FORMULACIÓN ESTERILIZADA POR CALOR QUE COMPRENDE QUITOSÁN Y PROCESO PARA PREPARACIÓN DE LA MISMA

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a una nueva composición que comprende quitosán que forma una solución clara, viscosa y estable a un pH que se acerca pH neutro después de la esterilización térmica, y a un proceso para producir el mismo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El quitosán se conoce como un derivado de la quitina obtenido por N-desacetilación alcalina parcial a sustancial de la quitina también llamada poli (N-acetil-D-glucosamina), que es un biopolímero de origen natural.

El quitosán contiene grupos de amina libre ($-NH_2$) y grupos acetilo y puede caracterizarse en cuanto a la proporción de unidades de N-D-glucosamina-acetilo y las unidades de D-glucosamina, y se expresa como el grado de desacetilación (DD) del polímero quitina totalmente acetilado.

Los parámetros de quitosán influyen en importantes propiedades tales como la solubilidad y viscosidad son el grado de desacetilación (DD) que puede ser entendido como que

representa el porcentaje de monómeros desacetilados y el peso molecular medio (MW).

Se sabe que el quitosán es biodegradable, biocompatible, bioadhesivo, bacterioestático, y además es capaz de promover la curación de heridas, la absorción del fármaco, y la reconstrucción de tejidos. Debido a sus propiedades intrínsecas mencionadas anteriormente, el quitosán ha encontrado numerosas aplicaciones cosméticas y farmacéuticas, por ejemplo aplicaciones oftálmicas, en medicina regenerativa, o para la cicatrización de heridas.

Por lo tanto, teniendo en cuenta las propiedades ventajosas de quitosán y sus numerosas aplicaciones, ha habido muchos intentos de producir composiciones estériles y estables que comprenden quitosán.

El documento WO 97/007139 describe un proceso para la esterilización de una composición de polisacárido que contiene quitosán insoluble en agua sin degradar sustancialmente el polisacárido. En este proceso, primero se dispersa en agua el quitosán insoluble en agua, a continuación se esteriliza bajo vapor de alta presión para formar una suspensión de quitosán con un pH igual o superior a aproximadamente 7. Las partículas de quitosán en suspensión de dicha suspensión se disolvió finalmente en un ácido aséptico

para disminuir el pH final y formar una solución de quitosán esterilizado.

Jarry et al. 2002, Chem. Pharm. Bull, 50 (10): 1335-1340 describe una composición que contiene una base libre de quitosán disuelto en HCl y glicerol, que tiene un pH final de aproximadamente 5.25 después de tratamiento en autoclave. La adición de glicerofosfato a esta solución aumenta el pH a aproximadamente 7.14 y produce una solución turbia (presencia de precipitados).

A pesar del desarrollo de composiciones estériles que comprenden quitosán, hay una continua necesidad de mejorar aún más las propiedades de composiciones de quitosán conocidas, en particular, para proporcionar formulaciones acuosas que contienen quitosán que tiene un pH cercano al pH neutro, que son estables, claras y viscoso después de la esterilización por calor y que son adecuados para uso farmacéutico.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se dirige a un proceso para preparar una composición esterilizada al calor que comprende quitosán y glicerol que se forma una solución clara y viscosa a un pH cercano al pH neutro después de la esterilización por calor, así como a composiciones que pueden obtenerse mediante dicho proceso. En particular, la presente invención se refiere

al descubrimiento inesperado de que la solubilización de un quitosán insoluble en agua (quitosán de amina) antes de la esterilización térmica de acuerdo con un proceso de la invención evita la formación de agregados y permite la preparación de soluciones transparentes adecuados para uso oftálmico. De acuerdo con un aspecto particular de la invención, es ventajoso para evitar la formación de agregados en una solución que contiene un quitosán insoluble en agua (quitosán de amina) antes de la esterilización térmica desde la esterilización térmica de los agregados ya formados hacen que la eliminación de esos agregados difíciles, lentos y costosos para lograr. Un primer aspecto de la invención se refiere a un proceso para la preparación de una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicha composición es una solución clara y viscosa, a un pH comprendido entre 6 y 7.5, en particular entre 6 y 7, en donde dicho proceso comprende las siguientes etapas:

(i) solubilizar quitosán que tiene un peso molecular medio que varía de 10 kDa a 250 kDa y un grado de desacetilación superior al 60% en una solución acuosa de ácido débil que comprende un grupo carboxílico;

(ii) agregar glicerol;

(iii) ajustar el pH a un valor de pH comprendido entre 6 y 7.5 por adición de una solución acuosa de base débil; y

(iv) esterilizar vapor;

formando de este modo una composición esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol que es una solución transparente y viscoso a un pH comprendido entre 6 y 7.5.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol obtenible por el proceso de preparación descrito con la presente, y en particular a una composición farmacéutica que comprende dicha composición acuosa esterilizada al calor y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente del mismo.

Un tercer aspecto de la invención proporciona una composición acuosa esterilizada al calor que comprende un quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicha composición tiene un pH comprendido entre 6 y 7.5, y forma una solución clara y viscosa.

En un cuarto aspecto, una composición tal como se describe la presente es para uso como un medicamento, en particular en una composición oftálmica.

Un quinto aspecto de la invención se refiere a una composición como se describe la presente para uso en el tratamiento del síndrome del ojo seco, infecciones bacterianas síndrome de Sjogren en la superficie del ojo o estructuras anteriores relacionadas del ojo.

Un sexto aspecto de la invención proporciona una composición como se describe la presente para usarse en el tratamiento de una enfermedad artrítica.

Un séptimo aspecto de la invención se refiere al uso de una composición como se describe la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del síndrome del ojo seco, el síndrome de las infecciones bacterianas de Sjogren en la superficie del ojo o estructuras anteriores relacionadas del ojo.

Un octavo aspecto de la invención proporciona el uso de una composición como se describe la presente para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad artrítica.

Un noveno aspecto de la invención se refiere además a un método para prevenir y/o tratar el síndrome del ojo seco, el síndrome de las infecciones bacterianas de Sjogren en la superficie del ojo o estructuras anteriores relacionadas causadas por bacterias sensibles a quitosán, y/o de una enfermedad artrítica, que comprende administrar, en un sujeto

en necesidad del mismo, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición como se describe con la presente.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: perfil reológico de la composición que comprende 0.5% de quitosán y glicerol de acuerdo con el Ejemplo 2 antes de (1) y después de esterilización por calor (2).

Figura 2: perfil reológico de la composición que comprende 1% de quitosán y glicerol de acuerdo con el Ejemplo 6 anterior (1) y después de esterilización por calor (2).

Figura 3: propiedades mucoadhesivas de una composición de la invención basada en el tamaño de partícula (A) y las mediciones de turbidez (B) como se describe en el Ejemplo 8, la comparación de una formulación de la invención que comprenden 0.5% de quitosán y glicerol de acuerdo con el ejemplo 2 en presencia de mucina (3) con una solución de ácido hialurónico en presencia de mucina (2) y una solución de mucina (1).

Figura 4: perfil reológico de la composición que comprende 2% de quitosán y glicerol de acuerdo con el ejemplo 7 antes de (1) y después (2) de esterilización por calor.

Figura 5: perfil reológico de la composición que comprende 2% de quitosán y glicerol de acuerdo con el Ejemplo 10 anterior (1) y después de esterilización por calor (2).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

El quitosán es un polisacárido lineal compuesto de D-glucosamina β-(1-4)-vinculada distribuido al azar (unidad desacetilada) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada). Se puede obtener por desacetilación de parcial a sustancial de la quitina también llamada poli (N-acetil-D-glucosamina), que es un biopolímero natural que se encuentra en los mariscos y hongos, típicamente mediante el tratamiento de camarones y otras conchas de crustáceos o de la pared celular de hongos con el hidróxido de sodio alcalino. Alternativamente, el quitosán se puede extraer quitosán de origen natural presente en la pared celular de los hongos, tales como géneros Mucor, Absidia y Rhizopus. De acuerdo con un aspecto particular, el quitosán de la invención es de origen fúngico.

El término "grado de desacetilación" ("DD") que se aplica a una muestra de quitosán significa la cantidad media relativa de unidades de D-glucosamina sobre el total de cantidades promedio de unidades de N-acetil-D-glucosamina y unidades de D-glucosamina presentes en la cadena macromolecular de la muestra de quitosán.

Se pueden usar varios métodos para determinar el grado de desacetilación (DD) de quitosán. Estos métodos incluyen ensayo de ninhidrina (Curotto y Aros, 1993, Analytical Biochemistry, 211 (2): 240-241), espectroscopia infrarroja (IR) (Brugnerotto et al 2001, Polymer, 42 (8): 3569 a 3580), valoración potenciométrica linear (LPT) (Baldzs y Sipos, 2007, Carbohydrate Research, 342 (1): 124-130), la espectroscopia de dicroísmo circular (Domard 1987, International Journal of Biological Macromolecules, 9 (6): 333-336), titrimetría de bromuro de hidrógeno (Baxter et al., 1992, International Journal of Biological Macromolecules, 14 (3): 166-169), GPC (Aiba, 1986, International Journal of Biological Macromolecules, 8 (3): 173-176), espectroscopía ultravioleta (UV) (Tan et al., 1998, Talanta, 45 (4): 713-719), espectroscoppía de resonancia magnética nuclear (NMR) (Zhang et al., 2005, Carbohydrate Research, 340 (11): 1914-1917), determinacio´n enzimática (Nanjo et al., 1991, Analytical Biochemistry, 193 (2): 164-167) y análisis elemental (Gupta and Jabrail, 2006, Carbohydrate Polymers, 66 (1): 43-54). El término "grado de acetilación" ("DA") se refiere a la cantidad promedio relativo de unidades de N-acetil-D-glucosamina sobre el total de cantidades medias de unidades de N-acetil-D-glucosamina y unidades de D-glucosamina presentes en la cadena macromolecular de la muestra de quitosán.

El término ácido "débil" es bien conocido por la persona experta e indica un ácido que se ioniza parcialmente en solución. Los ácidos débiles de acuerdo con la invención incluyen ácido láctico, ácido glucónico, y ácido succínico, ácido sórbico y ácido cítrico. Los ácidos débiles de acuerdo con la invención incluyen además ácido galáctico.

El término base "débil" es bien conocido por la persona experta e indica una base que se ioniza parcialmente en solución. Las bases débiles de acuerdo con la invención incluyen succinato de sodio, lactato de sodio, sorbato de potasio y gluconato de potasio.

El término "esterilización a vapor" de acuerdo con la invención indica condiciones de esterilización de acuerdo con las directrices de la Farmacopea Europea, tales como la esterilización en autoclave de acuerdo con la misma.

"Síndrome del ojo seco" también puede ser llamado "ojo seco" o "queratoconjuntivitis seca" (KCS) o "enfermedad de la superficie ocular". El síndrome de ojo seco puede resultar en la ruptura de la superficie ocular, causando una variedad de síntomas y signos y la interferencia con la calidad de vida. Una persona con el síndrome de ojo seco puede experimentar sensación de sequedad, cuerpo extraño/vaporoso, ardor o picor, enrojecimiento de los ojos (conjuntivitis), visión borrosa, sensación de cuerpo extraño, y sensibilidad a

la luz. El síndrome de ojo seco generalmente da como resultado de la disminución de la producción de lágrimas, la evaporación excesiva de lágrimas, y una anormalidad en la producción de moco o lípidos que se encuentran normalmente en la capa de desgaste, o una combinación de estos.

El término "blefaritis" designa la inflamación de los márgenes de los párpados que pueden ser aguda (ulcerativa o no ulcerativa) o crónica (disfunción de las glándulas meibomianas, blefaritis seborreica). Los síntomas y signos incluyen picazón y ardor en los márgenes de los párpados con enrojecimiento y edema. La blefaritis ulcerosa aguda es generalmente causada por una infección bacteriana (generalmente estafilococos) del borde del párpado en los orígenes de las pestañas; los folículos de las pestañas y las glándulas meibomianas también están involucradas. La blefaritis ulcerosa aguda también puede ser debido a un virus (por ejemplo, herpes simplex, varicela zoster). La blefaritis ulcerativa aguda es generalmente causada por una reacción alérgica que involucra la misma zona (por ejemplo blefarodermatitis atópica y blefaritis alérgica estacional, que causan picazón intensa, frotando, y una erupción, o póngase en contacto con la sensibilidad en el caso de dermatoblefaroconjuntivitis). La blefaritis crónica es una inflamación no infecciosa de causa desconocida. Las glándulas meibomianas en los párpados produce lípidos (meibomio) que

reducen la evaporación lagrimal mediante la formación de una capa de lípidos en la parte superior de la capa de lágrima acuosa. En disfunción de las glándulas meibomianas, la composición lipídica es anormal, y conductos de las glándulas y los orificios puede obstruirse con tapones duros, cerosas. La formación de colonias bacteriana secundaria a menudo se produce en las escalas que se desarrollan en el borde del párpado. Las glándulas meibomianas pueden llegar a ser obstruida. La mayoría de los pacientes con disfunción de las glándulas meibomianas o blefaritis seborreica han aumentado evaporación de las lágrimas y la queratoconjuntivitis seca secundaria.

El término "enfermedades o trastornos artríticos" designa la presente una familia compleja de trastornos músculo-esqueléticos que consta de más de 100 enfermedades o condiciones diferentes que destruyen las articulaciones, huesos, músculos, cartílagos y otros tejidos conectivos, dificultando o detener el movimiento físico. Se designa más específicamente las condiciones que causan la inflamación o daño de las articulaciones, los músculos y otros tejidos. Este término incluye la osteoartritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis juvenil.

El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un soporte compuesto de un material que no es biológicamente o de otra manera indeseable.

El término "vehículo" se refiere a cualquiera de los componentes presentes en una formulación farmacéutica que no sea el agente activo y por lo tanto incluye diluyentes, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, cargas, agentes colorantes, agentes humectantes o agentes emulsionantes, agentes tamponantes del pH, conservadores y similares.

El término "tratamiento" como se usa en el presente documento cubre cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, particularmente un humano, e incluye: (a) prevenir la enfermedad se produce en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero aún no ha sido diagnosticado que la tenga; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; o aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad y/o sus síntomas o condiciones.

El término "eficacia" de un tratamiento o proceso de acuerdo con la invención se puede medir sobre la base de los cambios en el curso de la enfermedad o condición en respuesta a un uso o un método de acuerdo con la invención. Por ejemplo, la eficacia de un tratamiento del síndrome del ojo seco de acuerdo con la invención se puede medir por su impacto en la sequedad ocular, sensación de cuerpo extraño/picazón,

sensación vaporosa, ardor o picor, enrojecimiento de los ojos, visión borrosa, sensación de cuerpo extraño, y sensibilidad a la luz, tiempo de ruptura lagrimal (TRL), tinción con fluoresceína, la medición de la osmolaridad lagrimal.

El término "cantidad eficaz" como se usa en la presente descripción se refiere a una cantidad de una composición de acuerdo con la invención, o una formulación farmacéutica de los mismos, que provoca una reducción detectable de los síntomas de la enfermedad en un sujeto que está siendo administrada dicha composición, estos síntomas pueden incluir, por ejemplo, la sequedad del ojo, sensación arenosa/picazón o sensación vaporosa, ardor o picor, enrojecimiento de los ojos, visión borrosa, sensación de cuerpo extraño, y sensibilidad a la luz en el caso del síndrome de ojo seco, o una detectables reducción de la inflamación o daño de las articulaciones o los músculos en el caso de una enfermedad artrítica.

El término "sujeto" como se usa en la presente descripción, se refiere a los mamíferos. Para ejemplos, mamíferos contemplados por la presente invención incluyen humanos, primates, animales domésticos tales como ganado vacuno, ovejas, cerdos, caballos roedores de laboratorio y similares.

Proceso de preparación de acuerdo con la invención

Un primer aspecto de la invención proporciona un proceso para preparar una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicha composición es una solución transparente y viscosa a un pH cercano al pH neutro, por ejemplo comprendido entre 6 y 7.5, en donde dicho proceso comprende las siguientes etapas:

(i) solubilizar quitosán que tiene un peso molecular medio que varía de 10 kDa a 250 kDa y un grado de desacetilación superior al 60% en una solución acuosa de ácido débil que comprende un grupo carboxílico;

(ii) agregar glicerol;

(iii) ajustar el pH cerca de pH neutro, por ejemplo, a un pH comprendido entre 6 y 7.5, por adición de una solución acuosa de base débil; y

(iv) esterilización por vapor;

formando de este modo una composición esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol que es una solución transparente y viscosa a dicho pH.

En una modalidad particular de la invención, se proporciona un proceso como se describe anteriormente para la preparación de una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol, en donde, en la etapa (i), la relación molar entre el grupo carboxilo (-

COOH) de dicha ácido débil y el grupo amina ($-H_2$) de dicho quitosán está comprendida entre 1: 0.9 y 1: 1.1, y en particular es de aproximadamente 1: 1 o 1: 1.05.

La concentración de grupo amino ($-H_2$) de dicho quitosán depende de DD del quitosán. Por ejemplo, para un quitosán que tiene un DD de 65 mol (%), hay 65 mol (%) del grupo de amina ($-H_2$) que puede reaccionar con el grupo carboxilo de dicho ácido débil. El 35 molar (%) restante corresponde al grupo de acetilo ($-COCH_3$) de quitosán.

Por ejemplo, en una modalidad particular del proceso de acuerdo con la invención, en la etapa (i), un quitosán que tiene un peso molecular de 173 kDa y un grado de acetilación del 35% (mol) se solubiliza a una concentración final de 0.5% (p/p) en una solución acuosa de ácido láctico, como ácido débil, a una concentración final de 0.175% (p/p).

Sin estar vinculado a ninguna teoría particular, los inventores de la presente invención observaron que una relación molar entre el grupo carboxilo (-COOH) de dicho ácido débil y el grupo amina ($-H_2$) de dicho quitosán en el intervalo indicado la presente mejora la solubilización del quitosán en la solución acuosa del ácido débil y mejora la estabilidad de la composición de la invención.

En una modalidad particular del proceso para preparar una composición esterilizada al calor que comprende quitosán y

glicerol de acuerdo con la invención, el quitosán solubilización se lleva a cabo a temperatura ambiente mediante agitación.

En una modalidad particular del proceso para preparar una composición esterilizada al calor que comprende quitosán y glicerol de acuerdo con la invención, dicho ácido débil de la etapa (i) se selecciona entre ácido láctico, ácido glucónico, y ácido succínico, ácido sórbico, ácido cítrico y/o dicha base débil de la etapa (iii) se selecciona entre succinato de sodio, lactato de sodio, sorbato de potasio y gluconato de potasio.

En otra modalidad particular, se proporciona un proceso para preparar una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicha composición esterilizada es una solución transparente y viscosa a un pH comprendido entre 6 y 7.5, en donde dicho proceso comprende las siguientes etapas:

(i) solubilizar quitosán que tiene un peso molecular medio que varía de aproximadamente 150 a aproximadamente 180 kDa y un grado de desacetilación superior al 60% (mol) tal como entre 60% y 75% (mol) en una solución acuosa de ácido láctico, en donde la relación molar entre el grupo carboxilo (-COOH) de dicha ácido débil y el grupo amina ($-H_2$) de dicho quitosán está comprendida entre 1: 0.9 y 1: 1.1, incluyendo aproximadamente 1: 1 o 1: 1.05;

(ii) agregar glicerol;

(iii) ajustar el pH a un valor comprendido entre 6 y 7.5 por adición de una solución acuosa de succinato de sodio; y

(iv) tratar en autoclave a 121 °C durante 15 min;

formando de este modo una composición esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol que es una solución clara y viscosa.

En una modalidad particular adicional de la invención, se proporciona un proceso como se describe anteriormente para la preparación de una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol, en donde:

en la etapa (i), dicho quitosán está presente a una concentración comprendida entre 0.05 y 3% (p/p), en particular entre 0.3 y 0.75% (p/p), más particularmente de aproximadamente 0.5% (p/p), y dicho ácido débil es ácido láctico presente en una concentración comprendida entre 0.12% y 0.22% (p/p), en particular entre 0.16% y 0.19%) (p/p), en donde la relación molar entre el grupo carboxilo (-COOH) de dicho ácido débil y el grupo amino ($-H_2$) de dicho quitosán es de aproximadamente 1: 1.05, en la etapa (ii), dicho glicerol está presente a una concentración comprendida entre 0.4 y 1%) (p/p), en particular entre 0.4 y 0.6% (p/p), o alrededor de 0.4% (p/p), tales como

0.36% (p/p), 0.37% (p/p), 0.38% (p/p), 0.39% (p/p), 0.40% (p/p), 0.41% (p/p), 0.42% (p/p), 0.43% (p/p), 0.44% (p/p) o 0.45% (p/p), o alrededor de 0.5% (p/p), tales como 0.46% (p/p), 0.47% (p/p), 0.48% (p/p), 0.49% (p/p), 0.50% (p/p), 0,51% (p/p), 0.52% (p/p), 0.53% (p/p), 0.54% (p/p), 0.55% (p/p), en la etapa (iii) dicho base débil es sodio succinato presente en una concentración comprendida entre 1.0 y 1.7% (p/p), en particular aproximadamente 1.4% (p/p).

En una modalidad adicional más de la invención se proporciona un proceso para preparar una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicha composición es una solución transparente y viscosa a un pH comprendido entre 6 y 7.5, en donde dicho proceso comprende las etapas de:

(i) solubilizar el quitosán que tiene un peso molecular medio entre 150'000- 180’000 Da y un grado de desacetilación comprendido entre 65% (mol) y 70% (mol), a una concentración de aproximadamente 0.5% (p/p) en una solución acuosa de ácido láctico en una concentración comprendida entre 0.12 y 0.22% (p/p) o aproximadamente 0.16%, aproximadamente el 0.17%, aproximadamente el 0.18%, o aproximadamente 0.19% (p/p);

(ii) agregar glicerol a una concentración final comprendida entre 0.4 y 1% (p/p), en particular entre 0.4 y 0.6% (p/p), o alrededor de 0.4% (p/p) seca como 0.36% (p/p)

0.37% (p/p), 0.38% (p/p), 0.39% (p/p), 0.40% (p/p), 0.41% (p/p), 0.42% (p/p), 0.43% (p/p), 0.44% (p/p) o 0.45% (p/p), o alrededor de 0.5% (p/p) tal como 0.46% (p/p), 0.47% (p/p), 0.48% (p/p), 0.49% (p/p), 0.50% (p/p), 0.51% (p/p), 0.52% (p/p), 0.53% (p/p) 0.54% (p/p), 0.55% (p/p);

(iii) ajustar el pH a aproximadamente 6.5 por adición de una solución acuosa de succinato sódico a una concentración final de aproximadamente 1.40% (p/p);

(iv) tratar en autoclave a 121 °C durante 15 min;

formando de este modo una composición esterilizada por calor que es una solución clara y viscosa (por ejemplo, una viscosidad de aproximadamente 18 mPas.s).

En una modalidad adicional del proceso de acuerdo con la invención, el quitosán de la etapa (i) es una forma de amina del quitosán.

En una modalidad adicional del proceso de acuerdo con la invención, el quitosán de la etapa (i) es una base de quitosán.

En una modalidad adicional del proceso de acuerdo con la invención, el quitosán de la etapa (i) es de origen animal.

En una modalidad adicional del proceso de acuerdo con la invención, el quitosán de la etapa (i) es de origen fúngico, en particular, de Agaricus bisporus.

En una modalidad adicional del proceso de acuerdo con la invención, el quitosán de la etapa (i) es una amina de quitosán de origen fúngico, en particular, de Agaricus bisporus.

En una modalidad adicional más, el proceso de acuerdo con la invención puede comprender además una etapa de pululano solubilizante, en particular, el pululano tiene un PM que varía

10-3'000 kDa, en una solución acuosa de ácido débil tal como ácido láctico, antes de las etapas de añadir glicerol, ajustando el pH y el tratamiento en autoclave, formando de este modo una composición esterilizada al calor que comprende quitosán y pululano que es un claro y viscoso solución a un pH comprendido entre 6 y 7.5, en particular entre 6 y aproximadamente 7. En una otra modalidad adicional, el proceso de acuerdo con la invención comprende además una etapa preliminar de proporcionar un pululano solubilizado, en particular, el pululano tiene un PM que van desde aproximadamente 10 a aproximadamente 3'000 kDa, en una solución acuosa de ácido débil tal como ácido láctico, en la que el quitosán se disuelve en el paso (i) antes de las etapas de añadir glicerol.

En una modalidad particular, la composición esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y

glicerol obtenido por el proceso de acuerdo con la invención es una solución estable, transparente, incolora, y viscoso.

Composiciones de la invención

En otro aspecto de la invención se proporciona una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol obtenible por el proceso de preparación descrito con la presente descripción.

Dicha composición es una solución transparente y viscosa, a un pH comprendido entre 6 y 7.5, en particular, a un pH comprendido entre 6 y aproximadamente 7.

En una modalidad ventajosa, dicha composición es estable, lo que significa que el polímero de quitosán no se degrada sustancialmente y que la solución mantiene su viscosidad y el aspecto después de la esterilización y/o de almacenamiento de calor.

En una modalidad particular, dicha composición comprende un quitosán que tiene un peso molecular medio (MW) que varía de aproximadamente 150 a aproximadamente 180 kDa y un grado de desacetilación (DD) comprendido entre 60% (mol) y 75% (mol).

En otra modalidad, dicha composición comprende un quitosán de origen fúngico tal como de Agaricus bisporus.

En otra modalidad, dicha composición comprende quitosán presente en la forma de amina. En una todavía otra modalidad, dicha composición comprende una base de quitosán.

En una modalidad específica, la composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol obtenible por el proceso de preparación descrito adjunto presenta al menos una de las siguientes características:

- dicha composición tiene una viscosidad comprendida entre 10 y 500 mPa.s.

-dicha composición tiene una osmolalidad comprendida entre 150 y 350 mOsm/kg.

-dicha composición exhibe un comportamiento reológico no newtoniano,

-dicha composición tiene actividad antimicrobiana y/o actividad anti-lipasa.

En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición acuosa esterilizada al calor que comprende un quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicha composición tiene un pH comprendido entre 6 y 7.5, y forma una solución clara y viscosa a dicho pH, en particular, después de la esterilización térmica.

En una modalidad particular, la composición de acuerdo con la invención forma una solución clara significado

que sustancialmente sin partículas visibles en suspensión están presentes en dicha composición.

En una modalidad particular, la composición de acuerdo con la invención es estable después de la esterilización por calor, lo que significa que el polímero de quitosán no se degrada sustancialmente después de la esterilización y/o almacenamiento.

En un aspecto particular, la invención proporciona una composición acuosa esterilizada al calor que comprende un quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicho quitosán tiene un peso molecular medio que varía de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 250 kDa y un grado de desacetilación superior al 60%, y en donde dicha composición tiene un pH comprendido entre 6 y 7.5, en particular entre 6 y aproximadamente 7, y forma una solución estable, clara y viscosa a dicho pH después de la esterilización térmica.

En una modalidad particular, la composición de acuerdo con la invención es una composición farmacéutica que comprende una composición acuosa esterilizada al calor que comprende un quitosán solubilizado y glicerol como se describe la presente y al menos un portador farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente del mismo.

En una modalidad particular adicional, la composición acuosa esterilizada al calor de acuerdo con la invención comprende además un pululano.

En una modalidad particular adicional, la composición acuosa esterilizada al calor de acuerdo con la invención comprende además un pululano tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 10 a aproximadamente 3'000 kDa.

En una modalidad particular adicional, la composición acuosa esterilizada al calor de acuerdo con la invención comprende además un pululano tiene un molecular de aproximadamente 10 kDa.

En una modalidad particular adicional, la composición acuosa esterilizada al calor de acuerdo con la invención comprende además un pululano a una concentración que varía de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 3%.

En un aspecto particular, la composición de acuerdo con la invención es para uso como un medicamento, más particularmente como una composición oftálmica.

En una modalidad particular, la composición acuosa esterilizada al calor de acuerdo con la invención es una composición oftálmica para uso tópico.

En otra modalidad particular, la composición acuosa esterilizada al calor de acuerdo con la invención es una composición intra-articular.

En un aspecto adicional, la invención proporciona el uso de una composición acuosa esterilizada al calor de acuerdo con la invención para la preparación de una formulación farmacéutica, en particular una composición oftálmica o una composición intra-articular. Por lo tanto, otro aspecto particular, se refiere a una composición oftálmica acuosa que comprende un quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicho quitosán tiene un peso molecular medio que varía de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 250 kDa y un grado de desacetilación superior al 60%, y en donde dicha composición tiene un pH comprendido entre 6 y 7.5, y forma una solución clara y viscosa a dicho pH, incluso después de la esterilización térmica.

En una modalidad particular, se proporciona una composición acuosa esterilizada por calor oftálmica que comprende un quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicho quitosán tiene un peso molecular medio que varía de aproximadamente 150 a 180 kDa y un grado de desacetilación (DD) comprendido entre 60% (mol) y 75% (mol).

En una modalidad particular de dicha composición, dicho quitosán está presente en la forma de amina y/o es de origen fúngico tal como de Agaricus bisporus.

En una modalidad particular, dicha composición tiene una viscosidad comprendida entre 10 y 500 mPa.s., una

osmolalidad comprendida entre 150 y 350 mOsm/kg (por ejemplo de aproximadamente 250 a 300 mOsm/kg), y exhibe una reológico no newtoniano el comportamiento, la actividad antimicrobiana y/o actividad anti-lipasa.

De acuerdo con un aspecto particular de la invención se proporciona un proceso o una formulación de la invención en la que el ácido débil es ácido láctico.

De acuerdo con un aspecto particular de la invención se proporciona un proceso o una formulación de la invención en la que el ácido base se selecciona entre succinato de sodio y de sorbato de potasio.

En otra modalidad particular de dicha composición, dicho quitosán está presente en una concentración que varía de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3% (p/p), dicho glicerol está presente en una concentración que varía de 0.2 a 2% (p/p), basado en la composición total. De acuerdo con una modalidad particular, la composición de la invención es una composición oftálmica y glicerol está presente a una concentración que varía de 0.2 a 1% (p/p), basado en la composición total.

En otra modalidad particular de dicha composición, la relación molar entre el grupo carboxilo (-COOH) de dicho ácido débil y el grupo amina ($-H_2$) de dicho quitosán está comprendida entre 1: 0.9 y 1: 1.1, y en particular es de alrededor de 1: 1 o 1: 1.05.

En otra modalidad particular, dicha composición comprende además ácido láctico a una concentración comprendida entre aproximadamente 0.12 y aproximadamente 0.22% (p/p), y succinato de sodio a una concentración comprendida entre 1.0 y 1.7% (p/p).

En una modalidad adicional particular, dicha composición comprende además un polímero seleccionado del grupo que consiste en: a pululano y alginato.

Otro aspecto particular, se refiere a una composición acuosa para inyecciones intra-articulares, que comprende un quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicho quitosán tiene un peso molecular medio que varía de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 250 kDa y un grado de desacetilación superior al 60%, y en donde dicha composición tiene un pH comprendido entre 6 y 7.5, en particular entre 6 y aproximadamente 7, y forma una solución clara y viscosa a dicho pH, incluso después de la esterilización térmica.

En una modalidad de los diferentes aspectos de la invención, el quitosán se usa en la presente invención tiene un peso molecular medio (MW) que varía de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 250 kDa, en particular de aproximadamente 20 kDa a aproximadamente 220 kDa, más particularmente de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 220 kDa, más particularmente de aproximadamente 100 kDa a aproximadamente

220 kDa, aún más particularmente de aproximadamente 140 kDa a aproximadamente 200 kDa, aún más especialmente de aproximadamente 150 a aproximadamente 180 kDa, aún más particularmente de aproximadamente 159 kDa a aproximadamente 175 kDa, o alrededor de 155 kDa, 156 kDa, 157 kDa, 158 kDa, 159 kDa, 160 kDa, 161 kDa, 162 kDa, 163 kDa, 164 kDa, 165 kDa, 166 kDa, 167 kDa, 168 kDa, 169 kDa, 170 kDa, 171 kDa, 172 kDa, 173 kDa, 174 kDa, o 175 kDa.

El peso molecular promedio de quitosán usado en la presente invención se puede determinar por cromatografía de exclusión de tamaño {Nguyen et al., 2009, Carbohydrate Polymer, 75, 528-533).

En otra modalidad, el quitosán usado en la presente invención tiene un grado de desacetilación (DD) superior a 60%, en particular comprendido entre la 60% (mol) y 90% (mol), más particularmente entre 60% (mol) y 80% (mol), todavía más particularmente entre 60% (mol) y 75% (mol), todavía más particularmente entre 65% (mol) y 70% (mol), o alrededor de 65% (mol) o aproximadamente 70% (mol), que corresponde a un grado de acetilación (DA) menor que 40 %, en particular comprendido entre 10% (mol) y 40% (mol), más particularmente entre 20% (mol) y 40% (mol), todavía más particularmente entre 25% (mol) y 40% (mol), todavía más particularmente entre 30%

(mol) y 35% (mol), o alrededor de 30% (mol) o 35% (mol), respectivamente.

En una modalidad adicional, el quitosán es de origen animal, incluyendo crustáceos tales como cangrejos, camarones, placas de hueso de calamar y sepias e insectos.

En una modalidad adicional, el quitosán es de origen fúngico. Los micelios de diversos hongos incluyendo Ascomycetes, Zygomycetes, Basidiomycetes y Deutermoycetes, son fuentes alternativas de quitina y quitosán (Pochanavanich y Suntornsuk, 2002, Lett, en Appl. Microbiol., 35: 17-21). Por ejemplo, tal quitosán comprendido en la composición de la invención puede ser extraída de hongos incluyendo Agaricus bisporus, Agaricus hortensis, Armilla mellea, Aspergillus niger, Auricularia auriculajudae, Gongronella butleri, Lentinula edodes, Mucor rouxii, Pleurotus ostreatus, Pleurotus sajo-caju, Pleurotus eryngii, Trametes versicolor, especialmente de Agaricus bisporus (A. bisporus) también llamado "hongo blanco", por métodos bien conocidos en la técnica tales como un proceso de extracción típico consta de tres pasos: (1) tratamiento alcalino para eliminar la proteína y polisacáridos solubles en álcalis; (2) el reflujo ácido a la quitina y el quitosán separada; y (3) precipitación del quitosán en condiciones alcalinas. La eliminación de proteínas por tratamiento alcalino se realiza con frecuencia con NaOH IN

en 95 °C de 1 a 6 h, o a 121 °C de 0.25 h a 1 h. La separación de quitosán por el tratamiento ácido se lleva a cabo normalmente por 2-10% acético o ácido clorhídrico a 95 °C durante 3-14 h. Los métodos alternativos para la producción de quitosán incluyen el método enzimático descrito en Nwe y otros, 2010, Biopolímeros, Magdy Elnashar Editor, capítulo 7: 135-162.

La composición de acuerdo con la invención comprende ventajosamente un quitosán de origen fúngico exhibe propiedades ventajosas, tales como la ausencia de proteínas animales, una menor variabilidad en términos de peso molecular y grado de desacetilación en comparación con quitosán de origen animal.

Dicha composición de la invención presenta además ventajosamente actividad antimicrobiana, en particular actividad antiestática o bactericida.

Dicha composición de la invención presentan ventajosamente la actividad anti-lipasa.

En otra modalidad particular, la forma de amina del quitosán (quitosán que contiene grupos amino libres ($-H_2$)) se usa en la presente invención.

En otra modalidad particular, la base de quitosán se usa en la presente invención. En una modalidad particular, la composición de la invención tiene un pH comprendido entre 6 y 7.5, en particular entre 6 y aproximadamente 7, más

particularmente entre 6.5 y alrededor de 7, por ejemplo aproximadamente 6.5.

En otra modalidad, la composición de acuerdo con la invención comprende un quitosán a una concentración que varía de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 3% (p/p), basado en la composición total, en particular de aproximadamente 0.2 a aproximadamente 1% (p/p), más especialmente de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 0.75% (p/p), o alrededor de 0.5% (p/p).

Para los fines de la invención, la concentración de quitosán se ajusta de acuerdo con el peso molecular medio y el grado de desacetilación del quitosán usado y de acuerdo con la viscosidad deseada de la composición.

Típicamente, la composición de la invención ha compuesto una viscosidad entre 10 y 500 mPa.s, por ejemplo entre 10 y 100 mPa.s o aproximadamente 20 mPa.s, tales como 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 mPa.s.

Típicamente, la composición de la invención muestra propiedades pseudoplásticas y viscoelásticas.

Estas propiedades hacen que las composiciones de acuerdo con la invención particularmente adaptado para aplicaciones como lágrimas artificiales en aplicaciones oftálmicas y para inyecciones intra-articulares para la medicina regenerativa.

Típicamente, la composición de la invención presenta un comportamiento reológico no newtoniano. Este comportamiento reológico hace que la composición de la invención particularmente apropiada para su uso en aplicaciones oftálmicas, por ejemplo, como lágrimas artificiales para el tratamiento del síndrome del ojo seco.

En una modalidad, la concentración de glicerol en la composición de acuerdo con la invención está comprendida entre 0.2 y 2% (p/p), en particular entre 0.4 y 1% (p/p), más particularmente entre 0.4 y 0.6% (p/p), o alrededor de 0.4% (p/p), tales como 0,36% (p/p), 0.37% (p/p), 0.38% (p/p), 0.39% (p/p), 0.40% (p/p), 0.41% (p/p), 0.42% (p/p), 0.43% (p/p), 0.44% (p/p) o 0.45% (p/p), o alrededor de 0.5% (p/p) seca como 0.46% (p/p), 0.47% (p/p), 0.48% (p/p), 0.49% (p/p), 0.50% (p/p), 0.51% (p/p), 0.52% (p/p), 0.53 % (p/p) 0.54% (p/p), 0.55% (p/p).

En la composición de acuerdo con la invención, el glicerol reduce la pegajosidad de la composición y puede actuar como un protector del quitosán durante la esterilización de vapor. El glicerol también puede actuar como agente osmótico y desempeñar un papel en la osmoprotección de la composición de acuerdo con la invención.

Típicamente, la osmolalidad de la composición de acuerdo con la invención está comprendida entre 150 y 350

mOsm/kg, más particularmente entre 240 y 340 mOsm/kg, por ejemplo sobre 280 o 300 mOsmol/kg.

En una modalidad adicional, la composición de la invención es estable y claro a un pH cerca de pH neutro de 7, por ejemplo a un pH superior a 6, más alto que 6.2, aproximadamente 6.5, mayor que 6.5, aproximadamente 7, o comprendida entre 6.5 y aproximadamente 7.

Una de las ventajas de la composición de acuerdo con la invención es que se forma una solución estable y claro después de tratamiento en autoclave a un pH cercano al pH fisiológico de 7.4, o cerca de pH neutro, sin la necesidad de añadir una base que típicamente conduce a la precipitación de quitosán en el caso de composiciones y procesos de la técnica anterior.

En una modalidad particular, la composición de la invención forma una solución estable, clara y viscosa a dicho pH después de la esterilización térmica incluyendo la esterilización en autoclave, por ejemplo a 121 °C durante 15 min. Más particularmente, la composición de la invención forma una solución estable, transparente, incolora, y viscoso a dicho pH después de la esterilización térmica.

Aplicaciones terapéuticas

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición, en particular una composición oftálmica, tal como se describe la presente para uso en el tratamiento del síndrome del ojo seco, en particular de ojo seco con blefaritis, irritación de los ojos causada por las condiciones ambientales o lentes de contacto, la queratoconjuntivitis sicca, síndrome de Sjogren, las infecciones bacterianas en la superficie del ojo o estructuras anteriores relacionadas causadas por bacterias sensibles al quitosán.

En un todavía otro aspecto de la invención, se proporciona una composición como se describe la presente para su uso en el tratamiento de una enfermedad artrítica incluyendo la osteoartritis, psoriasis y artritis.

Otro aspecto de la invención proporciona el uso de una composición como se describe la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del síndrome de ojo seco, en particular de ojo seco con blefaritis, irritación de los ojos causada por las condiciones ambientales o lentes de contacto, la queratoconjuntivitis sicca, bacteriana síndrome de Sjogren infecciones en la superficie del ojo o estructuras anteriores relacionadas causadas por bacterias sensibles al quitosán.

En un todavía otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de una composición como se describe la

presente para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad artrítica incluyendo osteoartritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis juvenil.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para prevenir y/o tratar el síndrome del ojo seco, incluyendo el síndrome de ojo seco con blefaritis, irritación de los ojos causada por las condiciones ambientales o lentes de contacto, la queratoconjuntivitis sicca, síndrome de infecciones bacterianas de Sjogren en la superficie del ojo o estructuras anteriores relacionadas causadas por bacterias sensibles a quitosán, que comprende administrar, en un sujeto en necesidad del mismo, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición como se describe con la presente. En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para prevenir y/o tratar una enfermedad artrítica incluyendo la osteoartritis, la artritis psoriásica, que comprende administrar, en un sujeto en necesidad del mismo, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición como se describe con la presente descripción.

Modo de administración

Las composiciones de esta invención se pueden administrar en cualquier forma incluyendo, pero no limitados a, vía oral, parenteral, sublingual, transdérmica,

transmucosa, tópica, intra-ocular, o combinaciones de los mismos.

Para aplicaciones oftálmicas, un modo apropiado de administración de la composición de acuerdo con la invención es una administración tópica, por ejemplo, como las lágrimas o intravítrea artificiales y administraciones subconjuntivales. Para aplicaciones terapéuticas en el tratamiento de una enfermedad artrítica, inyecciones intra-articulares constituyen un modo apropiado de administración de la composición de acuerdo con la invención.

De acuerdo con una modalidad particular, las composiciones de los Ejemplos se pueden envasar en unidades monodosis o en recipientes multidosis sin conservadores apropiados. Por ejemplo, para aplicaciones oftálmicas, la composición del ejemplo se puede administrar por vía tópica por instilación en el ojo en forma de gotas conveniente.

Combinación

De acuerdo con la invención, una composición de acuerdo con la invención puede administrarse solo o en combinación con un co-agente útil en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad a tratar.

Por ejemplo, para el tratamiento del síndrome del ojo seco con blefaritis, una composición de acuerdo con la

invención que comprende quitosán y glicerol puede además ser administrado con un antibiótico, un agente anti-inflamatorio, un producto anti-glaucoma (prostaglandina, un bloqueador beta-adrenérgico) un producto anti-alérgico.

Por ejemplo, una composición de acuerdo con la invención que comprende quitosán y glicerol adicional puede ser administrada con un agente formador de gel, tal como alginato o un pululano.

La invención abarca la administración de la composición que comprende quitosán y glicerol de acuerdo con la invención en la que dichos agentes se administran a un antes de, secuencialmente individuo simultáneamente o con otros regímenes terapéuticos o compañeros de agentes útiles en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad de interés, en una cantidad terapéuticamente eficaz. Las composiciones que comprenden quitosán y glicerol de acuerdo con la invención que se administran simultáneamente con dichos co-agentes se pueden administrar en la misma o diferentes composiciones y en las mismas o diferentes vías de administración.

Las referencias citadas en este documento se incorporan por referencia en su totalidad. La presente invención no está limitada en su alcance por las modalidades específicas descritas en el presente documento, que están destinadas como ilustraciones de aspectos individuales de la

invención, y métodos y componentes funcionalmente equivalentes están dentro del alcance de la invención. De hecho, varias modificaciones de la invención, además de las mostradas y descritas en el presente documento serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior y las figuras adjuntas. Tales modificaciones están destinadas a estar dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

La invención que se ha descrito, los siguientes ejemplos se presentan a modo de ilustración, y no de limitación.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Producción de una composición que comprende quitosán (0.5%) y glicerol de acuerdo con la invención

0.500 g de quitosán de origen fúngico que tiene un peso molecular medio de 173 kDa y un grado de acetilación del 35% (mol) se solubiliza en 55 g de solución acuosa que contiene 0.194 g de ácido láctico (90%), a temperatura ambiente bajo magnético emocionante. Después de la solubilización completa

de quitosán, 0.625 g de glicerol 85% y 42.3 g de solución acuosa que contiene 1.4 g de succinato de sodio se añaden a la solución de quitosán para incrementar el pH a aproximadamente 6.5 y la osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg. Se añade agua a un volumen final de 100 g. La solución se trata en autoclave a continuación a 121 °C durante 15 min. La solución acuosa resultante contiene 0.5% de quitosán, 0.175 (p/p) de ácido láctico 1.40%) (p/p) de succinato de sodio, 0.531%) (p/p) de glicerol tiene una viscosidad de 18 mPas.s, un pH de 6.5, y una osmolalidad de 304 mOsmol/kg.

Ejemplo 2: Producción de una composición que comprende quitosán (0.5%) y glicerol de acuerdo con la invención

0.500 g de quitosán de origen fúngico que tiene un peso molecular de 172 kDa y un grado de acetilación de 32 mol (%) se solubiliza en 55 g de solución acuosa que contiene 0.2045 g de ácido láctico (90%>), a temperatura ambiente bajo magnético emocionante. Después de la solubilización completa de quitosán, 0.625 g de glicerol 85%> y 42.3 g de solución acuosa que contiene 1.4 g de succinato de sodio se añaden a la solución de quitosán para incrementar el pH a aproximadamente 6.5 y la osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg. Se añade agua a un volumen final de 100 g. La solución se trata en

autoclave a continuación a 121 °C durante 15 min. El perfil reológico de la solución se estudió antes y después de la esterilización por calor. La solución acuosa resultante contiene 0.5% de quitosán, 0.184%) (p/p) de ácido láctico, 1.40%) (p/p) de succinato de sodio, 0.531%) (p/p) de glicerol, y tiene una viscosidad de 20 mPas.s, un pH de 6.5, y una osmolalidad de 318 mOsmol/kg antes de la esterilización por calor. Después del tratamiento con autoclave, la solución resultante es transparente, viscoso y tiene una viscosidad de 18 mPas.s, un pH de 6.4, y una osmolalidad de 322 mOsmol/kg. Como se muestra en la Figura 1, el perfil reológico de una composición de acuerdo con la invención que comprende 0.5% de quitosán antes y después de la esterilización por calor muestran que el glicerol protege la formulación de una mayor disminución de la viscosidad dinámica durante la esterilización por calor.

Ejemplo 3: Producción de una composición que comprende quitosán (0.4%), glicerina, y un pululano, de acuerdo con la invención

1.00 g de pululano (10 kDa) se solubiliza en 55 g de solución acuosa que contiene 0.194 g de ácido láctico (90%), a temperatura ambiente bajo agitación magnética. Después de la disolución completa de pululano, se solubiliza 0.400 g de

quitosán de origen fúngico que tiene un peso molecular medio de 159 kDa y un grado de acetilación de 31 mol (%). Después de la solubilización completa de quitosán, se añaden 0.625 g de glicerol 85%> y 42.3 g de solución acuosa que contiene 1.4 g de succinato de sodio a la solución de quitosán para incrementar el pH a aproximadamente 6.5 y la osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg. Se añade agua a un volumen final de 100 g. La solución se trata en autoclave a continuación a 121 °C durante 15 min. La solución acuosa resultante contiene 0.4% de quitosán, 1.0% de pululano, 0.175%) (p/p) de ácido láctico, 1.40% (p/p) de succinato de sodio, 0.531%) (p/p) tiene una viscosidad de 44 mPas.s, un pH de 6.5, y una osmolalidad de 320 mOsmol/kg.

Ejemplo 4: Producción de una composición que comprende quitosán (0.3%), glicerina, y un pululano, de acuerdo con la invención

1.00 g de pululano se solubiliza en 55 g de solución acuosa que contiene 0.194 g de ácido láctico (90%)), a temperatura ambiente bajo agitación magnética. Después de la

disolución completa de pululano, se solubiliza 0.300 g de quitosán de origen fúngico que tiene un peso molecular de 159 kDa y un grado de acetilación de 31 mol (%). Después de la solubilización completa de quitosán, se añaden 0.625 g de glicerol 85% y 42.3 g de solución acuosa que contiene 1.4 g de succinato de sodio a la solución de quitosán para incrementar el pH a aproximadamente 6.5 y la osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg. Se añade agua a un volumen final de 100 g. La solución se trata en autoclave a continuación a 121 °C durante 15 min. La solución acuosa resultante contiene 0.3% de quitosán, 1.0% de pululano, 0.175%) (p/p) de ácido láctico, 1.40% (p/p) de succinato de sodio, 0,531% (p/p) tiene una viscosidad de 27 mPas.s, un pH de 6.6, y una osmolalidad de 318 mOsmol/kg.

Ejemplo 5: Producción de una composición que comprende quitosán (0.4%), glicerina, y un pululano, de acuerdo con la invención

0.50 g de pululano (10 kDa) se solubiliza en 55 g de solución acuosa que contiene 0.194 g de ácido láctico (90%), a temperatura ambiente bajo agitación magnética. Después de la

disolución completa de pululano, 0.400 g de quitosán de origen fúngico que tiene un peso molecular medio de 159 kDa y un grado de acetilación de 31 mol (%) es solubilizado. Después de la solubilización completa de quitosán, se añaden 0.625 g de glicerol 85% y 42.3 g de solución acuosa que contiene 1.4 g de succinato de sodio a la solución de quitosán para incrementar el pH a aproximadamente 6.5 y la osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg. Se añade agua a un volumen final de 100 g. La solución se trata en autoclave a continuación a 121 °C durante 15 min. La solución acuosa resultante contiene 0.4%> de quitosán, 0.5%> de pululano, 0.175%) (p/p) de ácido láctico, 1.40% (p/p) de succinato de sodio, 0.531%) (p/p) tiene una viscosidad de 33 mPas.s, un pH de 6.5, y una osmolalidad de 325 mOsmol/kg.

Ejemplo 6: Producción de una composición que comprende quitosán (1%) y glicerol de acuerdo con la invención

1.0 g de quitosán de origen fúngico que tiene un peso molecular medio de 159 kDa y un grado de acetilación de 31 mol (%) se solubiliza en 55 g de solución acuosa que contiene 0.414g de ácido láctico (90%>), a temperatura ambiente bajo agitación magnética (tiempo de disolución 5h-9h). Después de la solubilización completa de quitosán, 0.625 g de glicerol 85% de O y 42.3 g de solución acuosa que contiene 1.4 g de

succinato de sodio se añaden a la solución de quitosán para incrementar el pH a aproximadamente 6.5 y la osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg. Se añade agua a un volumen final de 100 g. La solución se trata en autoclave a continuación a 121 °C durante 15 min. La solución acuosa resultante contiene 1.0% de quitosán, 0.372%) (p/p ácido láctico), 1.40% (p/p) de succinato de sodio, 0.531%) (p/p) de glicerol, tiene una viscosidad de 73 mPas.s, un pH de 6.4, y una osmolalidad de 307 mOsmol/kg. Como se muestra en la Figura 2, el perfil reológico de una composición de acuerdo con la invención que comprende 1%) quitosán antes y después de la esterilización por calor mostrar que el glicerol protege el quitosán de una mayor disminución de la viscosidad de la formulación durante la esterilización por calor

Ejemplo 7: Producción de una composición que comprende quitosán (2%) y glicerol de acuerdo con la invención

2.0 g de quitosán de origen fúngico que tiene un peso molecular medio de 159 kDa y un grado de acetilación de 31 mol (%) se solubiliza en 55 g de solución acuosa que contiene 0.828 g de ácido láctico (90%), a temperatura ambiente bajo magnético agitación (el tiempo de disolución 5h-9h). Después de la solubilización completa de quitosán, 0.625 g de glicerol 85% de O y 42.3 g de solución acuosa que contiene 1.4 g de succinato

de sodio se añaden a la solución de quitosán para incrementar el pH a aproximadamente 6.5 y la osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg. Se añade agua a un volumen final de 100 g. La solución se trata en autoclave a continuación a 121 °C durante 15 min. La solución acuosa resultante contiene 2.0% de quitosán, 0.744%) (p/p) de ácido láctico, 1.40%> (p/p) de succinato de sodio, 0.531%) (p/p) de glicerol, tiene una viscosidad de 802 mPas.s, un pH de 6.1, y una osmolalidad de 310 mOsmol/kg. Como se muestra en la Figura 4, el perfil reológico de una composición de acuerdo con la invención que comprende 2% de quitosán antes y después de la esterilización por calor muestran que el glicerol protege el quitosán de una mayor disminución de la viscosidad de la formulación durante la esterilización por calor.

Ejemplo 8: propiedades mucoadhesivas

Las propiedades mucoadhesivas se evaluaron in vitro mediante dos métodos, la prueba de tamaño de partícula y de la prueba de turbidez y se compararon con una solución estándar de 0,18% de ácido hialurónico colirio. La prueba de tamaño de partícula señaló la formación de agregados de 1 µm en tamaño entre quitosán de origen fúngico y mucina, indicando mucoadhesión, mientras que no se formaron agregados entre mucina y ácido hialurónico. El mismo resultado se obtuvo

mediante la prueba de turbidez que mostró un aumento importante en la solución de turbidez cuando la formulación de quitosán se mezcló con mucina, mientras que no se observó ningún signo de aumento de la señal de turbidez cuando el ácido hialurónico se mezcla con mucina (Figura 3).

Ejemplo 9: Actividad anti-lipasa

La actividad anti-lipasa se realizó usando la lipasa Ensayo de actividad Kit II de BioVision. El sustrato de la lipasa se añade a la composición que contiene quitosan (0.5%>) y glicerol (0.625%>) en presencia de una sonda (DT B) que cambia el color de incoloro a amarillo dependiendo de la actividad de la lipasa. En presencia de la composición que comprende quitosán de origen fúngico y glicerol, la sonda permanece incolora o ligeramente amarillento que indica que la composición de acuerdo con la invención tiene una actividad anti-lipasa. La actividad anti-lipasa de la composición de la invención puede ser una ventaja adicional para los usos de la invención.

Ejemplo 10: Producción de una composición que comprende quitosán (0.5%) y glicerol de acuerdo con la invención

0.500 g de quitosán de origen animal (Heppe Médico Chitosan, Deutschland) que tiene un peso molecular promedio de entre 100 a 250 kDa y un grado de acetilación de 28 mol (%) se solubiliza en 55 g de solución acuosa que contiene 0.219 g de ácido láctico (90%), a temperatura ambiente bajo agitación magnética. Después de la solubilización completa de quitosán, 0.625 g de glicerol 85% y 42.3 g de solución acuosa que contiene 1.4 g de succinato de sodio se añaden a la solución de quitosán para incrementar el pH a aproximadamente 6.5 y la osmolalidad de aproximadamente 300 mOsmol/kg. Se añade agua a un volumen final de 100 g. La solución se trata en autoclave a continuación a 121 °C durante 15 min. El perfil reológico de la solución se estudió antes y después de la esterilización por calor. La solución acuosa resultante contiene 0.5% de quitosán, 0.197%) (p/p) de ácido láctico, 1.40% (p/p) de succinato de sodio, 0.531%) (p/p) de glicerol, y tiene una viscosidad de 18 mPas.s, un pH de 6.5, y una osmolalidad de 318 mOsmol/kg antes de la esterilización por calor. Después del tratamiento con autoclave, la solución resultante es transparente, viscoso y tiene una viscosidad de 17 mPas.s, un pH de 6.5, y una osmolalidad de 315 mOsmol/kg. Como se muestra en la Figura 5, el perfil reológico de una composición de acuerdo con la invención que comprende 0.5% de quitosán antes y después de la esterilización por calor muestran que el glicerol protege la

formulación de una mayor disminución de la viscosidad dinámica durante la esterilización por calor.

Ejemplo 11: Producción de una composición que comprende quitosán (0.5%) de acuerdo con un proceso de la invención en comparación con otros procesos

La formulación que contiene 0.5% de quitosán de origen fúngico se prepararon usando diferentes procesos, a saber: la comparación del proceso a) todos los excipientes (ácido láctico, succinato de Na, glicerol) se mezclaron, la solución resultante se esterilizó por esterilización térmica y, posteriormente, el quitosán se añadió; proceso de la invención b) quitosán se solubilizó en ácido láctico; Después se añadieron Succinato de Na y glicerol y la solución final se esterilizó por esterilización térmica; proceso de comparación c) quitosán se añadió a Succinato de Na y solución de glicerol, la suspensión resultante se esterilizó por esterilización térmica y a partir de entonces se añadió ácido láctico para solubilizar quitosán. El pH, la osmolalidad se midieron y los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

	Apariencia de solución final	pH	Osmolaridad (mOsmol/kg)
Proceso a	Agregados grandes	6.5	349
Proceso b	Transparente, sin partículas visibles	6.5	298
Proceso c	Agregados grandes	6.5	326

Los resultados anteriores muestran que sólo el proceso de la invención b está conduciendo a una formulación final sin partículas visibles y por lo tanto es adecuado para la preparación de una composición para uso oftálmico.

Ejemplo 12: Las composiciones que comprenden quitosán (1%) de acuerdo con la invención en comparación con formulaciones de comparación

Varias formulaciones con dos porcentajes diferentes de quitosán se disolvieron en diferentes ácidos como se indica en la Tabla 2. Se añadió volumen suficiente de ácido para disolver completamente el quitosán de origen del hongo. A

partir de entonces, se añadieron diversas bases para aumentar el pH a 6.5. La turbidez, así como la osmolaridad de cada solución se evaluaron. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

	Porcentaje de quitosán (%)	Acido	Base	Turbidez	Osmolaridad (mOsmol/kg)
Ej. 8	1.0	Ácido láctico	Lactato de sodio	baja	786
Ej. 9	1.0	Ácido láctico	Gluconato de potasio	baja	402
Ej. 10	1.0	Ácido láctico	Succinato de sodio	baja	147
Ej. 11	1.0	Ácido láctico	Sorbato de potasio	baja	246
Comp. 1	1.0	Ácido láctico	NaOH	alta	148
Comp. 2	1.0	Ácido láctico	NaOH	alta	172
Ej. 12	1.0	Ácido galáctico	Lactato de sodio	baja	1223
Ej. 13	1.0	Ácido galáctico	Gluconato de potasio	baja	1588
Ej. 14	1.0	Ácido galáctico	Succinato de sodio	baja	1102
Comp. 3	0.5	HCl (1M)	NaOH	Precipi-tación	ND
Comp. 4	0.5	HCl (1M)	Succinato	alta	311

Estos datos soportan el hecho de que el uso de un ácido débil y una base débil son necesarios en el proceso de

la invención puesto que el ácido o base fuerte se no es adecuado ya que la solución era demasiado turbia (Comp. 1-4). Además, los resultados de osmolaridad mostraron que el ácido láctico (ácido débil) y succinato o de sorbato (bases débiles) son particularmente adecuados para la preparación de una solución oftálmica, ya que permiten llegar a una osmolaridad de destino de 300 mOsmol/kg, adecuado para una aplicación oftálmica.

REIVINDICACIONES

1.- Un proceso para preparar una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol, en donde dicha composición es una solución clara y viscosa, a un pH comprendido entre 6 y 7.5, en donde dicho proceso comprende las siguientes etapas:

(i) solubilizar quitosán que tiene un peso molecular medio que varía de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 250 kDa y un grado de desacetilación superior al 60% en una solución acuosa de un ácido débil que comprende un grupo carboxílico, en donde la relación molar entre el grupo carboxilo (-COOH) de dicho ácido débil y el grupo amina ($-NH_2$) de dicho quitosán está comprendida entre 1: 0.9, y 1: 1.1, tal como aproximadamente 1: 1 o 1: 1.05;

(ii) agregar glicerol;

(iii) ajustar el pH a un pH comprendido entre 6 y 7.5 por adición de una solución acuosa de base débil; y

(iv) esterilización por vapor;

formando de este modo una composición esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol que es una solución transparente y viscoso a un pH comprendido entre 6 y 7.5.

2.- Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho ácido débil es ácido láctico.

3.- Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde la base débil se selecciona entre succinato de sodio y sorbato de potasio.

4.- Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde:

- en la etapa (i), dicho quitosán está presente a una concentración comprendida entre 0.05 y 3% (p/p), y dicho ácido débil es ácido láctico presente en una concentración comprendida entre 0.12 y 0.22% (p/p),

- en la etapa (ii), dicho glicerol está presente a una concentración comprendida entre 0.4 y 1% (p/p), y

- en la etapa (iii), dicha base débil es succinato de sodio presente en una concentración comprendida entre 1.0 y 1.7% (p/p).

5.- Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho quitosán de la etapa (i) tiene un peso molecular medio (MW) que varía de aproximadamente 150 a aproximadamente 180 kDa y un grado de desacetilación (DD) comprendido entre 60% (mol) y 75% (mol).

6.- Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho quitosán de la etapa (i) es un quitosán en la forma de amina.

7.- Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicho quitosán de la etapa (i) es un quitosán de origen fúngico, en particular, de Agaricus bisporus.

8.- Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el quitosán se disuelve en el paso (i) en una solución acuosa de ácido débil que comprende un pululano solubilizado.

9.- Una composición acuosa esterilizada al calor que comprende quitosán solubilizado y glicerol obtenible por el proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

10.- La composición de acuerdo con la reivindicación 9, en donde dicho quitosán tiene un peso molecular medio (MW) que varía de aproximadamente 150 a aproximadamente 180 kDa y un grado de desacetilación (DD) comprendido entre 60% (mol) y 75% (mol).

11.- La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, en donde dicho quitosán es de origen fúngico tal como de Agaricus bisporus.

12.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde dicho quitosán está presente en la forma de amina.

13.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en donde dicha composición tiene una viscosidad comprendida entre 10 y 500 mPa.s.

14.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, en donde dicha composición tiene una osmolalidad comprendida entre 150 y 350 mOsm/kg.

15.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14, en donde dicha composición exhibe un comportamiento reológico no newtoniano, la actividad antimicrobiana y/o actividad anti-lipasa.

16.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 15, en donde dicha composición comprende un pululano.

17.- Una composición farmacéutica que comprende una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 16 y al menos un portador farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente de los mismos.

18.- Una composición esterilizada por calor farmacéutica acuosa que comprende un quitosán insoluble en agua solubilizados en un ácido débil que comprende un grupo carboxílico y de glicerol, en donde dicho quitosán tiene un peso molecular medio que varía de aproximadamente 150 a

aproximadamente 180 kDa y un grado de desacetilación (DD) comprendido entre 60% (mol) y 75% (mol).

19.- Una composición acuosa de acuerdo con la reivindicación 18 en donde dicho ácido débil es ácido láctico, el glicerol está presente en una concentración que varía de aproximadamente 0.2 a aproximadamente 1% (p/p), basado en la composición total y la composición es una composición oftálmica.

20.- La composición de acuerdo con la reivindicación 18 o 19, en donde dicho quitosán está presente en la forma de amina y es de origen fúngico tal como de Agaricus bisporus.

21.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 20, en donde dicha composición tiene una viscosidad comprendida entre 10 y 500 mPa.s., una osmolalidad comprendida entre 150 y 350 mOsm/kg, y exhibe un comportamiento reológico no newtoniano, actividad antimicrobiana y/o actividad anti-lipasa.

22.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21, en donde dicho quitosán está presente en una concentración que varía de aproximadamente 0.05 a aproximadamente 3% (p/p).

23.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22, en donde la composición comprende

además una base débil seleccionada del succinato de sodio y de sorbato de potasio.

24.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 23, en donde dicha composición comprende ácido láctico a una concentración comprendida entre aproximadamente 0.12 y aproximadamente 0.22%) (p/p), y succinato de sodio a una concentración comprendida entre aproximadamente 1.0 y aproximadamente 1.7% (p/p).

25.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 24 que comprende además un pululano.

26. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 25, para uso en la prevención y/o tratamiento del síndrome de ojo seco, en particular de ojo seco con blefaritis, irritación de los ojos causada por las condiciones ambientales o lentes de contacto, la queratoconjuntivitis sicca, infecciones bacterianas del síndrome de Sjogren en la superficie de las estructuras del ojo o anterior relacionada del ojo.

27.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 25, para uso como un medicamento.

28.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 25, en donde la composición es una composición intra-articular.

29.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 25, para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad artrítica o trastorno seleccionado de osteoartritis y artritis psoriásica

RESUMEN

La presente invención se refiere a una composición acuosa esterilizada al calor que comprende un quitosán solubilizado y glicerol. También se refiere a un proceso de preparación de la misma, así como el uso del mismo, incluyendo composiciones útiles para la prevención y el tratamiento del síndrome del ojo seco y enfermedades artríticas o trastornos.