

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 942 901**

51 Int. Cl.:

A61K 31/167 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/573 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 11/08 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.09.2020** **PCT/EP2020/075416**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.03.2021** **WO21048322**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2020** **E 20780106 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2023** **EP 4003320**

54 Título: **Micropartículas con depresiones en forma de pelota de golf para su uso en el tratamiento y la prevención de enfermedades pulmonares**

30 Prioridad:

10.09.2019 BE 201905603

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.06.2023

73 Titular/es:

AQUILON PHARMACEUTICALS (100.0%)
Rue Porte de Lorette 76
4600 Visé, BE

72 Inventor/es:

MAES, PAUL;
CATALDO, DIDIER;
BIGAZZI, WILLIAM y
EVARD, BRIGITTE

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 942 901 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

Micropartículas con depresiones en forma de pelota de golf para su uso en el tratamiento y la prevención de enfermedades pulmonares

Dominio técnico

La presente invención se refiere a una micropartículas en forma de pelota de golf obtenidas mediante atomización de nanosuspensiones de nanopartículas o disoluciones para inhaladores de polvo seco para su uso en el tratamiento y la prevención de enfermedades, en particular enfermedades pulmonares.

Técnica anterior

La terapia por inhalación es popular para tratar infecciones de las vías respiratorias bajas. En particular, el cáncer pulmonar y las inflamaciones pulmonares pueden tratarse mediante la inhalación de principios farmacéuticos activos (API) a través de inhaladores de polvo seco. Existen muchos sistemas de polvo seco: Portadores de lactosa con API micronizados en la superficie del portador, gránulos de API micronizados y aglomerados o partículas porosas. Las formulaciones de polvo seco existentes pueden, por ejemplo, administrar sólo aproximadamente el 30 % del API uniformemente por todos los pulmones. Aunque la lactosa es el portador más ampliamente usado, se están investigando nuevos portadores. Por ejemplo, se informa que la rafinosa posee un rendimiento de aerosolización comparable con el portador de lactosa tradicional.

El documento EP2785326 de la Universidad de Carolina del Norte describe partículas de lactosa moldeadas por ingeniería de manera geométrica que tienen formas y tamaños variados y carga superficial que pueden incorporar fármacos y/u otros biomateriales para la administración dirigida, tal como administración pulmonar. Las partículas también pueden tener un intervalo de características físicas tales como fenestraciones, brazos en ángulo, asimetría y rugosidad superficial, carga que alteran las interacciones con células y tejidos. Ejemplos de formas diseñadas por ingeniería (molde): toroide, helicóptero, polen; mancuerna, boomerang.

El documento CN106924193 de Songwen describe un portador para inhalador de polvo seco de lactosa de alta porosidad y un método de síntesis supersaturada y aplicaciones de los mismos. El portador es un material particulado de polvo seco poroso en forma de flor con una superficie rugosa. A través de un sistema de nanoporo de alta porosidad.

El documento WO2004052334 de Okpala describe un método de diseñar por ingeniería cambios en las características morfológicas, químicas o físicas de una partícula, para promover, por ejemplo, la formación de pelos y poros en la superficie de la partícula. Este documento estipula que, al contrario de la tendencia general de la técnica anterior, tales superficies rugosas en esta invención son ventajosas y promueven la rugosidad de la superficie de la partícula por la presencia de proyecciones, pelos y/o poros.

Las ciclodextrinas se mencionan como una de una pluralidad de excipientes adecuados.

El documento EP1906919 de Boehringer Ingelheim describe partículas de inhalación de lactasa secadas por pulverización con una razón en masa de formoterol con respecto a budesonida de 1:20. Las partículas para inhalación se describen como polvo no aglomerado, discreto, fino, blanco, fácilmente dispersable, que consiste principalmente en partículas con forma toroidal de menos de 5 micrómetros de diámetro. Las ciclodextrinas se mencionan como una de una pluralidad de excipientes adecuados.

El documento AU2006200277 de Nektar Therapeutics describe partículas de lactosa con muy baja densidad aparente, reduciendo así la masa mínima de polvo que puede llenarse en un contenedor de dosis unitaria de un inhalador de polvo seco y eliminando la necesidad de partículas portadoras. Las formulaciones se basan en materiales poliméricos y tensioactivos y pueden comprender además excipientes rigidificantes, tales como dextrosa, manitol, 0-manosa, sorbitol, sorbosa, lactosa, maltosa, sacarosa, trehalosa, rafinosa, almidones, ciclodextrinas y maltodextrinas.

Lintingre y col., Control of particle morphology in the spray drying of colloidal suspensions. Soft Matter, Royal Society of Chemistry, 2016, 12 (36), págs. 7435-7444, describe partículas atomizadas en forma de donuts o globos desinflados y recomienda morfologías de papel arrugado o esferas huecas para un depósito pulmonar más profundo.

Las ciclodextrinas se usan frecuentemente como excipientes para aumentar la solubilidad en agua de los API, tales como una budesonida.

Por ejemplo, el documento EP3151836 de la Universidad de Lieja y Paul Maes describe el uso de ciclodextrina junto con el corticosteroide budesonida para el tratamiento y la prevención de enfermedades inflamatorias bronquiales.

El documento EP1799231 de la Universidad de Lieja propone la administración directa de ciclodextrinas para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria bronquial.

Las ciclodextrinas se han usado para compensar las propiedades higroscópicas de nuevos portadores tales como rafinosa que se observan como alternativa a los portadores de lactosa predominantemente usados.

Por ejemplo, Zhao y col. (2018), Low density, good flowability cyclodextrin-raffinose binary carrier for dry powder inhaler: antihygroscopicity and aerosolization performance enhancement, Expert Opinion on Drug Delivery, DOI: 10.1080/17425247.2018.1450865, describe portadores binarios de ciclodextrina-rafínosa producidos por secado por pulverización para reducir la aglomeración inducida por higroscopicidad de portadores de rafínosa. La ciclodextrina se usa como excipiente antihigroscópico. Enseña que la adición de HP-beta-CD en formulaciones de inhalador de polvo seco puede inhibir el acceso de humedad a rafínosa, al montar la higroscopicidad y la aglomeración asociada. Las partículas secadas por atomización de Zhao se describen como una estructura de núcleo-cubierta formada por un núcleo de rafínosa y una cubierta de ciclodextrina, y aparecen como una microestructura similar a la azufafa con una superficie rugosa en la microscopía electrónica de barrido.

Sin embargo, esta descripción sólo enseña un sistema portador de ciclodextrina-rafínosa binario.

Dufour, y col. Int J Pharm. 30 de noviembre de 2015;495(2):869-78, a continuación en el presente documento denominado Dufour 2015, evalúa el comportamiento aerodinámico de polvo secado por pulverización de budesonida/HPBCD en comparación con una formulación que comprende budesonida y lactosa como portador y el impacto de una forma “de tipo bola desinflada” tal como se muestra en la figura 1B en propiedades aerodinámicas del polvo secado por pulverización. Afirma que una mayor fracción respirable de budesonida y una menor permeabilidad a través del epitelio pulmonar son de interés para el tratamiento de la inflamación asociada al asma. Las depresiones superficiales de las micropartículas mostradas en Dufour 2015 se muestran en la figura comparativa 1A y se caracterizan por una mayor deflación. La profundidad promedio de las depresiones superficiales (1) es del 40 % o incluso del 45 % o más en comparación con el diámetro máximo promedio de las micropartículas de Dufour 2015 mostradas en la figura 1A. La fracción de partículas finas (FPF) es del 44,05 %. El aumento de la deflación de las micropartículas de Dufour 2015 repercute negativamente en la estabilidad y la trayectoria de vuelo de tales micropartículas en el sistema respiratorio. Además, el aumento de la deflación de Dufour aumenta la pegajosidad de las micropartículas y reduce la fluidez.

Por tanto, existe la necesidad de un sistema portador sencillo y más eficaz que permita una deposición uniforme y homogénea de un API en los pulmones de los mamíferos. En particular, existe la necesidad de sistemas portadores que tengan mejor estabilidad de vuelo, fracción de partículas finas y una pegajosidad reducida en comparación con Dufour 2015.

Breve resumen de la invención

Los presentes inventores han descubierto ahora sorprendentemente que el secado por pulverización de formulaciones mejoradas de ciclodextrina conduce directamente a micropartículas similares a pelotas de golf que podrían permitir un depósito mejorado y uniforme de uno o más API en los pulmones para el tratamiento y la prevención de cualquier enfermedad, en particular del cáncer de pulmón, inflamaciones pulmonares u otras enfermedades pulmonares. En particular, los presentes inventores han descubierto que tanto la fracción de partículas finas como la estabilidad aerodinámica de las formulaciones de ciclodextrina secadas por pulverización pueden mejorarse aún más mediante la forma de pelota de golf. Asimismo, la fracción de partículas finas de la pluralidad de micropartículas según la presente invención se aumenta con respecto a Dufour 2015 con un 50 % o más frente al 44,05 % de Dufour. Además, las micropartículas de la presente invención son menos pegajosas que las partículas de Dufour 2015.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a una pluralidad de micropartículas, en particular micropartículas esféricas para su uso en el tratamiento y la prevención de enfermedades respiratorias que comprenden uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos, en donde

- a. las micropartículas tienen una mediana de diámetro aerodinámico de masa de 0,1 micrómetros o más y 5 micrómetros o menos o un diámetro de 0,1 micrómetros o más y 10 micrómetros o menos;
- b. las micropartículas tienen una estructura de núcleo-cubierta, formando el portador la envoltura y el principio farmacéutico activo formando el núcleo;
- c. las micropartículas tienen una forma sustancialmente esférica con una pluralidad de depresiones de superficie en forma de pelota de golf identificables por microscopía electrónica de barrido;
- d. la profundidad promedio de las depresiones de superficie (1) es del 5 % o más y del 30 % o menos en comparación con el diámetro máximo promedio de las micropartículas;
- e. el 50 % de área superficial o más en comparación con la superficie total de las micropartículas está deprimida; opcionalmente
- f. una fracción de partículas finas del 50 % o más.

En otra realización, las depresiones superficiales están dispuestas de manera sustancialmente simétrica.

5 En otra realización, el portador se selecciona de uno o más portadores elegidos del grupo que consiste en alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina y γ -ciclodextrina, 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrina (HPBCD), 2-hidroxiopropil- γ -ciclodextrina (HPGCD), sulfobutiléter-beta-ciclodextrina (Sbbcd) y metil-beta-ciclodextrina (MBCD).

En otra realización, el portador es hidroxipropil-beta-ciclodextrina.

10 En otra realización, el portador está presente en una cantidad del 90 % en peso o más en comparación con el peso total de la micropartícula.

En otra realización, el portador está presente en una cantidad del 95 % en peso o más en comparación con el peso total de la micropartícula.

15 En otra realización, el uno o más principios farmacéuticos activos se seleccionan del grupo que consiste en corticosteroides, broncodilatadores, compuestos antibacterianos o antiinflamatorios o combinaciones de los mismos.

20 En otra realización, el uno o más principios farmacéuticos activos es budesonida o formoterol o una combinación de los mismos.

En otra realización, la razón molar del principio farmacéutico activo y el portador es 1:1.

25 En otra realización, las micropartículas comprenden además aminoácidos. En otra realización, las micropartículas comprenden además leucina.

En otra realización, las micropartículas se obtienen mediante secado por pulverización.

30 Un objeto adicional de la presente invención es las micropartículas de la invención para su uso en la administración de un principio farmacéutico activo a través del aparato respiratorio.

Un objeto adicional de la presente invención es las micropartículas para su uso en la administración de un principio farmacéutico activo a través del aparato respiratorio que comprende uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos, en donde

35 a. las micropartículas tienen una mediana de diámetro aerodinámico de masa de 0,1 micrómetros o más y 5 micrómetros o menos o un diámetro de 0,1 micrómetros o más y 10 micrómetros o menos;

40 b. las micropartículas tienen una estructura de núcleo-cubierta, formando el portador la envoltura y el principio farmacéutico activo formando el núcleo;

c. las micropartículas tienen una pluralidad de depresiones de superficie en forma de pelota de golf identificables por microscopía electrónica de barrido;

45 d. la profundidad máxima promedio d de las depresiones de superficie (1) es del 5 % o más y del 30 % o menos en comparación con el diámetro máximo promedio d de las micropartículas; y

e. el 50 % de área superficial o más en comparación con la superficie total de las micropartículas está deprimida; y opcionalmente

50 f. la fracción de partículas finas de la pluralidad de micropartículas es del 50 % o más.

Un objeto adicional de la presente invención es las micropartículas de la invención para su uso en la administración de un principio farmacéutico activo a través del aparato respiratorio, en donde el principio farmacéutico activo es un principio farmacéutico activo para el tratamiento o la prevención del asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, neumonía y cáncer de pulmón.

Un objeto adicional de la presente invención es las micropartículas para su uso en el tratamiento o la prevención de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, neumonía y cáncer de pulmón.

60 Otro aspecto de la invención es las micropartículas para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad, en particular una enfermedad respiratoria, que comprende uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos, en donde

65 a. las micropartículas tienen una mediana de diámetro aerodinámico de masa de 0,1 micrómetros o más y 5 micrómetros o menos o un diámetro de 0,1 micrómetros o más y 10 micrómetros o menos;

b. las micropartículas tienen una estructura de núcleo-cubierta, formando el portador la envoltura y el principio farmacéutico activo formando el núcleo;

5 c. las micropartículas tienen una pluralidad de depresiones de superficie en forma de pelota de golf identificables por microscopía electrónica de barrido;

d. la profundidad máxima promedio d de las depresiones de superficie (1) es del 5 % o más y del 30 % o menos en comparación con el diámetro máximo promedio d de las micropartículas; y

10 e. el 50 % de área superficial o más en comparación con la superficie total de las micropartículas está deprimida;

en donde las micropartículas se administran por inhalación en una cantidad eficaz para reducir, estabilizar o impactar positivamente los síntomas de la enfermedad, en particular la enfermedad respiratoria, preferiblemente sin provocar efectos secundarios limitantes del tratamiento, tales como los seleccionados del grupo que consiste en aclaramiento renal, deterioro hepático tal como se expresa por niveles elevados de transaminasa, y sibilancias después de la administración, en comparación con sujetos no tratados con las micropartículas de la invención. En otra realización del método de la presente invención, la enfermedad es una enfermedad respiratoria seleccionada del grupo que consiste en asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, neumonía y cáncer de pulmón.

Un objeto adicional de la presente invención es un procedimiento para la fabricación de micropartículas de la invención, que comprende las etapas de:

25 a. mezclar uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos para obtener una nanosuspensión o una disolución.

b. secar por pulverización la nanosuspensión o disolución de la etapa a.

30 Descripción detallada de la invención

Otras características y ventajas de la presente invención se derivarán de la siguiente descripción no limitativa, y haciendo referencia a los dibujos y los ejemplos.

35 Las partículas de la presente invención se pueden obtener mediante atomización o secado por pulverización de una formulación líquida.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a una pluralidad de micropartículas, en particular micropartículas esféricas para su uso en el tratamiento y la prevención de enfermedades respiratorias que comprenden uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos, en donde

40 a. las micropartículas tienen una mediana de diámetro aerodinámico de masa de 0,1 micrómetros o más, preferiblemente 0,5 micrómetros o más; en otra realización, las micropartículas tienen una mediana de diámetro aerodinámico de masa de 10 micrómetros o menos, preferiblemente 5 micrómetros o menos, incluso más preferiblemente 3 micrómetros o menos o un diámetro de 0,1 micrómetros o más, preferiblemente 1 micrómetro o más e incluso más preferiblemente 3 micrómetros o más y 10 micrómetros o menos, preferiblemente 7 micrómetros o menos, incluso más preferiblemente 5 micrómetros o menos.

50 b. las micropartículas tienen una estructura de núcleo-cubierta, formando el portador la envoltura y el principio farmacéutico activo formando el núcleo; y

c. las micropartículas tienen una forma sustancialmente esférica con una pluralidad de depresiones de superficie en forma de pelota de golf identificables por microscopía electrónica de barrido

55 d. la profundidad promedio de las depresiones de superficie (1) es del 5 % o más y del 30 % o menos en comparación con el diámetro máximo promedio de las micropartículas; y

e. la superficie presionada (1) es del 50 % o más en comparación con la superficie total de las micropartículas; opcionalmente

60 f. las depresiones superficiales están dispuestas de forma sustancialmente simétrica; opcionalmente

g. la fracción de partículas finas del 50 % o más.

65 Las depresiones superficiales similares a pelotas de golf son zonas de la superficie de las micropartículas esféricas que están desinfladas, tal como por ejemplo la zona superficial (1) que se muestra en la figura 2 A y en la figura 2B.

Las depresiones superficiales similares a pelotas de golf tienen la ventaja de aumentar y uniformizar la deposición cuando se inhala, por ejemplo, con un inhalador de polvo seco. Por consiguiente, las micropartículas de la presente invención parecen pelotas de golf al microscopio electrónico de barrido.

Sustancialmente esférica en el sentido de las presentes invenciones significa una forma geométrica esencialmente redonda, en particular una bola esencialmente redonda, tal como, por ejemplo, se muestra en las figuras 2A y 2B. Algunas variaciones pueden ser aceptables ya que las micropartículas esféricas de las presentes invenciones se pueden obtener mediante secado por pulverización. En particular, las micropartículas esféricas de la invención se asemejan a una pelota de golf. Mientras que una pelota de golf puede moldearse con precisión, las micropartículas de la presente invención se pueden obtener mediante secado por pulverización. Por consiguiente, son inevitables variaciones en la forma esférica y la depresión superficial así como la simetría asociada con la micronización de nanosuspensiones a través de la atomización o la suscripción por pulverización. Por eso se usan dimensiones promedio para describir las opciones dimensionales que confieren a las micropartículas similares a pelotas de golf su estabilidad de vuelo o trayectoria.

La profundidad máxima promedio d se mide usando imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM). Por ejemplo, se puede evaluar un promedio midiendo 5, 10, 15, 20, 25, 50 o incluso 100 micropartículas y calcular las medias aritméticas. La figura 7 ilustra de manera ilustrativa y simplificada, cómo se puede medir la profundidad máxima de una depresión superficial (1).

Se dibuja una primera línea (2) entre dos puntos de borde opuestos de la depresión superficial. Se dispone una segunda línea (3) paralela a la primera línea (2) y atraviesa el punto más profundo de la depresión superficial (1). En una tercera etapa se evalúa la profundidad máxima d . Algunas variaciones pueden ser aceptables ya que las micropartículas de la presente invención se pueden obtener mediante secado por pulverización.

El diámetro máximo promedio D se mide usando imágenes de microscopía electrónica de barrido, preferiblemente mediante o bien un Philips XL30 ESEM, o bien un FEI Quanta 600 después de la metalización con Au (~50 nm). Por ejemplo, se puede evaluar un promedio midiendo 5, 10, 15, 20, 25, 10 o incluso 100 micropartículas y calcular las medias aritméticas. La figura 9 ilustra de manera ilustrativa y simplificada, cómo se puede medir la profundidad máxima de una depresión superficial (1). Se trazan dos líneas (4) y (5) entre dos puntos opuestos de la micropartícula con la disposición de que se ignoran las depresiones de la superficie y se toma una superficie hipotética sin depresiones. En una segunda etapa se evalúa la distancia máxima D . Algunas variaciones pueden ser aceptables ya que las micropartículas de la presente invención se pueden obtener mediante secado por pulverización.

En otra realización, la profundidad máxima promedio D de las depresiones superficiales (1) es del 30 % o menos, preferiblemente, del 25 % o menos, incluso más preferiblemente del 20 % o menos, incluso más preferiblemente del 15 % o menos en comparación con el diámetro máximo D de la micropartícula medible con un microscopio electrónico de barrido. Algunas variaciones pueden ser aceptables ya que las micropartículas de la presente invención se pueden obtener mediante secado por pulverización.

En otra realización, la profundidad máxima promedio D de las depresiones superficiales (1) es del 5 % o más, preferiblemente, del 7,5 % o más, incluso más preferiblemente del 10 % o menos, incluso más preferiblemente del 12,5 % o más en comparación con el diámetro máximo D de la micropartícula medible con un microscopio electrónico de barrido. Algunas variaciones pueden ser aceptables ya que las micropartículas esféricas de las presentes invenciones se pueden obtener mediante secado por pulverización.

En otra realización, la superficie deprimida promedio (1) es del 50 % o más, preferiblemente del 60 % o más, incluso más preferiblemente del 70 % o más en comparación con la superficie total de la micropartícula medida con un microscopio electrónico de barrido. Algunas variaciones pueden ser aceptables ya que las micropartículas esféricas de las presentes invenciones se pueden obtener mediante secado por pulverización.

La superficie deprimida promedio se mide usando imágenes de microscopía electrónica de barrido. Por ejemplo, se puede evaluar un promedio midiendo 5, 10, 15, 20, 25, 10 o incluso 100 micropartículas y calcular las medias aritméticas. La figura 9 ilustra de manera ilustrativa y simplificada una depresión superficial (1) ilustrativa en el ejemplo de la superficie 6 negra.

En otra realización, la superficie reducida (1) es del 95 % o menos, preferiblemente del 90 % o menos, incluso más preferiblemente del 80 % o menos en comparación con la superficie total de la micropartícula medida con un microscopio electrónico de barrido. Algunas variaciones pueden ser aceptables ya que las micropartículas de la presente invención se pueden obtener mediante secado por pulverización.

En otra realización, la fracción de partículas finas en comparación con la dosis residual descrita a continuación es del 50 % o más, preferiblemente, del 55 % o más, aún más preferiblemente del 60 % o más, aún más preferiblemente del 65 % o más, incluso más preferiblemente del 70 % o más, incluso más preferiblemente del 75 % o más e incluso más preferiblemente del 80 % o más. En una realización particularmente preferida, la fracción de partículas finas es del

85 % o más e incluso más preferiblemente del 90 % o incluso del 95 % o más. Algunas variaciones pueden ser aceptables ya que las micropartículas de la presente invención se pueden obtener mediante secado por pulverización.

En otra realización, la fracción de partículas finas (FPF) de la pluralidad de micropartículas de la presente invención se mide usando impactador de próxima generación con tres repeticiones. Preferiblemente, el perfil de depósito pulmonar del polvo producido durante el secado por pulverización se determina in vitro mediante un impactador de próxima generación (NGI). El dispositivo, un inhalador de polvo seco, se conecta al puerto de inducción por una boquilla que imita la boca. El NGI se divide en 8 etapas caracterizadas por un diámetro de poro que cubre un intervalo de tamaño de partícula entre 0,206 μm y 12,8 μm . Una bomba, conectada al NGI, permite ajustar la presión y el flujo. Doce cápsulas, que contienen una masa conocida de polvo, se perforan por el dispositivo, de tipo Aerolizer® y se vacía su contenido. Esto pasa a través del NGI a un caudal de 100 ml/min durante un periodo de 2,4 segundos. Una vez que se han introducido estas doce cápsulas, el polvo depositado en cada nivel se recupera usando un disolvente de metanol/agua (65/35 V/V) y se analiza mediante HPLC. La masa total medida después de cada ensayo en la garganta y en las etapas 1 a 8 se define como la dosis recuperada (RD). La dosis de partículas finas (FPD) se define como la masa total que oscila entre 0 μm y 5 μm . La fracción de partículas finas se calcula dividiendo la FPD entre la RD expresada como un porcentaje.

En otra realización, el portador se selecciona de uno o más portadores elegidos del grupo que consiste en alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina y γ -ciclodextrina, o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos, por ejemplo 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HPBCD), 2-hidroxipropil- γ -ciclodextrina (HPGCD), sulfobutiléter-beta-ciclodextrina (SBEBCD) y metil-beta-ciclodextrina (MBCD).

En otra realización, el portador es hidroxipropil-beta-ciclodextrina.

En otra realización, el portador no contiene ninguna ciclodextrina-rafinosa.

En otra realización, el portador no contiene ninguna ciclodextrina-rafinosa.

En otra realización, el portador está presente en una cantidad del 99 % en peso o más en comparación con el peso total de la micropartícula.

En otra realización, el uno o más principios farmacéuticos activos se seleccionan del grupo que consiste en corticosteroides, compuestos antiinflamatorios y combinaciones de los mismos. En otra realización, el uno o más principios farmacéuticos activos es budesonida o formoterol o una combinación de los mismos.

En otra realización, el uno o más principios farmacéuticos activos es budesonida o formoterol o una combinación de los mismos.

En otra realización, el principio farmacéutico activo está presente en una cantidad de 5 % en peso o menos, preferiblemente 2,5 % en peso o menos, aún más preferiblemente 1 % en peso o menos en comparación con el peso seco total de la micropartícula.

En otra realización, no está presente ningún principio farmacéutico activo. En esta realización, las micropartículas se forman del portador, en particular de un portador de ciclodextrina, y en particular de un portador de ciclodextrina que no contiene rafinosa.

En otra realización, la razón molar del principio farmacéutico activo y el portador es 1:1.

En otra realización, las micropartículas comprenden además aminoácidos. En otra realización, las micropartículas comprenden además leucina.

En otra realización, las micropartículas se obtienen mediante secado por pulverización.

Un objeto adicional de la presente invención es las micropartículas de la invención para su uso en la administración de un principio farmacéutico activo a través del aparato respiratorio. Se ha encontrado sorprendentemente que la morfología de las partículas es responsable principalmente de una administración eficaz de cualquier principio farmacéutico activo a través del aparato respiratorio, en particular el aparato respiratorio. Por consiguiente, la composición farmacéutica activa también puede ser para el tratamiento de otras enfermedades que las enfermedades respiratorias.

Un objeto adicional de la presente invención es las micropartículas de la invención para su uso en la administración de un principio farmacéutico activo a través del aparato respiratorio, en donde el principio farmacéutico activo es un principio farmacéutico activo para el tratamiento o la prevención del asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, neumonía y cáncer de pulmón.

Un objeto adicional de la presente invención es las micropartículas para su uso en el tratamiento o la prevención de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, neumonía y cáncer de pulmón.

5 Un objeto adicional de la presente invención es un proceso para la fabricación de micropartículas de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende las etapas de:

a. mezclar uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos con agua u otros disolventes polares adecuados y opcionalmente otros componentes para obtener una nanosuspensión o una disolución.

10 b. secar por pulverización la nanosuspensión o disolución de la etapa

La disolución o nanosuspensión de la invención se obtiene mezclando con un disolvente polar, preferiblemente agua.

15 La formulación líquida para atomización o secado por pulverización puede comprender uno o más excipientes. En una realización preferida, el excipiente seleccionado del grupo que consiste en lactosa, manitol, rafinosa, maltodextrina y ciclodextrinas, en particular HP-beta-CD y combinaciones de los mismos.

20 En otra realización del proceso de secado por pulverización de la presente invención, el API, en particular budesonida y formoterol y el uno o más excipientes se disuelven o suspenden.

Los parámetros del proceso de atomización de la presente invención pueden variar ampliamente. Se puede elegir cualquier parámetro que administra la estructura en forma de pelota de golf de la presente invención.

25 La temperatura del gas es normalmente de desde 100 °C hasta 200 °C, preferiblemente desde 110 °C hasta 150 °C, y más preferiblemente desde 115 °C hasta 145 °C.

La velocidad de alimentación de líquido puede variar ampliamente y normalmente es de desde 200 ml/h, preferiblemente desde 350 hasta 450 ml/h, incluso más preferiblemente desde 375 hasta 450 ml/h.

30 En otra realización, la boquilla de la unidad de atomización se elige para permitir la micronización a través de la formación de micropartículas del tamaño de 0,1 a 5 micrómetros.

35 Las partículas obtenidas tienen propiedades fisicoquímicas que permiten una deposición uniforme y homogénea de uno o más API en todo el pulmón con mayores tasas de administración.

La forma de pelota de golf puede determinarse usando tecnologías bidimensionales y tridimensionales estándar, por ejemplo, la microtomografía RX. Los dispositivos adecuados están disponibles en el mercado bajo la marca comercial Skyscan 1172.

40 Otra tecnología adecuada es el microscopio electrónico de barrido ambiental (ESEM) XL30 FEI, con control de presión variable y microanálisis de rayos X.

45 La morfología 2D de las partículas de la presente invención también puede medirse mediante microscopía electrónica de transmisión.

El depósito uniforme de las partículas de la presente invención puede medirse además, por ejemplo, mediante tecnología de obtención de imágenes respiratorias funcional (IRF), disponible, por ejemplo, de Fluidra, usando, por ejemplo, tomografías computarizadas (TC).

50 Dibujos

La figura 1A es una imagen SEM comparativa de una forma “similar a una bola desinflada” del estado de la técnica (Dufour 2015).

55 La figura 1B es una imagen SEM comparativa de los portadores binarios de ciclodextrina-rafinosa similares a azufaifa de la técnica anterior (Zhao 2018).

La figura 2A es una imagen SEM de una micropartícula similar a una pelota de golf de la presente invención que contiene budesonida y un soporte de hidroxipropil-beta-ciclodextrina.

60 La figura 2B es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de micropartículas similares a pelotas de golf de la presente invención que comprenden budesonida y un portador de hidroxipropil-beta-ciclodextrina.

65 La figura 3 es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de micropartículas similares a pelotas de golf de la presente invención que comprenden budesonida, un soporte de hidroxipropil-beta-ciclodextrina y el 1 % en peso de leucina.

La figura 4 es una imagen SEM de una pluralidad de micropartículas en forma de pelota de golf de la presente invención que contienen budesonida, un soporte de hidroxipropil-beta-ciclodextrina y el 2 % en peso de leucina.

5 La figura 5 es una imagen SEM de una pluralidad de micropartículas en forma de pelota de golf de la presente invención que contienen budesonida, un portador de hidroxipropil-beta-ciclodextrina y el 5 % en peso de leucina.

La figura 6 es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de micropartículas en forma de pelota de golf de la presente invención que comprenden budesonida, un soporte de hidroxipropil-beta-ciclodextrina y formoterol.

10 La figura 7 es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de micropartículas en forma de pelota de golf de la presente invención que comprenden budesonida, un soporte de hidroxipropil-beta-ciclodextrina, formoterol y el 2 % en peso de leucina.

15 La figura 8 es un dibujo esquemático simplificado de la medición de la profundidad máxima de una depresión superficial de una micropartícula similar a una pelota de golf de la presente invención.

La figura 9 es un dibujo esquemático simplificado de la medición del diámetro máximo de una micropartícula similar a una pelota de golf de la presente invención.

20 La figura 10A es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de micropartículas en forma de pelota de golf de la presente invención según el ejemplo 20.

25 La figura 10B es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de micropartículas en forma de pelota de golf de la presente invención según el ejemplo 21.

La figura 10C es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de micropartículas en forma de pelota de golf de la presente invención según el ejemplo 22.

30 La figura 11 es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de las micropartículas de pelota de golf de la presente invención según el ejemplo 1.

La figura 12 es una imagen SEM de una realización de una pluralidad de las micropartículas de pelota de golf de la presente invención según el ejemplo 2.

35 La figura 13 es una imagen SEM del ejemplo comparativo 1.

La figura 14 es una imagen SEM del ejemplo comparativo 2.

40 La Figura 15 muestra depósito de NGI de la budesonida de los ejemplos 1 y 2, de los ejemplos comparativos 1 y 2 y de Symbicort.

La figura 16 muestra el depósito de NGI de formoterol de los ejemplos 1 y 2, de los ejemplos comparativos 1 y 2 y de Symbicort.

45 La figura 17 muestra la fracción de partículas finas de los ejemplos 1 y 2, los ejemplos comparativos 1 y 2 y Symbicort.

La figura 18 es una imagen SEM de las micropartículas similares a pelotas de golf según el ejemplo 3, también denominadas JT OPT.

50 La figura 19 es una imagen SEM de las micropartículas similares a pelotas de golf según el ejemplo 4, también denominadas AQU.

55 La figura 20 es una imagen SEM de bolas menos desinfladas según el ejemplo comparativo 3 también denominado HPd3 2 %.

La figura 21 es una imagen SEM de bolas menos desinfladas según el ejemplo comparativo 4 también denominado HPd3 5 %.

60 La figura 22 es una evaluación del depósito pulmonar de budesonida evaluado in vitro con el aparato de NGI de los ejemplos 3 y 4 y los ejemplos comparativos 3 y 4 con tres repeticiones.

La figura 23 es una evaluación del depósito pulmonar de formoterol evaluado in vitro con el aparato de NGI de los ejemplos 3 y 4 y los ejemplos comparativos 3 y 4 con tres repeticiones.

65

Las figuras 24 y 25 muestran la fracción de partículas finas (FPF) obtenida para los cuatro polvos usando el aparato NGI. La FPF se calculó en comparación con el polvo de dosis total o se comparó con la dosis de recuperación (RD = polvo en la garganta, separador previo y todas las etapas) n=3.

- 5 La figura 26 muestra la correlación entre la fracción de partículas finas (FPF, en comparación con RD) y el número de depresiones superficiales, también denominadas número de hoyuelos, observadas en las imágenes SEM de los ejemplos 3 y 4 y de los ejemplos comparativos 3 y 4.

En los dibujos, se han asignado los mismos números de referencia al mismo elemento o elemento análogo.

10 Ejemplos

Ejemplos 1 y 2

- 15 El ejemplo 1 también denominado HPbCD JT muestra micropartículas según la invención que comprenden hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HPBCD) como portador y budesonida y formoterol como principios activos farmacéuticos. 99;el 29 % en peso del peso seco es HPBCD y 0,0,71 del peso seco de la disolución es el principio farmacéutico activo. El 97 % en peso del principio farmacéutico activo es budesonida y el 3 % en peso del principio farmacéutico activo es formoterol.

20 Las micropartículas del ejemplo 1 se obtienen mediante secado por pulverización con HPBCD al 10 % en peso del peso seco, un diámetro de boquilla de 0,5 mm, una temperatura de entrada de 160 °C, una velocidad de bombeo de 50 RPM y una presión de gas de boquilla de 2,25 bar. El SEM se muestra en la figura 11.

- 25 El ejemplo 2, también denominado HPbCD 100, muestra micropartículas obtenidas por secado por pulverización de un líquido con un 10 % de HPBCD, un diámetro de boquilla de 0,4 mm, una temperatura interna de 140 °C, una velocidad de bomba de 200 RPM y una presión de gas en la boquilla de 4 bares. El SEM se muestra en la figura 12.

Ejemplos comparativos 1 y 2

- 30 Las bolas menos desinfladas del ejemplo comparativo 1, también denominadas HPbCD AQ June 2020 2 %, se obtienen por atomización de un líquido con un 2 % de HPBCD, un diámetro de boquilla de 0,2 mm, una temperatura inlat de 160 °C, una velocidad de bomba de 200 RPM y una presión de gas en la boquilla de 4 bar. El SEM se muestra en la figura 13.

35 Las bolas menos desinfladas del ejemplo comparativo 2, también denominadas HPbCD AQ June 2020 5 %, se obtienen por atomización de un líquido con un 5 % de HPBCD, un diámetro de boquilla de 0,2 mm, una temperatura inlat de 100 °C, una velocidad de bomba de 200 RPM y una presión de gas en la boquilla de 4 bar. El SEM se muestra en la figura 14.

- 40 Las figuras 15 y 16 muestran el depósito de NGI descrito a continuación de tres repeticiones. Las partículas similares a pelotas de golf de la invención funcionan mejor que Symbicort® por un lado y que las pelotas menos desinfladas por el otro. La deposición en el dispositivo (dispositivo) es mayor con Symbicort. El depósito en el pulmón profundo (etapas 2, 3, 4, 5) es mejor por las micropartículas similares a pelotas de golf de la invención según los ejemplos 1 y 1 en comparación con las pelotas menos desinfladas de los ejemplos comparativos 1 y 2.

La figura 17 muestra la fracción de partículas finas (FPF) de la budesonida y el formoterol de los ejemplos 1 y 2 y de los ejemplos comparativos 1 y 2, así como de Symbicort.

- 50 Ejemplos 3 y 4 y ejemplos comparativos 3 y 4

Los principios farmacéuticos activos fueron budesonida y formoterol con niveles variables del portador hidroxipropil-beta-ciclodextrina del 2, 5 y 10 % en peso del contenido sólido y condiciones variables de secado por atomización en cuanto al tamaño de la boquilla, la temperatura y la presión.

55 Productos químicos y disoluciones

Se proporcionó HPBCD (Kleptose HPB-sustitución molar = 0,63) por Roquette (Lestrem, Francia). Budesonida Farm. Eur. 8.3 se obtuvo micronizada a partir de Crystal Pharma y fumarato de formoterol deshidratado micronizado de CHEMO Industriale chimica.

60 Cuantificación de budesonida y formoterol

- 65 Se usó cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) para cuantificar budesonida y formoterol usando un HPLC Agilent serie1100, un detector UV que funciona a 243 nm y con una columna 3*50 mm llena de 3 5 µm C18 (X Bridge BEH C18). La fase móvil se componía de tampón de acetato de amonio pH 10/metanol en este modo de gradiente

(0min - 55/45(v/v); 1min - 55/45(v/v); 2min - 35/65(v/v); 7min - 35/65(v/v); 8min- 55/45(v/v); 20min - 55/45(v/v)) a una velocidad de flujo de 0,7 ml/min. La columna se calienta a 30 °C y el muestreador a 10 °C.

El proceso se validó completamente en función del error total como criterio de decisión. Los límites de aceptación se ajustaron al 10 %. Todos los resultados de validación se calcularon usando el software e-noval1 (Arlenda, Lieja, Bélgica).

Disolución de HPBCD – budesonida-formoterol

Antes de la atomización, las disoluciones que contienen los dos principios activos budesonida y formoterol se preparan como sigue. La concentración de HPBCD fue del 2, 5 o 10 % (g/100 ml). Los excipientes (99,29 % en peso) se pesan en primer lugar y se diluyen en agua miQ. Después de la disolución completa, esta disolución se divide en la mitad y se coloca en un baño de agitación de calentamiento (37 °C). Los componentes activos (0,71 % en peso) se añaden por separado en una de las dos disoluciones de excipiente y se disuelven bajo agitación magnética a 37 °C durante 2 horas. La budesonida está presente en un 97 % y el formoterol en un 3 % en la disolución. Después la disolución completa, las dos disoluciones se combinan antes de la atomización.

Secado por pulverización

Se usó un secador por pulverización Procept 4M8-Trix Formatrix (Procept, Zelzate, Bélgica) con boquilla bifluido. Se produjeron cuatro polvos diferentes a partir de distintas disoluciones y distintos parámetros de proceso:

Tabla 1*: Producción de parámetros de proceso

	AQU	HPd3 2 %	HPd3 5 %	JT OPT
Contenido de sólidos (p/p) %	5	2	5	10
Presión del gas del ciclón (bar)	0,75	0,75	0,75	0,75
Flujo de gas de entrada (m³/min)	0,4	0,4	0,4	0,4
T° de entrada (°C)	140	100	100	160
Velocidad de la bomba (RPM)	200	200	200	100
Presión de gas de la boquilla (bar)	4	4	4	2,25
Diámetro de boquilla (mm)	0,4	0,2	0,2	0,6

Medición de distribución de tamaño de partícula

Se usó un difractómetro láser Mastersizer 2000 conectado a un alimentador de polvo Scirocco Malvern, RU) para estimar la fracción inhalable (1-5 mm) de los polvos producidos durante el diseño del experimento. Se usó una presión de dispersión de 4 bares y un tiempo de medición de 10 s. Para cada muestra, se usaron aproximadamente 150 mg de polvo para obtener el oscurecimiento requerida del 0,5-5 %.

Microscopía electrónica de barrido

La estructura particulada se observó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) usando o bien un Philips XL30 ESEM, o bien un FEI Quanta 600 después de la metalización con Au (~50 nm). Se capturaron micrografías representativas y se tomaron muestras de una docena de partículas de cada polvo para medir su diámetro y cuantificar su estructura en términos de número y profundidad de las depresiones superficiales también denominadas hoyuelos.

Análisis termogravimétrico

El contenido de humedad residual de las muestras se investigó directamente después del secado por atomización usando un TGA 7 (Perkin Elmer, Norwalk, CT). Se cargaron muestras de polvo de entre 3 y 12 mg en un platillo de platino y se calentaron de 25 a 150 °C a una velocidad de 10 °C/min.

Densidad aparente y aparente final

La densidad aparente y la densidad aparente final se obtuvieron siguiendo la Farm. Eur. procedimiento 2.9.34 [15]. Debido a la pequeña cantidad de muestra, se usó una probeta graduada alquitranada de 10 ml. El volumen aparente usado para el cálculo de la densidad aparente se leyó directamente del cilindro.

Densidad aparente (g/ml) = (peso del polvo) / (volumen aparente del polvo)

La densidad aparente final se obtiene golpeando mecánicamente un cilindro de medición graduado que contiene la muestra de polvo [15]. La densidad aparente final se lee después de 1250 derivaciones correspondientes a 5 min a una altura de golpeo de 3 mm. Se registra el valor medio de tres réplicas junto con las varianzas observadas entre los experimentos.

Densidad aparente final (g/ml) = (peso del polvo)/(volumen del polvo aparente final)

El índice de Carr (%) también se calcula del siguiente modo = ((volumen inicial (ml)-volumen final (ml))/volumen final (ml)) *100

La razón de Hausner también se calcula de la siguiente manera = volumen inicial (ml)/volumen final (ml)

Aerosolización de polvos in vitro

El perfil de depósito pulmonar del polvo producido durante el secado por pulverización se determina in vitro mediante un impactador de próxima generación (NGI). El dispositivo, un inhalador de polvo seco, se conecta al puerto de inducción por una boquilla que imita la boca. El NGI se divide en 8 etapas caracterizadas por un diámetro de poro que cubre un intervalo de tamaño de partícula entre 0,206 µm y 12,8 µm. Una bomba, conectada al NGI, permite ajustar la presión y el flujo. Doce cápsulas, que contienen una masa conocida de polvo, se perforan por el dispositivo, de tipo Aerolizer® y se vacía su contenido. Esto pasa a través del NGI a un caudal de 100 ml/min durante un periodo de 2,4 segundos. Una vez que se han introducido estas doce cápsulas, el polvo depositado en cada nivel se recupera usando un disolvente de metanol/agua (65/35 V/V) y se analiza mediante HPLC. La masa total medida después de cada ensayo en la garganta y en las etapas 1 a 8 se define como la dosis recuperada (RD). La dosis de partículas finas (FPD) se define como la masa total que oscila entre 0 µm y 5 µm. La fracción de partículas finas se calcula dividiendo la FPD entre la RD expresada como un porcentaje.

Resultados

Características del polvo

Tabla 2*: Evaluación de las propiedades de los polvos

Propiedades del polvo	AQU	HPd32 %	HPd35 %	JT OPT
Rendimiento del proceso (%)	75,05	74	71,2	83,2
Tamaño de partícula (d0,5)	2,57	1,79	3,65	2,15
Índice de Carr (%)	68,1	50,9	62,5	36,9
Contenido de agua (%)	7,20	5,51	7,37	4,49

Morfología del polvo

La morfología de todos los polvos se ha analizado mediante SEM. Se ha escaneado cada polvo. Se ha elegido imágenes que son las más representativas de toda la población de polvo. Los polvos tienen una morfología diferente. Mientras que los ejemplos 3 y 4 también denominados polvos JT OPT y AQU presentan más de un 50 % de superficie de depresiones u hoyuelos, los ejemplos comparativos 3 y 4 también denominados HPd3 2 % y HPd3 5 % muestran menos depresiones superficiales. Estas diferencias se deben al diferente parámetro de proceso de atomización.

La morfología de todos los polvos se ha analizado mediante SEM. Se ha escaneado cada polvo de los ejemplos 3 y 4 y de los ejemplos comparativos 3 y 4. Las imágenes SEM representativas se muestran en las figuras 18, 19 (ejemplos 3 y 4) y las figuras 20, 21 (ejemplos comparativos 3 y 4).

Tabla 3*: Evaluación de polvos en términos de número de hoyuelos basado en imágenes SEM

Propiedades de polvo	AQU	HPd3 2 %	HPd3 5 %	JT OPT
Números de hoyuelos	10	6	8	13

Depósito pulmonar in vitro de polvos

Las figuras 22 y 23 muestran la evaluación de los polvos según los ejemplos 3 y 4 y los ejemplos comparativos 3 y 4.

Las figuras 24 y 25 muestran la fracción de partículas finas (FPF) obtenida para los cuatro polvos según los ejemplos 3 y 4 y los ejemplos comparativos 3 y 4 usando el aparato NGI. La FPF se calculó en comparación con el polvo de dosis total o se comparó con la dosis de recuperación (RD = polvo en la garganta, separador previo y todas las etapas) n=3.

Conclusiones

El diferente contenido sólido de las disoluciones secadas por atomización y los diferentes parámetros del proceso de atomización según los ejemplos 3 y 4 y los ejemplos comparativos 3 y 4 producen polvos de micropartículas HPβCD que contienen budesonida y formoterol con diferentes morfologías.

Se han encontrado diferencias de deposición pulmonar entre los polvos según los ejemplos 3 y 4 y los ejemplos comparativos 3 y 4. Con un tamaño de partícula o un contenido en agua similares, las diferencias morfológicas entre los polvos según los ejemplos 3 y 4 y los ejemplos comparativos 3 y 4 explican los diferentes rendimientos de depósito pulmonar.

Ejemplos 13 a 27

Se obtuvieron micropartículas con el API budesonida (BD)-hidroxipropilbetaciclodextrina (HPBCD) y ciclodextrinas mediante secado por atomización. Se usó budesonida en una cantidad de 106 µg en 15 mg de polvo secado por pulverización. Se sometieron a prueba las siguientes combinaciones:

- Budesonida-HPBCD (prueba 14)
- Budesonida-HPBCD 5 % de L-leucina (prueba 15)
- Budesonida-HPBCD + 10 % de L-leucina (prueba 13) 20

Budesonida-Formoterol-HPBCD polvo con 106 µg de budesonida y 3 µg de formoterol en 15 mg de polvo:

- Budesonida-Formoterol-HPBCD (prueba 16)
- Budesonida-Formoterol-HPBCD 5 % de L-leucina (prueba 19) 25

Ejemplo comparativo: Miflonide® (Novartis) que contenía 230 µg de budesonida.

Las formulaciones sometidas a prueba y su distribución de tamaño de partícula se muestran en la tabla 1. Los parámetros de secado por pulverización se muestran en la tabla 2.

A continuación, se evaluaron las propiedades aerodinámicas de las micropartículas similares a pelotas de golf de la tabla 1, secadas por pulverización según las condiciones de proceso indicadas en la tabla 2, usando el impactador de próxima generación (NGI), tal como recomiendan la Farmacopea Europea y la USP, cuyos resultados se muestran en las tablas 4 a 6. Se usó Aerolizer® para 5 pruebas. Se usaron los reactivos convencionales de HPLC metanol y agua Milli-Q.

Se ensambló el NGI y se usó un separador previo para Miflonide, ya que la formulación contiene lactosa. Por medio del regulador y un medidor de flujo conectado a la boquilla de entrada, la velocidad de flujo se ajustó para proporcionar un estado estacionario de 100 l / min más, menos el 5 % en el aparato. 10 La circulación de aire se detuvo. Se instaló el adaptador de boquilla en el extremo de la boquilla de entrada. Se liberó un determinado número de dosis del inhalador según las instrucciones para su uso:

- Para budesonida-HPBCD y budesonida-formoterol-HPBCD (15 mg de polvos): 10 dosis 15
- Miflonide 230 µg de budesonida: 5 dosis

A continuación, se encendió la bomba, se cerró la electroválvula y se colocó el inhalador en el adaptador. Se dejó entrar una descarga de polvo en el aparato abriendo la electroválvula durante 2,4 segundos (4 l de 20 aire). La cápsula se puso dentro de un matraz. Los volúmenes se describen en la tabla 3 a continuación.

El inhalador y el adaptador de boquilla se retiraron del puerto de inducción de NGI. El principio activo se extrajo del inhalador 25 y la boquilla en el mismo matraz (véase el volumen en la tabla 3 a continuación) con la mezcla metanol/agua 65/35.

Los principios activos del puerto de inducción se extrajeron en un matraz con la mezcla metanol/agua 65/35. Para Miflonide, los componentes activos se extrajeron del separador previo en un matraz. Los volúmenes se indican en la tabla 3A a continuación.

A continuación, se abrió el NGI y se recuperó el contenido en los ocho vasos de recogida:

- se añadieron 10 ml de mezcla metanol/agua 65/35 en 5 cada vaso y se mezcló agitando suavemente cada vaso hasta la disolución completa. Cada disolución se colocó en matraces diferentes (véase el volumen en la tabla 3A).
- la “parte trasera” de cada pieza de la boquilla se extrajo colocando el cuerpo de la junta verticalmente con la ayuda de dos soportes.

- las boquillas de las etapas 1 a 8 se enjuagaron con 1010 ml de la mezcla metanol/agua 65/35 y la disolución se puso en el matraz correspondiente y se llenó hasta la marca con la mezcla. Después de mezclar y sonicar durante 15 minutos, la disolución se analizó en HPLC.

- 5 La dosis de partículas finas (FPD), MMAD y GSD se calcularon con el programa CITDAS (Copley). La fracción de partículas finas (FPF), que es el 15 porcentaje de FPD sobre la dosis nominal, se calcula manualmente.

Debe entenderse que la presente invención no se limita a las realizaciones descritas y que pueden aplicarse variaciones sin estar fuera del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

10

Tabla 1: Formulaciones y distribución de tamaño de partícula

Ejemplo 1	Formulación	% de budesonida	% de formoterol	% de leucina	% de HPBCD	Contenido de sólidos (% p/p)	D10 (µm)	D50 (µm)	D90 (µm)	SPAN	%Frac <5 µm (%)
13	Budesonida-HPBCD-10 % de leucina	0,01	0,00	0,10	0,89	0,05	0,53	2,29	5,06	1,98	89,67
14	Budesonida-HPBCD	0,01	0,00	0,00	0,99	0,05	0,56	2,28	5,11	1,99	89,40
15	Budesonida-HPBCD-5 % de leucina	0,01	0,00	0,05	0,94	0,05	0,53	2,16	4,83	1,99	91,45
16 y 17	Budesonida-HPBCD-Formoterol	0,01	0,00	0,00	0,99	0,05	0,58	2,37	5,04	1,88	89,76
19	HPBCD-0,0040 % de formoterol	0,01	0,00	0,05	0,94	0,05	0,54	2,29	5,05	1,97	89,75
20	Budesonida-HPBCD	0,01	0,00	0,00	0,99	0,05	0,57	2,32	5,23	2,01	88,70
21	Budesonida-HPBCD-5 % de leucina	0,01	0,00	0,05	0,94	0,05	0,60	2,52	5,44	1,92	87,08
22	Budesonida-HPBCD-1 % de leucina	0,00	0,01	0,01	0,99	0,05	0,59	2,44	5,42	1,98	87,23
24	Budesonida-Formoterol-HPBCD-2 % de leucina	0,01	0,00	0,02	0,97	0,05	0,61	2,40	5,36	1,98	87,89
25	Budesonida-HPBCD-2 % de leucina	0,01	0,00	0,02	0,97	0,05	0,58	2,39	5,41	2,02	87,59
26	Budesonida-HPBCD	0,01	0,00	0,00	0,99	0,05	0,58	2,19	4,82	1,94	91,47
27	Budesonida-HPBCD-5 % de leucina	0,01	0,00	0,05	0,94	0,05	0,53	2,16	4,85	1,99	91,23

Tabla 2: Condiciones de secado por pulverización de los ejemplos de la tabla 1

Ejemplo	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	24	25	26	27
API	BD	BD	BD	BD	BD	BD	Forma BD	BD	BD	BD	Forma de brote	BD	BD	BD
Complejo	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD	HPBCD
Leucina	10 %	/	5 %	/	/	/	5 %	/	5 %	1 %	2 %	2 %	0 %	5 %
Disolvente	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua
Contenido de sólidos	5,00 %	5,00 %	5,00 %	5,00 %	5,00 %	5,00 %	5,00 %	5,00 %	5,00 %	5,00 %	5,45 %	5,00 %	5,00 %	5,00 %
Temp (°C)	120	120	120	120	120	120	120	140	140	140	140	140	140	140
Cámara de temperatura fuera (°C)	57	57	57	56	52	53	53	57	57	57	56	54	57	56
Temp antes del ciclón (°C)	44	44	44	43	43	42	44	52	52	51	54	53	55	54
Ciclón	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño	Pequeño
Ciclón de caída de presión (mbar)	82	82	82	82	82	82	82	82	82	84	84	84	84	84
Flujo de aire (m³/min)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Aire frío (l/min)	146	146	146	146	146	146	146	0	0	0	0	0	0	0
Boquilla fluido (mm)	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4

ES 2 942 901 T3

Aire de boquilla	14	14	14	14	14	14	14	20	20	20	20	20	20	20
Boquilla US (kHz)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Amplitud (vatios)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Velocidad de pulverización (g/min)	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	10	10	10	10	10	10	10
Velocidad de bombeo (rpm)	66	66	66	66	66	66	66	160	160	160	160	160	160	160
Resistente al tipo de tubo (ID)	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Muestra dosificada total (g)	200	97,70	99,90	50,00	547,00	497,00	99,00	1399,60	1396,00	923,40	1092,00	1196,30	1204,00	1206,00
Sólido recuperado (g)	8,45	4,33	4,09	1,83	23,45	21,56	4,42	65,47	63,67	42,12	52,83	52,55	55,09	54,22
Sólido total dosificado (g)	10	4,89	5,00	2,50	27,35	24,85	4,95	69,98	69,80	46,17	59,61	59,82	57,60	60,30
Recuperación (%)	84,5	89	82	73	86	87	89	94	91	91	89	88	96	90

Tabla 3A: Volúmenes de matraz para usar para cada extracción

	Budesonida-HPBCD o butidesonida-formoterol-HPBCD	Miflonide
Cápsulas/Dispositivo/Boquilla	50 ml	50 ml
Puerto de inducción	50 ml	50 ml
Preseparador	-	100 ml
Etapas 1	25 ml	25 ml
Etapas 2	25 ml	25 ml
Etapas 3	25 ml	25 ml
Etapas 4	25 ml	25 ml
Etapas 5	25 ml	25 ml
Etapas 6	25 ml (agrupados juntos)	25 ml (agrupados juntos)
Etapas 7		
Etapas 8		

Tabla 3B: El diámetro de corte eficaz (ECD) a 100 l/min o cada etapa se proporciona en la tabla a continuación:

ECD (µm) a 100 l/min	Masa de budesonida depositada por descarga (µg)	Masa acumulada de budesonida depositada por descarga (mg)	Porcentaje acumulativo (%)
$d_7 = 0,24$	masa extraída en la etapa 8, m_8	$C_7 = m_8$	$f_7 = (C_7/c).100$
$d_6 = 0,40$	masa extraída en la etapa 7, m_7	$C_6 = C_7 + m_7$	$f_6 = (C_6/c).100$
$d_5 = 0,72$	masa extraída en la etapa 6, m_6	$C_5 = C_6 + m_6$	$f_5 = (C_5/c).100$
$d_4 = 1,31$	masa extraída en la etapa 5, m_5	$C_4 = C_5 + m_5$	$f_4 = (C_4/c).100$
$d_3 = 2,18$	masa extraída en la etapa 4, m_4	$C_3 = C_4 + m_4$	$f_3 = (C_3/c).100$
$d_2 = 3,42$	masa extraída en la etapa 3, m_3	$C_2 = C_3 + m_3$	$f_2 = (C_2/c).100$
$d_1 = 6,17$	masa extraída en la etapa 2, m_2	$C_1 = C_2 + m_2$	$f_1 = (C_1/c).100$
	masa extraída en la etapa 1, inhalador, boquilla y puerto de inducción, m	$C = C_1 + m$	100

Tabla 4: Ejemplo comparativo y realizaciones a modo de ejemplo de la invención y su depósito de NGI

	Ejemplo comparativo Miflonide			Budesonida-HPBCD (ejemplo 14)			Budesonida-HPBCD (ejemplo 20)		
% de budesonida promedio	N/A			N/A			0,64		
µg de budesonida	230,00	230,00		106,00	106,00		96,69	96,31	
Dosis total (µg)	1150,00	1150,00		1060,00	1060,00		966,89	963,14	
	NGI 1	NGI 2	Promedio	NGI 1	NGI 2	Promedio	NGI 1	NGI 2	Promedio
	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg

ES 2 942 901 T3

Cápsula/dispositivo/boquilla	256,60	277,80	267,20	97,75	51,30	74,53	191,15	173,60	182,38
Puerto de inducción	138,15	161,10	149,63	93,95	108,80	101,38	72,35	82,25	77,30
Preseparador	476,65	524,00	500,33						
Etapa 1	19,48	26,48	22,98	51,00	48,35	49,68	60,43	57,18	58,80
Etapa 2	29,20	47,85	38,53	139,53	135,83	137,68	138,08	144,10	141,09
Etapa 3	42,78	68,53	55,65	147,33	131,28	139,30	147,03	158,85	152,94
Etapa 4	50,30	71,38	60,84	110,83	111,33	111,08	104,18	112,28	108,23
Etapa 5	23,63	26,20	24,91	79,15	87,25	83,20	57,90	56,90	57,40
Etapa 6, 7, 8	14,03	16,65	15,34	92,15	99,48	95,81	73,18	69,73	71,45
Recuperación (%)	91,37	106,08	98,73	76,57	72,98	74,78	87,32	88,76	88,04
MMAD (µm)	3,08	3,33	3,21	2,37	2,25	2,31	2,58	2,59	2,58
GSD	2,26	2,10	2,18	2,00	2,08	2,04	1,99	1,93	1,96
FPD (<5,0 µm) (µg)	26,63	37,33	31,98	53,35	53,09	53,22	48,34	50,42	49,38
FPF (<5,0 µm) (%)	11,58	16,23	13,90	50,33	50,08	50,21	50,00	52,35	51,17
FPF sobre dosis recuperada (%)	25,34	30,60	28,17	65,73	68,63	67,14	57,26	58,98	58,12

Tabla 5: Realizaciones a modo de ejemplo adicionales de la invención y su depósito de NGI

	Budesonida-HPBCD (ejemplo 26)			Budesonida-HPBCD + 10 % de leucina(ejemplo 13)			Budesonida-HPBCD + 5 % de leucina(ejemplo15)		
% de budesonida promedio	0,66			N/A			N/A		
µg de budesonida	99,81	100,55		106,00	106,00		106,00	106,00	
Dosis total (µg)	998,13	1005,47		1060,00	1060,00		1060,00	1060,00	
	NGI 1	NGI 2	Promedio	NGI 1	NGI 2	Promedio	NGI 1	NGI 2	Promedio
	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg
Cápsula/dispositivo/boquilla	138,35	142,10	140,23	59,30	53,85	56,58	66,60	56,95	61,78
Puerto de inducción	86,85	105,90	96,38	124,10	103,25	113,68	88,25	82,20	85,23
Preseparador									
Etapa 1	50,05	66,15	58,10	54,28	49,20	51,74	41,03	39,70	40,36
Etapa 2	154,50	152,15	153,33	141,65	139,00	140,33	133,23	116,53	124,88
Etapa 3	144,30	143,80	144,05	128,45	114,08	121,26	123,03	102,35	112,69
Etapa 4	90,15	98,88	94,51	86,33	83,50	84,91	116,08	97,15	106,61
Etapa 5	74,10	76,60	75,35	69,83	61,73	65,78	92,68	82,73	87,70
Etapa 6, 7, 8	99,20	87,98	93,59	93,55	112,23	102,89	109,35	126,85	118,10
Recuperación (%)	83,91	86,88	85,39	71,46	67,63	69,54	72,66	66,46	69,56
MMAD (µm)	2,49	2,54	2,52	2,48	2,38	2,43	2,09	1,93	2,01
GSD	1,94	2,03	1,99	2,01	2,06	2,04	2,14	2,32	2,23
FPD (<5,0 µm) (µg)	52,36	51,86	52,11	48,30	47,51	47,90	54,21	49,68	51,94
FPF (<5,0 µm) (%)	52,46	51,58	52,02	45,56	44,82	45,19	51,14	46,87	49,00
FPF sobre dosis recuperada (%)	62,52	59,37	60,91	63,76	66,27	64,98	70,38	70,52	70,45

Tabla 6: Realizaciones a modo de ejemplo adicionales de la invención y su depósito de NGI

	Budesonida-HPBCD + 5 % de leucina (ejemplo 21)			Budesonida-HPBCD + 5 % de leucina (ejemplo 27)			Budesonida-HPBCD + 2 % de leucina(ejemplo 25)			Budesonida-HPBCD + 1 % de leucina(ejemplo 22)		
% de budesonida promedio	0,64			0,65			0,67			0,66		
µg de budesonida	96,16	96,10		99,49	100,28		99,96	100,45		102,18	100,34	
Dosis total (µg)	961,60	961,03		994,93	1002,78		999,63	1004,49		1021,84	1003,40	
	NGI 1	NGI 2	Promedio	NGI 1	NGI 2	Promedio	NGI 1	NGI 2	Promedio	NGI 1	NGI 2	Promedio
	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg	en µg
Cápsula/dispositivo/boquilla	168,65	154,60	161,63	125,45	136,50	130,98	136,10	156,20	146,15	160,55	169,25	164,90
Puerto de inducción	80,20	81,90	81,05	131,85	76,25	104,05	65,70	88,40	77,05	70,95	74,95	72,95
Preseparador												
Etapa 1	58,05	64,63	61,34	70,70	62,10	66,40	70,95	61,18	66,06	85,46	70,63	78,04
Etapa 2	164,90	158,53	161,71	140,73	143,45	142,09	163,53	154,88	159,20	154,53	145,65	150,09

ES 2 942 901 T3

Etapa 3	146,75	144,83	145,79	121,68	129,93	125,80	130,18	119,78	124,98	129,80	128,58	129,19
Etapa 4	85,15	79,95	82,55	97,43	92,15	94,79	80,05	86,28	83,16	83,50	74,58	79,04
Etapa 5	53,13	55,63	54,38	75,85	77,65	76,75	71,25	72,00	71,63	68,68	65,88	67,28
Etapa 6, 7, 8	77,93	74,38	76,15	77,85	104,40	91,13	112,38	89,20	100,79	92,73	95,98	94,35
Recuperación (%)	86,81	84,75	85,78	84,58	82,01	83,30	83,04	82,42	82,73	82,81	82,27	82,54
MMAD (µm)	2,76	2,79	2,78	2,54	2,42	2,48	2,60	2,57	2,59	2,71	2,64	2,67
GSD	1,87	1,91	1,89	2,14	2,10	2,12	2,05	2,03	2,04	2,12	2,07	2,10
FPD (<5,0 µm) (µg)	48,51	47,08	47,80	47,46	50,94	49,20	51,32	48,12	49,72	48,54	47,05	47,79
FPF (<5,0 µm) (%)	50,45	48,99	49,72	47,71	50,80	49,25	51,34	47,90	49,62	47,50	46,89	47,20
FPF sobre dosis recuperada (%)	58,11	57,81	57,96	56,40	61,94	59,14	61,83	58,12	59,97	57,36	57,00	57,18

REIVINDICACIONES

1. Una pluralidad de micropartículas o micropartículas esféricas para su uso en el tratamiento y la prevención de enfermedades respiratorias que comprenden uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos, en donde
 - a. las micropartículas tienen una mediana de diámetro aerodinámico de masa de 0,1 micrómetros o más y 5 micrómetros o menos;
 - b. las micropartículas tienen una estructura de núcleo-cubierta, formando el portador la envoltura y el principio farmacéutico activo formando el núcleo;
 - c. las micropartículas tienen una pluralidad de depresiones de superficie en forma de pelota de golf identificables por microscopía electrónica de barrido;
 - d. la profundidad máxima promedio d de las depresiones de superficie (1) es del 5 % o más y del 30 % o menos en comparación con el diámetro máximo promedio d de las micropartículas; y
 - e. el 50 % de área superficial o más en comparación con la superficie total de las micropartículas está deprimida; y opcionalmente
 - f. la fracción de partículas finas de la pluralidad de micropartículas es del 50 % o más.
2. Las micropartículas para su uso según la reivindicación 1, en donde la profundidad máxima promedio d de las depresiones de superficie (1) es del 25 % o menos en comparación con el diámetro máximo de la micropartícula.
3. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la profundidad máxima promedio d de las depresiones de superficie (1) es del 10 % o más en comparación con el diámetro máximo d de la micropartícula.
4. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el 70 % de área superficial o más en comparación con la superficie total de las micropartículas está deprimida.
5. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el portador se elige del grupo que consiste en alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina, γ -ciclodextrina, 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina, (HPBCD), 2-hidroxipropil- γ -ciclodextrina, (HPGCD), sulfobutiléter-beta-ciclodextrina, (SBEB CD) y metil-beta-ciclodextrina (MBCD).
6. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el portador es hidroxipropil-beta-ciclodextrina.
7. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el portador está presente en una cantidad del 90 % en peso o más en comparación con el peso total de la micropartícula.
8. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el uno o más principios farmacéuticos activos se seleccionan del grupo que consiste en corticosteroides, broncodilatadores, antibióticos o compuestos antiinflamatorios o combinaciones de los mismos.
9. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el uno o más principios farmacéuticos activos es budesonida o formoterol o una combinación de los mismos.
10. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la razón molar del principio farmacéutico activo y el portador es 1:1.
11. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprenden además aminoácidos.
12. Las micropartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las partículas se obtienen mediante secado por pulverización.
13. Una pluralidad de micropartículas para su uso en la administración de un principio farmacéutico activo a través del aparato respiratorio que comprende uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos, en donde:
 - a. las micropartículas tienen una mediana de diámetro aerodinámico de masa de 0,1 micrómetros o más y 5 micrómetros o menos;
 - b. las micropartículas tienen una estructura de núcleo-cubierta, formando el portador la envoltura y el principio farmacéutico activo formando el núcleo;
 - c. las micropartículas tienen una pluralidad de depresiones de superficie de tipo bola de golf identificables por microscopía electrónica de barrido;

- d. la profundidad máxima promedio d de las depresiones de superficie (1) es del 5 % o más y del 30 % o menos en comparación con el diámetro máximo promedio d de las micropartículas;
- e. el 50 % de área superficial o más en comparación con la superficie total de las micropartículas está deprimida; y opcionalmente,
- f. la fracción de partículas finas de la pluralidad de micropartículas es del 50 % o más.
14. La pluralidad de micropartículas para su uso según la reivindicación 13, en donde el principio farmacéutico activo es un principio farmacéutico activo para el tratamiento o la prevención de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, neumonía y cáncer de pulmón.
15. Una pluralidad de micropartículas o partículas esféricas que comprenden uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos, en donde:
- a. las micropartículas tienen una mediana de diámetro aerodinámico de masa de 0,1 micrómetros o más y 5 micrómetros o menos;
- b. las micropartículas tienen una estructura de núcleo-cubierta, formando el portador la envoltura y el principio farmacéutico activo formando el núcleo;
- c. las micropartículas tienen una pluralidad de depresiones de superficie de tipo bola de golf identificables por microscopía electrónica de barrido;
- d. la profundidad máxima promedio d de las depresiones de superficie (1) es del 5 % o más y del 30 % o menos en comparación con el diámetro máximo promedio d de las micropartículas; y
- e. el 50 % de área superficial o más en comparación con la superficie total de las micropartículas está deprimida
- para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad, en particular una enfermedad respiratoria, en donde las micropartículas se administran por inhalación en una cantidad eficaz para reducir, estabilizar o impactar positivamente los síntomas de la enfermedad, en particular la enfermedad respiratoria, preferentemente sin provocar efectos secundarios limitantes del tratamiento, tales como los seleccionados del grupo que consiste en aclaramiento renal, deterioro hepático tal como se expresa por niveles elevados de transaminasa, y sibilancias después de la administración, en comparación con los sujetos no tratados con las micropartículas de la invención. En otra realización del método de la presente invención, la enfermedad es una enfermedad respiratoria seleccionada del grupo que consiste en asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar, neumonía y cáncer de pulmón.
16. Proceso para la fabricación de micropartículas según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende las etapas de:
- a. mezclar uno o más portadores y uno o más principios farmacéuticos activos y un disolvente polar para obtener una nanosuspensión o una disolución;
- b. secar por pulverización la nanosuspensión o disolución de la etapa a.

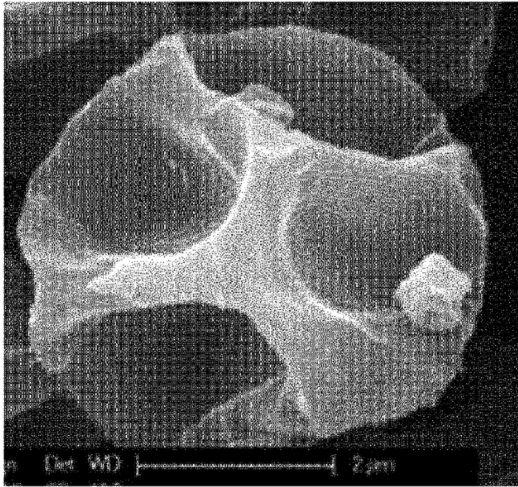


Figura 1A

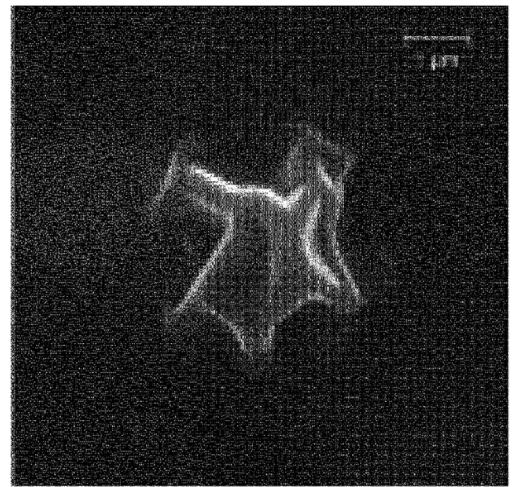


Figura 1B

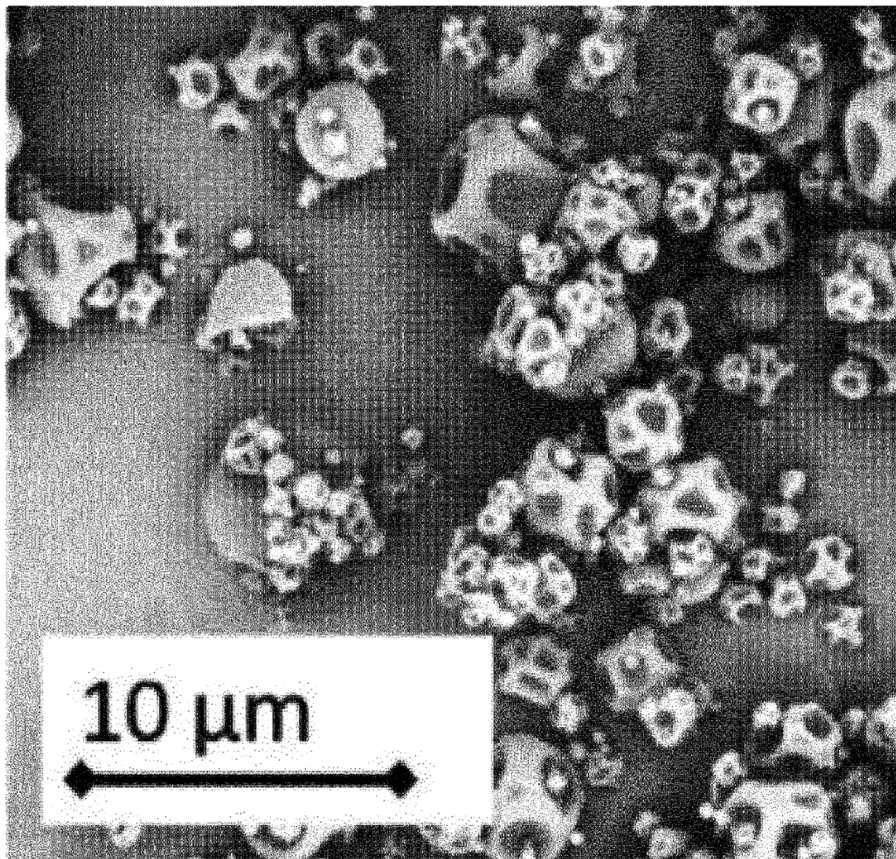


Figura 2

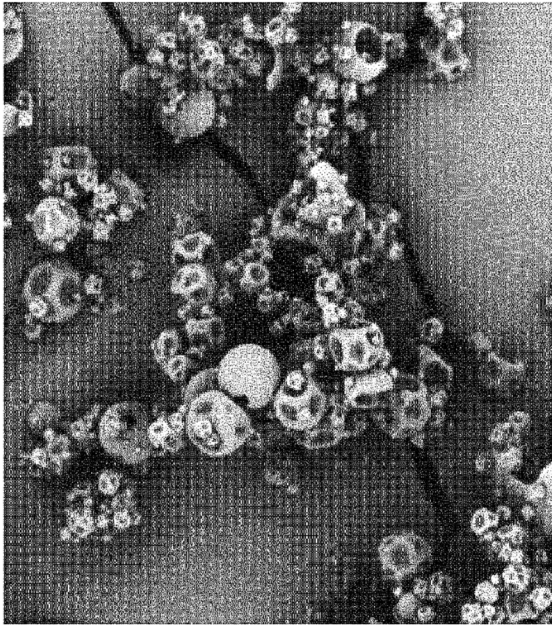


Figura 3

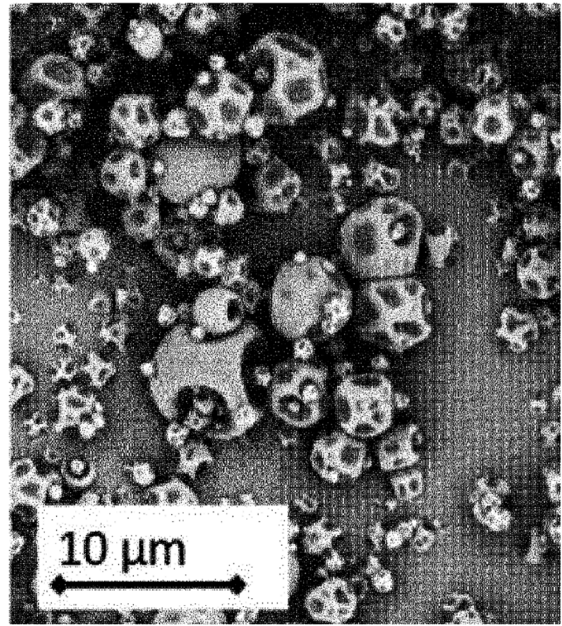


Figura 4

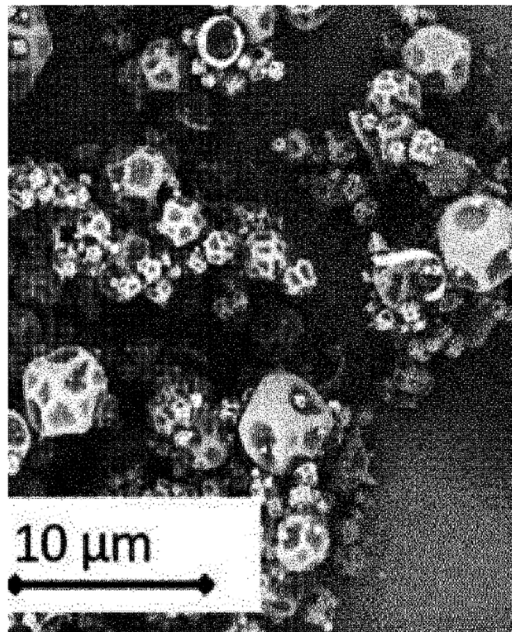


Figura 5

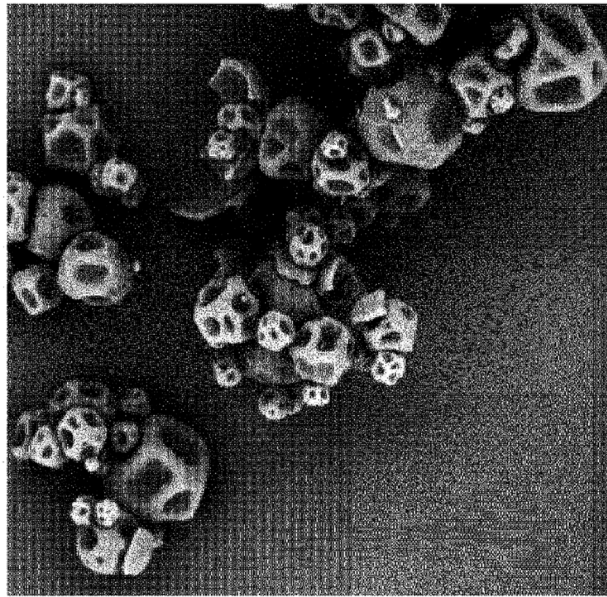


Figura 6

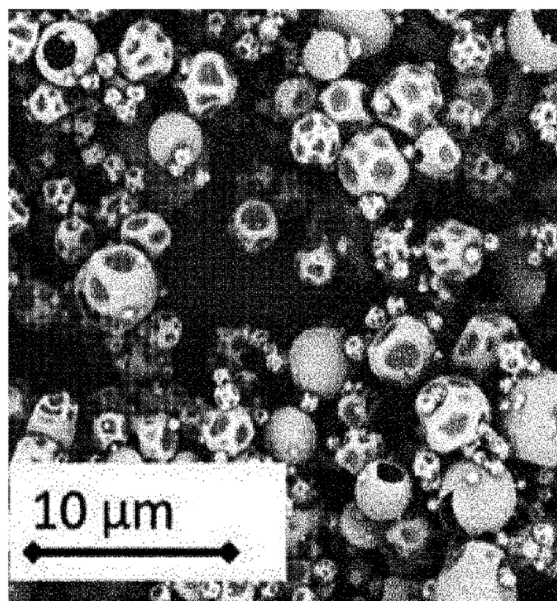


Figura 7

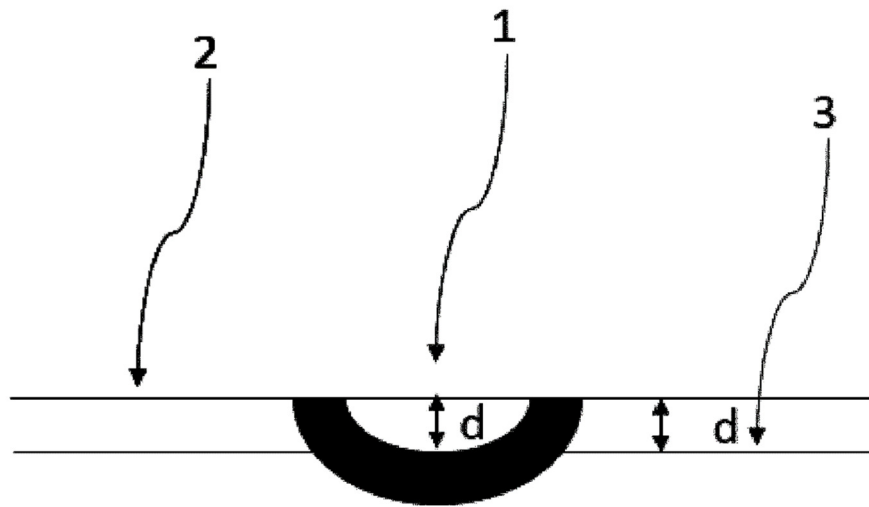


Figura 8

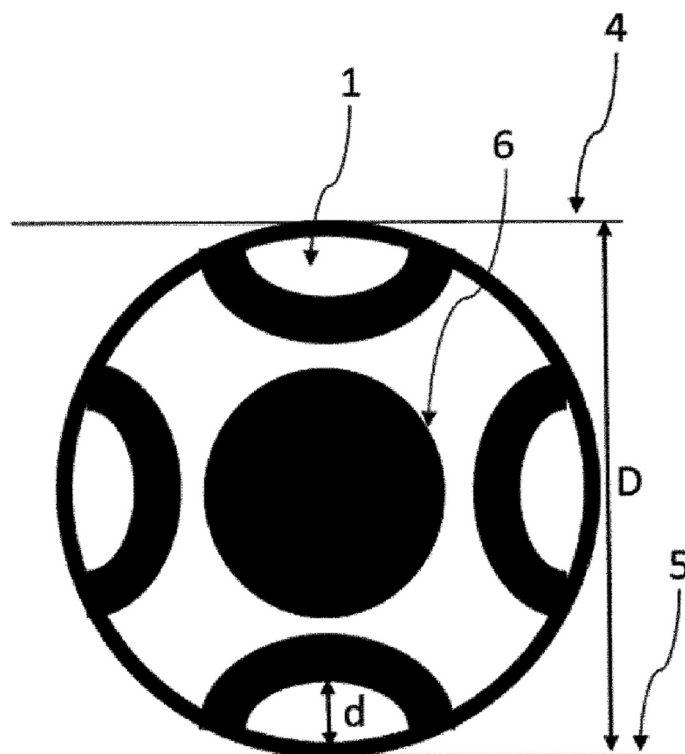


Figura 9

Figura 10A

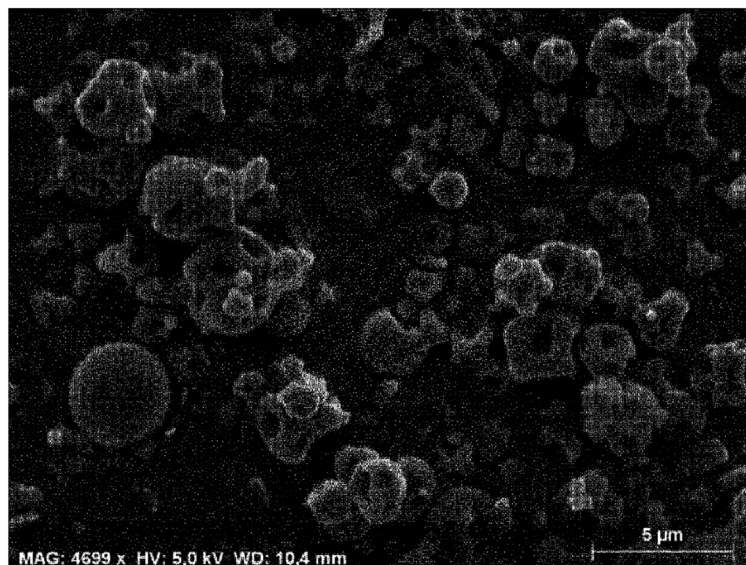


Figura 10B

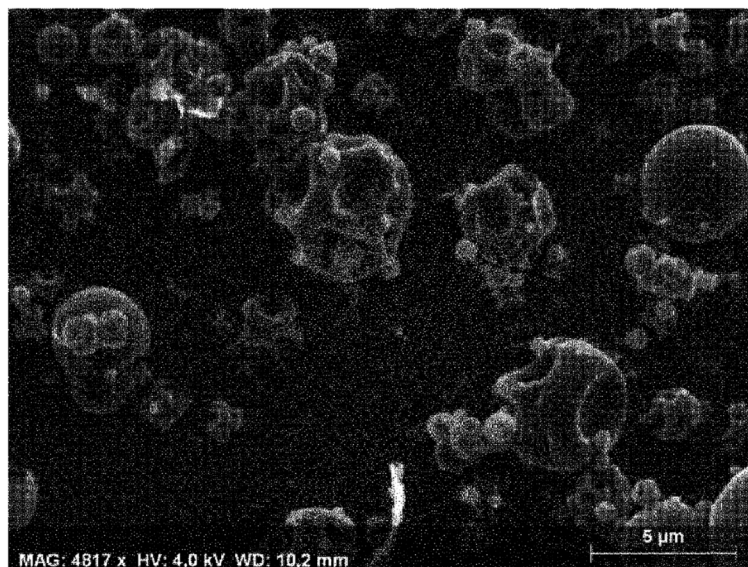
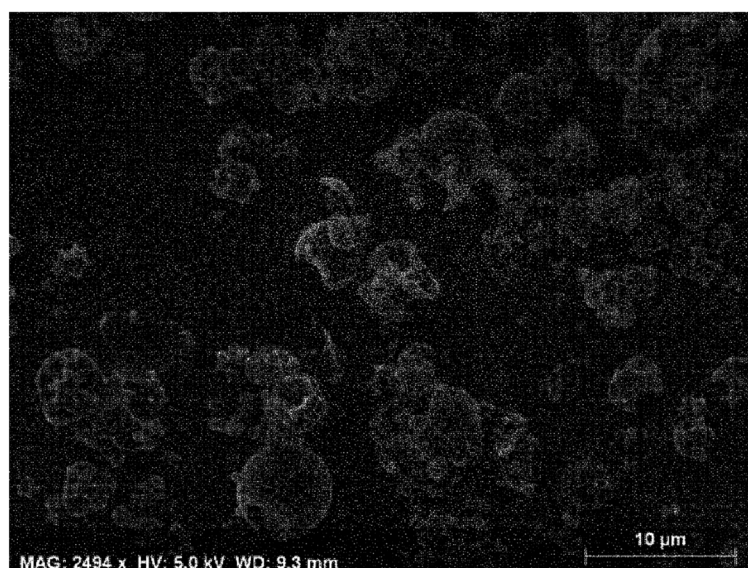


Figura 10C



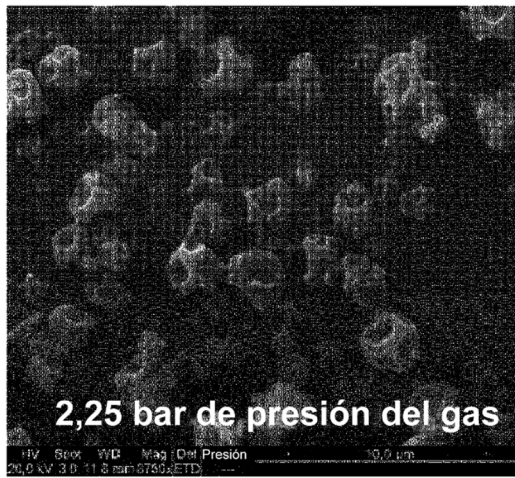


Figura 11

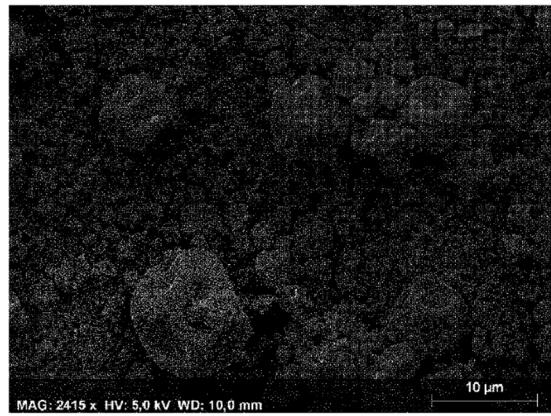


Figura 12

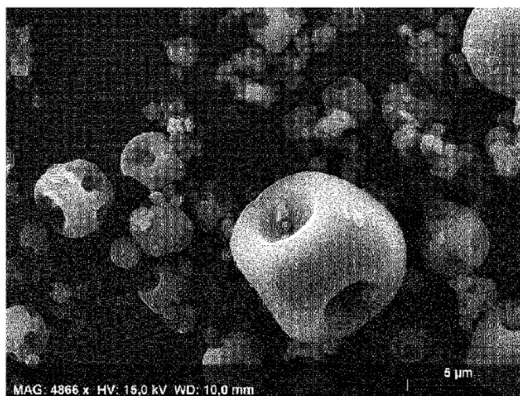


Figura 13

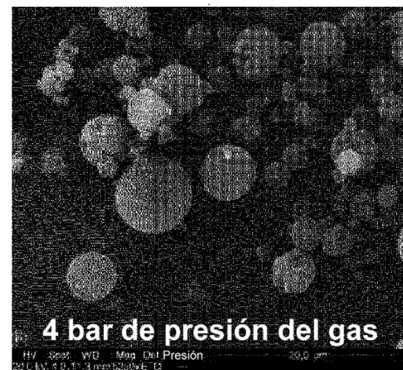
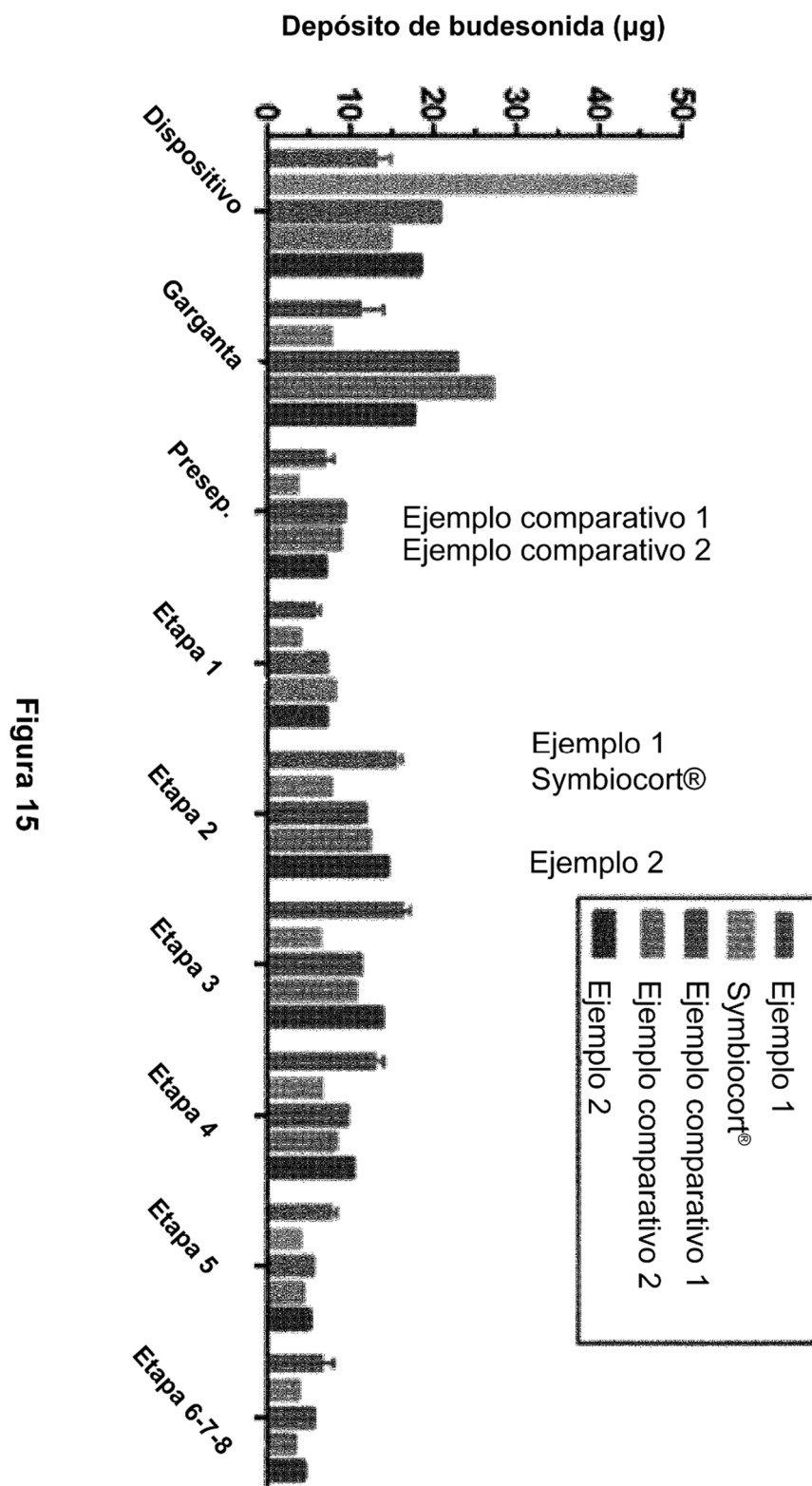


Figura 14



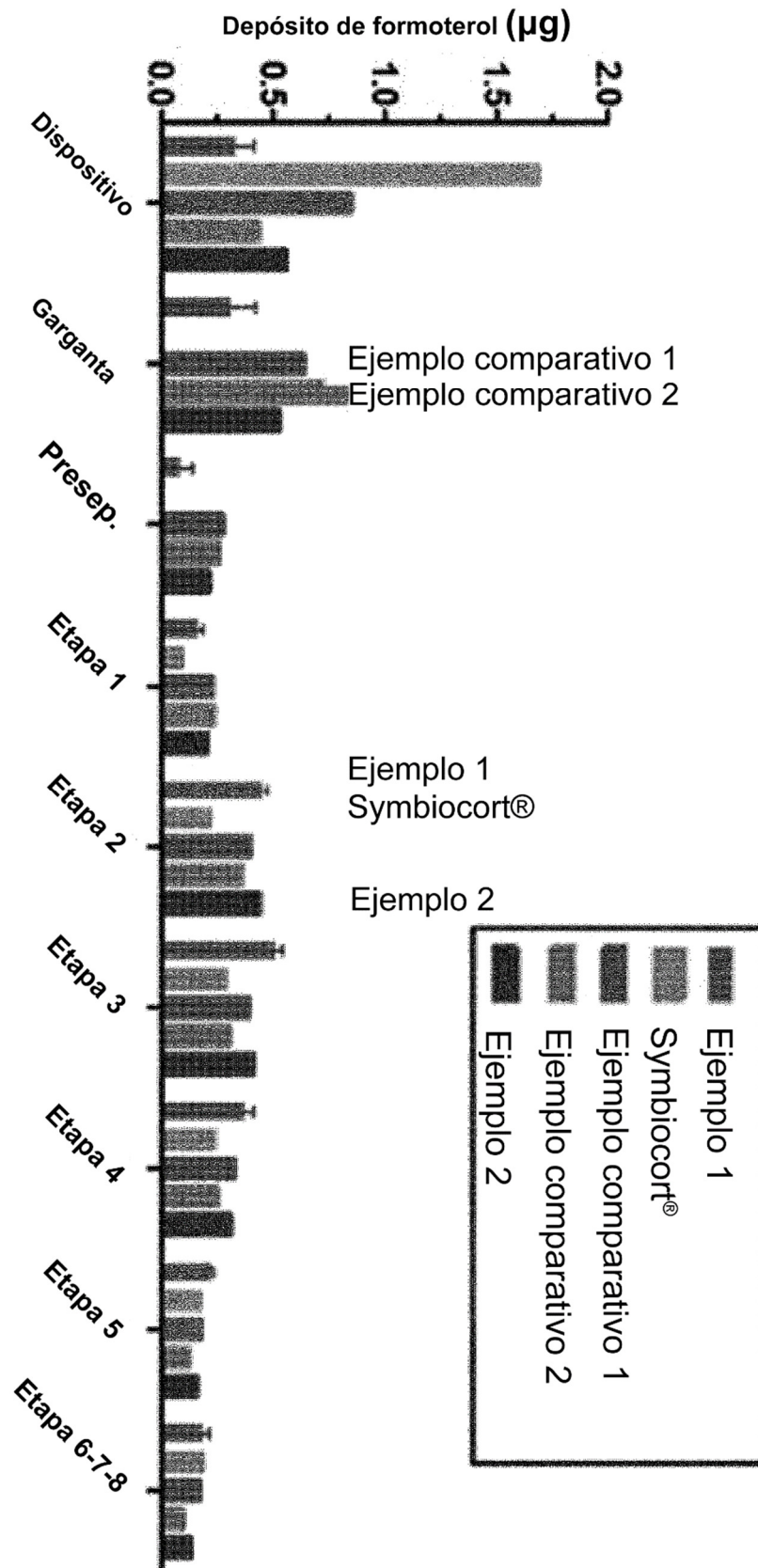


Figura 16

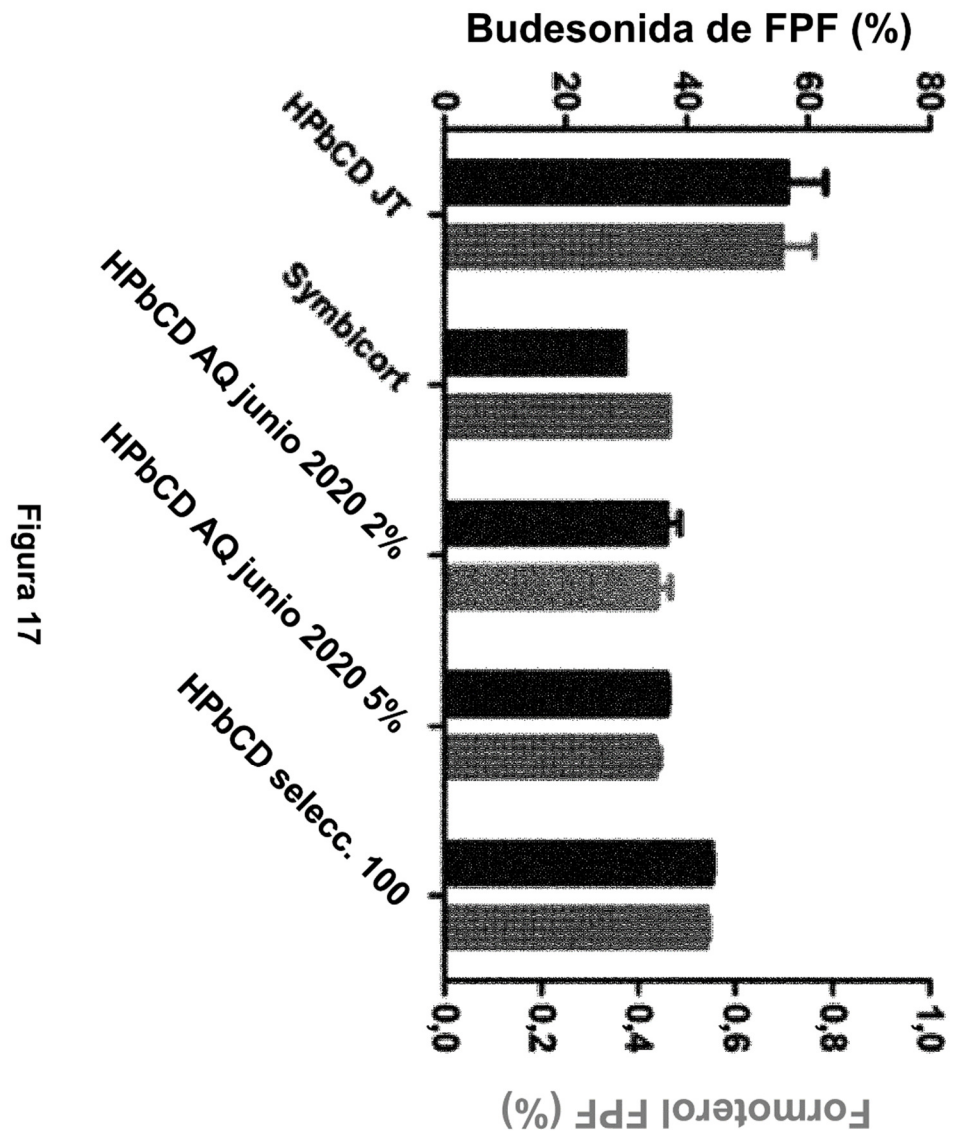


Figura 17

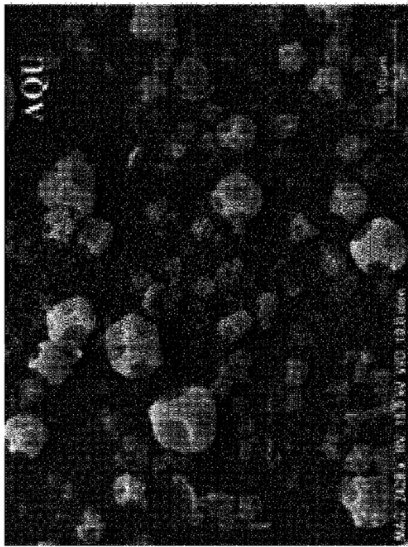


Figura 19

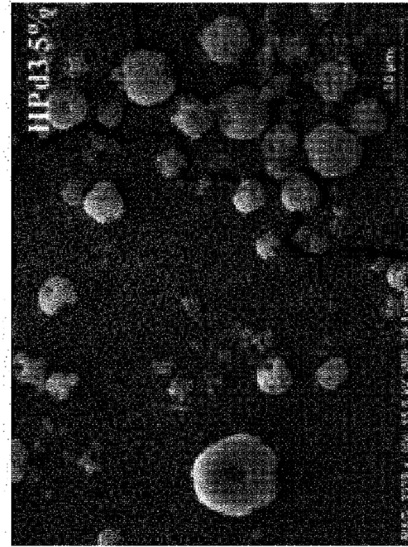


Figura 21

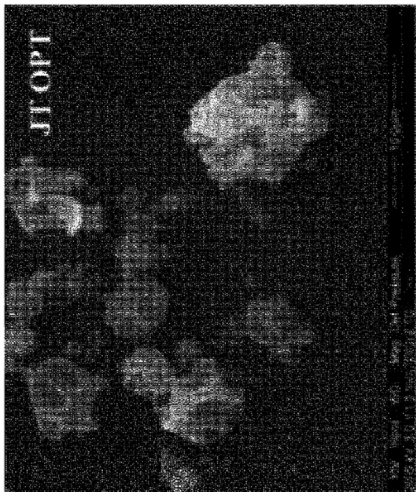


Figura 18

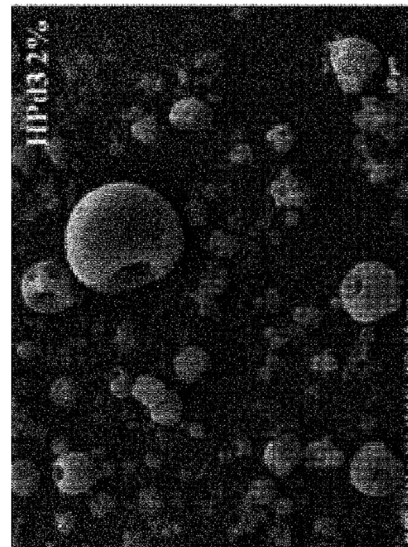


Figura 20

Figura 22

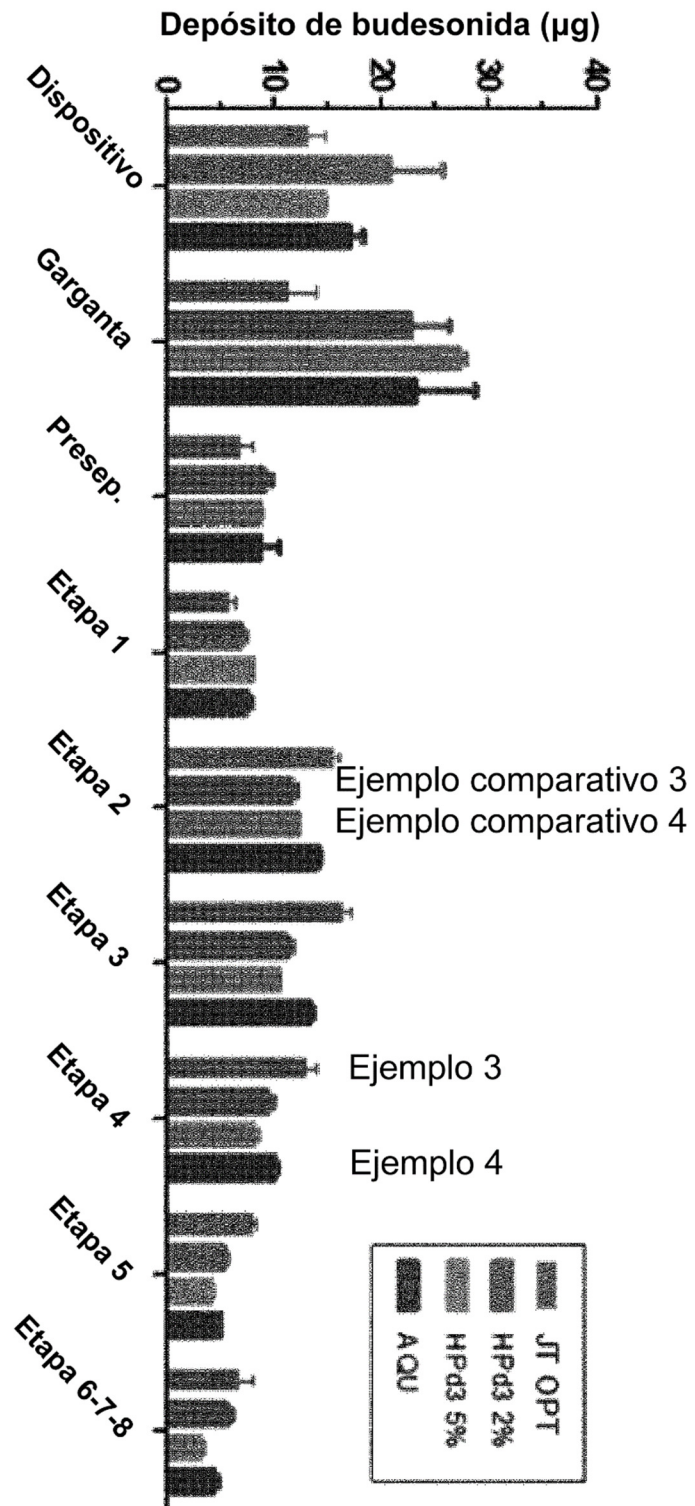
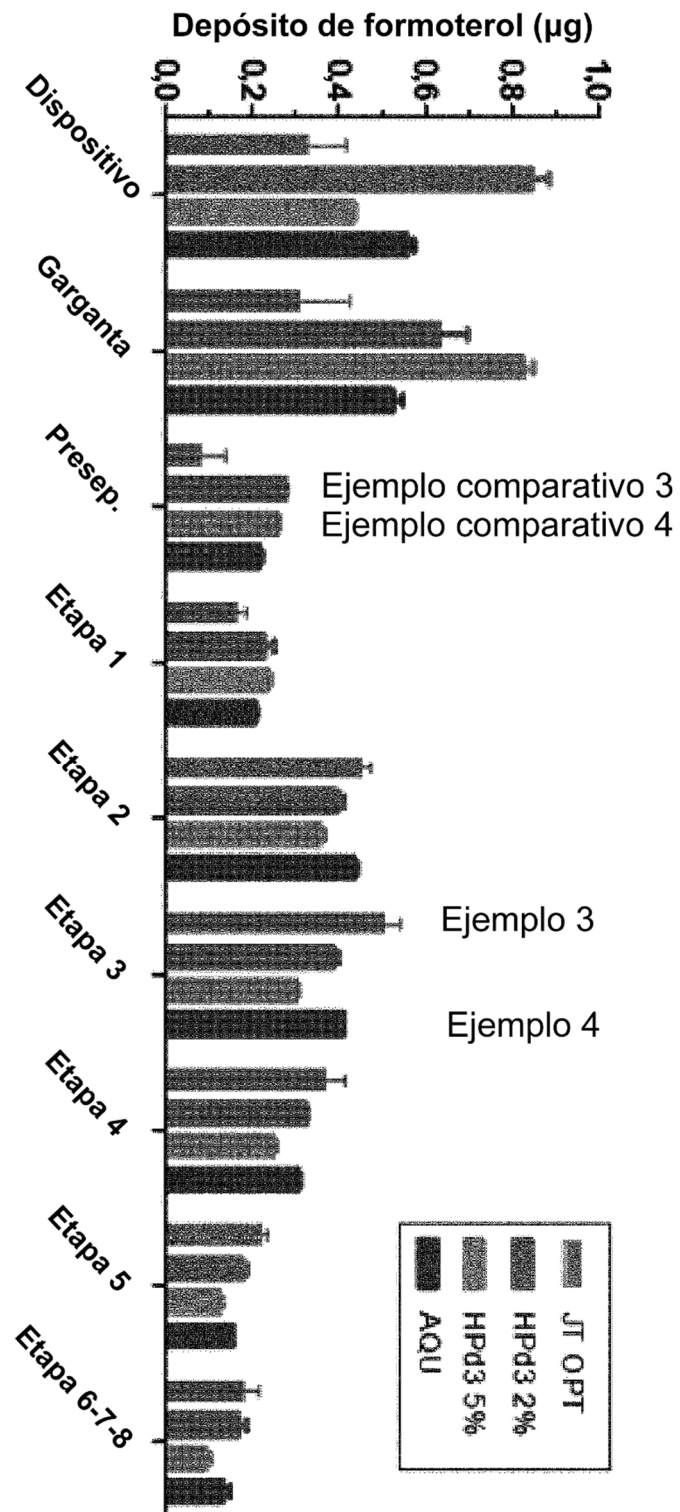
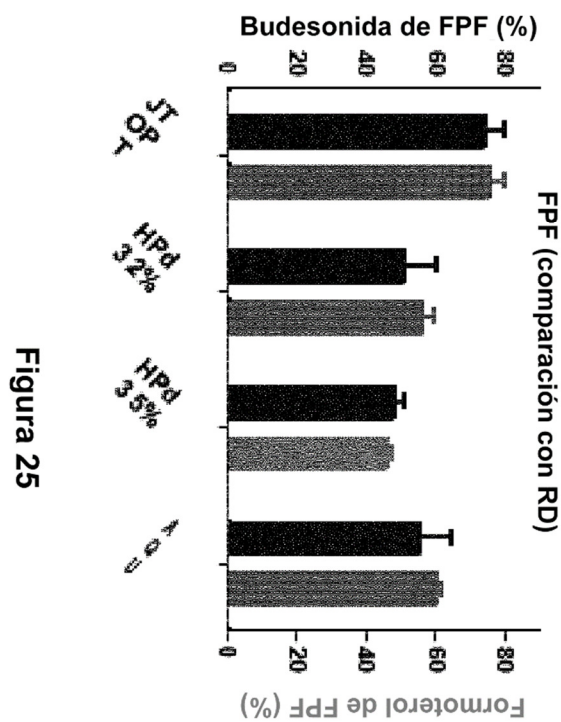
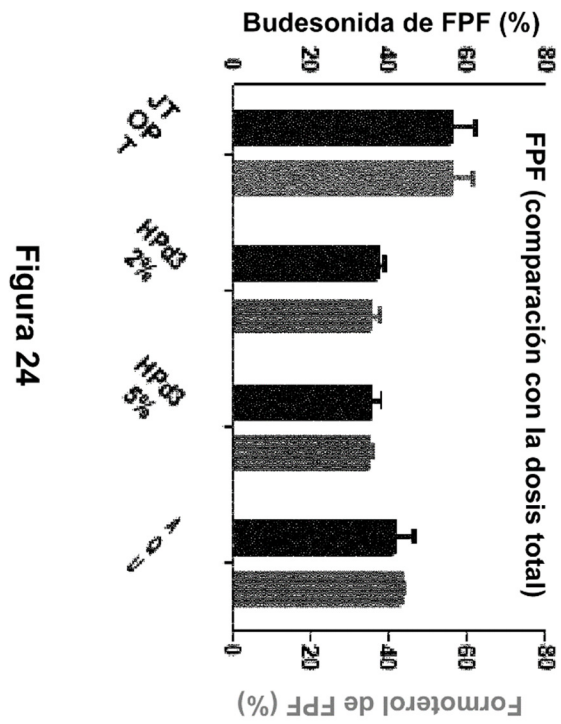


Figura 23





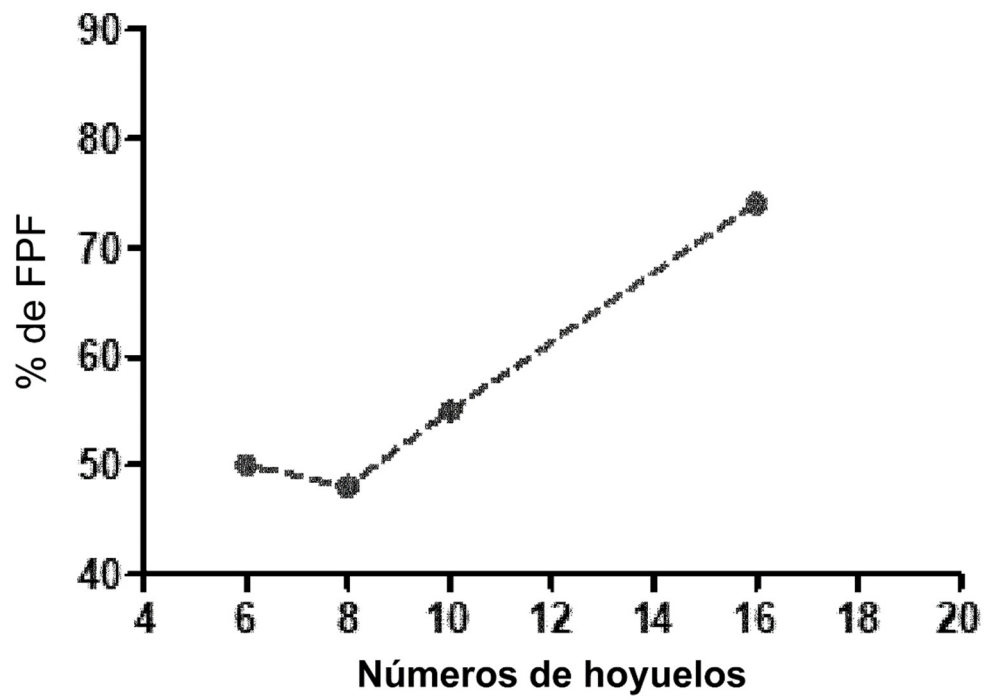


Figura 26