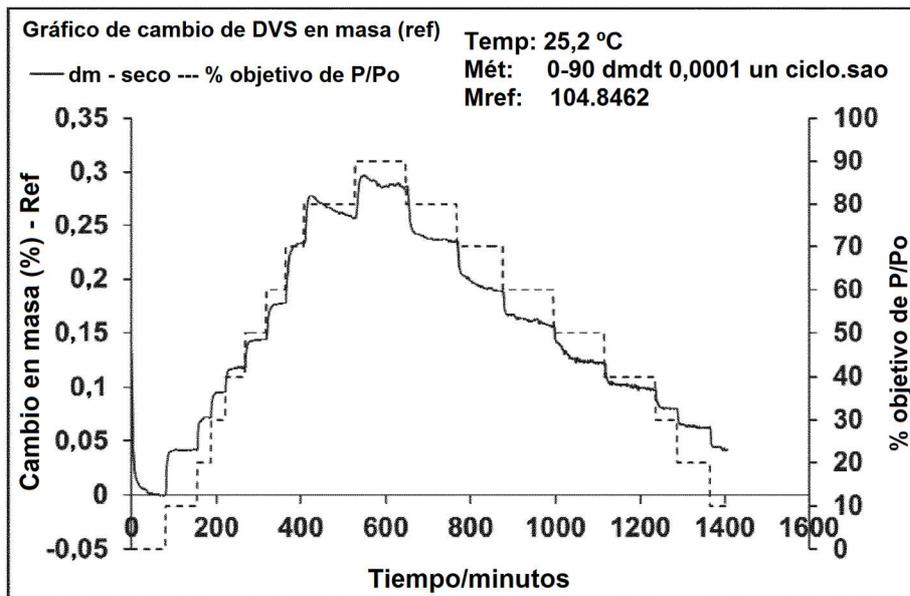


Figura 36

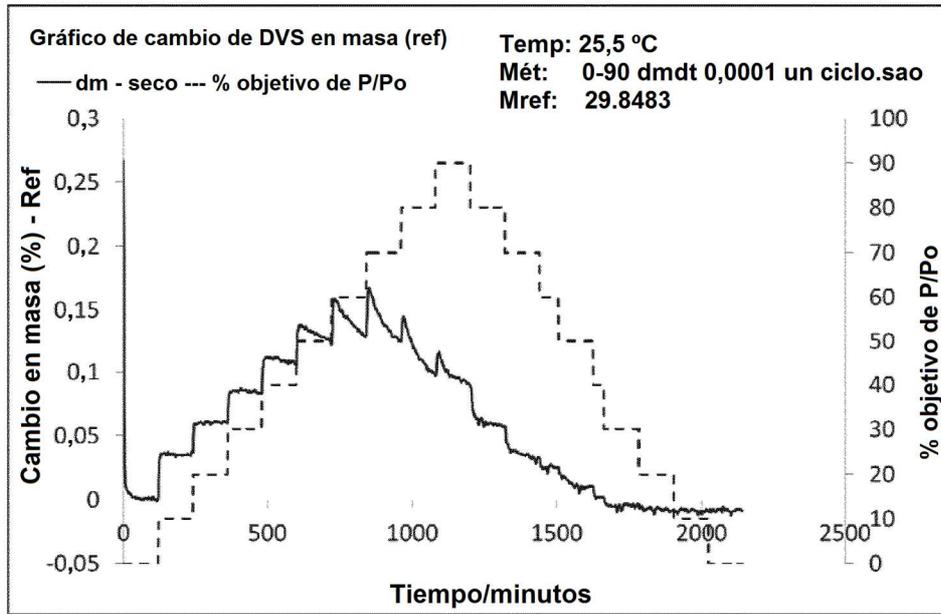


Figura 37

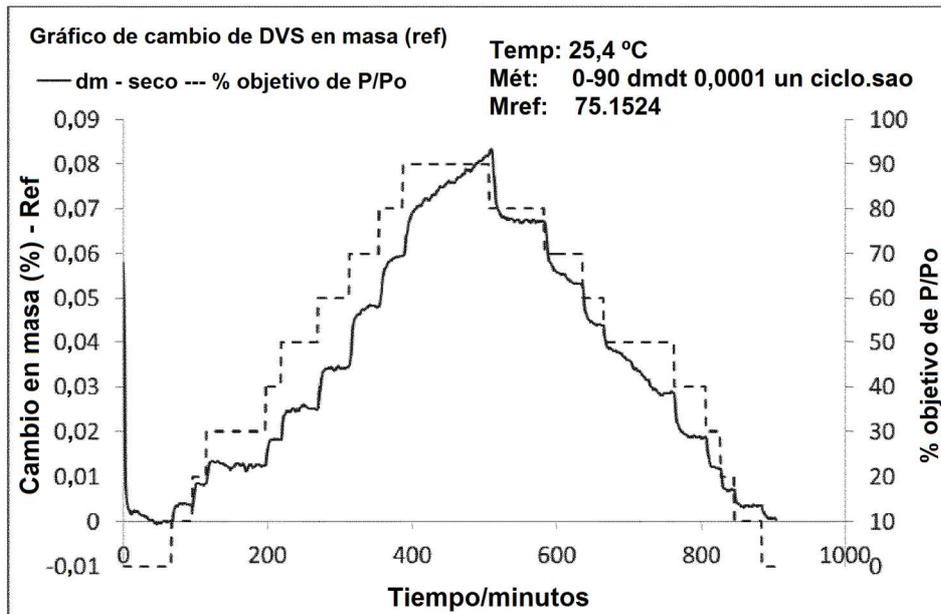


Figura 38

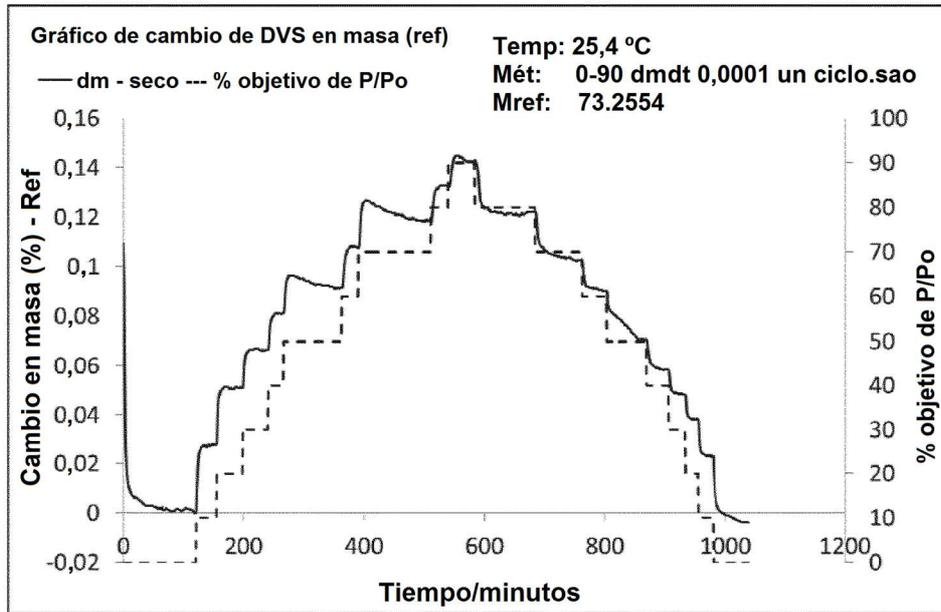


Figura 39

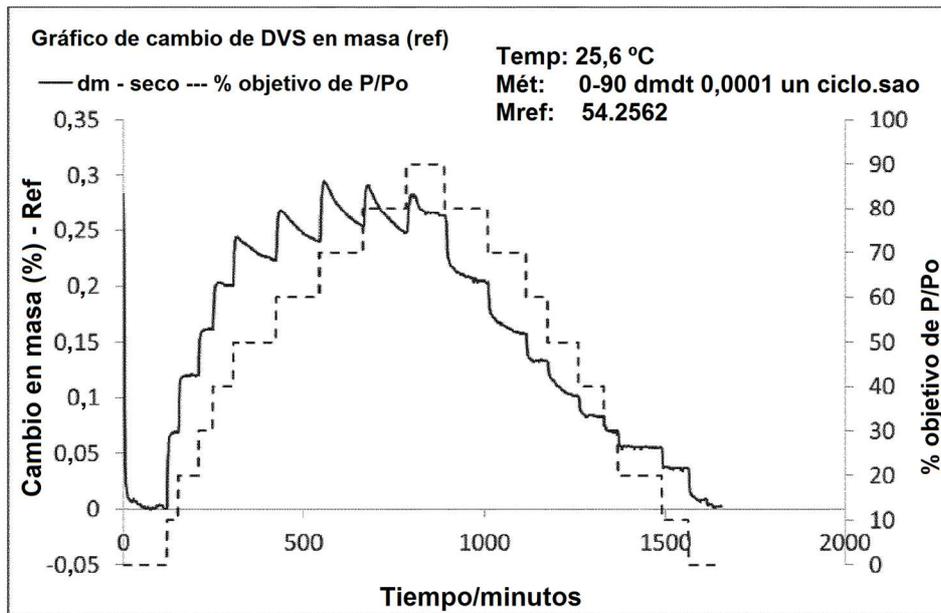


Figura 40

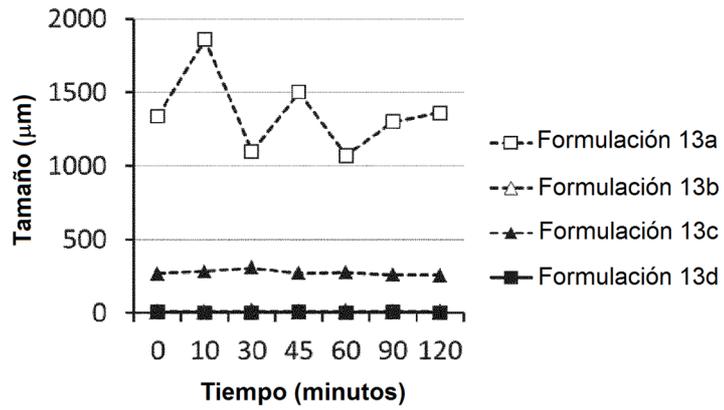


Figura 41

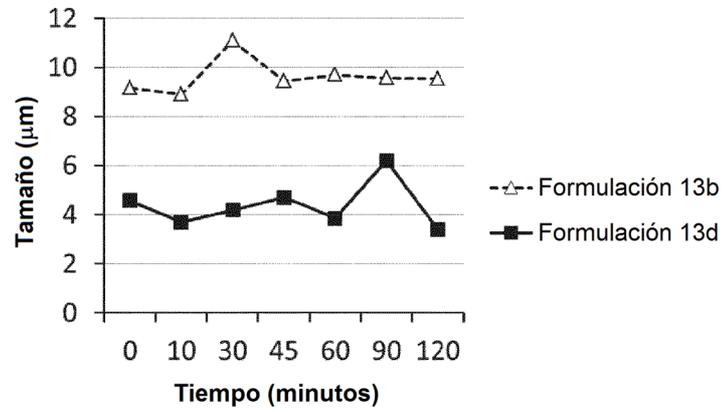


Figura 42

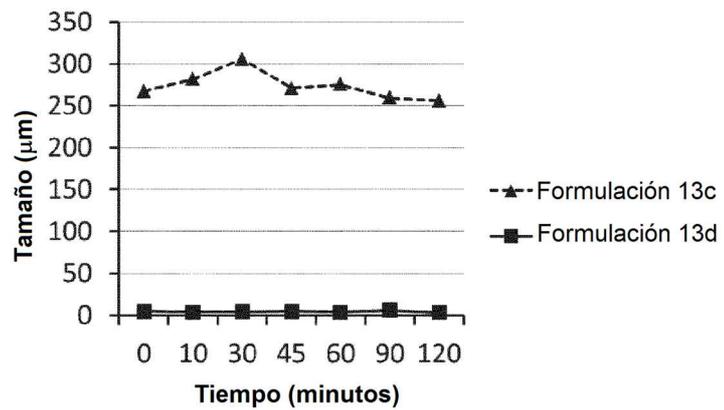


Figura 43

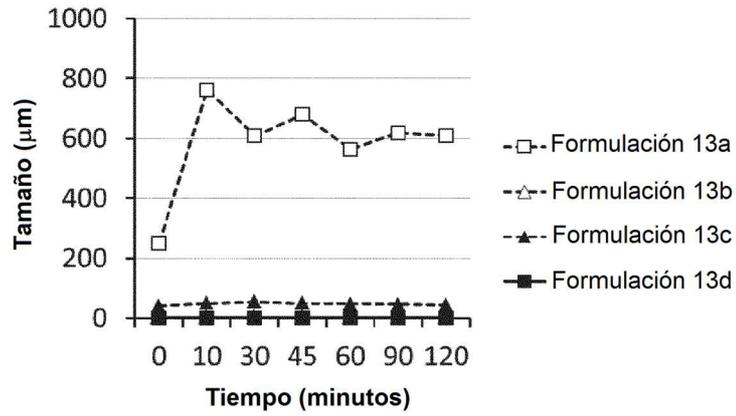


Figura 44

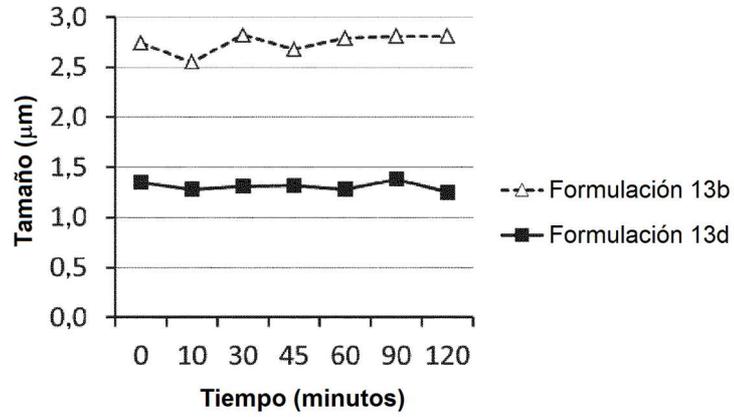


Figura 45

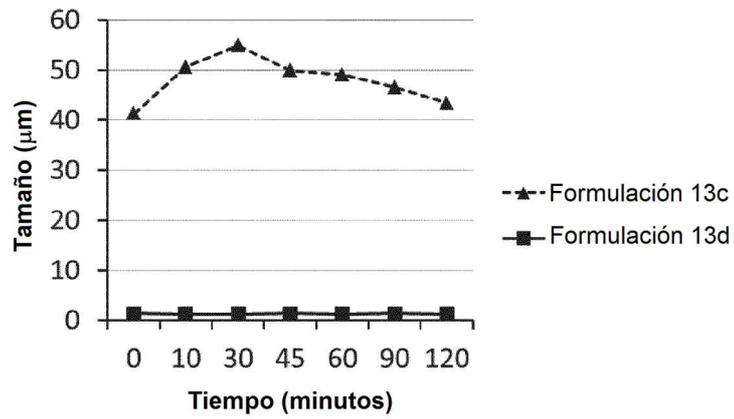


Figura 46

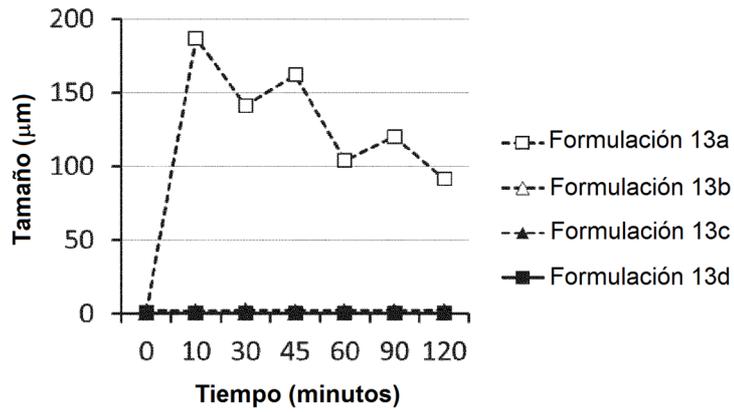


Figura 47

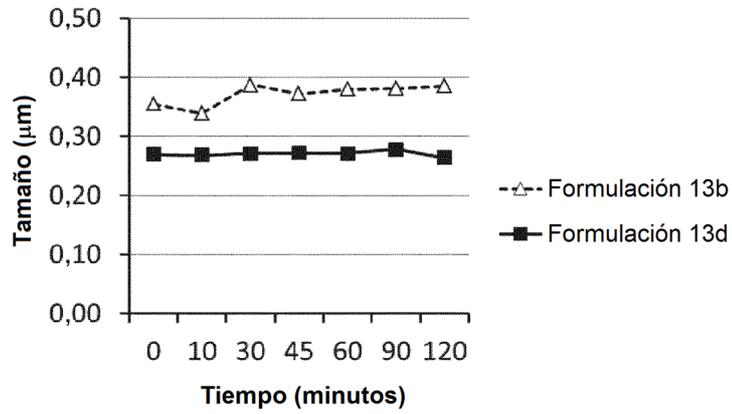


Figura 48

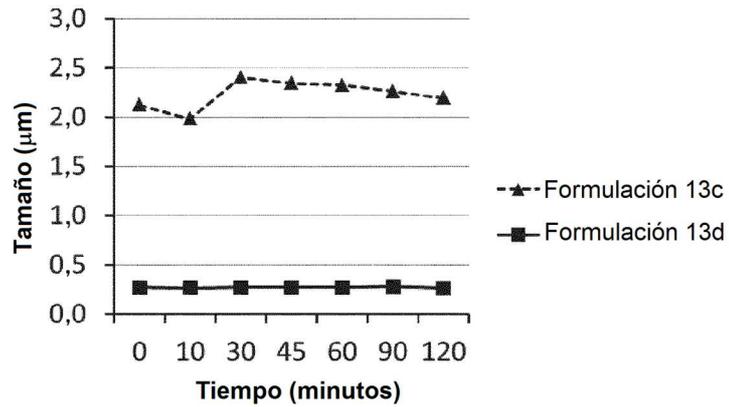


Figura 49

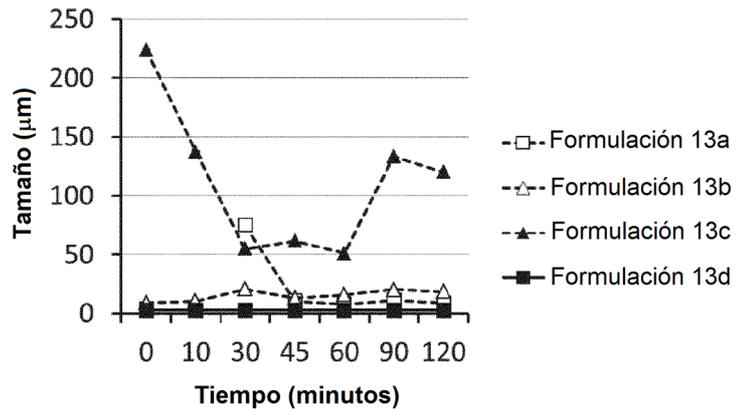


Figura 50

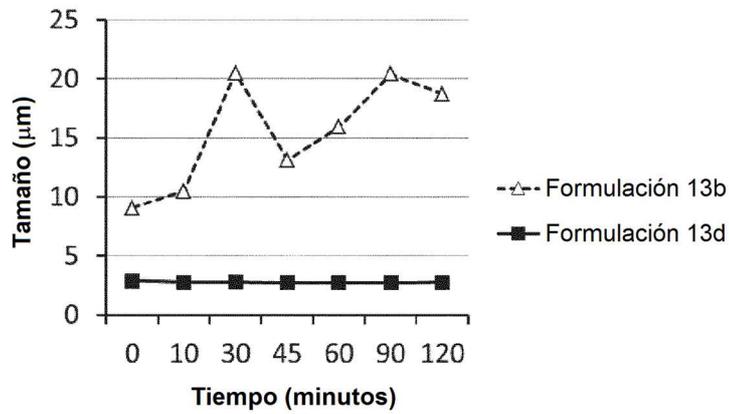


Figura 51

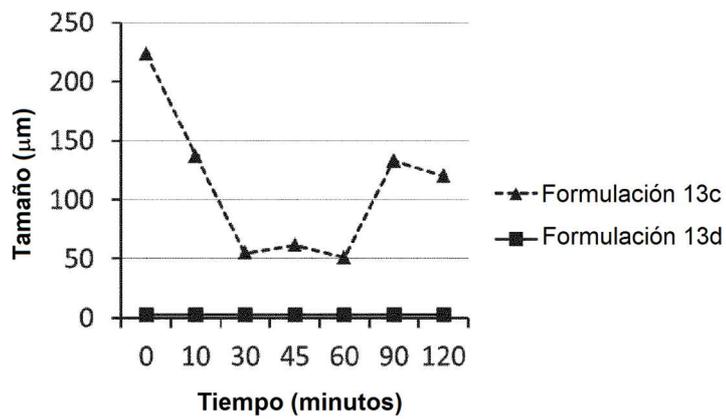


Figura 52

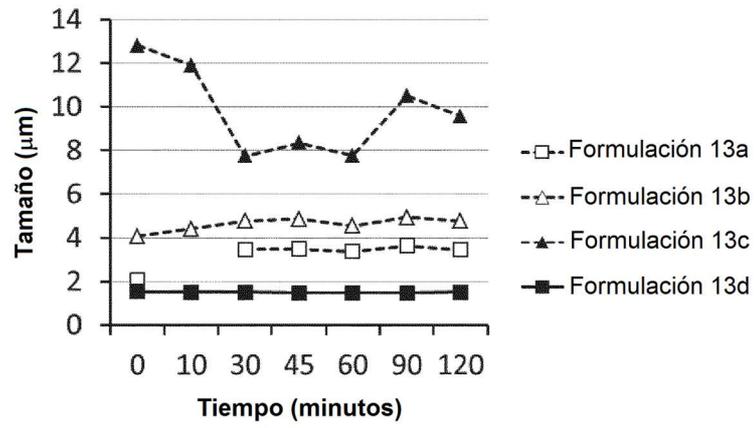


Figura 53

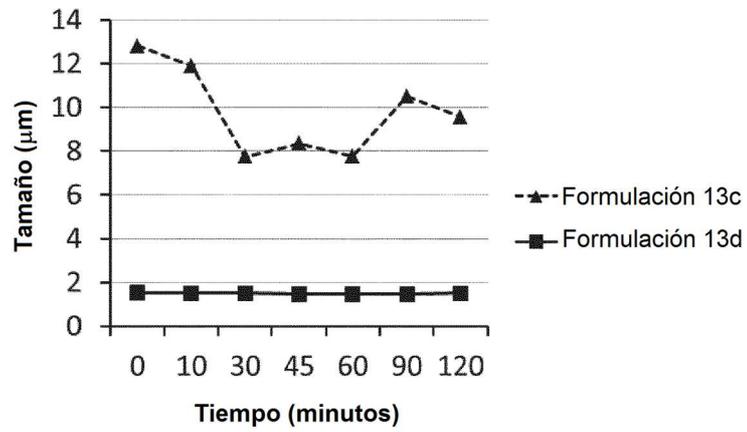


Figura 54

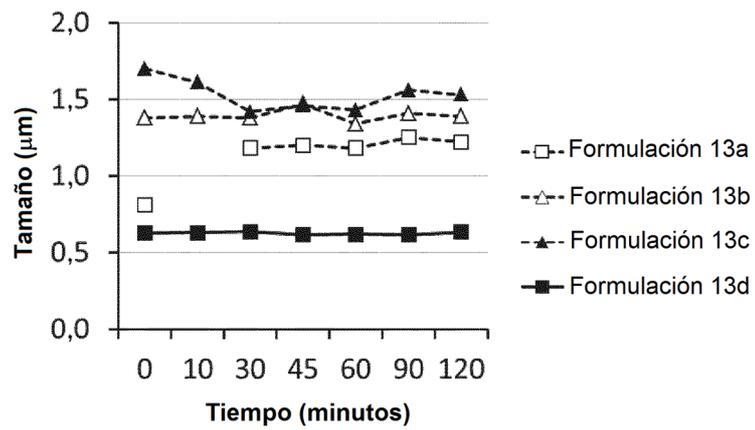


Figura 55

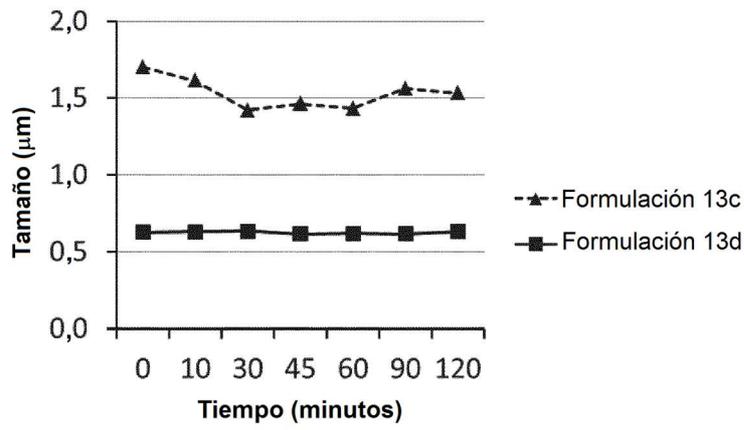


Figura 56

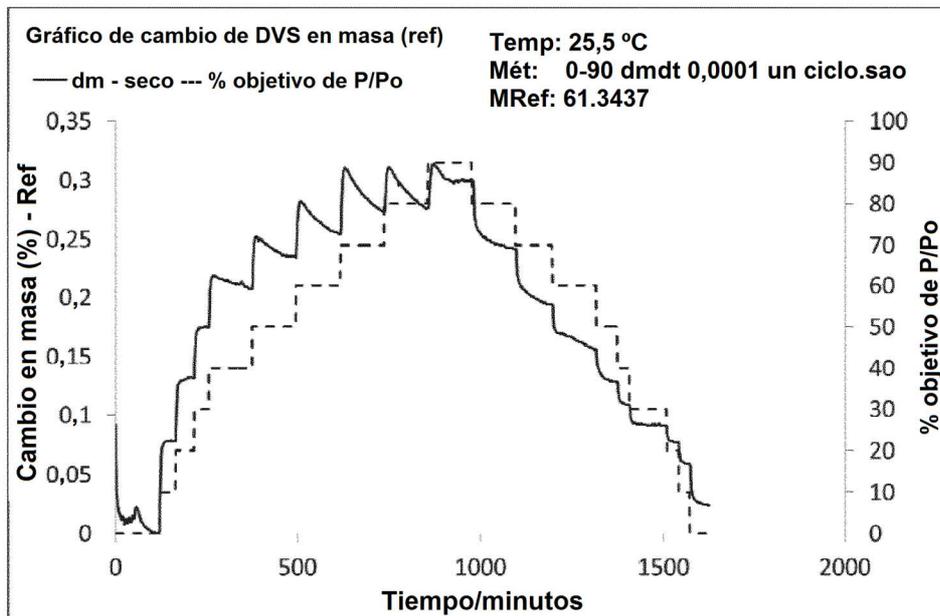


Figura 57

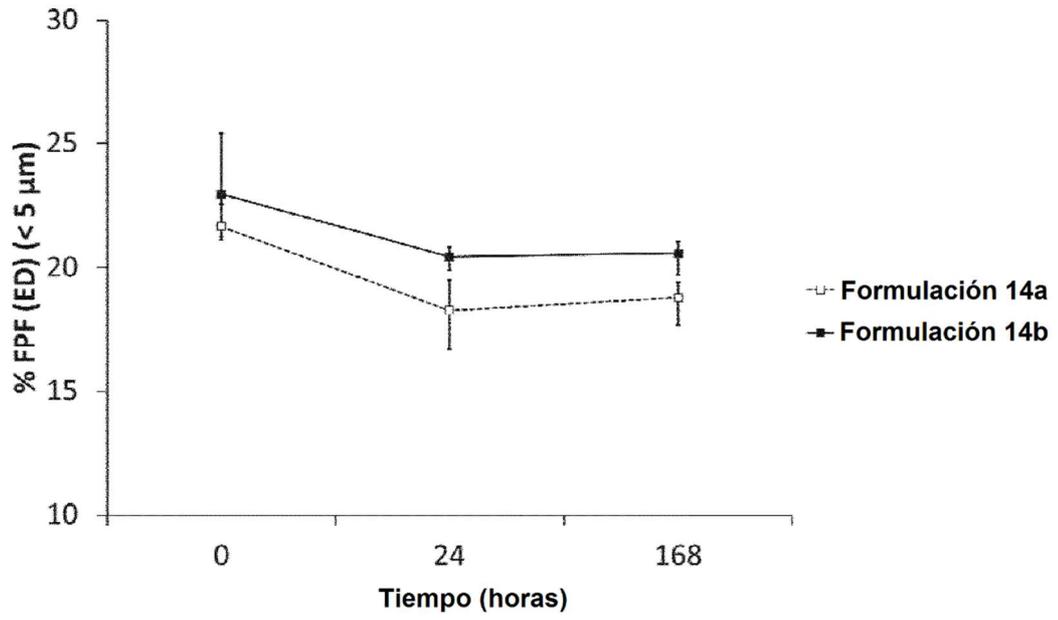


Figura 58

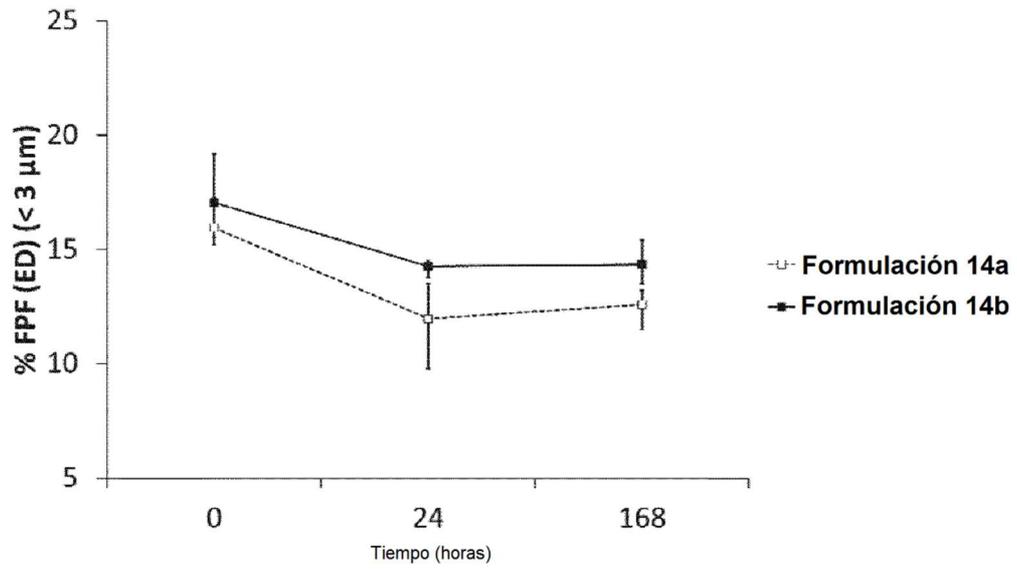


Figura 59