



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **3 003 920**

⑯ Int. Cl.:

A61K 31/7048 (2006.01)
A61K 31/7052 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.11.2014 PCT/JP2014/005603**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15068397**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.11.2014 E 14860926 (6)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2024 EP 3067045**

⑮ Título: **Preparación de suspensión acuosa que comprende nanopartículas de agente antibacteriano macrólido**

⑯ Prioridad:

08.11.2013 JP 2013231796

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2025

⑯ Titular/es:

ACTIVUS PHARMA CO., LTD. (100.00%)
1-17-25, Kitahon-cho
Funabashi-shi, Chiba 273-0864, JP

⑯ Inventor/es:

TADA, TAKAHIRO;
KAGAMI, KAZUHIRO;
YOKOTA, SHIRO y
KIKUCHI, KENTA

⑯ Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 3 003 920 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

Preparación de suspensión acuosa que comprende nanopartículas de agente antibacteriano macrólido

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a una formulación de suspensión acuosa que comprende nanopartículas de un antibiótico macrólido para el uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad inflamatoria o una enfermedad infecciosa.

10 Antecedentes de la técnica

Los antibióticos macrólidos tales como eritromicina, roxitromicina, claritromicina y azitromicina se han usado principalmente por vía oral, y existe una demanda de antibióticos macrólidos en formulaciones tópicas tales como inyecciones, gotas oftálmicas o gotas óticas. Sin embargo, estos fármacos son compuestos poco solubles que tienen una solubilidad baja, lo que dificulta su formulación en formulaciones líquidas. De estos, la eritromicina es fácilmente soluble en metanol, etanol y acetona, y ligeramente soluble en éter, pero extremadamente poco soluble en agua. La claritromicina, aunque es ligeramente soluble en acetona y cloroformo, es muy ligeramente soluble en metanol, etanol y éter, y prácticamente insoluble en agua. Por lo tanto, se reconoce que la claritromicina no solo es prácticamente insoluble en agua, sino que también es poco soluble en un solvente orgánico usado para experimentos biológicos en comparación con la eritromicina, y por lo tanto es significativamente difícil de formular en una solución. Como una formulación de tales fármacos poco solubles en formulaciones tópicas tales como inyecciones, gotas oftálmicas o gotas óticas, se conoce una formulación de suspensión acuosa en la que se suspende tal fármaco poco soluble. Por ejemplo, se informa una formulación de suspensión acuosa para la administración tópica, que contiene nanopartículas (el diámetro del 90 % o más de las partículas finas de un fármaco poco soluble es de menos de 1000 nm) del fármaco poco soluble y un desintegrador de gránulos (bibliografía de patente 1). También se informa que las formulaciones de suspensión acuosa tales como gotas oftálmicas y gotas óticas que comprenden un fármaco poco soluble, polivinilpirrolidona, y ácido algínico o una sal de este tienen buena redispersabilidad (bibliografía de patente 2).

30 Se conoce que los fármacos poco solubles también tienen una mala biodisponibilidad oral. Con el fin de mejorar la biodisponibilidad oral, se han realizado varios estudios para solubilizar y suspender los fármacos poco solubles. Por ejemplo, se informa que la claritromicina tiene una solubilidad mejorada, cuando se pulveriza con L-ácido ascórbico 2-glicósido (bibliografía no patente 1). Se informa además que una composición de administración líquida de nanopartículas se formula con una partícula de sustancia activa (poco soluble) que tiene un diámetro promedio eficaz de menos de 2000 nm y con un estabilizador de superficie y un inhibidor de crecimiento cristalino osmóticamente activo, que se estabiliza y evita la disolución/recristalización y agregación de la sustancia activa (bibliografía de patente 3). También se informa que la formulación de claritromicina que tiene un diámetro promedio eficaz de menos de 2000 nm combinado con un estabilizador de superficie mostró una solubilidad más alta y una biodisponibilidad oral más alta (bibliografía de patente 4).

40 También se han informado varios estudios sobre formas de administración parenteral tales como inyecciones de fármacos poco solubles tales como claritromicina. Por ejemplo, una administración de fármacos poco solubles tales como claritromicina por inyección tienen el problema de un dolor en un sitio inyectado. Como soluciones de este problema, se han informado un método para formular una emulsión lipídica (bibliografía de patente 5), un método para incorporar un fármaco poco soluble en un liposoma (bibliografía de patente 6) y un método para encapsular un fármaco poco soluble en micelas de una sal biliar (bibliografía de patente 7).

50 Por otro lado, se ha informado que la administración tópica de antibióticos macrólidos es eficaz en la queratitis, particularmente en la queratitis pos-LASIK causada por micobacterias no tuberculosas (bibliografía no patente 2). Especialmente, la claritromicina ha demostrado ser adecuada para tratar la queratitis causada por micobacterias no tuberculosas mediante experimentos en animales. Se informa que la claritromicina es de cuatro a ocho veces más eficaz que la azitromicina contra las micobacterias no tuberculosas. Se ha intentado formular estos fármacos en formulaciones para la administración tópica, tal como un colirio y una gota ótica, y la técnica DuraSite (marca registrada) para la formulación ha permitido el uso prácticamente de un colirio de azitromicina. Sin embargo, la claritromicina aún no se ha usado prácticamente en forma de gotas oftálmicas. Con respecto a la instilación ocular de claritromicina, se ha descrito que un polvo de claritromicina se disolvió en metanol y después se diluyó con solución salina, que se instiló en un ojo de conejo, y que la claritromicina administrada se retuvo en la córnea del conejo (bibliografía no patente 3). Por el contrario, también se informa que la claritromicina no se detectó en la córnea, sino que causa inflamación en la superficie ocular después de la administración de una suspensión de claritromicina de la misma manera. En este informe, la suspensión de claritromicina se preparó mediante la suspensión de un gránulo de claritromicina para la administración oral en agua esterilizada y después diluir la suspensión con solución salina (bibliografía no patente 4). Se informa que de 1 a 2 % de los pacientes experimentaron tal irritación en el ensayo clínico sobre gotas oftálmicas de azitromicina.

65 Para las gotas óticas, las gotas óticas que comprenden un antibiótico macrólido tal como claritromicina o azitromicina como ingrediente eficaz aún no se han usado prácticamente, a pesar de los informes realizados sobre una formulación

de gotas óticas para la administración duradera (bibliografía de patente 8) y una formulación para un antibiótico macrólido para permanecer tópicamente en el tímpano durante un período de tiempo prolongado (bibliografía de patente 9).

- 5 La bibliografía de patente 10 describe una nanosuspensión intravenosa acuosa con efectos adversos reducidos.
 La bibliografía no patente 5 describe nanosuspensiones de azitromicina oftálmicas que comprenden hidroxipropilmetylcelulosa y poloxámero 407 como agentes estabilizantes.

10 Lista de Citas

Bibliografía de patente

- 15 Bibliografía de patente 1: Solicitud de patente japonesa publicada núm. 2007-119456
 Bibliografía de patente 2: Publicación internacional núm. WO 2002/015878
 Bibliografía de patente 3: Publicación internacional núm. WO 2004/006959
 Bibliografía de patente 4: Publicación internacional núm. WO 2007/008537
 Bibliografía de patente 5: Publicación internacional núm. WO 90/14094
 Bibliografía de patente 6: Publicación internacional núm. WO 98/33482
 20 Bibliografía de patente 7: Solicitud de patente japonesa publicada núm. H3-169807
 Bibliografía de patente 8: Publicación de solicitud de patente no examinada de Estados Unidos núm. 2013/0216609
 Bibliografía de patente 9: Publicación internacional núm. WO 2004/050021
 Bibliografía de patente 10: Solicitud de patente europea EP 2 335 686 A1

25 Bibliografía no patente

- Bibliografía no patente 1: Yutaka Inoue y otros, International Journal of Pharmaceutics (2007) 331:38-45
 Bibliografía no patente 2: Joon-Young Hyon y otros, Arch Ophthalmol (2004) 122:1166-1169
 Bibliografía no patente 3: Robert H. Gross y otros, Invest Ophthalmol Vis Sci (1995) 36(5):965-968
 30 Bibliografía no patente 4: Jonas, J. Kuehne y otros, Am J Ophthalmol (2004) 138:547-553
 Bibliografía no patente 5: Rakesh K. Kotecha y otros, Int. J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (2013), p. 490-497

Resumen de la invención

- 35 Problema Técnico
 A pesar de varios estudios sobre formulaciones líquidas acuosas que comprenden un fármaco poco soluble, todavía ha sido difícil lograr formulaciones de suspensión acuosa prácticamente utilizables tales como inyecciones, gotas oftálmicas y gotas óticas que comprenden un fármaco poco soluble tal como claritromicina. Por lo tanto, se desea desarrollar inyecciones y formulaciones de suspensión acuosa para la administración tópica, particularmente gotas oftálmicas y gotas óticas, que sean preferentemente menos irritables, fácilmente esterilizables, tengan buena estabilidad temporal y estabilidad de la dispersión, y sean aplicables a una amplia gama de fármacos poco solubles.

- 40 45 En consecuencia, la presente invención se objeta para proporcionar una suspensión acuosa que comprende el antibiótico macrólido como un ingrediente eficaz, que es menos irritante, fácilmente esterilizable y tiene buena estabilidad temporal y estabilidad de la dispersión. Específicamente, la presente invención se opone a proporcionar una composición farmacéutica acuosa prácticamente factible, tal como una inyección, un colirio, una gota ótica, una gota para la nariz y/o un inhalador, que comprende un antibiótico macrólido como un ingrediente eficaz.
 50 Particularmente, la presente invención se opone a proporcionar una inyección, un colirio, una gota ótica, una gota para la nariz y/o un inhalador que comprende un antibiótico macrólido como un ingrediente eficaz que tiene buena claridad, (largo plazo) dispersabilidad, estabilidad de conservación, retención corneal, propiedades de migración del humor acuoso y baja irritabilidad. La presente invención se opone además a proporcionar la suspensión acuosa anterior o una inyección, un colirio, una gota ótica, una gota para la nariz y/o un inhalador que comprende claritromicina como el antibiótico macrólido como un ingrediente eficaz.

55 Solución al Problema

- 60 La presente invención se refiere a una formulación de suspensión acuosa como se define en la reivindicación 1. Las modalidades preferidas de esta se definen en las reivindicaciones dependientes.

- 65 En particular, la presente invención se refiere a una formulación de suspensión acuosa para el uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad inflamatoria o una enfermedad infecciosa, en donde la formulación de suspensión acuosa comprende nanopartículas de un antibiótico macrólido y un estabilizador de dispersión que comprende (a) aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60 como un surfactante y (b) metilcelulosa y/o hidroxipropilmetylcelulosa como modificador de la viscosidad; las nanopartículas tienen un diámetro promedio de partícula de 300 nm o menos

y un diámetro del 90 % de 1500 nm o menos, el diámetro promedio de partícula es un diámetro medio aritmético en una distribución de diámetros de partícula medida por espectroscopía de correlación de fotones de dispersión dinámica de luz, y la formulación de suspensión acuosa es una formulación tópica ocular.

- 5 Los presentes inventores realizaron estudios extensos y, en consecuencia, descubrieron que una formulación de suspensión acuosa que comprende nanopartículas de un antibiótico macrólido, y un estabilizador de dispersión, un surfactante, un inhibidor de la agregación, y/o un modificador de la viscosidad tiene buena claridad, (largo plazo) dispersabilidad, estabilidad de conservación, retención corneal, y propiedades de migración del humor acuoso, y por lo tanto es buena para ser una composición farmacéutica acuosa. Particularmente, los presentes inventores han descubierto que se ejercen efectos extremadamente ventajosos cuando las nanopartículas de un antibiótico macrólido tienen un diámetro promedio de partícula (en adelante denominado "D_v") de 300 nm o menos y un diámetro del 90 % (en adelante denominado "D₉₀") de 1500 nm o menos (preferentemente un D₉₀ es de 400 nm o menos, o un D_v es de 200 nm o menos y un D₉₀ es de 300 nm o menos).
- 10 15 En una modalidad, la presente invención se refiere a una formulación de suspensión acuosa que comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido, y se refiere preferentemente a la formulación de suspensión acuosa en donde la nanopartícula tiene un D_v de 300 nm o menos y un D₉₀ de 1500 nm o menos. Por ejemplo, la formulación de suspensión acuosa de la presente invención incluye las nanopartículas de un antibiótico macrólido producido mediante la mezcla del antibiótico macrólido, una sal fisiológicamente aceptable y/o un sacárido fisiológicamente aceptable, un poliol fisiológicamente aceptable y/o agua, y un estabilizador de dispersión.
- 20

Los presentes inventores han descubierto además que la formulación de suspensión acuosa anterior puede ser adecuada para su uso como la composición farmacéutica acuosa mediante el uso de un surfactante de aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60 y/o un espesante de hidroxipropilmelcelulosa o metilcelulosa como los estabilizadores de dispersión. Los presentes inventores han descubierto particularmente que la formulación tópica ocular de un antibiótico macrólido que comprende un aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno (HCO-60 (surfactante)) y hidroxipropilmelcelulosa (HPMC (espesante polimérico)) o metilcelulosa (MC (espesante polimérico)) como estabilizador de dispersión es ventajosa en los siguientes puntos: se puede esperar una interacción con las membranas mucosas de la córnea y la conjuntiva debido a los compuestos poliméricos HPMC y MC; se puede esperar una retención de la córnea debido al efecto de HPMC o MC y debido a la estabilidad de las nanopartículas en la formulación; y las propiedades de migración del humor acuoso pueden mejorarse debido al tiempo de retención prolongado.

35 Además, los presentes inventores han descubierto que la solubilidad de los antibióticos macrólidos puede mejorarse mediante el empleo de la nanopartícula en la formulación, y de esta manera puede reducirse la cantidad de dosificación. Además, los presentes inventores han descubierto inesperadamente que el problema de irritación causado por los antibióticos macrólidos se reduce mediante el empleo de la nanopartícula o la formulación de nanopartículas de la presente invención. Con estos hallazgos, los inventores lograron la presente invención.

40 En una modalidad, la presente invención se refiere a la formulación de suspensión acuosa que comprende las nanopartículas (la nanopartícula tiene un D_v de 300 nm o menos y un D₉₀ de 1500 nm o menos) de un antibiótico macrólido. Por ejemplo, la presente invención abarca la formulación de suspensión acuosa que comprende las nanopartículas (la nanopartícula tiene un D_v de 300 nm o menos y un D₉₀ de 1500 nm o menos) de un antibiótico macrólido y un estabilizador de dispersión. La presente invención también se refiere a la formulación de suspensión acuosa en donde el estabilizador de dispersión es un surfactante(s), un inhibidor(es) de la agregación y/o un modificador(es) de la viscosidad. En una modalidad preferida de la presente invención, el surfactante es aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60, polisorbato 80, monoestearato de polietilenglicol, y/o polioxietileno polioxipropilenglicol, y/o el inhibidor de la agregación es alcohol polivinílico, polietilenglicol, y/o polivinilpirrolidona, y/o el modificador de la viscosidad es metilcelulosa, hidroxipropilmelcelulosa, y/o hidroxietilcelulosa. Por ejemplo, la presente invención puede ser la suspensión acuosa que comprende las nanopartículas de un fármaco antibacteriano macrólido, que comprende HCO-60 (surfactante) y HPMC o MC (espesante polimérico) como los estabilizadores de dispersión.

55 60 En otra modalidad, la presente invención se refiere a la composición farmacéutica acuosa que comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido, que comprende un estabilizador de dispersión. En esta descripción, una composición farmacéutica acuosa significa una composición farmacéutica líquida acuosa o gelatinosa, y específicamente significa una composición farmacéutica en la que las nanopartículas de un antibiótico macrólido se suspenden en un líquido acuoso. Por lo tanto, la composición farmacéutica usada en la presente descripción significa una composición farmacéutica acuosa a menos que se indique de cualquier otra manera. La composición farmacéutica acuosa de la presente invención incluye formulaciones tópicas oculares. La formulación tópica usada en la presente descripción significa una formulación acuosa para administraciones tópicas a menos que se indique de cualquier otra manera.

65 La formulación tópica incluye una formulación tópica ocular. Más específicamente, la formulación tópica incluye una composición farmacéutica para tratar o prevenir enfermedades inflamatorias o enfermedades infecciosas del ojo. Por ejemplo, la formulación tópica incluye gotas oftálmicas. La formulación tópica de la presente invención puede ser

preferentemente una formulación tópica ocular para tratar o prevenir enfermedades inflamatorias o infecciosas oculares.

5 La composición farmacéutica acuosa de la presente invención puede usarse para tratar o prevenir una enfermedad inflamatoria o enfermedad infecciosa mediante la administración tópica de una dosis eficaz de la composición a un paciente que lo necesite. En una modalidad, la presente invención se refiere al uso de la formulación para el tratamiento o prevención de enfermedades inflamatorias o enfermedades infecciosas, que comprende administrar una dosis eficaz de la formulación de suspensión acuosa a un paciente que lo necesite, en donde la formulación de suspensión acuosa comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido y un estabilizador de dispersión, o una dosis eficaz de la composición farmacéutica que comprende tal formulación de suspensión acuosa.

10 En la presente descripción se describe el uso de las nanopartículas de un antibiótico macrólido (y un estabilizador de dispersión) para producir composiciones farmacéuticas acuosas (por ejemplo, inyecciones y formulaciones tópicas). Particularmente se describe el uso de la formulación de suspensión acuosa que comprende las nanopartículas (la nanopartícula tiene un D_v de 300 nm o menos y un D₉₀ de 1500 nm o menos) de un antibiótico macrólido (y un estabilizador de dispersión) para producir composiciones farmacéuticas acuosas (por ejemplo, formulaciones tópicas).

15 20 El "antibiótico macrólido" usado en la presente descripción no está particularmente limitado siempre que sea un compuesto que tenga el esqueleto macrólido y una actividad antibacteriana. El esqueleto macrólido puede ser un macrólido de anillo de 14 a 16 miembros, preferentemente un macrólido de anillo de 14 miembros. El antibiótico macrólido puede incluir, por ejemplo, eritromicina, claritromicina, roxitromicina, azitromicina, josamicina, rokitamicina y kitasamicina, preferentemente eritromicina, claritromicina y azitromicina, y con la máxima preferencia es claritromicina.

25 30 35 La "formulación de suspensión acuosa" usada en la presente descripción significa una formulación líquida acuosa en la que se suspenden las nanopartículas de un antibiótico macrólido, y es preferentemente una formulación de suspensión acuosa para uso médico. La formulación de suspensión acuosa y la composición farmacéutica en la presente descripción pueden tener viscosidad siempre que no impida su uso como un fármaco farmacéutico, y puede incluir formulaciones gelatinosas, así como también las formulaciones líquidas. La formulación de suspensión acuosa y la composición farmacéutica en la presente descripción incluyen formulaciones tópicas. El término "tópico" usado en la presente descripción significa una parte del cuerpo, tal como áreas afectadas, un área alrededor de un área afectada, u órgano de un área afectada, y preferentemente el ojo. La "formulación tópica" significa una composición farmacéutica con el propósito de una administración tópica. Las formulaciones tópicas son formulaciones tópicas oculares (por ejemplo, gotas oftálmicas). La formulación de suspensión acuosa en la presente descripción puede constituir una composición farmacéutica administrable como un producto farmacéutico, o alternativamente la formulación de suspensión acuosa puede ser un componente que proporciona una composición farmacéutica administrable (por ejemplo, un ingrediente crudo para una composición farmacéutica) al añadir otros componentes y/o un diluyente.

40 45 50 La formulación de suspensión acuosa en la presente descripción exhibe una, o dos o más, de las siguientes propiedades: (1) no se observa precipitación a simple vista, (2) la claridad es alta, y (3) no se detecta microscópicamente ningún agregado o cristal, preferentemente 24 horas (preferentemente 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, o 7 días) después de la dispersión mediante agitación o similar (a temperatura ambiente). La formulación de suspensión acuosa que comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido en la presente descripción es preferentemente que no se observe precipitado a simple vista, una alta claridad y no se detecte agregado o cristal microscópicamente después de 7 días de sellado en un tubo de ensayo.

55 60 65 La claridad se determina de acuerdo con la prueba de claridad descrita en la Farmacopea japonesa. Específicamente, la claridad puede determinarse mediante el siguiente procedimiento: se prepara una solución de comparación para la turbidez mediante la adición de agua a 5 ml de una emulsión estándar de formazina al volumen total de 100 ml. Una formulación de suspensión acuosa de prueba y una solución de comparación recién preparada para la turbidez se vierten en un tubo de ensayo de vidrio transparente incoloro de fondo plano que tiene un diámetro interior de 15 mm hasta que la capa de solución alcanza una profundidad de 30 mm o 40 mm, respectivamente, que se observan y comparan desde arriba sobre un fondo de color negro en la luz dispersa. Cuando la claridad de la formulación de suspensión acuosa de prueba es la misma que la del agua o el solvente usado, o cuando el grado de turbidez de la formulación de suspensión acuosa de prueba es el mismo o menor que la turbidez de la solución de comparación, se determina que la claridad es alta. Alternativamente, la formulación de suspensión acuosa de prueba y la solución de comparación recién preparada para la turbidez pueden probarse para determinar la claridad mediante el método de espectrofotometría ultravioleta visible en donde se mide una transmittancia a 660 mediante el uso de una celda que tiene una longitud de capa de 50 mm y mediante el uso de agua o el solvente como control. Cuando la transmittancia de la formulación de suspensión acuosa de ensayo es igual o superior a la de la solución de comparación para la turbidez, la claridad puede determinarse como alta.

70 En otra modalidad, la formulación tópica de la presente invención es una formulación tópica ocular que tiene una alta retención corneal. La retención corneal de una formulación de suspensión acuosa de prueba puede probarse de acuerdo con, por ejemplo, el método descrito en Jonas, J. Kuehne y otros, Am J Ophthalmol (2004) 138:547-553.

Específicamente, la suspensión acuosa de prueba de un fármaco puede administrarse a un ojo de un conejo, y se mide una concentración del fármaco en una córnea. Cuando la concentración del fármaco en la córnea es mayor que la medida para la administración de la solución estándar (por ejemplo, la formulación informada que se probó como una formulación tópica ocular, por ejemplo, para el claritromicina, una suspensión de agua esterilizada del gránulo de claritromicina para la administración oral (ver Jonas, J. Kuehne y otros, Am J Ophthalmol (2004) 138:547-553), la misma se aplica en lo sucesivo), la retención de la córnea de la suspensión acuosa de prueba puede determinarse como alta.

En una modalidad, la formulación de suspensión acuosa de la presente invención es una formulación de suspensión acuosa con una irritabilidad baja. La baja irritabilidad usada en la presente descripción significa que el grado de reacción de irritación (por ejemplo, reacciones inflamatorias tales como brote, hinchazón y/o congestión) en la administración a un sujeto es menor que la reacción de irritación provocada por una administración de la formulación acuosa usada previamente que comprende los mismos fármacos eficaces. El grado de irritación de la formulación de suspensión acuosa de prueba puede determinarse, por ejemplo, de acuerdo con el método descrito en Jonas, J. Kuehne y otros, Am J Ophthalmol (2004) 138:547-553, mediante la administración de la formulación de suspensión acuosa de prueba a un ojo de un conejo y la medición del grado de inflamación en el ojo. Cuando el grado de inflamación es menor que la solución estándar (igual que la anterior), se determina que la irritabilidad de la formulación de suspensión acuosa de prueba es baja. Más específicamente, la irritabilidad de un colirio puede determinarse mediante la aplicación de una formulación de un antibiótico macrólido en una concentración de 1,0 % a un ojo una vez a 20 veces al día a un intervalo de 30 minutos a varias horas, al observar una córnea, un iris y la conjuntiva en el siguiente horario: antes de la administración, y 1, 3, 5 y 24 horas después de la administración final, y puntuando los resultados de acuerdo con los criterios de evaluación de Draize (ver OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS 405 (24 de febrero de 1987) Acute Eye Irritation/Corrosion).

El "surfactante" usado en la presente descripción no está particularmente limitado siempre que pueda administrarse a seres humanos como un aditivo farmacéutico sin toxicidad y no impida la actividad de los antibióticos macrólidos. Los ejemplos pueden incluir (i) surfactantes no iónicos tales como copolímeros de bloques de polioxietileno (en adelante denominado "POE")-polioxipropileno (en adelante denominados "POP") tales como poloxámero 407, poloxámero 235 y poloxámero 188; aductos de copolímeros de bloques de polioxietileno-polioxipropileno de etilendiamina tales como poloxamina; ésteres de ácidos grasos de sorbitán de POE tales como monolaurato de sorbitán de POE (20) (polisorbato 20), monooleato de sorbitán de POE (20) (polisorbato 80) y polisorbato 60; aceites de ricino hidrogenados de POE tales como aceite de ricino hidrogenado de POE (60); éteres de alquilo de POE tales como éter de laurilo de POE (9); éteres de alquilo de POE/POP tales como éter de cetilo de POE (20) POP (4); éteres de alquilfenilo de POE tales como éter de nonilfenilo de POE (10); glicoles de POE/POP tales como glicol de POE (105) POP (5), glicol de POE (120) POP (40), glicol de POE (160) POP (30), glicol de POE (20) POP (20), glicol de POE (200) POP (70), glicol de POE (3) POP (17), glicol de POE (42) POP (67), glicol de POE (54) POP (39) y glicol de POE (196) POP (67); (ii) surfactantes anfóteros tales como surfactantes anfóteros de glicina tales como alquildiaminoetil glicina, surfactantes anfóteros de acetato de betaina tales como ácido lauril dimetilaminoacético betaina, y surfactantes anfóteros de imidazolina; (iii) surfactantes aniónicos tales como alquiléter fosfatos de POE y sales de estos tales como lauriléter fosfato sódico de POE (10); sales de N-acilaminoácidos tales como lauroil metilalanina sódica; alquiléter carboxilato; sales de N-aciltaurina tales como N-coco ácido de N-metil taurato sódico; sulfonatos tales como sulfonato sódico de olefinas C14-16; alquilsulfatos tales como laurilsulfato sódico; alquiléter sulfatos de POE tales como lauriléter sulfato sódico de POE (3); y sulfonato de α -olefina; (iv) surfactantes catiónicos tales como sales de alquilamina; sales de alquilamonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; y sales de alquiltríidonio tales como cloruro de cetiltríidonio, bromuro de cetiltríidonio. La formulación de suspensión acuosa de la presente invención puede contener uno, o dos o más, de los surfactantes. El surfactante es preferentemente aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60 (HCO-60), polisorbato 80 (Tween 80), monoestearato de polietilenglicol (MYS-40) y/o polioxietileno polioxipropilenglicol.

El "inhibidor de la agregación" usado en la presente descripción no está particularmente limitado siempre que pueda inhibir la agregación de un antibiótico macrólido, pueda administrarse a seres humanos sin toxicidad y no impida la actividad del antibiótico macrólido. Los ejemplos incluyen sulfato de alquilo; sal de N-alquiloilmétiltaurina; etanol; glicerol; propilenglicol; citrato de sodio; fosfolípidos tales como glicerofosfolípido (lecitina (fosfatidilcolina) (por ejemplo, lecitina de soya purificada, lecitina de soya hidrogenada), fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, ácido fosfatídico, fosfatidilglicerol, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidilserina, lisofatidiletanolamina, lisofosfatidilinositol, ácido fosfatídico, y fosfatidilglicerol), y esfingofosfolípido (esfingomielina, ceramida, glicoesfingolípido, o gangliósido); D-sorbitol; lactosa; xilitol; goma arábica; éster de ácido graso de sacarosa; aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno; ésteres de ácido graso de polioxietileno; polietilenglicol (PEG); éster de ácido graso de sorbitán de polioxietileno; sulfonato de alquilbenceno; sulfosuccinato; polioxietileno polioxipropilenglicol; polivinilpirrolidona (PVP); alcohol polivinílico (PVA); hidroxipropilcelulosa (HPC); metilcelulosa (MC); hidroxietilcelulosa (HEC); hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC); caramelosa sódica; polímero de carboxivinilo (CVP); N-acil-glutamato; copolímero de ácido acrílico; copolímero de ácido metacrílico; caseína sódica; L-valina; L-leucina; L-isoleucina; cloruro de benzalconio; y cloruro de bencetonio. La formulación de suspensión acuosa de la presente invención puede contener uno, o dos o más, de los inhibidores de la agregación. Los inhibidores de la agregación preferidos son alcohol polivinílico (PVA), polietilenglicol (PEG) y/o polivinilpirrolidona (PVP).

El "modificador de la viscosidad" usado en la presente descripción no está particularmente limitado siempre que pueda modificar la viscosidad de una formulación de suspensión acuosa, pueda administrarse a seres humanos como un aditivo farmacéutico sin toxicidad, y no impida la actividad de un antibiótico macrólido. Los ejemplos pueden incluir polisacáridos o derivados de estos (goma arábiga, goma karaya, goma xantana, goma algarrobo, goma guar, goma de guayaco, semilla de membrillo, goma darman, tragacanto, caucho de benzoína, goma de algarrobo, caseína, agar, ácido algínico, dextrina, dextrano, carragenano, gelatina, colágeno, pectina, almidón, ácido poligalacturónico, quitina y derivados de esta, quitosano y derivados de este, elastina, heparina, heparinoide, sulfato de heparina, sulfato de heparán, ácido hialurónico, sulfato de condroitina, y similares), ceramida, derivados de celulosa (metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetylcelulosa, carboximetilcelulosa, carboxietilcelulosa, celulosa, nitrato de celulosa y similares), alcohol polivinílico (completamente o parcialmente saponificado), polivinilpirrolidona, macrogol, metacrilato de polivinilo, ácido poliacrílico, polímero carboxivinílico, polietilenimina, óxido de polietileno, polietenglicol, ácido ribonucleico, ácido desoxirribonucleico, copolímero de éter metilvinílico-anhídrido maleico, y sales farmacológicamente aceptables de estos (por ejemplo, alginato de sodio). La formulación de suspensión acuosa de la presente invención puede contener uno, o dos o más, de los modificadores de la viscosidad. Los modificadores de la viscosidad preferidos son metilcelulosa (MC), hidroxipropilmetylcelulosa (HPMC) y/o hidroxietilcelulosa (HEC).

El estabilizador de dispersión usado en la presente descripción es preferentemente un surfactante y/o un espesante, con mayor preferencia aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60, hidroxipropilmetylcelulosa y/o metilcelulosa, y puede ser aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60 y hidroxipropilmetylcelulosa, o aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60 y metilcelulosa.

En la presente descripción, el surfactante, el inhibidor de la agregación y/o el modificador de la viscosidad (en adelante, denominado "agente" en este párrafo) que también puede usarse como estabilizador de dispersión puede adherirse o puede adsorberse en la superficie de nanopartículas de antibiótico macrólido. Estos agentes añadidos antes de la etapa de pulverización pueden adherirse o adsorberse en la superficie de nanopartículas de antibiótico macrólido, de esta manera se evita la agregación de las nanopartículas durante la etapa de pulverización. Adicionalmente, la adherencia y la absorbancia de estos agentes sobre la superficie de nanopartículas de antibiótico macrólido tienen un efecto de prevención de la agregación en la formulación de suspensión acuosa. En esta descripción, la adherencia y la absorbancia del surfactante, el inhibidor de la agregación y/o el modificador de la viscosidad usados como estabilizador de dispersión en la superficie de nanopartículas del antibiótico macrólido significa que al menos una parte de estos agentes se adhiere o se adsorbe en la superficie de las nanopartículas (que contribuye a la modificación de la superficie), pero no significa que no exista la existencia de estos agentes sin adherirse o ser adsorbidos a la superficie en la formulación de suspensión acuosa. En otras palabras, el surfactante, el inhibidor de la agregación y/o el modificador de la viscosidad usados como el estabilizador de dispersión pueden modificar la superficie de las nanopartículas del antibiótico macrólido y, por lo tanto, pueden considerarse como "modificador de la superficie" del antibiótico macrólido.

El antibiótico macrólido contenido en la formulación de suspensión acuosa de la presente invención tiene forma de nanopartícula. El diámetro promedio de partícula (Dv) del antibiótico macrólido es de 300 nm o menos, 200 nm o menos, 150 nm o menos, y con la máxima preferencia 145 nm o menos. Por ejemplo, el intervalo de diámetro promedio de partícula del antibiótico macrólido puede ser de 20 a 300 nm, y de 20 a 200 nm, preferentemente de 50 a 300 nm, de 50 a 200 nm y de 50 a 150 nm. El diámetro del 90 % (D90) del antibiótico macrólido es de 1500 nm o menos, preferentemente 1200 nm o menos, 1000 nm o menos, 800 nm o menos, 700 nm o menos, 600 nm o menos, 500 nm o menos, 400 nm o menos, 300 nm o menos, 200 nm o menos y con la máxima preferencia 197 nm o menos. Por ejemplo, el intervalo de diámetro del 90 % (D90) del antibiótico macrólido puede ser de 50 a 1200 nm, de 50 a 1000 nm, de 50 a 800 nm y de 50 a 700 nm, preferentemente de 80 a 800 nm, de 80 a 700 nm, de 80 a 600 nm, de 80 a 500 nm, y aún más preferentemente de 100 a 600 nm, de 100 a 500 nm, de 100 a 400 nm y de 100 a 300 nm. Dado que el antibiótico macrólido, el ingrediente eficaz, está en forma de nanopartículas en la formulación de suspensión acuosa, la formulación puede esterilizarse mediante un filtro, lo que puede permitir una esterilización fácil sin afectar las propiedades fisicoquímicas del ingrediente activo.

La nanopartícula de un antibiótico macrólido contenida en la formulación de suspensión acuosa de la presente invención son preferentemente nanopartículas producidas mediante la mezcla del antibiótico macrólido, una sal fisiológicamente aceptable y/o un sacárido fisiológicamente aceptable, un poliol fisiológicamente aceptable y/o agua, y un estabilizador de dispersión. La nanopartícula de un antibiótico macrólido de la presente invención es con mayor preferencia la producida mediante la mezcla del antibiótico macrólido, una sal fisiológicamente aceptable y/o un sacárido fisiológicamente aceptable, un poliol fisiológicamente aceptable y/o agua, y un estabilizador de dispersión, y mediante la adición de lecitina durante o después de la pulverización.

60 Efectos Ventajosos de la Invención

La formulación de suspensión acuosa que comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido (y un estabilizador de dispersión) de la presente invención tiene buena claridad, (largo plazo) dispersabilidad, estabilidad de conservación, retención corneal y propiedades de migración del humor acuoso, baja irritabilidad, fácil esterilización, buena estabilidad

temporal y estabilidad de dispersión, y por lo tanto puede usarse como una composición farmacéutica para la administración parenteral.

5 Breve descripción de las figuras

10 [Figura 1]La Figura 1 es un gráfico que muestra los cambios de la concentración de claritromicina en el plasma a lo largo del tiempo. En la figura, la ordenada se refiere a una concentración de claritromicina (ng/ml) en el plasma, y la abscisa se refiere al tiempo transcurrido (h). En la figura, el círculo indica una formulación nanoizada al 0,3 %, el cuadrado indica una formulación nanoizada al 1 % y el triángulo indica una formulación de polvo a granel al 1 %.

15 [Figura 2]La Figura 2 es un gráfico que muestra los cambios de la concentración de claritromicina en el humor acuoso a lo largo del tiempo. En la figura, la ordenada se refiere a una concentración de claritromicina (ng/ml) en el humor acuoso, y la abscisa se refiere al tiempo transcurrido (h). En la figura, el círculo indica una formulación nanoizada al 0,3 %, el cuadrado indica una formulación nanoizada al 1 % y el triángulo indica una formulación de polvo a granel al 1 %.

20 [Figura 3]La Figura 3 es un gráfico que muestra los cambios de la concentración de claritromicina en la conjuntiva a lo largo del tiempo. En la figura, la ordenada se refiere a una concentración de claritromicina (ng/ml) en la conjuntiva, y la abscisa se refiere al tiempo transcurrido (h). En la figura, el círculo indica una formulación nanoizada al 0,3 %, el cuadrado indica una formulación nanoizada al 1 % y el triángulo indica una formulación de polvo a granel al 1 %.

25 [Figura 4]La Figura 4 es un gráfico que muestra los resultados de la prueba de eficacia del fármaco de acuerdo con los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros. La ordenada se refiere a la puntuación, y la abscisa se refiere al número de días transcurridos desde la inoculación de un líquido bacteriano. El círculo negro indica el grupo de control (vehículo), el círculo blanco indica el grupo administrado con AzaSite, el triángulo negro indica el grupo de formulación de claritromicina nanoizada al 0,3 %, el triángulo blanco indica el grupo de formulación de polvo de claritromicina al 1 %. El valor se refiere a los valores promedio, y la barra de error se refiere a la desviación estándar.

30 [Figura 5]La Figura 5 es un gráfico que muestra los resultados de la prueba de eficacia del fármaco de acuerdo con los criterios de evaluación de Draize y otros. La ordenada se refiere a la puntuación, y la abscisa se refiere al número de días transcurridos desde la inoculación de un líquido bacteriano. El círculo negro indica el grupo de control (vehículo), el círculo blanco indica el grupo administrado con AzaSite, el triángulo negro indica el grupo de formulación de claritromicina nanoizada al 0,3 %, el triángulo blanco indica el grupo de formulación de claritromicina nanoizada al 1 %, y el cuadrado negro indica el grupo de formulación de polvo de claritromicina al 1 %. El valor se refiere a los valores promedio, y la barra de error se refiere a la desviación estándar.

35 [Figura 6]La Figura 6 es un gráfico que muestra los resultados de la prueba de eficacia del fármaco de acuerdo con los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros. La ordenada se refiere a la puntuación, y la abscisa se refiere al número de días transcurridos desde la inoculación de un líquido bacteriano. El círculo negro indica el grupo de control (vehículo), el círculo blanco indica el grupo administrado con AzaSite, el triángulo negro indica el grupo de formulación de claritromicina nanoizada al 0,3 %, el triángulo blanco indica el grupo de formulación de polvo de claritromicina al 1 %, y el cuadrado negro indica el grupo de formulación de polvo de claritromicina al 1 %. El valor se refiere a los valores promedio, y la barra de error se refiere a la desviación estándar.

40 [Figura 7]La Figura 7 es un gráfico que muestra los resultados de la prueba de eficacia del fármaco de acuerdo con los criterios de evaluación de Draize y otros. La ordenada se refiere a la puntuación, y la abscisa se refiere al número de días transcurridos desde la inoculación de un líquido bacteriano. El círculo negro indica el grupo de control (vehículo), el círculo blanco indica el grupo administrado con AzaSite, el triángulo negro indica el grupo de formulación de claritromicina nanoizada al 0,3 %, el triángulo blanco indica el grupo de formulación de claritromicina nanoizada al 1 %, y el cuadrado negro indica el grupo de formulación de polvo de claritromicina al 1 %. El valor se refiere a los valores promedio, y la barra de error se refiere a la desviación estándar.

50 Descripción de modalidades

1. Formulación de suspensión acuosa que comprende partículas finas de un antibiótico macrólido

55 La partícula fina de un antibiótico macrólido puede producirse mediante la mezcla de un antibiótico macrólido, una sal fisiológicamente aceptable y/o un sacárido fisiológicamente aceptable, un poliol fisiológicamente aceptable y/o agua, y un estabilizador de dispersión. La partícula fina de un antibiótico macrólido de la presente invención puede producirse preferentemente mediante la adición de lecitina a la misma durante o después de la etapa de pulverización.

60 El poliol usado para producir la partícula fina de un antibiótico macrólido no está particularmente limitado siempre que sea comestible sin causar ningún problema fisiológico. Preferentemente, los polioles fisiológicamente aceptables son aquellos que disuelven mal las sales, aquellos con una alta solubilidad en agua, aquellos con un punto de congelación bajo y/o aquellos con un punto de ignición alto. Para facilitar la eliminación después de la pulverización, el poliol fisiológicamente aceptable tiene preferentemente una alta solubilidad en agua.

El poliol incluye, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, dipropilenglicol y dietilenglicol, y preferentemente es propilenglicol o glicerol. La viscosidad del poliol es preferentemente de 1 a 100 000 (mPa·S), con mayor preferencia de 5 a 10 000 (mPa·S) y aún más preferentemente de 10 a 2000 (mPa·S).

5 La cantidad de poliol usada es preferentemente de 0,2 a 50 partes en masa, con mayor preferencia de 0,4 a 15 partes en masa, y aún más preferentemente de 0,6 a 10 partes en masa, con respecto a 1 parte en masa de un compuesto orgánico a pulverizar. El tipo de poliol usado puede determinarse adecuadamente de acuerdo con la solubilidad de un compuesto orgánico a pulverizar. Puede usarse un tipo de poliol, o alternativamente pueden usarse dos o más tipos de poliol en la mezcla.

10 La sal usada para el método de producción de esta modalidad no está particularmente limitada siempre que sea ingerible sin causar ningún problema fisiológico. Las sales fisiológicamente aceptables tienen preferentemente una solubilidad pobre en polioles, una solubilidad alta en agua y/o una higroscopidad baja, y una dureza adecuada para la pulverización fina de un compuesto orgánico. Con mayor preferencia, la sal tiene dos o más de estas propiedades.

15 El grado de solubilidad de la sal a un poliol es preferentemente de 10 (masa/vol) % o menos. Para facilitar la eliminación de la sal después de la pulverización, la sal tiene preferentemente una alta solubilidad en agua.

20 Preferentemente, la sal incluye cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de amonio, sulfato de sodio, sulfato de magnesio, sulfato de potasio, sulfato de calcio, malato de sodio, citrato de sodio, citrato de disodio, dihidrogenocitrato de sodio, dihidrogenocitrato de potasio, hidrogenofosfato de disodio y hidrogenofosfato de dipotasio. Preferentemente, la sal incluye cloruro de sodio, cloruro de potasio, sulfato de magnesio, sulfato de calcio, citrato de sodio, dihidrogenofosfato de sodio, dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de disodio y hidrogenofosfato de dipotasio, y la sal más preferida es el cloruro de sodio.

25 El diámetro de partícula de una sal puede ajustarse mediante pulverización, o similar, antes de mezclarla con un antibiótico macrólido. Cuando se ajusta de antemano el diámetro de partícula de la sal, la D_v de partícula puede ser, por ejemplo, de 5 a 300 µm, de 10 a 200 µm, pero preferentemente de 0,01 a 300 µm, con mayor preferencia de 0,1 a 100 µm y aún más preferentemente de 0,5 a 50 µm. La cantidad de la sal usada es preferentemente de 0 a 100 partes en masa, con mayor preferencia de 0,2 a 50 partes en masa, y aún más preferentemente de 0,5 a 30 partes en masa, con respecto a 1 parte en masa de un compuesto orgánico. Puede usarse un tipo de sal, o alternativamente pueden usarse dos o más tipos de sal en la mezcla.

30 La partícula fina de un antibiótico macrólido de la presente invención se produce, por ejemplo, al llevar a cabo las siguientes etapas en el orden de "etapa de pulverización", "etapa de mezcla de lecitina", "etapa de filtración y lavado con agua" y "etapa de secado". La "etapa de pulverización" y la "etapa de mezcla de lecitina" pueden integrarse para ser una etapa, en donde la lecitina se añade a las partículas pulverizadas durante la pulverización de las partículas. La suspensión que comprende las partículas finas de un antibiótico macrólido puede producirse preferentemente mediante la adición de un dispersante, si es necesario, a las partículas finas de un antibiótico macrólido obtenidas a través de cualquiera de las etapas anteriores, y mediante la mezcla de las partículas finas con agua. Por ejemplo, la suspensión que comprende las partículas finas de un antibiótico macrólido puede producirse mediante la obtención de partículas finas de un antibiótico macrólido a través de las etapas de "etapa de pulverización" y "etapa de mezcla de lecitina" sin las etapas de "etapa de filtración y lavado con agua" y "etapa de secado", mediante la adición de un dispersante, si es necesario, a las partículas finas de un antibiótico macrólido, y mediante la mezcla con agua. La "etapa de pulverización", la "etapa de mezcla de lecitina", la "etapa de filtración (separación) y lavado con agua" y la "etapa de secado" se detallan a continuación.

Etapa de pulverización

35 En el método de producción de partículas finas de un antibiótico macrólido, no existe ninguna limitación particular a 50 un pulverizador usado para la pulverización húmeda de antibióticos macrólidos siempre que pueda micronizar mecánicamente los antibióticos macrólidos. El pulverizador puede incluir pulverizadores usados comúnmente tales como amasadoras, dos rodillos, tres rodillos, molinos de fricción, molinillos de aspiración, dispersores de amasadora de palas de disco y extrusores biaxiales.

55 La pulverización de un antibiótico macrólido puede lograrse preferentemente mediante la alimentación de un compuesto orgánico, una sal y un estabilizador de dispersión en un pulverizador, y amasarlos con la adición gradual de un poliol a los mismos. La viscosidad en el momento de amasar puede determinarse adecuadamente en dependencia del tipo de antibiótico macrólido a pulverizar, sal y poliol. La temperatura para la pulverización puede determinarse adecuadamente de acuerdo con el antibiótico macrólido a pulverizar, el pulverizador y similares. La 60 temperatura para la pulverización no se limita particularmente siempre que reduzca la fusión o descomposición de un antibiótico macrólido, y preferentemente de -50 a 50 °C, con mayor preferencia de -20 a 30 °C y con la máxima preferencia de -10 a 25 °C. La duración de la pulverización también puede determinarse de acuerdo con el antibiótico macrólido a pulverizar, el pulverizador y similares. La duración de la pulverización puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 a 50 horas, es preferentemente de 1 a 30 horas, con mayor preferencia de 1,5 a 20 horas y con 65 la máxima preferencia de 2 a 10 horas.

La cantidad de estabilizador de dispersión usado es preferentemente de 0,002 a 10 partes en masa, con mayor preferencia de 0,01 a 5 partes en masa, y aún más preferentemente de 0,1 a 1 partes en masa, con respecto a 1 parte en masa del antibiótico macrólido a pulverizar. El tipo de estabilizador de dispersión usado puede determinarse adecuadamente de acuerdo con el tipo de compuesto orgánico a pulverizar. Puede usarse un tipo del estabilizador de dispersión, o alternativamente pueden usarse dos o más de diferentes tipos de estabilizador en la mezcla.

5 Etapa de mezcla de lecitina

10 La lecitina se mezcla con el producto amasado durante o después de la pulverización. El producto amasado no necesita contener un estabilizador de dispersión. La etapa de mezclado de lecitina puede llevarse a cabo mediante la adición de lecitina en un pulverizador después o durante la pulverización, y continuar el amasado en el mismo pulverizador. Alternativamente, la etapa de mezclado de lecitina también puede llevarse a cabo con un aparato diferente para mezclar (un mezclador diferente), al transferir el producto amasado después de la pulverización al mezclador diferente, añadir lecitina a este, y mezclar el producto amasado con lecitina. La cantidad de lecitina usada es preferentemente de 0,01 a 10 partes en masa, con mayor preferencia de 0,05 a 2 partes en masa, y aún más preferentemente de 0,1 a 1,0 partes en masa, con respecto a 1 parte en masa del antibiótico macrólido a pulverizar. La lecitina puede añadirse sola, o añadirse alternativamente en forma de una mezcla con un poliol. En el último caso, una relación de mezcla (relación en peso) de un poliol a lecitina es de 1 a 10 partes en masa, con mayor preferencia de 1,5 a 5 partes en masa, y aún más preferentemente de 2 a 4 partes en masa, con respecto a 1 parte en masa de lecitina.

20 Filtración (separación) y lavado con agua etapa

25 Después de mezclar con lecitina, la sal y el poliol se eliminan, si es necesario, mediante filtración y lavado con agua. Específicamente, el producto amasado después de mezclarlo con lecitina se añade a un solvente, que se mezcla homogéneamente mediante el uso de un homogeneizador o similar, seguido de filtración y lavado con agua, de manera que la sal y el poliol pueden eliminarse. El solvente usado para mezclar homogéneamente el producto amasado no está particularmente limitado, siempre que el poliol y la sal se disuelvan fácilmente, pero el antibiótico macrólido finamente pulverizado apenas se disuelve, y es un solvente fisiológicamente aceptable. El agua es preferible como solvente, pero también pueden usarse otros solventes. El solvente distinto del agua incluye soluciones mixtas de agua y un solvente orgánico tal como ácido acético, metanol o etanol. El método de filtración no está particularmente limitado y puede llevarse a cabo mediante un método bien conocido para filtrar las impurezas contenidas en los antibióticos macrólidos. El método de filtración incluye un método de filtración a presión reducida, un método de filtración a presión y un método de membrana de ultrafiltración. Un método de separación centrífuga puede eliminar la sal y el poliol, así como también la filtración. Específicamente, en el método de separación centrífuga, el producto amasado después de mezclar la lecitina se añade a un solvente y se mezcla homogéneamente mediante el uso de un homogeneizador o similar, y subsecuentemente el compuesto orgánico finamente pulverizado se precipita mediante el uso de un separador centrífugo para eliminar el sobrenadante. La sal y el poliol pueden eliminarse repitiendo este procedimiento. La conductividad eléctrica del sobrenadante puede medirse para determinar el momento de detener el lavado. Más específicamente, por ejemplo, cuando una conductividad eléctrica del sobrenadante es de 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$, se puede estimar que la concentración de cloruro de sodio es de aproximadamente 5 ppm. La conductividad eléctrica a la que se detiene el lavado puede determinarse de acuerdo con las propiedades del material.

45 Las partículas finamente pulverizadas de un antibiótico macrólido generalmente tienen una alta energía superficial y, por lo tanto, se agregan fácilmente. Por lo tanto, un aditivo para inhibir una agregación secundaria puede añadirse después de eliminar la sal. El inhibidor de la agregación secundaria incluye sulfato de alquilo, sales de N-alquiloilmelitaúrina, etanol, glicerol, propilenglicol, citrato de sodio, lecitina de soya purificada, fosfolípidos, D-sorbitol, lactosa, xilitol, goma arábiga, éster de ácido graso de sacarosa, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno, ésteres de ácido graso de polioxietileno, polietilenglicol, éster de ácido graso de polioxietileno sorbitán, alquilbencenosulfonato, sulfosuccinato, polioxietileno polioxipropilenglicol, polivinilpirrolidona (PVP), alcohol polivinílico (PVA), hidroxipropilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), hidroxietilcelulosa (HEC), hidroxipropilmelcelulosa (HPMC), carmelosa de sodio, polímero de carboxivinilo (CVP), N-acil glutamato, copolímero de ácido acrílico, copolímero de ácido metacrílico, caseína de sodio, L-valina, L-leucina, L-isoleucina, cloruro de benzalconio y cloruro de bencetonio. El sulfato de alquilo y la sal de N-alquiloilmelitaúrina son particularmente preferibles, y el dodecilsulfato de sodio y el N-miristoilmelitaúrato de sodio son particularmente preferibles. Puede usarse un tipo de inhibidor de la agregación secundaria, o alternativamente pueden usarse dos o más tipos de inhibidor de la agregación secundaria en la mezcla.

55 Etapa de secado

60 Después de eliminar la sal y el poliol de las partículas finamente pulverizadas del antibiótico macrólido (en esta descripción, el término "eliminar" significa no solo una eliminación completa sino también una reducción en cierta medida), el solvente usado para eliminar la sal, etc. puede eliminarse de las partículas finamente pulverizadas del antibiótico macrólido mediante tratamiento de secado, si es necesario. El método de secado no está particularmente limitado y puede ser un método bien conocido para secar un compuesto orgánico. El método de secado incluye un método de secado a presión reducida, un método de liofilización, un método de secado por pulverización y un método de congelación por pulverización. La temperatura, la duración y similares para el secado no están particularmente

limitadas, pero la temperatura es preferentemente baja para mantener la estabilidad química de una partícula de compuesto orgánico medicinal y evitar una agregación de partículas secundarias, y por lo tanto un método de secado preferible es el método de secado a presión reducida, el método de liofilización, el método de secado por aspersión y el método de secado por congelación-aspersión.

5 Suspensión
 Las partículas finas de un antibiótico macrólido obtenidas después de completar cualquiera de las etapas "etapa de pulverización", "etapa de mezcla de lecitina", "etapa de filtración y lavado con agua" y "etapa de secado" (por ejemplo, 10 las partículas finas de un antibiótico macrólido obtenidas a través de la "etapa de pulverización" y "etapa de mezcla de lecitina") pueden mezclarse con un dispersante, si es necesario, y mezclarse con agua, y suspenderse, si es necesario, mediante tratamiento ultrasónico.

15 El "diámetro promedio de partícula" o "Dv" como se refiere en la presente descripción significa el diámetro medio aritmético en la distribución de diámetros de partícula medido por espectroscopía de correlación de fotones de dispersión dinámica de luz. El diámetro del 50 % (también denominado diámetro mediano, D50) se refiere al diámetro de partícula que divide los polvos objetivo en dos grupos en base a los diámetros de partícula de manera que los polvos con mayor diámetro y los polvos con menor diámetro tengan una cantidad igual. El "diámetro del 90 %" significa el diámetro de la partícula en el 90 % (D90) del número total de partículas determinado al contar las partículas en orden ascendente del 0 % (mínimo) al 100 % (máximo) del número total de partículas mediante el uso de la distribución de diámetros de partícula medida por el método de medición anterior. El "diámetro del 10 %" significa el diámetro de la partícula en el 10 % (D10) del número total de partículas determinado mediante el recuento de las partículas en orden ascendente del 0 % (mínimo) al 100 % (máximo) del número total de partículas mediante el uso de la distribución de diámetros de partícula medida por el método de medición anterior. Particularmente cuando la formulación de suspensión acuosa descrita en la presente descripción tiene viscosidad, el diámetro promedio de partícula (Dv) y el diámetro del 90 % (D90) significan el diámetro promedio de partícula (Dv) y el diámetro del 90 % (D90) después de la corrección de viscosidad, a menos que se indique de cualquier otra manera. El método de medición por espectroscopía de correlación de fotones de dispersión dinámica de luz, el método de cálculo de distribución de diámetros de partícula y el método de corrección de viscosidad se conocen bien en la técnica.

30 2. Composición farmacéutica

35 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido. La composición farmacéutica de la presente invención es una composición farmacéutica para aplicación tópica. La "formulación tópica" como se usa en la presente descripción significa una formulación con el propósito de la administración tópica, o una formulación adecuada para la administración tópica. El tipo de composición farmacéutica usada en la presente descripción incluye formulación tópica ocular (por ejemplo, gotas oftálmicas). Estas formulaciones pueden formularse mediante métodos de rutina. La composición farmacéutica de la presente invención contiene preferentemente un estabilizador de dispersión. La composición farmacéutica de la presente invención se formula para administraciones tópicas oculares, tales como gotas oftálmicas.

40 La composición farmacéutica de la presente invención puede contener un portador farmacológicamente aceptable (un aditivo farmacéutico). El tipo de aditivos farmacéuticos usados para producir la composición farmacéutica, la proporción de los aditivos farmacéuticos con respecto al ingrediente eficaz, o el método para producir la composición farmacéutica pueden seleccionarse adecuadamente por el experto en la técnica en función de la forma de composición. Los aditivos farmacéuticos usados pueden ser sustancias inorgánicas u orgánicas, o sustancias sólidas o líquidas, y se añaden comúnmente en la proporción de 1 % en peso a 90 % en peso con respecto a un peso del ingrediente eficaz. Los ejemplos específicos de tal sustancia incluyen lactosa, glucosa, manitol, dextrina, ciclodextrina, almidón, sacarosa, aluminometasilicato de magnesio, silicato de aluminio sintético, carboximetilcelulosa de sodio, almidón hidroxipropílico, carboximetilcelulosa de calcio, resina de intercambio iónico, metilcelulosa (MC), gelatina, goma arábiga, hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetylcelulosa (HPMC), polivinilpirrolidona (PVP), alcohol polivinílico (PVA), ácido silílico anhídrido ligero, estearato de magnesio, talco, tragacanto, bentonita, veegum, óxido de titanio, éster de ácido graso de sorbitán, lauril sulfato de sodio, glicerol, éster de ácido graso de glicerol, lanolina purificada, glicerogelatina, polisorbato, macrogol, aceites vegetales, ceras, parafina líquida, vaselina blanca, fluorocarbono, surfactantes no iónicos, propilenglicol, agua, cloruro de benzalconio, ácido clorhídrico, cloruro de sodio, hidróxido de sodio, ácido láctico, sodio, monohidrogenofosfato de sodio, dihidrogenofosfato de sodio, ácido cítrico, citrato de sodio, edetato disódico, poloxámero 407 y policarbófilo.

45 60 La formulación de suspensión acuosa o composición farmacéutica de la presente invención puede encerrarse, en forma de un kit, con un empaque exterior, un contenedor, un diluyente, un agente de suspensión y/o un inserto de instrucciones sobre el método de formulación y el método de administración. Cuando la formulación de suspensión acuosa o composición farmacéutica de la presente invención se suministra en forma de un kit, diferentes componentes de la formulación de suspensión acuosa o composición farmacéutica pueden empacarse en contenedores separados y encerrarse en un solo kit. Alternativamente, al menos una de una parte de los componentes de la formulación de suspensión acuosa o composición farmacéutica (que incluye al menos las nanopartículas de un antibiótico macrólido) solo puede incluirse en un kit y otros componentes pueden proporcionarse por separado del kit. Cuando la formulación

de suspensión acuosa o composición farmacéutica de la presente invención se suministra como el kit, los componentes necesarios pueden mezclarse preferentemente inmediatamente antes de su uso para obtener la formulación de suspensión acuosa o composición farmacéutica de la presente invención.

- 5 Por ejemplo, el kit puede ser como sigue:
- (a) un kit que comprende nanopartículas de un antibiótico macrólido para preparar una composición farmacéutica que comprende las nanopartículas del antibiótico macrólido; o
 - 10 un kit que comprende una formulación de suspensión acuosa que comprende nanopartículas de un antibiótico macrólido para preparar una composición farmacéutica que comprende las nanopartículas del antibiótico macrólido,
 - (b) el kit de (a), en donde el diámetro promedio de partícula de las nanopartículas es de 300 nm o menos y el diámetro de partícula D90 es de 1500 nm o menos;
 - 15 (c) el kit de (a) o (b), en donde las nanopartículas se producen mediante la mezcla de un antibiótico macrólido, una sal fisiológicamente aceptable y/o un sacárido fisiológicamente aceptable, un poliol fisiológicamente aceptable y/o agua, y un estabilizador de dispersión;
 - (d) el kit de cualquiera de (a) a (c), en donde el antibiótico macrólido es eritromicina, claritromicina, roxitromicina, azitromicina, josamicina, rokitamicina o kitasamicina;
 - 20 (e) el kit de cualquiera de (a) a (d), que comprende un estabilizador de dispersión;
 - (f) el kit de (e), en donde el estabilizador de dispersión es un surfactante, un inhibidor de la agregación y/o un modificador de la viscosidad;
 - (g) el kit de (f), en donde el surfactante es aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60, polisorbato 80, monoestearato de polietilenglicol, y/o polioxietileno polioxipropilenglicol;
 - 25 (h) el kit de (f), en donde el inhibidor de la agregación es alcohol polivinílico, polietilenglicol y/o polivinilpirrolidona;
 - (i) el kit de (1), en donde el modificador de la viscosidad es metilcelulosa, hidroxipropilmethylcelulosa y/o hidroxietilcelulosa;
 - (j) el kit de cualquiera de (a) a (i), en donde la composición farmacéutica que comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido tiene poca irritabilidad;
 - 30 (k) el kit de cualquiera de (a) a (j), que comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido en forma de la formulación de suspensión acuosa;
 - (l) el kit de cualquiera de (a) a (k) para preparar una formulación para aplicación tópica;
 - (m) el kit de (l) para preparar una formulación tópica ocular;
 - 35 (n) el kit de (m) para preparar un colirio;
 - (o) el kit de cualquiera de (a) a (n) para preparar un fármaco terapéutico o un fármaco preventivo para enfermedades inflamatorias o enfermedades infecciosas del ojo.

En la presente descripción se describe un método para preparar la composición farmacéutica acuosa que comprende nanopartículas de un antibiótico macrólido, que comprende mezclar un diluyente y la formulación de suspensión acuosa que comprende las nanopartículas del antibiótico macrólido. Alternativamente, se describe un método para preparar una formulación de suspensión acuosa o una composición farmacéutica acuosa que comprende las nanopartículas de un antibiótico macrólido, que comprende mezclar un agente de suspensión y las nanopartículas de un antibiótico macrólido.

En la preparación de la composición farmacéutica (por ejemplo, formulación tópica ocular (preferentemente gotas oftálmicas)) de la presente invención, el pH y la presión osmótica de esta no se limitan particularmente siempre que estén dentro del alcance aceptable para las formulaciones tópicas, y preferentemente pH 5 a 9,5, con mayor preferencia pH 6 a 9, aún más preferentemente pH 7 a 9. La relación de presión osmótica de la formulación (se excluyen ungüentos) a solución salina es, por ejemplo, aproximadamente 0,3 a 4,3, preferentemente aproximadamente 0,3 a 2,2, particularmente preferentemente aproximadamente 0,5 a 1,5. El pH y la presión osmótica pueden regularse mediante el uso de un controlador de pH, un agente de tonicidad, una sal o similares mediante el uso de un método bien conocido en la técnica.

En la presente descripción, el agente de suspensión y/o diluyente puede contener agua como el ingrediente principal. Además, la composición farmacéutica, el agente de suspensión y/o el diluyente pueden contener varios aditivos, si es necesario, tales como un espesante, un surfactante, un conservante, un desinfectante o un agente antibacteriano, un controlador de pH, un agente de tonicidad y un tampón.

El conservante y el agente desinfectante o antibacteriano incluyen tales como ácido sórbico o sales de este (ácido sórbico, sorbato de potasio, sorbato de sodio, sorbato de triclocarbono, y similares), paraoxibenzoatos (parahidroxibenzoato de metilo, parahidroxibenzoato de etilo, parahidroxibenzoato de propilo, parahidroxibenzoato de butilo, y similares), acrinol, cloruro de metilrosanilinio, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cloruro de cetilpiridinio, bromuro de cetilpiridinio, clorhexidina o sales de esta, polihexametilenbiguanida, alquilpoliaminoetilglicina, alcohol benzílico, alcohol fenetílico, clorobutanol, isopropanol, etanol, fenoxietanol, plata soportada en fosfato de zirconio, mercurrocromo, yodopovidona, timerosal, ácido deshidroacético, cloroxilenol, clorofeno, resorcinol, ortofenilfenol, isopropilmetylfenol, timol, hinokitiol, sulfamina, lisozima, lactoferrina, triclosán, 8-hidroxiquinolina, ácido undecilénico, ácido caprílico, ácido propiónico, ácido benzoico, halocarbono, tiabendazol,

- polimixina B, 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona, 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, polilisina, peróxido de hidrógeno, cloruro de polidronio, Glokill (nombre comercial: por ejemplo, Glokill PQ, producido por Rhodia), cloruro de polidiarildimetilamonio, polidcloruro de oxietileno(dimetilimino)etileno-(dimetilimino)etileno], policondensados de polietilenpoliamina-dimetilamina epiclorhidrina (nombre comercial: por ejemplo, Busan 1157, producido por Buckman Laboratories International, Inc.), compuestos de biguanida (Cosmosil CQ (nombre comercial, aproximadamente 20 % en peso de contenido de clorhidrato de polihexametilenbiguanida, producido por Arch Personal Care Products L.P.), y similares, y sales farmacológicamente aceptables de estos.
- El controlador de pH incluye ácidos inorgánicos (ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido polifosfórico, ácido bórico y similares), ácidos orgánicos (ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido málico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido glucónico, ácido fumárico, ácido propiónico, ácido acético, ácido aspártico, ácido épsilon-aminocaproico, ácido glutámico y ácido aminoethylsulfónico, y similares), gluconolactona, acetato de amonio, bases inorgánicas (hidrogenocarbonato de sodio, carbonato de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de calcio e hidróxido de magnesio, y similares), bases orgánicas (monoetanolamina, trietanolamina, diisopropanolamina, triisopropanolamina y lisina, y similares), bórax y sales farmacológicamente aceptables de estos.
- El agente de tonicidad incluye sales inorgánicas (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, carbonato de sodio, hidrogenocarbonato de sodio, cloruro de calcio, sulfato de magnesio, hidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de dipotasio, tiosulfato de sodio y acetato de sodio), alcoholes polihídricos (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, etilenglicol y 1,3-butilenglicol), sacáridos (por ejemplo, glucosa, manitol y sorbitol).
- El tampón incluye tampón tris, tampón borato, tampón fosfato, tampón carbonato, tampón citrato, tampón acetato, ácido épsilon-aminocaproico y aspartato. Específicamente, el tampón puede ser ácido bórico o sales de este (borato de sodio, tetraborato de potasio, metaborato de potasio y similares), ácido fosfórico o sales de este (hidrogenofosfato de sodio, dihidrogenofosfato de sodio, dihidrogenofosfato de potasio y similares), ácido carbónico o sales de este (hidrógeno carbonato de sodio, carbonato de sodio y similares), ácido cítrico o sales de este (citrato de sodio, citrato de potasio y similares).
- La composición farmacéutica de la presente invención puede prepararse mediante un método bien conocido. Por ejemplo, una formulación de suspensión acuosa que comprende nanopartículas de un agente antibacteriano macrólido se mezcla con cualquier otro componente en un diluyente adecuado tal como agua destilada o agua purificada, y después se controla la presión osmótica y el pH como se describió anteriormente, que subsecuentemente se esteriliza por vapor a alta presión o filtración en un ambiente estéril, seguido de llenar asépticamente en un contenedor lavado y esterilizado.
- La composición farmacéutica de la presente invención puede ser un fármaco terapéutico o un fármaco preventivo para enfermedades inflamatorias o enfermedades infecciosas. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención puede ser un fármaco terapéutico o preventivo para enfermedades inflamatorias o enfermedades infecciosas causadas por infecciones. Por lo tanto, la presente invención abarca una formulación de suspensión acuosa para su uso como un medicamento (un fármaco terapéutico o un fármaco preventivo para enfermedades inflamatorias o enfermedades infecciosas), que comprende nanopartículas de un antibiótico macrólido y un estabilizador de dispersión.
- Las enfermedades inflamatorias o enfermedades infecciosas en la presente descripción abarcan enfermedades inflamatorias sistémicas y enfermedades infecciosas, así como también enfermedades inflamatorias e infecciosas tópicas. Las enfermedades inflamatorias incluyen, además de las enfermedades inflamatorias causadas por infecciones, enfermedades inflamatorias alérgicas (por ejemplo, conjuntivitis alérgica).
- Específicamente, la composición farmacéutica de la presente invención puede usarse para tratar o prevenir enfermedades inflamatorias y enfermedades infecciosas del ojo y diversas afecciones asociadas con estas. Las enfermedades inflamatorias y las enfermedades infecciosas del ojo pueden incluir síntomas de párpados que incluyen blefaritis, blefaroconjuntivitis, meibomitis, orzuelo agudo o crónico, chalazón, dacriocistitis, dacrioadenitis y acné rosáceo; síntomas de conjuntiva que incluyen conjuntivitis, oftalmia neonatorum y tracoma; síntomas de la córnea que incluyen úlcera corneal, queratitis superficial y queratitis parenquimatosa, queratoconjuntivitis, cuerpos extraños e infecciones posquirúrgicas; y síntomas de la cámara anterior y el úvea que incluyen endoftalmitis, uveítis infecciosa e infecciones posquirúrgicas. Las prevenciones de infecciones incluyen la administración de la composición farmacéutica antes del tratamiento quirúrgico, tal como una operación o antes de contactar a una persona que presenta síntomas infecciosos. Para el uso preventivo, la composición farmacéutica puede administrarse antes del tratamiento quirúrgico, tal como blefaroplastia, extirpación de chalazón, blefarorrafia, cirugías para conductos lagrimales y sistema de drenaje lagrimal, y otros tratamientos quirúrgicos relacionados con los párpados y el aparato lagrimal; cirugías conjuntivales que incluyen la extirpación de pterigión, pingueculitis y tumores, heridas traumáticas tales como el injerto conjuntival, cortes, quemaduras y rasguños, y cirugía de colgajo conjuntival; cirugías corneales que incluyen la extirpación de objetos extraños, queratotomía y trasplante de córnea; cirugías refractivas que incluyen el procedimiento fotorefractivo; cirugías de glaucoma que incluyen la filtración de ampollas; paracentesis de la cámara anterior; iridotomía; cirugía de cataratas; cirugía de retina; y cirugías relacionadas con los músculos extraoculares. La prevención de la oftalmia del recién nacido también se incluye en la prevención de esta descripción.

Con mayor preferencia, la composición farmacéutica de la presente invención puede usarse para el tratamiento o la prevención de enfermedades infecciosas (por ejemplo, enfermedades infecciosas del ojo) causadas por una amplia variedad de bacterias o parásitos. Tal microorganismo incluye el género *Staphylococcus* que incluye *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; el género *Streptococcus* que incluye *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*, Grupos C, F y G de Estreptococos, y Grupo *Streptococcus viridans*; *Haemophilus influenzae* que incluye el biotipo III; *Haemophilus ducreyi*; *Moraxella catarrhalis*; el género *Neisseria* que incluye *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis*; el género *Clamidia* que incluye *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, y *Chlamydia pneumoniae*; el género *Mycobacterium* que incluye micobacterias atípicas que incluyen *Mycobacterium tuberculosis* y complejo intracelular de *Mycobacterium* tubercule bacillus, y *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium fortuitum*, y *Mycobacterium chelonae*; *Bordetella pertussis*; *Campylobacter jejuni*; *Legionella pneumophila*; *Bacteroides bivius*; Bacilo de Welch; especies de *Peptostreptococcus*; *Borrelia burgdorferi*; *Mycoplasma pneumoniae*; *Treponema pallidum*; *Ureaplasma urealyticum*; *Toxoplasma*; *malaria*; y *nosema*.

3. Método de tratamiento/preventivo

La composición farmacéutica de la presente invención puede usarse para el tratamiento o la prevención de una enfermedad inflamatoria o una enfermedad infecciosa mediante la administración en una dosis eficaz a un sujeto que lo necesite. Un sujeto puede ser cualquier animal clasificado en los mamíferos tales como humano; animales de compañía tales como perro, gato y conejo; animales domésticos tales como vaca, cerdo, oveja y caballo, y preferentemente es humano.

Una cantidad de dosis y el número de dosis de administración de la composición farmacéutica de la presente invención no se limitan particularmente y pueden seleccionarse adecuadamente a discreción del médico en dependencia del propósito de prevención y/o tratamiento del deterioro/progreso de la enfermedad a tratar, el tipo de enfermedad, las condiciones de un paciente tales como el peso corporal y la edad. La cantidad de dosis es generalmente de aproximadamente 0,01 a 1,000 mg (como peso de ingrediente eficaz) por día para un adulto, y el número de dosis puede ser una o varias veces al día. La vía de administración es la administración tópica, que incluye las gotas oftálmicas.

Cuando la composición farmacéutica acuosa de la presente invención es para la administración tópica, se administra directamente a un área afectada, un área alrededor de un área afectada, un órgano con un área afectada, o similares. La composición farmacéutica de la presente invención se formula en una formulación tópica ocular. La composición farmacéutica de la presente invención en formulación tópica puede aplicarse todos los días, o en cualquier número de dosis después del desarrollo de una enfermedad inflamatoria local o enfermedad infecciosa. La cantidad de dosificación puede ajustarse adecuadamente en dependencia de las condiciones, etc. Usualmente, se administra a un ojo de una a 6 veces por día con aproximadamente 1 a 3 gotas a la vez.

En lo sucesivo, la presente invención se describe con más detalle con referencia a ejemplos, pero estos ejemplos no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

(Ejemplo 1) Producción de masa de claritromicina pulverizada

A un TRI-MIX de 0,5 l (INOUE MFG., INC.), se alimentaron y mezclaron homogéneamente 10 g de claritromicina que tenía un diámetro promedio de partícula de 10,370 nm (punto de fusión: 217 a 220 °C; Assia Chemical Industries Ltd.), 10 g de cloruro de sodio pulverizado (diámetro promedio de partícula: 5 µm), 60 g de manitol (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 3 g de polivinilpirrolidona K25 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), y 5 g de lecitina de soya hidrogenada PHOSPHOLIPON 90H (H. Holstein Co., Ltd.), y después se añadió 20 g de glicerol, que se pulverizó a 5 °C durante 5 horas manteniendo el contenido en estado de masa. La masa amasada obtenida tenía una cantidad recuperada de 93 g (rendimiento 86 %).

A 100 mg de la masa amasada obtenida, se añadieron 3 g de HCO-60 al 0,1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.) y se dispersaron durante varios minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation). Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula (DelsaNano, Beckman Coulter, Inc.), el diámetro promedio de partícula (D_v) fue de 144,7 nm, el diámetro del 10 % (D₁₀) fue de 81,4 nm, el diámetro del 50 % (D₅₀) fue de 124,6 nm y el diámetro del 90 % (D₉₀) fue de 197,0 nm.

(Ejemplo 2) Efecto del dispersante (surfactante)

(1) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (HCO-60)

Después de pulverizar por el TRI-MIX como se describe en el Ejemplo 1, se pesaron 0,5 g del producto amasado de claritromicina (masa amasada) en un vial de vidrio de 50 ml, al que se añadió 44 g de una solución acuosa de HCO-60 al 0,1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.), y después se dispersó durante 1 a 2 minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), seguido de una mayor dispersión durante 1 minuto mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo sonda (S-4000, MISONIX). Como resultado de la medición

de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina en la dispersión acuosa mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula (DelsaNano, Beckman Coulter, Inc., lo mismo se aplica a continuación), el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 146,0 nm, el diámetro del 10 % (D10) fue de 72,5 nm, el diámetro del 50 % (D50) fue de 119,2 nm y el diámetro del 90 % (D90) fue de 220,3 nm.

5 (2) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (Tween 80)

10 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 2 (1), excepto que el "HCO-60 al 0,1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.)" usado en el Ejemplo 2 (1) anterior se reemplazó con "Tween 80 al 0,1 % (Kanto Chemical Co., Inc.)".

15 Las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 198,5 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 84,3 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 154,9 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 291,3 nm.

20 (3) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (MYS-40)

25 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 2 (1), excepto que el "HCO-60 al 0,1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.)" usado en el Ejemplo 2 (1) anterior se reemplazó con "MYS-40 al 0,1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.)". Las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 142,2 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 72,4 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 118,8 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 208,1 nm.

30 (Ejemplo 3) Prueba de estabilidad de la dispersión acuosa de claritromicina nanoizada

35 Se vertieron aproximadamente 4 ml de cada una de las dispersiones acuosas de la claritromicina nanoizada producidas en el Ejemplo 2 en un vial de tornillo de 9 ml, y después de cerrar firmemente la tapa, los viales se almacenaron a temperatura ambiente durante un día, que se evaluó para la estabilidad mediante observación visual, etc. Los resultados se muestran en la Tabla 1. Los resultados obtenidos sugieren que HCO-60 sobresale como un dispersante.

[Tabla 1]

	(1) HCO-60	(2) Tween80	(3) MYS-40
Ejemplo 2 Dispersante	Poca	Mucho	Mucho
Cantidad de depósitos			
Transparencia	Alto	Turbio	Turbio
Observación microscópica	Sin agregados ni cristal	Agregados observados	Cristales observados
Evaluación general	○	X	X

40 (Ejemplo 4) Efecto de los espesantes

45 (1) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (HPMC 60SH-50)

50 Después de pulverizar por el TRI-MIX en el Ejemplo 1, se pesó 1 g del producto amasado de claritromicina (masa amasada) en un vial de vidrio de 50 ml, al que se añadió 44 g de una solución acuosa de HCO-60 al 0,1 %, y después se dispersó durante 1 a 2 minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), seguido de una mayor dispersión bajo presión aplicada (90 MPa) mediante el uso de un homogeneizador de alta presión (L01, Sanwa Engineering Co, Ltd.). Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina en la dispersión acuosa mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 154,9 nm, el diámetro del 10 % (D10) fue de 77,1 nm, el diámetro del 50 % (D50) fue de 113,2 nm y el diámetro del 90 % (D90) fue de 224,9 nm.

55 A la dispersión acuosa obtenida, se añadió 22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 0,9 %, que se agitó mediante el uso de un agitador magnético, y después se ajustó a 89 g con agua purificada y se mezcló mediante agitación para producir la formulación final. Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina en la formulación mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 327,8 nm, el diámetro del 10 % (D10) fue de 189,5 nm, el diámetro del 50 % (D50) fue de 284,4 nm y el diámetro del 90 % (D90) fue de 423,0 nm. Además, como resultado del recálculo de las distribuciones de diámetros de partículas mediante la corrección de viscosidad, el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 170,1 nm, el diámetro del 10 % (D10) fue de 98,6 nm, el diámetro del 50 % (D50) fue de 148,6 nm y el diámetro del 90 % (D90) fue de 223,3 nm.

60 (2) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (HPMC 60SH-4000)

65 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 4 (1), excepto que se añadió "22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 0,9 %, que se agitó mediante el uso de un agitador magnético" como en el Ejemplo 4 (1) se reemplazó con "22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-4000 al 0,9 % (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.), que se

dispersó durante 1 minuto mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo sonda (S-4000, MISONIX)" para producir la formulación final. Las distribuciones de diámetros de partícula antes de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 1017,7 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 441,8 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 818,3 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 1629,6 nm. Las distribuciones de diámetros de partícula después de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 219,4 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 98,5 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 183,6 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 370,2 nm.

(3) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (HPMC 65SH-4000)

10 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 4 (2), excepto que se reemplazó "22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-4000 al 0,9 %" como en el Ejemplo 4 (2) con "23 g de una solución acuosa de HPMC 65SH-4000 al 1 % (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.)" para producir la formulación final. Las distribuciones de diámetros de partícula antes de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 990,1 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 424,8 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 840,2 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 1565,5 nm. Las distribuciones de diámetros de partícula después de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 219,4 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 93,5 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 183,4 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 342,0 nm.

(4) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (HPMC 90SH-4000SR)

20 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 4 (2), excepto que se reemplazó "22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-4000 al 0,9 %" como en el Ejemplo 4 (2) con "8 g de una solución acuosa de HPMC 90SH-4000SR al 1 % (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.)" para producir la formulación final. Las distribuciones de diámetros de partícula antes de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 425,0 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 146,9 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 332,6 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 715,6 nm. Las distribuciones de diámetros de partícula después de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 219,4 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 71,1 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 157,7 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 334,4 nm.

30 (5) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (MC SM-15)

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 4 (1), excepto que "se añadieron 22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 0,9 %" como en el Ejemplo 4 (1) se reemplazó con "se añadieron 33 g de una solución acuosa de MC SM-15 al 1 % (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.)" para producir la formulación final. Las distribuciones de diámetros de partícula antes de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 325,5 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 158,1 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 271,3 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 474,8 nm. Las distribuciones de diámetros de partícula después de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 167,8 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 81,4 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 141,1 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 246,9 nm.

40 (6) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (MC SM-100)

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 4 (1), excepto que "se añadieron 22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 0,9 %" como en el Ejemplo 4 (1) se reemplazó con "se añadieron 33 g de una solución acuosa de MC SM-100 al 1 % (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.)" para producir la formulación final. Las distribuciones de diámetros de partícula antes de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 608,4 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 258,8 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 499,1 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 979,6 nm. Las distribuciones de diámetros de partícula después de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 199,8 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 81,6 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 160,5 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 321,3 nm.

(7) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (PVA-204C)

55 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 4 (1), excepto que "se añadieron 22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 0,9 %" como en el Ejemplo 4 (1) se reemplazó con "se añadieron 33 g de una solución acuosa de PVA-204C al 2 % (Kuraray Co., Ltd.)" para producir la formulación final. Las distribuciones de diámetros de partícula antes de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 197,1 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 109,3 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 169,1 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 268,6 nm. Las distribuciones de diámetros de partícula después de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 142,4 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 80,1 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 123,3 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 196,1 nm.

(8) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (PEG-4000)

65 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 4 (1), excepto que "se añadieron 22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 0,9 %" como en el Ejemplo 4 (1) se reemplazó con "se añadieron 33 g de una solución

5 acuosa de PEG-4000 al 2 % (Kanto Chemical Co., Ltd.)" para producir la formulación final. Las distribuciones de diámetros de partícula antes de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 160,6 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 82,1 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 133,1 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 235,6 nm. Las distribuciones de diámetros de partícula después de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 149,4 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 68,0 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 110,3 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 201,1 nm.

(9) Producción de una formulación de claritromicina al 0,1 % (PVP K30)

10 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 4 (1), excepto que se añadió "22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 0,9 %" como en el Ejemplo 4 (1) anterior se reemplazó con "33 g de una solución acuosa de PVP K30 al 4 %" (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)" para producir la formulación final. Las distribuciones de diámetros de partícula antes de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 212,7 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 108,2 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 176,4 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 309,4 nm. Las distribuciones de diámetros de partícula después de la corrección de la viscosidad fueron el diámetro promedio de partícula (Dv) de 157,0 nm, el diámetro del 10 % (D10) de 78,9 nm, el diámetro del 50 % (D50) de 130,4 nm y el diámetro del 90 % (D90) de 231,4 nm.

15

(Ejemplo 5) Prueba de estabilidad de las formulaciones

20 (1) Influencia de los espesantes en la estabilidad 1

25 Se vertieron aproximadamente 4 ml de cada una de las dispersiones acuosas de la claritromicina nanoizada producidas en el Ejemplo 4 en un vial de tornillo de 9 ml, y después de cerrar firmemente la tapa, los viales se almacenaron a 40 °C durante 7 días, que se evaluaron para la estabilidad mediante observación visual, etc. Los resultados se muestran en la Tabla 2. Los resultados obtenidos sugieren que HPMC (60SH-50) y MC (SM15) sobresalen como espesantes.

30 [Tabla 2]

Ejemplo 4	(1)	(5)	(7)	(8)	(9)
Espesante	HPMC (60SH - 50)	MC (SM -15)	PVA	PEG-4 000	PVP-K30
Cantidad de depósitos	Ninguno	Ninguno	Mucho	Mucho	Mucho
Transparencia Observación microscópica	Alto Sin agregados ni cristal	Alto Sin agregados ni cristal	Turbio Cristal capilar observado	Turbio Cristal capilar observado	Bajo Cristal capilar observado
Evaluación general	○	○	X	X	X

40 (2) Influencia de los espesantes en la estabilidad 2

45 El Ejemplo 5 (1) reveló la excelencia de HPMC y MC como espesantes. Se realizó una prueba adicional para examinar la influencia en la estabilidad por el tipo de HPMC y MC. Se vertieron aproximadamente 4 ml de cada una de las dispersiones de la claritromicina nanoizada producidas en el Ejemplo 4 en un vial de tornillo de 9 ml, y después de cerrar firmemente la tapa, los viales se almacenaron a 25 °C durante 14 días, que se evaluaron para la estabilidad mediante observación visual, etc. Los resultados se muestran en la Tabla 3. Los resultados sugieren que todas las series de HPMC y MC usadas en el Ejemplo 4 (2), (3), (4) y (6) son adecuadas como espesantes.

50 [Tabla 3]

Ejemplo 4	(2)	(3)	(4)	(6)
Espesante	HPMC (6 0 SH-40 00)	HPMC (6 0 SH-40 00)	HPMC (6 5 SH-40 00)	MC (SM-100)
Cantidad de depósitos	Claridad	Ninguno Alto	Ninguno Alto	Ninguno Alto
Observación microscópica	Sin agregados ni cristal			
Evaluación general	○	○	○	○

60 (Ejemplo 6) Prueba antibacteriana in vitro (prueba de concentración inhibitoria mínima)

65 (1) Producción de formulación: producción de una formulación de claritromicina al 0,3 %

Después de pulverizar por el TRI-MIX en el Ejemplo 1, se pesaron 3 g del producto de claritromicina amasado (masa amasada) en un vial de vidrio de 50 ml, al que se añadió 10 g de una solución acuosa de HCO-60 al 1 %, y después se dispersó durante 1 a 2 minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE

5 Corporation), seguido de una mayor dispersión durante 1 minuto mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo sonda (S-4000, MISONIX). Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina en la dispersión mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (D_v) fue de 246,0 nm, el diámetro del 10 % (D₁₀) fue de 103,7 nm, el diámetro del 50 % (D₅₀) fue de 196,4 nm y el diámetro del 90 % (D₉₀) fue de 393,8 nm.

10 A la dispersión acuosa obtenida, se añadió 22 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 0,9 %, que se agitó mediante el uso de un agitador magnético, y después se ajustó a 89 g con agua purificada y se mezcló mediante agitación para producir la formulación final. Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina en la formulación mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (D_v) fue de 328,9 nm, el diámetro del 10 % (D₁₀) fue de 167,3 nm, el diámetro del 50 % (D₅₀) fue de 270,4 nm y el diámetro del 90 % (D₉₀) fue de 481,2 nm. Además, como resultado del recálculo de las distribuciones de diámetros de partículas mediante la corrección de viscosidad, el diámetro promedio de partícula (D_v) fue de 162,4 nm, el diámetro del 10 % (D₁₀) fue de 82,0 nm, el diámetro del 50 % (D₅₀) fue de 133,6 nm y el diámetro del 90 % (D₉₀) fue de 239,9 nm.

15 (2) Prueba de concentración inhibitoria mínima (MIC)

20 Se realizó una prueba de MIC mediante la aplicación del método de medición de la concentración inhibitoria mínima (MIC) mediante el método de microdilución en caldo (el método estándar de la Sociedad Japonesa de Quimioterapia). La suspensión de claritromicina preparada en el Ejemplo 6(1) (sustancia de prueba 1) se usó como sustancia de prueba. Se usaron una suspensión de claritromicina no pulverizada (sustancia de prueba 2) y una solución de claritromicina en DMSO (sustancia de prueba 3) como controles para las comparaciones.

25 (2-1) Preparación de medio que contiene sustancias de prueba

30 Cada una de las sustancias de prueba se agitó durante 15 segundos o más mediante el uso de un mezclador de vórtice antes de la dilución. Las muestras que contenían claritromicina (sustancias de prueba 1 a 3) se diluyeron con caldo Mueller Hinton II a una concentración de 250 µg/ml, y después se diluyeron dos veces en serie para preparar medios que contenían cada muestra a una concentración final del fármaco de 0,012 a 25 µg/ml, que se usaron para la inoculación de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. De manera similar, las muestras se diluyeron con caldo Mueller Hinton II a una concentración de 1000 µg/ml, y después se diluyeron dos veces en serie para preparar medios que contenían cada muestra a una concentración final de fármaco de 0,049 a 100 µg/ml, que se usaron para inocular *Pseudomonas aeruginosa*.

35 Se dispensó $0,1 \pm 0,02$ ml por pocillo de cada medio que contenía la sustancia de prueba preparada a una microplaca de pocillo en forma de U. El medio libre de fármacos se dispensó en dos pocillos como control.

40 (2-2) Preparación de bacterias líquidas

45 *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* o *Pseudomonas aeruginosa* se cultivó durante la noche en medio de agar Mueller Hinton II. La bacteria recién cultivada en la placa de agar se suspendió en equivalente a 0,5 McFarland (aproximadamente 108 UFC/ml) con solución salina esterilizada y se diluyó adicionalmente diez veces (aproximadamente 107 UFC/ml) con solución salina esterilizada para preparar un líquido bacteriano.

50 (2-3) Inoculación y cultivo del líquido de bacterias

55 A cada uno de los pocillos a los que se dispensó el medio que contenía la sustancia de prueba o el medio libre de la sustancia de prueba, se dispensaron 0,005 ml del líquido bacteriano de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* o *Pseudomonas aeruginosa* preparado en el anterior (2-2) se inoculó (cantidad final de líquido de bacterias: aproximadamente 104 UFC/pocillo). El líquido de bacterias no se inoculó a una parte de los pocillos con el medio libre de la sustancia de prueba para preparar pocillos de control negativo. Después de la inoculación, los medios se cultivaron a 35 ± 1 °C durante 18 a 24 horas.

60 (2-4) Determinación

65 Después de confirmar el crecimiento en los pocillos de control que contenían medios libres de la sustancia de prueba, la concentración inhibitoria mínima (MIC) se determinó como la concentración mínima del fármaco en la que no se detectó el crecimiento del microorganismo a simple vista. Específicamente, cuando se observó turbidez o una precipitación con un diámetro de 1 mm o más a simple vista, o cuando se observaron dos o más flóculos incluso cuando un precipitado tenía un diámetro de 1 mm o menos, el crecimiento se determinó positivo (+). Cuando no se observó turbidez o una precipitación a simple vista, o cuando solo se observó una precipitación con un diámetro de 1 mm o menos, el crecimiento se determinó negativo (-).

65 (3) Resultados

Los resultados se muestran en la Tabla 4. Los resultados obtenidos sugieren que la claritromicina nanoizada tiene la actividad antibacteriana equivalente a la claritromicina no pulverizada y la claritromicina disuelta.

[Tabla 4]

5	Sustancia probada	Concentración inhibitoria mínima (µg/ml)	
		Staphylococcus aureus subsp. aureus	Pseudomonas aeruginosa
10	Suspensión de claritromicina preparada en el Ejemplo 6 (1)	0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100
15	Suspensión de claritromicina no pulverizada	0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100
20	Solución de claritromicina en DMSO	0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100
		0,391	>100

(Ejemplo 7) Prueba de irritación ocular

25 (1) Preparación de una formulación de suspensión de claritromicina nanoizada

(1-1) Pulverización de claritromicina

30 A un TRI-MIX de 1 l (INOUE MFG., INC.), se alimentaron y mezclaron homogéneamente 30,1 g de claritromicina que tenía un diámetro promedio de partícula de 10,370 nm (punto de fusión: 217 a 220 °C; Assia Chemical Industries Ltd.), 90,1 g de manitol (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 8,9 g de polivinilpirrolidona K25 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) y 12,0 g de lecitina de soya hidrogenada PHOSPHOLIPON 90H (H. Holstein Co., Ltd.), y después se añadió 21,5 g de glicerol, que se pulverizó a 5 °C durante 5 horas manteniendo el contenido en estado de masa. La masa amasada obtenida tenía una cantidad recuperada de 136,6 g (rendimiento 84 %).

35 (1-2) Medición de la distribución de diámetros de partícula de claritromicina nanoizada

40 A 100 mg de la masa amasada obtenida, se añadieron 3 g de HCO-60 al 0,1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.) y se dispersaron durante varios minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation). Como resultado de medir las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (D_v) fue de 159,7 nm.

45 (1-3) Preparación de una formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 0,3 %)

50 Después de pulverizar por el TRI-MIX A, se pesaron 1,25 g del producto amasado de claritromicina (masa amasada) en un vial de vidrio de 50 ml, al que se añadió 10 g de una solución acuosa de HCO-60 al 1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.), y después se dispersó durante 1 a 2 minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), seguido de una mayor dispersión durante 1 minuto mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo sonda (S-4000, MISONIX). Subsecuentemente, se añadieron 10 g de una solución acuosa de HCO-60 al 1 % de 17,5 g de una solución acuosa de HPMC al 1 % (60SH-50), 7,5 g de una solución tampón de Tris 1 M y 0,75 g de una solución acuosa de cloruro de benzalconio al 0,1 % y la cantidad total se ajustó a 75 g con agua purificada. La mezcla se agitó durante 30 minutos mediante el uso de un agitador magnético para obtener una formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 0,3 %).

55 (1-4) Preparación de una formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 1,0 %)

60 Después de pulverizar en el TRI-MIX A, se pesaron 4,05 g del producto amasado de claritromicina (masa amasada) en un vaso de precipitados, al que se añadió 33,5 g de una solución acuosa de HCO-60 al 1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.), y después se dispersó durante 1 a 2 minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), seguido de la dispersión durante 1 minuto mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo sonda (S-4000, MISONIX). Subsecuentemente, se añadieron 17,5 g de una solución acuosa de HPMC al 1 % (60SH-50), 7,5 g de una solución tampón de Tris 1 M y 0,75 g de una solución acuosa de cloruro de benzalconio al 0,1 %, y la cantidad total se ajustó a 75 g con agua purificada. La mezcla se agitó durante 30 minutos

mediante el uso de un agitador magnético para obtener una formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 1,0 %).

(1-5) Preparación de una formulación de suspensión de polvo de claritromicina a granel (concentración de claritromicina 1,0 %)

5 En un vaso de precipitados, se pesaron 0,75 g de claritromicina, a la que se añadió 33,5 g de una solución acuosa de HCO-60 al 1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.), y después se dispersó durante 1 a 2 minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), seguido de una mayor dispersión durante 1 minuto mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo sonda (S-4000, MISONIX). Subsecuentemente, se añadieron 17,5 g de una solución acuosa de HPMC al 1 % (60SH-50), 7,5 g de una solución tampón de Tris 1 M y 0,75 g de una solución acuosa de cloruro de benzalconio al 0,1 %, y la cantidad total se ajustó a 75 g con agua purificada. La mezcla se agitó durante 30 minutos mediante el uso de un agitador magnético para obtener una formulación de suspensión de polvo de claritromicina a granel (concentración de claritromicina 1,0 %).

10 15 (2) Prueba de evaluación

(2-1) La irritación ocular se evalúa mediante la administración (a) de solución salina; (b) la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 0,3 %), (c) la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 1,0 %), o (d) la formulación de suspensión de polvo de claritromicina a granel (concentración de claritromicina 1,0 %) producida en el anterior (1); o (e) AzaSite (marca registrada) (control positivo) (concentración de azitromicina 0,3 %) a un ojo de un conejo a intervalos de 30 minutos a varias horas, una vez a 20 veces al día, y subsecuentemente aplicar fluoresceína al ojo para observar la tinción corneal.

20 25 (2-2) A un ojo de un conejo, se administraron 50 µl de cada una de (b) la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 0,3 %) y (c) la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 1,0 %) producida en el anterior (1) y la irritación ocular se evaluó visualmente durante un período de 6 horas. Como resultado, ambas formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada (b) y (c) no causaron un aumento en el número de ojos parpadeantes, ojos inyectados y una secreción, y no se reconoció la irritación ocular.

30 35 (2-3) Se administra solución salina a un ojo de conejos como control, y las formulaciones anteriores (b) a (e) se administran al otro ojo a intervalos de 30 minutos a varias horas, de una a 20 veces al día, para evaluar el número de parpadeos y la irritación ocular. Para la evaluación de la irritación ocular, la córnea, el iris y la conjuntiva de ambos ojos se observan antes de la administración y 1, 3, 5 y 24 horas después de la administración final, y los resultados se puntúan de acuerdo con los criterios de evaluación de Draize.

La irritación ocular de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada se considera equivalente o menor que la irritación ocular de AzaSite, el control positivo.

40 45 (Ejemplo 8) Prueba de eficacia del fármaco en modelo animal infeccioso

(1) Se prepara un modelo de infección corneal mediante la realización de un corte en las córneas de un conejo blanco y subsecuentemente la inoculación *Pseudomonas aeruginosa* al ojo. Después de varias horas de la inoculación bacteriana, se aplica solución salina a un ojo del conejo y cada una de las formulaciones (b) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al otro ojo, de una a 10 veces al día durante 3 a 5 días en ambas aplicaciones. Después de varias horas de la inoculación bacteriana, los síntomas de infección de los ojos externos se observan cada 24 horas durante 4 a 8 días. Los síntomas de infección del ojo externo se puntúan de acuerdo con los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros o los criterios de evaluación de Draize.

50 55 (2) Se prepara un modelo de infección corneal mediante la inoculación *Pseudomonas aeruginosa* en el saco conjuntival de un conejo blanco. Después de confirmar el desarrollo de la queratitis (de 5 a 10 horas desde la inoculación bacteriana), se aplica solución salina a un ojo y cada una de las formulaciones (b) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al otro ojo, de una a 10 veces al día durante 3 a 5 días en ambas aplicaciones. Después de varias horas de la inoculación bacteriana, los síntomas de infección de los ojos externos se observan cada 24 horas durante 4 a 8 días. Los síntomas de infección del ojo externo se puntúan de acuerdo con los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros o los criterios de evaluación de Draize.

60 65 (3) Se prepara un modelo de infección corneal mediante la realización de un corte en la córnea de un conejo blanco y subsecuentemente la inoculación *Staphylococcus aureus* al ojo. Se aplica solución salina a un ojo del conejo y cada una de las formulaciones (b) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al otro ojo, de una a 10 veces al día durante 3 a 5 días a partir de varias horas después de la inoculación bacteriana. Después de varias horas de la inoculación bacteriana, los síntomas de infección de los ojos externos se observan cada 24 horas durante 4 a 8 días. Los síntomas de infección del ojo externo se puntúan de acuerdo con los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros o los criterios de evaluación de Draize.

(4) Se prepara un modelo de infección corneal mediante la inyección *Staphylococcus aureus* en la córnea intraparenquimal de un conejo blanco para crear. Se aplica solución salina a un ojo del conejo y cada una de las formulaciones (b) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al otro ojo, de una a 10 veces al día durante 3 a 5 días a partir de varias horas después de la inoculación bacteriana. Después de varias horas de la inoculación

bacteriana, los síntomas de infección de los ojos externos se observan cada 24 horas durante 4 a 8 días. Los síntomas de infección del ojo externo se puntuaron de acuerdo con los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros o los criterios de evaluación de Draize.

- 5 La irritación ocular (opacidad corneal, congestión conjuntival palpebral, edema conjuntival palpebral, congestión conjuntival bulbar) de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada a partir de la observación visual se considera equivalente o menor que la irritación ocular de AzaSite, el control positivo. Los efectos antibacterianos y antiinflamatorios de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada se consideran equivalentes o superiores a los de AzaSite, el control positivo.

10 (Ejemplo 9) Prueba de eficacia del fármaco en modelo animal inflamatorio

15 (1) Se crea un edema conjuntival agudo mediante la inyección de ácido araquidónico al 2 % en la conjuntiva del párpado superior de una rata (modelo de conjuntivitis). Antes de inyectar el ácido araquidónico, cada una de las formulaciones (a) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al ojo de una a varias veces cada 15 a 30 minutos. Las ratas se sacrifican de 3 a 6 horas después de la inyección de ácido araquidónico, y el sitio de edema se corta a lo largo del borde del párpado para medir el peso de este. La relación de disminución en el peso del edema de los grupos a los que se aplicó la formulación al grupo al que se aplicó solución salina se calcula para evaluar el efecto inhibitorio sobre el edema conjuntival.

20 (2) Se crea un edema conjuntival agudo mediante la inyección de carragenina al 1 % a la conjuntiva del párpado superior de una rata (modelo de conjuntivitis). Antes de inyectar el carragenano, cada una de las formulaciones (a) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al ojo de una a cuatro veces cada 15 a 30 minutos. Las ratas se sacrifican de 3 a 6 horas después de la inyección de carragenano, y el sitio de edema se corta a lo largo del borde del párpado para medir el peso de este. La relación de disminución en el peso del edema de los grupos a los que se aplicó la formulación al grupo al que se aplicó solución salina se calcula para evaluar el efecto inhibitorio sobre el edema conjuntival.

25 (3) Se crea un edema conjuntival agudo mediante la inyección de carragenina al 1 % en la conjuntiva del párpado superior de una rata (modelo de conjuntivitis). Inmediatamente después de la inyección de carragenina, se administró azul de Evans al 1 % por la vena de la cola. Antes de inyectar carragenina, cada una de las formulaciones (b) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica a un ojo (ojo derecho) y se aplica solución salina al otro ojo (ojo izquierdo) de una a cuatro veces cada 15 a 30 minutos. Las ratas se sacrificaron de 3 a 6 horas después de la inyección de carragenano y se eliminó la piel del párpado. La piel del párpado obtenida se coloca en un tubo Falcon, al que se añade formamida y después se sumerge en un refrigerador durante la noche. El contenido de tinte azul de Evans contenido en el sobrenadante después de la centrifugación puede determinarse a partir de una absorbancia a 620 nm mediante el uso de un espectrofotómetro. El efecto inhibitorio sobre el edema conjuntival se evalúa como velocidad de inhibición de la fuga de colorante que se muestra más abajo.

30 tasa de inhibición (%) = $\{((\text{fuga de tinte del ojo izquierdo}) - (\text{fuga de tinte del ojo derecho})) / (\text{fuga de tinte del ojo izquierdo})\} \times 100$

35 (4) Se crea un edema conjuntival agudo mediante la inyección de formalina al 1 % en la conjuntiva del párpado superior de una rata (modelo de conjuntivitis). Antes de inyectar la formalina, cada una de las formulaciones (a) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al ojo de una a cuatro veces cada 15 a 30 minutos. Las ratas se sacrifican de 3 a 6 horas después de la inyección de formalina, y el sitio de edema se corta a lo largo del borde del párpado para medir el peso de este. La relación de disminución en el peso del edema de los grupos a los que se aplicó la formulación al grupo al que se aplicó solución salina se calcula para evaluar el efecto inhibitorio sobre el edema conjuntival.

40 (5) Se crea un edema conjuntival agudo mediante la inyección de caolín al 10 % en la conjuntiva del párpado superior de una rata (modelo de conjuntivitis). Antes de inyectar el caolín, cada una de las formulaciones (a) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al ojo de una a cuatro veces cada 15 a 30 minutos. Las ratas se sacrifican de 3 a 6 horas después de la inyección de caolín, y el sitio de edema se corta a lo largo del borde del párpado para medir el peso de este. La relación de disminución en el peso del edema de los grupos a los que se aplicó la formulación al grupo al que se aplicó solución salina se calcula para evaluar el efecto inhibitorio sobre el edema conjuntival.

45 (6) Se crea un edema conjuntival agudo mediante la aplicación de aceite de crotón al 10 % al saco conjuntival de una rata (modelo de conjuntivitis). Antes de aplicar el aceite de crotón, cada una de las formulaciones (a) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica al ojo de una a cuatro veces cada 30 a 50 minutos. Las ratas se sacrifican de 2 a 6 horas después de la última aplicación de aceite de crotón, y el sitio de edema se corta a lo largo del borde del párpado para medir el peso de este. La relación de disminución en el peso del edema de los grupos a los que se aplicó la formulación al grupo al que se aplicó solución salina se calcula para evaluar el efecto inhibitorio sobre el edema conjuntival.

50 (7) Se crea una uveítis mediante la inyección de albúmina sérica bovina en el humor vítreo de un conejo (uveítis primaria). Despues de que se reduzca la inflamación (27 a 29 días después de la inyección de albúmina sérica bovina al humor vítreo), se inyecta de nuevo albúmina sérica bovina de la vena de la oreja para recurrir la uveítis (uveítis secundaria). Cada una de las formulaciones (a) a (e) preparadas en el Ejemplo 7 se aplica a la uveítis primaria y a la uveítis secundaria a intervalos de 30 minutos a varias horas, de una a 6 veces al día. El grupo

5 aplicado con solución salina y los grupos aplicados con formulación se observan para los síntomas de inflamación del ojo externo (opacidad corneal, congestión conjuntival palpebral, edema conjuntival palpebral, congestión conjuntival bulbar) y para los síntomas de inflamación del ojo interno (congestión del iris, cambios morfológicos del iris, turbidez de la cámara anterior), que se puntuán de acuerdo con los criterios de puntuación para usar como indicador de uveítis.

10 La irritación ocular observada visualmente (opacidad corneal, congestión conjuntival palpebral, edema conjuntival palpebral, congestión conjuntival bulbar) de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada se considera equivalente o menor que la irritación ocular de AzaSite (marca comercial registrada), el control positivo. Los efectos 15 antiinflamatorios de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada se consideran equivalentes o superiores a los de AzaSite (marca comercial registrada), el control positivo.

(Ejemplo 10) Prueba de estabilidad de la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada

20 Una cantidad de 6 a 8 g de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada (concentraciones de claritromicina 0,3 % y 1,0 %) producidas en el Ejemplo 7 (1) se pesaron en un vial de tornillo de 9 ml, se dejaron reposar en termohigrómetros, cada uno a 5 °C, 25 °C y 40 °C para llevar a cabo la prueba de estabilidad durante un período de 14 días. En los días 7 y 14, las concentraciones de claritromicina se determinaron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), y la relación residual se determinó en comparación con la concentración de claritromicina inmediatamente después de la formulación que se tomó como 100 % para evaluar la estabilidad. Las 25 condiciones del análisis de HPLC fueron las siguientes.

Aparatos: Waters alliance

Columna: Inertsil ODS 4,6 mm × 150 mm

Temperatura de la columna: 50 °C

Eluato: KH2PO4 20 mM/CH3CN (8:2)

Longitud de onda de detección: 210 nm

30 Los resultados de la prueba de estabilidad se muestran en la Tabla 5. La claritromicina no se descompuso, pero fue estable a cada temperatura de 5 °C, 25 °C y 40 °C durante los 14 días.

[Tabla 5]

	Inmediatamente después de la preparación (%)	Concentración de claritromicina 0,3 %			Concentración de claritromicina 1,0 %		
		5 °C	25 °C	40 °C	5 °C	25 °C	40 °C
35	100	100	100	100	100	100	100
40	Días 7 (%)	100,0	99,8	100,8	100,0	100,4	99,4
	Días 14 (%)	101,5	100,9	101,0	99,4	98,5	100,8

(Ejemplo 11) Prueba de cinética intraocular de formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada

45 Las formulaciones de (b) la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 0,3 %), (c) la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada (concentración de claritromicina 1,0 %), y (d) la formulación de suspensión de polvo de claritromicina a granel (concentración de claritromicina 1,0 %) producidas en el Ejemplo 7 (1), o (e) AzaSite (marca registrada) (control positivo) (concentración de azitromicina 0,3 %) se aplican respectivamente al ojo de conejos de una vez a 10 veces a intervalos de 5 a 30 minutos, y las concentraciones de claritromicina en los tejidos oculares externos (conjuntiva, córnea, humor acuoso) después de 30 minutos, 1, 2, 4 y 6 horas después de la aplicación se miden por HPLC o LC/MS/MS, etc.

50 Se considera que las concentraciones de claritromicina de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada en la conjuntiva, la córnea y el humor acuoso son más altas que las de la formulación de suspensión de polvo de claritromicina a granel, y se consideran equivalentes o superiores a las de AzaSite, el control positivo.

55 (Ejemplo 12) Producción de masa de claritromicina pulverizada

60 A un TRI-MIX de 0,5 l (INOUE MFG., INC.), se alimentaron 30 g de claritromicina que tiene un diámetro promedio de partícula de 10,370 nm (punto de fusión: 217 a 220 °C; Assia Chemical Industries Ltd.), 90 g de manitol (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 9 g de polivinilpirrolidona K25 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), y 12 g de lecitina de soya hidrogenada PHOSPHOLIPON 90H (H. Holstein Co., Ltd.) y se mezclaron homogéneamente, y después se añadió 23,6 g de glicerol, que se pulverizó a 10 °C durante 6 horas manteniendo el contenido en estado de masa. La masa amasada obtenida tenía una cantidad recuperada de 145,8 g (rendimiento 88,5 %).

65 A 100 mg de la masa amasada obtenida, se añadieron 3 g de HCO-60 al 0,1 % (Nihon Surfactant Kogyo K.K.) y se dispersaron durante varios minutos en un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation). Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina mediante el uso de un

contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 146,8 nm, el diámetro del 10 % (D10) fue de 85,5 nm, el diámetro del 50 % (D50) fue de 131,1 nm y el diámetro del 90 % (D90) fue de 222,0 nm.

5 (Ejemplo 13) Producción de masa de azitromicina pulverizada

A un TRI-MIX de 0,5 l (INOUE MFG., INC.), se alimentaron 5 g de dihidrato de azitromicina que tiene un diámetro promedio de partícula de 74,99 μ m (punto de fusión: 133 a 135 °C; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.), 60 g de cloruro de sodio (Tomita Salt K30, Tomita Pharmaceutical Co., Ltd.), 8 g de una mezcla de lecitina de soja hidrogenada (PHOSPHOLIPON 90H, H. Holstein Co., Ltd.) / glicerol (Junsei Chemical Co., Ltd.) (1 : 3), y 9,6 g de glicerol, que se pulverizó a 5 °C durante 2 horas manteniendo el contenido en estado de masa. La masa amasada obtenida tenía una cantidad recuperada de 74,8 g (rendimiento 90,6 %).

15 A 100 mg de la masa amasada obtenida, se añadió 5 g de una solución mixta de 0,05 % de MYS-40 (Nihon Surfactant Kogyo K.K.) / 0,05 % de PLONON 407P (Nippon Yushi Industry Co., Ltd.) y se dispersó durante varios minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), al que se añadió 45 g de agua purificada, y después el contenido se dispersó durante varios minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera. Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de azitromicina mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 147,3 nm, el diámetro del 10 % (D10) fue de 88,9 nm, el diámetro del 50 % (D50) fue de 130,1 nm y el diámetro del 90 % (D90) fue de 188,2 nm.

20 (Ejemplo 14) Producción de masa de roxitromicina pulverizada

25 A un TRI-MIX de 0,5 l (INOUE MFG., INC.), se alimentaron 5 g de roxitromicina que tiene un diámetro promedio de partícula de 121,3 μ m (punto de fusión: 122 a 126 °C; Wako Pure Chemical Industry Co., Ltd.), 60 g de cloruro de sodio (Oshio micron T-0, AKO KASEI CO., LTD.), 8 g de una mezcla de lecitina de soja hidrogenada (PHOSPHOLIPON 90H, H. Holstein Co., Ltd.) / glicerol (Junsei Chemical Co., Ltd.) (1 : 3), y 9,6 g de glicerol, que se pulverizaron a 5 °C durante 2 horas manteniendo el contenido en estado de masa. La masa amasada obtenida tenía una cantidad recuperada de 81,6 g (rendimiento 98,4 %).

30 A 100 mg de la masa amasada obtenida, se añadió 5 g de una solución mixta de 0,05 % de MYS-40 (Nihon Surfactant Kogyo K.K.) / 0,05 % de PLONON 407P (Nippon Yushi Industry Co., Ltd.) y se dispersó durante varios minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), al que se añadió 25 g de agua purificada, y después el contenido se dispersó durante varios minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera. Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de roxitromicina mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 234,5 nm, el diámetro del 10 % (D10) fue de 119,0 nm, el diámetro del 50 % (D50) fue de 195,0 nm y el diámetro del 90 % (D90) fue de 341,5 nm.

40 (Ejemplo 15) Producción de una formulación de suspensión de claritromicina nanoizada al 0,3 %

45 Después de pulverizar por el TRI-MIX en el Ejemplo 12, se pesaron 2,55 g del producto de claritromicina amasado (masa amasada) en un vial de vidrio de 50 ml, al que se añadió 20,0 g de una solución acuosa de HCO-60 al 1 % y se dispersó durante 1 a 2 minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), seguido de una mayor dispersión durante 1 minuto (30 segundos \times 2) mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo sonda (S-4000, MISONIX). Como resultado de medir las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina en la dispersión mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 219,2 nm.

50 A la dispersión obtenida anteriormente, se añadieron 20,0 g de una solución acuosa de HCO-60 al 1 %, 35,0 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 1 %, 15,0 g de una solución tampón de Tris 1 M (pH 7,5) y 1,5 g de una solución acuosa de cloruro de benzalconio (BAC) al 0,1 % y se agitó mediante el uso de un agitador magnético, que se ajustó a 150 g con agua purificada, seguido de agitación y mezcla para producir la formulación al 0,3 %. Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina en la formulación mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (Dv) fue de 391,9 nm, el diámetro del 10 % (D10) fue de 205,3 nm, el diámetro del 50 % (D50) fue de 326,1 nm y el diámetro del 90 % (D90) fue de 556,5 nm.

60 (Ejemplo 16) Producción de una formulación de suspensión de claritromicina nanoizada al 1,0 %

65 Después de pulverizar por el TRI-MIX en el Ejemplo 12, se pesaron 5,55 g del producto de claritromicina amasado (masa amasada) en un vaso de precipitados de vidrio, al que se añadió 46,7 g de una solución acuosa de HCO-60 al 1 % y se dispersó durante 1 a 2 minutos mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo bañera (VS-100III, AS ONE Corporation), seguido de la dispersión durante 1 minuto (30 segundos \times 2) mediante el uso de un dispersor ultrasónico de tipo sonda (S-4000, MISONIX). Como resultado de medir las distribuciones de diámetros de partícula

de claritromicina en la dispersión mediante el uso de un contador de distribución de diámetros de partícula, el diámetro promedio de partícula (D_v) fue de 217,6 nm.

A la dispersión anterior, se añadieron 23,3 g de una solución acuosa de HPMC 60SH-50 al 1 %, 7,5 g de una solución tampón de Tris 1 M (pH 7,5) y 1,0 g de una solución acuosa de cloruro de benzalconio (BAC) al 0,1 % y se agitó mediante el uso de un agitador magnético, que se ajustó a 100 g con agua purificada, seguido de agitación y mezcla para producir la formulación al 1,0 %. Como resultado de la medición de las distribuciones de diámetros de partícula de claritromicina en la formulación, el diámetro promedio de partícula (D_v) fue de 548,1 nm, el diámetro del 10 % (D₁₀) fue de 294,4 nm, el diámetro del 50 % (D₅₀) fue de 484,4 nm y el diámetro del 90 % (D₉₀) fue de 785,6 nm.

(Ejemplo 17) Prueba de farmacocinética intraocular de formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada

La prueba de farmacocinética intraocular se llevó a cabo como se describe más abajo mediante el uso de tres tipos de formulaciones, la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada al 0,3 % producida en el Ejemplo 15 (en adelante denominada formulación nanoizada al 0,3 %), la formulación de suspensión de claritromicina nanoizada al 1,0 % producida en el Ejemplo 16 (en adelante denominada formulación nanoizada al 1,0 %), y la formulación de suspensión de polvo de claritromicina a granel al 1,0 % (en adelante denominada formulación de polvo a granel de claritromicina al 1,0 %).

El párpado inferior de un conejo (cepa Kbl: JW, macho) se retiró suavemente, se aplicaron 50 µl de cada una de las formulaciones una vez al saco conjuntival del ojo izquierdo mediante el uso de una pipeta, y subsecuentemente los párpados superior e inferior se cerraron y se mantuvieron suavemente durante aproximadamente 2 segundos. A los 30 minutos, 2, 4 y 6 horas después de la aplicación al ojo, se recogieron el plasma, el humor acuoso y la conjuntiva para medir las concentraciones de claritromicina mediante LC-MS/MS.

El plasma se recogió de la siguiente manera. Se recogieron aproximadamente 1 ml de sangre de la vena auricular y se centrifugó rápidamente (4 °C, 1710 × g, 3000 rpm) para obtener el plasma. El plasma obtenido se crioconservó en un congelador ultraprofundo (-70 °C o menos) hasta su análisis.

El humor acuoso y la conjuntiva se recogieron de la siguiente manera. Después de la recolección de sangre, el conejo se anestesió mediante la administración intravenosa de una solución acuosa de pentobarbital al pabellón auricular y después se le practicó la eutanasia mediante sangrado. Después de lavar minuciosamente el ojo con agua para inyección, se recogió el humor acuoso y después se recogió la conjuntiva. Cada uno del humor acuoso y la conjuntiva recogidos se pesó y se congeló en nitrógeno líquido, y se crioconservó en un congelador ultraprofundo (-70 °C o menos) hasta su análisis.

Los pretratamientos de cada muestra se llevaron a cabo de la siguiente manera. Para el plasma, se añadieron 50 µl de acetonitrilo a 20 µl del plasma, que se agitó a fondo y después se centrifugó (13 100 × g, 4 °C, 5 minutos), y se inyectaron 2 µl del sobrenadante para LC-MS/MS. Para el humor acuoso, se añadieron 50 µl de acetonitrilo a 20 µl del humor acuoso, que se agitó a fondo y después se centrifugó (13 100 × g, 4 °C, 5 minutos), y se inyectaron 2 µl del sobrenadante para LC-MS/MS. Para la conjuntiva, después de la adición de agua ultrapura de 9 veces tanto volumen como un peso húmedo de la conjuntiva a la conjuntiva, se homogeneizó la conjuntiva. A 20 µl del homogeneizado conjuntival, se añadió 50 µl de acetonitrilo, que se agitó a fondo y después se centrifugó (13 100 × g, 4 °C, 5 minutos), y se inyectaron 2 µl del sobrenadante para LC-MS/MS.

Las condiciones del análisis de HPLC fueron las siguientes:

	Columna	Inertsil ODS-4 HP (GL Sciences)		
	Fase móvil A	Formiato de amonio 20 mM		
	Fase móvil B	Acetonitrilo		
50	Gradiente	Tiempo (min)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
		0,00	60	40
	3,00	20		80
	4,50	20		80
55	4,51	60		40
	6,00	60		40
	Régimen de flujo		0,2 ml/min	
	Temperatura de la columna		40 °C	
60	Temperatura del muestreador automático		4 °C	
	Cantidad administrada		2 µl	
	Tiempo de análisis		6 minutos	

Las condiciones del análisis de MS/MS fueron las siguientes:

5	Fuente de iones:	Ionización por electropulverización (ESI)		
	Tipo de exploración:	Monitoreo de reacciones múltiples (MRM)		
	Polaridad:	Positivo		
	Temperatura fuente:	500 °C		
5	Monitorear el ion:	Compuesto Claritromicina	Q1 (m/z) 749,00	Q3 (m/z) 158,00

10 Los resultados se muestran en las Figuras 1 a 3. En comparación con el polvo a granel, la claritromicina nanoizada tiene propiedades de migración más altas al humor acuoso y a la conjuntiva, y propiedades de migración sustancialmente iguales a las de la sangre.

(Ejemplo 18) Prueba de eficacia de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada 1

15 Se creó un modelo de úlcera corneal en un conejo y se desarrolló conjuntivitis mediante *Staphylococcus aureus* infección con el fin de evaluar la efectividad de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada (gotas oftálmicas) como sigue.

20 El modelo de úlcera corneal se creó de la siguiente manera. El ojo externo de un conejo de color blanco japonés (cepa Slc: JW/CSK, macho) se lavó con solución salina bajo anestesia con pentobarbital sódico (administración intravenosa a la aurícula) y la córnea se anestesió localmente con clorhidrato de oxibuprocaína al 0,4 %. Un globo ocular del conejo se dislocó por compresión mediante el uso de una cuchara dispensadora, se hizo un corte circular poco profundo en el centro de la córnea mediante un trépano de 6 mm de diámetro (trépano de trasplante corneal de Castroviejo), y se hizo un corte en forma de "#" con dos pares de líneas paralelas verticales y horizontales que alcanzan la córnea intraparenquimal dentro del corte circular mediante el uso de una aguja de 26 G x 1/2 SB.

25 25 El líquido bacteriano se inoculó de la siguiente manera. Un líquido bacteriano de *Staphylococcus aureus* (St. aureus cepa ATCC25923) en una concentración de 1 x 10⁹ ufc/ml se instiló una vez en la córnea a 50 µl/ovo mediante el uso de una micropipeta y un chip. Se permitió que el conejo parpadee y se masajeó suavemente el párpado unas pocas veces. El líquido del conejo se dejó caer una vez más, se permitió que el conejo parpadee y se masajeó suavemente el párpado unas pocas veces (se instiló 0,1 ml por ojo en la córnea).

30 35 Las sustancias de prueba fueron AzaSite (solución oftálmica de azitromicina al 1 %), la formulación de claritromicina nanoizada al 0,3 % producida en el Ejemplo 15, la formulación de claritromicina nanoizada al 1,0 % producida en el Ejemplo 16, y una formulación de suspensión de polvo de claritromicina a granel al 1,0 %, y un vehículo (la misma composición con la formulación de claritromicina nanoizada al 0,3 % anterior excepto que no se contuvo claritromicina).

35 40 Las sustancias de prueba se administraron de la siguiente manera. El párpado inferior se retiró suavemente y se instilaron 50 µl/ovo de la sustancia de prueba en el saco conjuntival mediante el uso de una micropipeta y un chip. La sustancia de prueba se administró durante cuatro días, dos veces (4 horas y 8 horas después de la inoculación líquida de la bacteria) el día de la inoculación líquida de la bacteria (día 1) y tres veces al día (un intervalo de 4 horas) en los días 2 a 4.

[Tabla 6]

45	Grupo	Concentración líquida de bacterias (ufc/córnea)	Muestra probada	Tratamiento	Número de ojos/número de animales
50	1	1 x 10 ⁸	Vehículo	dos veces al día para el día 1	4/4
	2		AzaSite		4/4
	3		Clarithromicina nanoizada al 0,3 %	tres veces al día durante los días 2 a 4	4/4
	4		Clarithromicina nanoizada al 1,0 %		4/4
	5		Polvo a granel de claritromicina al 1,0 %		4/4

55 60 El resultado se observó y la eficacia del fármaco se evaluó y determinó de la siguiente manera. El sitio de infección corneal, la córnea, el iris y la conjuntiva se observaron una vez al día durante 7 días desde el día 1 hasta el día 7 después de la inoculación líquida de la bacteria mediante el uso de un microscopio de lámpara de hendidura. Para la evaluación y determinación de la eficacia del fármaco, la evaluación de los hallazgos corneales de acuerdo con los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros. (Tabla 7), y las evaluaciones de los hallazgos corneales, irídicos y conjuntivales de acuerdo con los criterios de evaluación de Draize J.H. y otros. (Tabla 8) se emplearon. La evaluación mediante el uso de los criterios de evaluación de Draize J.H. y otros se llevó a cabo de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
 \text{Córnea} &= A \times B \times 5 & (\text{Puntuación máxima } 80) \\
 \text{Iris} &= \times 5 & (\text{Puntuación máxima } 10) \\
 \text{Conjuntiva} &= (A + B + C) \times 2 & (\text{Puntuación máxima } 20) \\
 \text{Puntuación total} &= \text{córnea} + \text{iris} + \text{conjuntiva} & (\text{Puntuación máxima } 110)
 \end{aligned}$$

[Tabla 7]

Los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros.			
Región	Imagen de observación	Evaluación	
5	Córnea	Área de turbidez corneal	
		Sin turbidez corneal	0
10		Sin turbidez corneal, pero edema ligero	0,5
		Turbidez corneal menor que 6 mm	+1
		Turbidez corneal total de 6 mm	+2
		Turbidez corneal mayor que 6 mm	+3
		Turbidez corneal de toda la córnea	+4

[Tabla 8]

Los criterios de evaluación de Draize J.H. y otros.			
Región	Grado de respuesta ocular	Evaluación	
15	Córnea	(A) Grado de densidad (área que es más densa se toma para la lectura)	
20		Transparente - Sin densidad	0
		Área dispersa o difusa: detalles del iris claramente visible	+ 1
		Áreas translúcidas fácilmente discernibles, detalles del iris ligeramente oscurecido	+2
25		Áreas opalescentes, sin detalles de los iris visibles, tamaño de la pupila apenas discernible	+3
		Opaco, iris invisible	+4
30		(B) Área de la córnea afectada	
		0	0
		0 < Área < 1/4	+ 1
		1/4 ≤ Área < 1/2	+ 2
		1/2 ≤ Área < 3/4	+3
		3/4 ≤ Área < 4/4	+4
35	Iris	▪ Normal	0
		▪ Pliegues por encima de lo normal, congestión, hinchazón, inyección circuncorneal (cualquiera de estos o todos o una combinación de cualquiera de estos), el iris aún reacciona a la luz (la reacción lenta es positiva)	+ 1
		▪ Sin reacción a la luz, hemorragia, destrucción importante (cualquiera de estos)	+ 2
40	Conjuntiva	(A) Enrojecimiento (se refiere a la conjuntiva palpebral y la conjuntiva bulbar)	
		Los vasos son normales	0
		Los vasos se inyectaron definitivamente por encima de lo normal	+ 1
		Más difuso, rojo carmesí más profundo, los vasos individuales no son fácilmente discernibles	+2
		Rojo carnosos difuso	+3
45		(B) Quemosis	
		Sin hinchazón	0
		Cualquier hinchazón por encima de lo normal (incluye membrana nictitante)	+1
		Hinchazón evidente con inversión parcial de los párpados	+2
		Hinchazón con párpados aproximadamente medio cerrados	+3
50		Hinchazón con párpados aproximadamente medio cerrados a completamente cerrados	+4
55		(C) Descarga	
		Sin descarga	0
		Cualquier cantidad diferente de lo normal	+1
		Descarga con humedecimiento de los tapones y pelos justo adyacentes a los tapones	+2
		Descarga con humedecimiento de los párpados y área considerable alrededor del ojo	+3

La Tabla 9 muestra colectivamente los resultados de la puntuación de los sitios de infección corneal en base a los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros. La Figura 4 muestra los cambios en el tiempo de la puntuación en cada una de las sustancias de prueba (evaluaciones de la eficacia del fármaco).

[Tabla 9]

Group	Número de animal	Día 1 después de la inoculación	Día 2 después de la inoculación	Día 3 después de la inoculación	Día 4 después de la inoculación	Día 5 después de la inoculación	Día 6 después de la inoculación	Día 7 después de la inoculación
5	1	1	1	1	4	4	4	
	M02102	2	2	2	2	1	1	
	M02103	2	2	1	1	4	4	
	M02104	3	3	3	2	1	1	
	Media	2,00	2,00	1,75	1,75	2,25	2,50	2,50
	S.E.	0,41	0,41	0,48	0,48	0,63	0,87	0,87
	2	M03101	1	1	1	1	1	1
	M03102	1	1	1	1	1	0	
	M03103	1	1	1	1	1	1	
	M03104	0	0	1	1	1	1	
10	Media	0,75	0,75	1,00	1,00	1,00	1,00	0,75
	S.E.	0,25	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25
15	3	M04101	1	0	0	0	0	0
	M04102	0	0	0	0	0	0	
	M04103	1	1	1	1	1	1	
	M04104	1	0	0	0	0	0	
	Media	0,75	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	S.E.	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	4	M05101	0	0	0	0	0	0
	M05102	2	1	1	1	1	1	1
	M05103	0	0	0	0	0	0	
	M05104	0	0	0	0	0	0	
20	Media	0,50	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	S.E.	0,50	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
25	5	M06101	0	0	0	0	0	2
	M06102	0	0	0	0	0	0	2
	M06103	1	0	0	0	0	0	0
	M06104	0	0	0	0	0	0	0
	Media	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00
	S.E.	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,58
	Media	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	S.E.	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Media	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	S.E.	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

La Tabla 10 muestra colectivamente los resultados de la puntuación de los sitios de infección corneal, irídica y conjuntival en base a los criterios de evaluación de Draize y otros. La Figura 5 muestra los cambios en el tiempo de la puntuación en cada una de las sustancias de prueba (evaluaciones de la eficacia del fármaco).

[Tabla 10]

Group	Número de animal	Día 1 después de la inoculación	Día 2 después de la inoculación	Día 3 después de la inoculación	Día 4 después de la inoculación	Día 5 después de la inoculación	Día 6 después de la inoculación	Día 7 después de la inoculación
45	1	M02101	20	20	20	81	81	81
	M02102	35	35	35	33	27	22	20
	M02103	27	27	22	24	24	83	88
	M02104	53	49	49	49	27	20	20
	Media	33,75	32,75	31,50	31,50	39,75	51,50	52,25
	S.E.	7,11	6,22	6,71	6,44	13,77	17,62	18,67
	2	M03101	15	18	18	22	24	24
50	M03102	20	20	18	16	16	14	2
	M03103	13	11	18	18	16	16	14
	M03104	13	13	18	18	18	18	18
	Media	13,75	12,75	13,50	13,50	14,75	15,50	15,25
55	S.E.	4,11	3,22	3,71	3,44	4,77	5,62	5,67
	Media	13,75	12,75	13,50	13,50	14,75	15,50	15,25
	S.E.	4,11	3,22	3,71	3,44	4,77	5,62	5,67
	Media	13,75	12,75	13,50	13,50	14,75	15,50	15,25
60	S.E.	4,11	3,22	3,71	3,44	4,77	5,62	5,67
	Media	13,75	12,75	13,50	13,50	14,75	15,50	15,25
	S.E.	4,11	3,22	3,71	3,44	4,77	5,62	5,67
	Media	13,75	12,75	13,50	13,50	14,75	15,50	15,25
65	S.E.	4,11	3,22	3,71	3,44	4,77	5,62	5,67
	Media	13,75	12,75	13,50	13,50	14,75	15,50	15,25
	S.E.	4,11	3,22	3,71	3,44	4,77	5,62	5,67
	Media	13,75	12,75	13,50	13,50	14,75	15,50	15,25

		Media	15,25	15,50	18,00	17,50	18,00	18,00	14,50
		S.E.	1,65	2,10	0,00	0,50	1,41	2,16	4,65
5	3	M0410 1	26	15	8	6	6	2	0
		M0410 2	19	19	17	8	8	6	2
		M0410 3	20	18	22	20	22	26	28
		M0410 4	22	11	13	6	6	6	2
		Media	21,75	15,75	15,00	10,00	10,50	10,00	8,00
		S.E.	1,55	1,80	2,97	3,37	3,86	5,42	6,68
10	4	M0510 1	13	9	11	11	4	4	2
		M0510 2	25	18	16	16	9	9	9
		M0510 3	10	6	4	0	0	0	0
		M0510 4	15	13	13	8	6	6	6
		Media	15,75	11,50	11,00	8,75	4,75	4,75	4,25
		S.E.	3,25	2,60	2,55	3,35	1,89	1,89	2,02
15	5	M0610 1	15	11	6	6	8	21	37
		M0610 2	8	6	6	6	6	4	43
		M0610 3	22	11	11	11	9	9	9
		M0610 4	12	10	8	6	6	4	4
		Media	14,25	9,50	7,75	7,25	7,25	9,50	23,25
		S.E.	2,95	1,19	1,18	1,25	0,75	4,01	9,80

35 Las Figuras 4 y 5 revelaron que los efectos antiinflamatorios de las suspensiones de claritromicina nanoizadas (gotas oftálmicas) son equivalentes o mayores que los de AzaSite, el control positivo. La formulación de polvo a granel de claritromicina al 1,0 % mostró efectos antiinflamatorios atenuados a partir del día 6, mientras que las suspensiones de claritromicina nanoizada (gotas oftálmicas) mantuvieron los efectos antiinflamatorios durante un período de 7 días. En consecuencia, se verifica que la nanoización permite que la eficacia del fármaco dure a largo plazo más que el polvo a granel.

(Ejemplo 19) Prueba de eficacia de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada 2

45 Se creó un modelo de úlcera corneal mediante el uso de un conejo, y se provocó la aparición de conjuntivitis mediante *Staphylococcus aureus* en el orden de evaluar la eficacia del fármaco de las formulaciones de suspensión de claritromicina nanoizada (gotas oftálmicas). En este ejemplo, los efectos terapéuticos de la administración retardada de gotas oftálmicas iniciales se estudiaron en comparación con el Ejemplo 18.

50 La creación de un modelo de úlcera corneal, la inoculación del líquido bacteriano y la evaluación y determinación de la eficacia del fármaco se llevaron a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 18. Las sustancias de prueba usadas fueron la formulación de claritromicina nanoizada al 0,3 % producida en el Ejemplo 15 y un vehículo (la misma composición que la formulación de claritromicina nanoizada al 0,3 % excepto que no se contenía claritromicina). El número de administración, etc. se muestra colectivamente en la tabla más abajo.

[Tabla 11]

Grupo	Concentración líquida bacterias (ufc/córnea)	Muestra probada	Tratamiento	Número de ojos/ número de animales
1	1×10^8	Grupo sin tratamiento	Ninguno	10/5
2		Vehículo	10 horas después de la inoculación, 5 veces al día durante 3 días	10/5
3		Clarithromicina nanoizada al 0,3 %	4 horas después de la inoculación, 2 veces al día para el día 1 y 3 veces al día para los días 2 y 3	10/5

4			10 horas después de la inoculación, 3 veces al día durante 3 días	10/5
5			10 horas después de la inoculación, 5 veces al día durante 3 días	10/5

5 Las Tablas 12 y 13 muestran colectivamente los resultados de la puntuación de los sitios de infección corneal en base a los criterios de evaluación de Hatano y otros y Nakamura y otros. La Figura 6 muestra los cambios en el tiempo de la puntuación en cada una de las sustancias de prueba (evaluaciones de la eficacia del fármaco).

[Tabla 12]									
Gru -po	Región	Día 1 después de la inoculación	Día 2 después de la inoculación	Día 3 después de la inoculación	Día 4 después de la inoculación	Día 5 después de la inoculación	Día 6 después de la inoculación	Día 7 después de la inoculación	
1	Ojo izquierdo	1	2	1	1	1	1	1	
	Ojo derecho	2	1	2	2	2	1	3	
	Ojo izquierdo	1	1	1	1	1	4	4	
	Ojo derecho	1	1	1	1	1	1	0	
	Ojo izquierdo	1	1	1	1	1	1	0	
	Ojo derecho	1	1	1	1	1	0,5	0,5	
	Ojo izquierdo	1	0	0	0	0	0	0	
	Ojo derecho	1	1	1	0	0	0	0	
	Ojo izquierdo	1	1	0	0	0	0	0	
	Ojo derecho	1	1	1	1	0	0	0	
	Media	1,10	1,00	0,90	0,90	0,80	0,85	0,85	
	S.E.	0,10	0,15	0,18	0,18	0,20	0,38	0,46	
2	Ojo derecho	1	1	1	1	1	1	0	
	Ojo izquierdo	2	2	1	1	1	1	1	
	Ojo derecho	1	1	1	1	0	0	0	
	Ojo izquierdo	1	1	1	1	1	1	1	
	Ojo derecho	1	0	0	0	0	0	0	
	Ojo izquierdo	0,5	0	0	0	0	0	0	
	Ojo derecho	1	1	1	1	1	2	2	
	Ojo izquierdo	1	2	2	1	1	0	0	
	Ojo derecho	1	0,5	0,5	0	0	0	0	
	Ojo izquierdo	1	1	1	1	1	1	1	
	Media	1,05	0,95	0,85	0,70	0,60	0,60	0,50	
	S.E.	0,12	0,22	0,18	0,15	0,16	0,22	0,22	
3	Ojo izquierdo	1	1	1	0	0	0	0	
	Ojo derecho	1	1	1	1	1	1	0,5	
	Ojo izquierdo	1	1	1	0	0	0	0	

	Ojo derecho	1	1	1	1	0	0	0
5	Ojo izquierdo	1	1	1	1	1	0,5	0
	Ojo derecho	1	0	0	0	0	0	0
10	Ojo izquierdo	1	1	1	1	1	1	0
	Ojo derecho	0,5	0	0	0	0	0	0
15	Ojo izquierdo	1	1	1	1	1	1	1
	Ojo derecho	1	0	0	0	0	0	0
	Media	0,95	0,70	0,70	0,50	0,40	0,35	0,15
	S.E.	0,05	0,15	0,15	0,17	0,16	0,15	0,11

[Tabla 13]

20	Grupo	Región	Día 1 después de la inoculación	Día 2 después de la inoculación	Día 3 después de la inoculación	Día 4 después de la inoculación	Día 5 después de la inoculación	Día 6 después de la inoculación	Día 7 después de la inoculación
25	4	Ojo derecho	1	0	0	0	0	0	0
30		Ojo izquierdo	2	2	2	2	1	1	1
35		Ojo derecho	1	1	1	1	1	1	0,5
40		Ojo izquierdo	1	1	1	0,5	0	0	0
45		Ojo derecho	1	1	1	1	1	1	1
50		Ojo izquierdo	1	0	0	0	0	0	0
55		Ojo derecho	1	1	1	1	0	0	0
60		Ojo izquierdo	2	1	1	1	0	0	0
65		Ojo derecho	1	1	1	0	0	0	0
		Ojo izquierdo	0,5	0	0	0	0	0	0
		Media	1,05	0,70	0,70	0,60	0,45	0,30	0,25
		S.E.	0,12	0,21	0,21	0,21	0,16	0,15	0,13
	5	Ojo izquierdo	1	0	0	0	0	0	0
		Ojo derecho	1	1	1	1	0	0	0
		Ojo izquierdo	2	1	1	1	0	0	0
		Ojo derecho	1	1	1	0	0	0	0
		Ojo izquierdo	0,5	0	0	0	0	0	0
		Ojo derecho	2	0	0	0	0	0	0
		Ojo izquierdo	1	0	0	0	0	0	0
		Ojo derecho	1	0,5	0	0	0	0	0
		Ojo izquierdo	1	1	1	1	0	0	0
		Ojo derecho	1	0	0	0	0	0	0

	Media	1,15	0,45	0,40	0,30	0,00	0,00	0,00
	S.E.	0,15	0,16	0,16	0,15	0,00	0,00	0,00

5 Las tablas 14 y 15 muestran colectivamente los resultados de la puntuación de los sitios de infección corneal, irídico y conjuntival en base a los criterios de evaluación de Draize y otros. La Figura 7 muestra los cambios en el tiempo de la puntuación en cada una de las sustancias de prueba (evaluaciones de la eficacia del fármaco).

[Tabla 14]

10	Grup- po	Región	Día 1 después de la inoculación	Día 2 después de la inoculación	Día 3 después de la inoculación	Día 4 después de la inoculación	Día 5 después de la inoculación	Día 6 después de la inoculación	Día 7 después de la inoculación
15	1	Ojo izquierdo	30	39	24	18	18	18	18
		Ojo derecho	45	22	37	35	33	18	47
		Ojo izquierdo	26	24	22	18	30	85	90
		Ojo derecho	26	24	18	18	20	18	8
		Ojo izquierdo	26	20	18	16	16	18	8
		Ojo derecho	24	20	22	20	18	8	8
		Ojo izquierdo	24	8	6	6	11	11	13
		Ojo derecho	24	18	16	18	6	6	8
		Ojo izquierdo	22	20	6	6	4	4	8
		Ojo derecho	22	16	18	16	16	6	10
		Media	26,90	21,10	18,70	17,10	17,20	19,20	21,80
		S.E.	2,14	2,47	2,82	2,54	2,91	7,53	8,48
20	2	Ojo derecho	26	24	20	16	16	14	8
		Ojo izquierdo	31	43	22	16	16	16	16
		Ojo derecho	26	24	20	16	11	11	6
		Ojo izquierdo	22	22	18	16	16	16	16
		Ojo derecho	22	10	6	2	6	8	8
		Ojo izquierdo	13	6	8	2	2	2	2
		Ojo derecho	28	26	18	24	24	39	43
		Ojo izquierdo	26	29	27	16	16	9	9
		Ojo derecho	28	15	8	4	4	4	4
		Ojo izquierdo	24	22	22	16	22	20	18
		Media	24,60	22,10	16,90	12,80	13,30	13,90	13,00
		S.E.	1,56	3,27	2,24	2,35	2,34	3,30	3,74
25	3	Ojo izquierdo	22	16	12	0	0	0	0
		Ojo derecho	28	26	16	18	18	14	0
		Ojo izquierdo	24	24	18	4	4	4	4
		Ojo derecho	22	14	12	12	0	0	0

5	Ojo izquierdo	20	18	16	16	14	4	4
	Ojo derecho	24	13	9	4	4	2	0
10	Ojo izquierdo	22	20	20	18	14	12	2
	Ojo derecho	17	9	2	0	0	0	0
15	Ojo izquierdo	20	16	16	16	14	12	7
	Ojo derecho	20	11	7	2	0	0	0
	Media	21,90	16,70	12,80	9,00	6,80	4,80	1,70
	S.E.	0,95	1,72	1,75	2,43	2,31	1,79	0,79

[Tabla 15]

Grup-	Región	Día 1 después de la inoculación	Día 2 después de la inoculación	Día 3 después de la inoculación	Día 4 después de la inoculación	Día 5 después de la inoculación	Día 6 después de la inoculación	Día 7 después de la inoculación
4	Ojo derecho	20	2	2	0	0	0	0
	Ojo izquierdo	27	35	33	31	16	12	12
	Ojo derecho	26	18	20	18	16	14	0
	Ojo izquierdo	24	24	20	13	4	0	0
	Ojo derecho	22	16	16	14	14	14	14
	Ojo izquierdo	16	2	2	0	0	0	0
	Ojo derecho	24	18	16	12	12	0	0
	Ojo izquierdo	22	12	12	2	0	0	0
	Ojo derecho	24	6	4	4	0	0	0
	Ojo izquierdo	10	0	0	0	0	0	0
	Media	21,50	13,30	12,50	9,40	6,20	4,00	2,60
	S.E.	1,61	3,53	3,34	3,22	2,32	2,04	1,74
5	Ojo izquierdo	16	2	2	0	0	0	0
	Ojo derecho	24	18	16	12	0	0	0
	Ojo izquierdo	27	20	18	14	9	4	2
	Ojo derecho	20	20	14	2	2	0	0
	Ojo izquierdo	6	4	2	0	0	0	0
	Ojo derecho	31	10	4	2	0	0	0
	Ojo izquierdo	26	15	4	2	0	0	0
	Ojo derecho	24	9	4	0	0	0	0
	Ojo izquierdo	26	18	14	10	0	0	0
	Ojo derecho	26	19	10	4	0	0	0
	Media	22,60	13,50	8,80	4,60	1,10	0,40	0,20
	S.E.	2,25	2,14	1,98	1,69	0,90	0,40	0,20

Las Figuras 6 y 7 revelaron que los efectos antiinflamatorios equivalentes pueden lograrse incluso cuando la administración inicial de gotas oftálmicas comenzó en un momento retrasado (comparación entre el Grupo 3 y el Grupo 4 en la Figura 7). También se verifica que un mayor número de administraciones de gotas oftálmicas puede proporcionar efectos antiinflamatorios mucho mejorados (comparación entre el Grupo 4 y el Grupo 5 en la Figura 7).

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de suspensión acuosa para el uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad inflamatoria o una enfermedad infecciosa, en donde la formulación de suspensión acuosa comprende nanopartículas de un antibiótico macrólido y un estabilizador de dispersión que comprende (a) aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 60 como un surfactante y (b) metilcelulosa y/o hidroxipropilmethylcelulosa como modificador de la viscosidad; las nanopartículas tienen un diámetro promedio de partícula de 300 nm o menos y un diámetro promedio del 90 % de 1500 nm o menos, el diámetro promedio de partícula es un diámetro medio aritmético en una distribución de diámetros de partícula medida por espectroscopía de correlación de fotones de dispersión dinámica de luz, y la formulación de suspensión acuosa es una formulación tópica ocular.
2. La formulación de suspensión acuosa para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el antibiótico macrólido es eritromicina, claritromicina, roxitromicina, azitromicina, josamicina, rokitamicina o kitasamicina.
3. La formulación de suspensión acuosa para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el surfactante contiene además polisorbato 80, monoestearato de polietilenglicol, y/o polioxietileno polioxipropilenglicol.
4. La formulación de suspensión acuosa para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el estabilizador de dispersión comprende además un inhibidor de la agregación, y el inhibidor de la agregación es alcohol polivinílico, polietilenglicol, polivinilpirrolidona y/o glicerofosfolípido.
5. La formulación de suspensión acuosa para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el modificador de la viscosidad contiene además hidroxietilcelulosa.
6. La formulación de suspensión acuosa para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la enfermedad inflamatoria o la enfermedad infecciosa es sistémica.
7. La formulación de suspensión acuosa para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la enfermedad inflamatoria o la enfermedad infecciosa es del ojo.

30

35

40

45

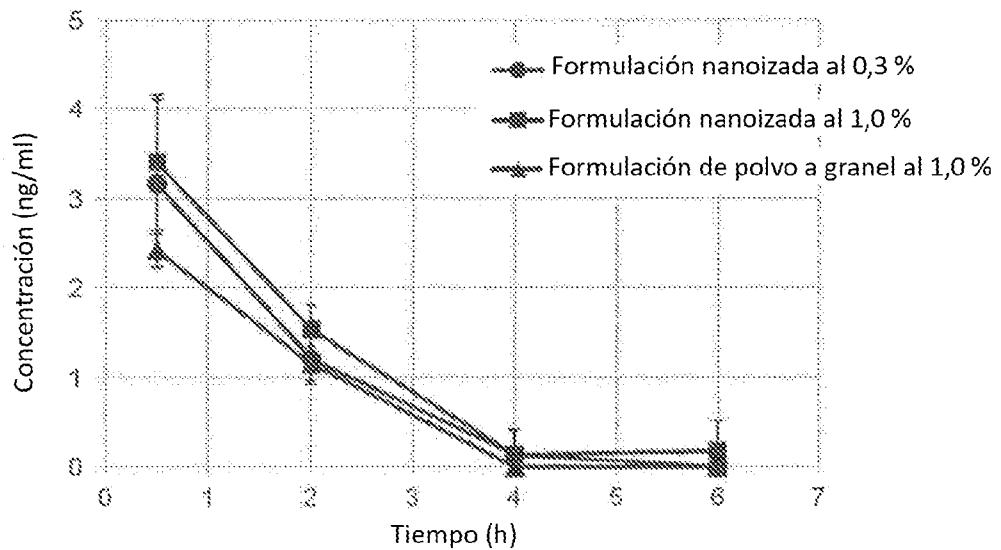
50

55

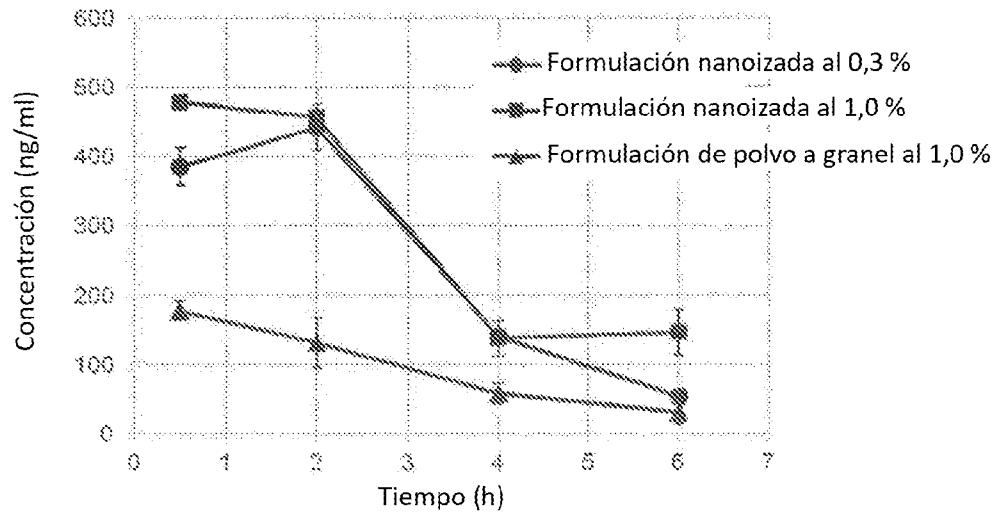
60

65

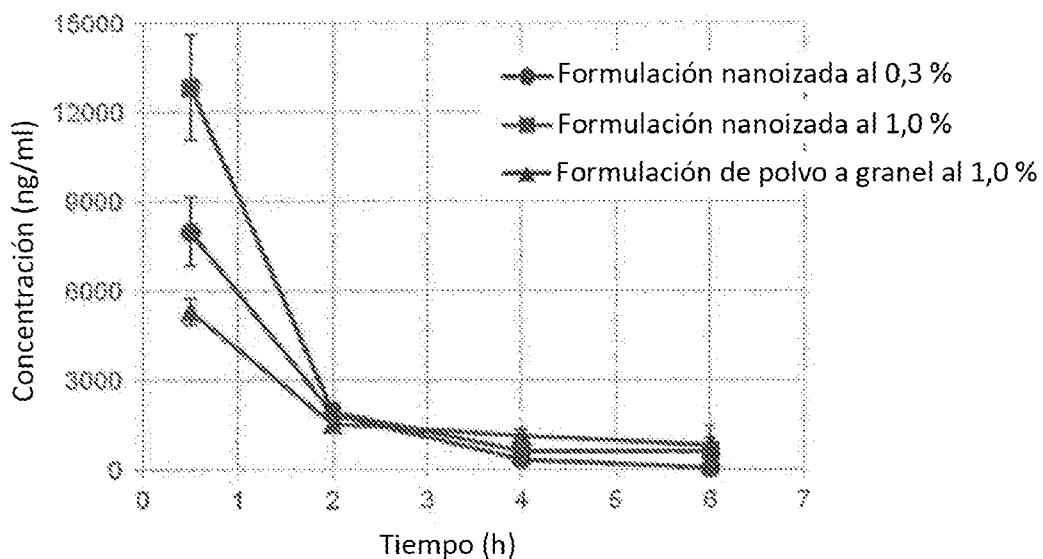
[Figura 1]



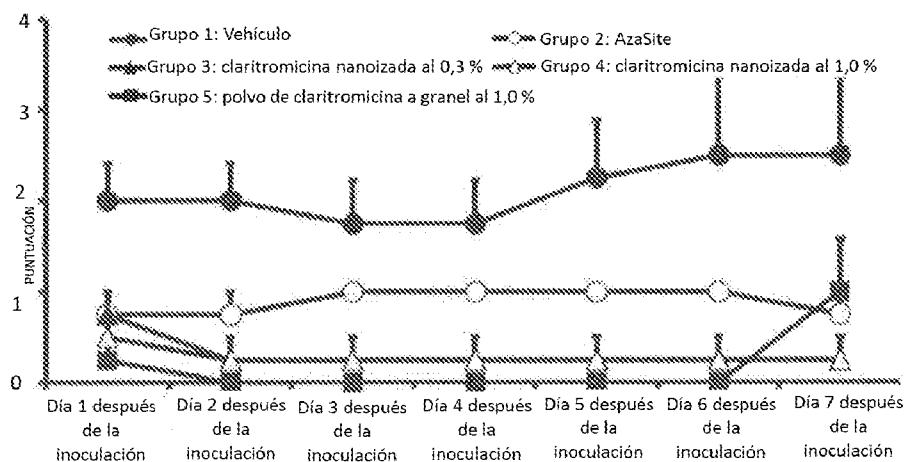
[Figura 2]



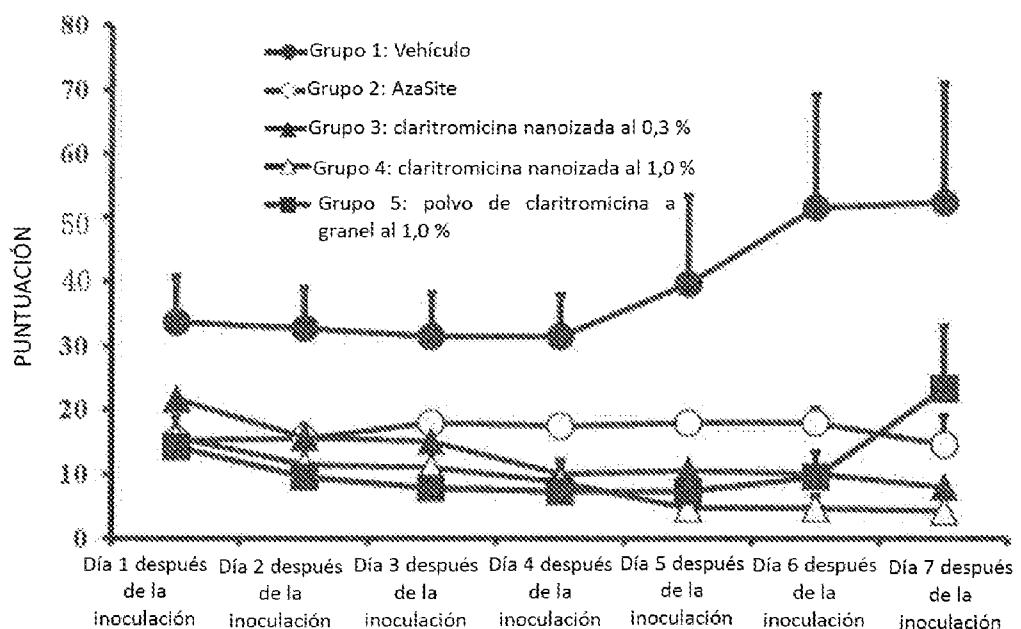
[Figura 3]



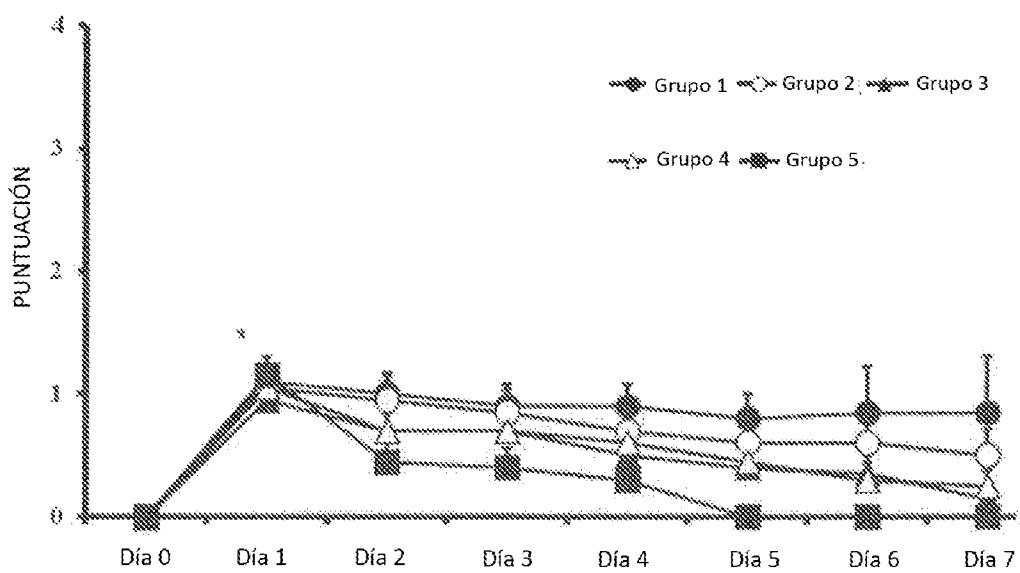
[Figura 4]



[Figura 5]



[Figura 6]



[Figura 7]

