



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 172 574**

⑤① Int. Cl.⁷: A61K 9/50
A61K 9/16

⑫

TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **95901961.3**
⑧⑥ Fecha de presentación: **18.11.1994**
⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0 729 353**
⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **04.09.1996**

⑤④ Título: **Preparación de micropartículas biodegradables que contienen un agente biológicamente activo.**

③⑩ Prioridad: **19.11.1993 US 154409**
31.08.1994 US 298787
10.11.1994 US 338805

⑦③ Titular/es:
Alkermes Controlled Therapeutics, Inc.
64 Sydney Street
Cambridge, MA 02139, US

④⑤ Fecha de la publicación de la mención BOPI:
01.10.2002

⑦② Inventor/es: **Herbert, Paul F. y**
Hazrati, Azar M.

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de patente:
01.10.2002

⑦④ Agente: **Dávila Baz, Angel**

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).

DESCRIPCION

Preparación de micropartículas biodegradables que contienen un agente biológicamente activo.

Esta invención se refiere a la preparación de micropartículas. Más particularmente, la presente invención se refiere a un método para encapsular agentes activos para formar micropartículas de liberación controlada a través del uso de mezcladores estáticos. La presente invención también se refiere a un sistema disolvente útil en un método para encapsular agentes activos para formar micropartículas de liberación controlada. Por "micropartículas" o "microesferas" se entiende partículas sólidas que contienen un agente activo dispersado o disuelto dentro de un polímero biodegradable que sirve como la matriz de la partícula.

Descripción de la técnica relacionada

Se conoce una variedad de métodos mediante los que pueden encapsularse compuestos en forma de micropartículas. Es particularmente ventajoso encapsular un agente biológicamente activo o farmacéuticamente activo dentro de un material formador de pared, biocompatible, biodegradable (por ejemplo, un polímero), para proporcionar liberación sostenida o retardada de fármacos u otros agentes activos. En estos métodos, el material que ha de encapsularse (fármacos u otros agentes activos) generalmente se disuelve, se dispersa o se emulsifica usando removedores, agitadores u otras técnicas de mezclado dinámica, en un disolvente que contiene material formador de pared. El disolvente se retira a continuación de las micropartículas y posteriormente se obtiene el producto de micropartículas.

Un ejemplo de un procedimiento de microencapsulación convencional se describe en la Patente de EE.UU. N° 3.737.337, en la que se prepara una solución de un material polímero formador de pared o envuelta en un disolvente. El disolvente es sólo parcialmente miscible en agua. Un material sólido o de núcleo se disuelve o dispersa en la solución que contiene polímero y, posteriormente, la solución que contiene material de núcleo se dispersa en un líquido acuoso que es inmiscible en el disolvente orgánico para retirar disolvente de las micropartículas. Las sustancias que han de encapsularse o embeberse se disuelven o dispersan en la solución orgánica del polímero (fase A), usando mezcladores convencionales incluyendo (en la preparación de una dispersión) vibradores y removedores de alta velocidad, etc. La dispersión de la fase (A), que contiene el material de núcleo en solución o en suspensión, se lleva a cabo en la fase acuosa (B) de nuevo usando mezcladores convencionales, tales como mezcladores de alta velocidad, mezcladores de vibración o incluso toberas de aspersión, en cuyo caso el tamaño de partícula de los microgranulados estará determinado no sólo por la concentración de la fase (A) sino también por los tamaños de partícula obtenidos.

Otro ejemplo de un procedimiento en el que se retira disolvente de micropartículas que contienen una sustancia se describe en la Patente de EE.UU. N° 3.523.906. En este procedimiento, un material que ha de encapsularse se emulsifica en una solución de un material polímero en un disolvente que es inmiscible en agua y a continuación la emulsión se emulsifica en una solución acuosa que contiene un coloide hidrófilo. La retirada de disolvente de las micropartículas se efectúa a continuación mediante evaporación y se obtiene el producto.

En otro procedimiento más, según se describe en la Patente de EE.UU. N° 3.691.090, se evapora disolvente orgánico de una dispersión de micropartículas en un medio acuoso, preferiblemente bajo presión reducida.

De forma similar, la Patente de EE.UU. N° 3.891.570 describe un método en el que se preparan micropartículas disolviendo o dispersando un material de núcleo en una solución de un material de pared disuelto en un disolvente que tiene una constante dieléctrica de 10 o menos y escasa miscibilidad con un alcohol polihidroxilado, a continuación emulsificando en gotículas finas a través de la dispersión o solución en el alcohol polihidroxilado y finalmente evaporando el disolvente mediante la aplicación de calor o sometiendo las micropartículas a presión reducida.

Otro ejemplo de un procedimiento en el que puede encapsularse un agente activo se describe en la Patente de EE.UU. N° 3.960.757. Se preparan medicamentos encapsulados disolviendo un material de pared para cápsulas en al menos un disolvente orgánico, escasamente miscible con agua, que tiene un punto de ebullición de menos de 100°C, una presión de vapor superior que la del agua y una constante dieléctrica de menos de aproximadamente 10; disolviendo o dispersando un medicamento que es insoluble o ligeramente soluble en agua en la solución resultante; dispersando la solución o dispersión resultante hasta la forma de gotas finas en un vehículo líquido que comprende una solución acuosa de un coloide hidrófilo o un agente de actividad superficial y a continuación retirando el disolvente orgánico mediante evaporación. El tamaño de las gotas finas se determina de acuerdo con la velocidad de remoción, la

viscosidad de la solución en disolvente orgánico que contiene el medicamento y el material de la pared, y la viscosidad y la tensión superficial del vehículo.

5 Tice y otros, en la Patente de EE.UU. N° 4.389.330, describen la preparación de micropartículas que tienen un agente activo usando un procedimiento de retirada de disolvente en dos etapas. Este procedimiento de retirada de disolvente en dos etapas es ventajoso debido a que da como resultado micropartículas que tienen una carga de agente activo superior y una cualidad superior que las técnicas en las que el disolvente se retira en una sola etapa. En el procedimiento de Tice y otros, el agente activo y el polímero se disuelven en un disolvente. La mezcla de ingredientes en el disolvente se emulsifica a continuación en un medio de procesamiento de fase continua que es inmiscible con el disolvente. Se forma una dispersión de micropartículas que contienen los ingredientes indicados en el medio de fase continua mediante la agitación mecánica de los materiales mezclados. A partir de esta dispersión, el disolvente orgánico puede retirarse parcialmente en la primera etapa del procedimiento de retirada del disolvente. Después de la primera fase, las micropartículas dispersadas se aíslan del medio de procesamiento de fase continua mediante cualquier medio de separación conveniente. Después del aislamiento, el resto del disolvente en las micropartículas se retira mediante extracción. Después de que se haya retirado el resto del disolvente de las micropartículas, se secan mediante exposición al aire o mediante otras técnicas de secado convencionales.

20 Tice y otros, en la Patente de EE.UU. N° 4.530.840, describen la preparación de micropartículas que contienen un agente activo antiinflamatorio mediante un método que comprende: (a) disolver o dispersar un agente antiinflamatorio en un disolvente y disolver un material formador de pared biocompatible y biodegradable en ese disolvente; (b) dispersar el disolvente que contiene el agente antiinflamatorio y el material formador de pared en un medio de procesamiento de fase continua; (c) evaporar una porción del disolvente de la dispersión de la etapa (b), formando de ese modo micropartículas que contienen el agente antiinflamatorio en la suspensión; y (d) extraer el resto del disolvente de las micropartículas.

30 WO 90/13361 describe un método para microencapsular un agente para formar un producto microencapsulado, que tiene las etapas de dispersar una cantidad eficaz del agente en un disolvente que contiene un material formador de pared disuelto para formar una dispersión; combinar la dispersión con una cantidad eficaz de un medio de procesamiento continuo para formar una emulsión que contiene el medio de procesamiento y microgotículas que tienen el agente, el disolvente y el material formador de pared; y añadir la emulsión rápidamente a una cantidad eficaz de un medio de extracción para extraer el disolvente de las microgotículas para formar el producto microencapsulado.

35 Bodmeier, R. y otros, *International Journal of Pharmaceutics* 43:179-186 (1988), describen la preparación de micropartículas que contienen quinidina o sulfato de quinidina como el agente activo y poli(D,L-láctido) como el aglutinante usando una variedad de disolventes incluyendo cloruro de metileno, cloroformo y benceno así como mezclas de cloruro de metileno y un líquido miscible con agua, tal como acetona, acetato de etilo, metanol, dimetilsulfóxido, cloroformo o benceno para aumentar el contenido de fármaco.

45 Beck, L.R. y otros, *Biology of Reproduction* 28:186-195 (1983), describen un procedimiento para encapsular noretisterona en un copolímero de D,L-láctido y glicólido disolviendo tanto el copolímero como la noretisterona en una mezcla de cloroformo y acetona que se añade a una solución acuosa fría removida de poli(alcohol vinílico) para formar una emulsión y los disolventes volátiles se retiran bajo presión reducida para dar microcápsulas.

50 La separación de fases o la coacervación no inducida por disolvente es un método que también se ha empleado para preparar micropartículas comprendidas por una matriz polímera biodegradable y un agente biológicamente activo. Muchos de los procedimientos publicados para la microencapsulación con copolímeros de láctido/glicólido emplean técnicas de evaporación/extracción de disolventes, pero estas técnicas son principalmente adecuadas para fármacos insolubles en agua debido a que los fármacos solubles en agua pueden someterse a reparto parcialmente en la fase acuosa durante el procedimiento de preparación. El método de separación de fases, que utiliza no disolventes para el polímero y en los que los agentes activos hidrófilos tampoco son solubles, es un método eficaz de encapsulación para estos agentes activos.

60 En un método de separación de fases convencional, una cantidad conocida de polímero, tal como poli(láctido-co-glicólido), PLGA, con una relación monómera de láctido a glicólido que varía de 100:0 a 50:50, se disuelve en un disolvente orgánico apropiado. El fármaco sólido, preferiblemente liofilizado y micronizado, puede dispersarse en la solución de polímero, donde es insoluble o ligeramente soluble

en el disolvente orgánico. Alternativamente, el agente activo puede disolverse en agua o en agua que contiene algunos aditivos, y emulsificarse en la solución de polímero, preferiblemente de forma principal mediante sonicación, formando una emulsión de agua en aceite. La suspensión o emulsión resultante se añade a continuación a un reactor y la adición de un primer no disolvente se inicia a una velocidad
5 predeterminada. Un mezclador de turbina instalado en el reactor se usa para proporcionar mezclado moderado. En la terminación del procedimiento de separación de fases, la mezcla se transfiere a un depósito de remojo que contiene un segundo no disolvente para solidificar las microesferas semisólidas. Las microesferas endurecidas se recogen tamizando y se lavan y almacenan en una estufa de vacío para el secado adicional.

10 Muy a menudo, los disolventes usados en los procedimientos de microencapsulación conocidos son hidrocarburos halogenados, particularmente cloroformo o cloruro de metileno, que actúan como disolventes tanto para el agente activo como para el polímero encapsulante. Sin embargo, la presencia de residuos de hidrocarburo halogenado pequeños, pero detectables, en el producto final es indeseable, debido a su
15 toxicidad general y posible actividad carcinógena. Así, existe una necesidad de revisar los procedimientos de microencapsulación conocidos usando disolventes alternativos menos tóxicos y que sean aceptables.

Con técnicas convencionales para la microencapsulación de agentes activos biológicos o farmacéuticos, tales como los descritos previamente, las micropartículas se forman cuando el disolvente que contiene un
20 agente activo y un polímero se emulsifica o se dispersa en una solución inmiscible mediante remoción, agitación, vibración o alguna otra técnica de mezclado dinámica, a menudo durante un período de tiempo relativamente prolongado. Tales técnicas de mezclado dinámica tienen varias desventajas. Por ejemplo, es difícil controlar el tamaño de las micropartículas resultantes o la distribución de tamaños obtenida. Como consecuencia, el uso de mezclado dinámica también presenta problemas cuando se
25 preparan micropartículas que contienen agentes biológicos o farmacéuticos a escala de producción o comercial. Particularmente, el equipo de producción incluye un depósito de emulsión costoso, incluyendo un equipo para remover o agitar los fluidos. Uno de los factores de control para el tiempo de procesamiento global es el tiempo requerido para formar una emulsión homogénea (uniforme). Los tamaños de la partida incrementados en depósitos más grandes requieren un tiempo más prolongado para formar la emulsión, dando como resultado un tiempo de procesamiento de producción global más prolongado.
30 Los tiempos de exposición más prolongados del agente activo para disolventes de procesamiento y para soluciones de polímero pueden conducir a la degradación o desactivación del agente activo. El aumento a escala hasta un procedimiento de producción a partir de un procedimiento de emulsión de laboratorio es particularmente difícil para la microencapsulación de agentes biológicos o farmacéuticos ya que,
35 a medida que el tamaño de la partida y el depósito se incrementan, las velocidades de remoción y las viscosidades dentro del depósito más grande tienen que optimizarse empíricamente mediante un método de tanteos en cada fase del aumento a escala. Asimismo, la técnica de separación de fases no se convierte fácilmente en un procedimiento para producir cantidades a escala comercial de micropartículas debido a que los parámetros de procesamiento, es decir, la velocidad de adición del no disolvente, las condiciones
40 de agitación y la viscosidad tanto de la solución de agente activo/polímero como del no disolvente, deben optimizarse empíricamente mediante un método de tanteos en cada fase del aumento a escala. Así, el aumento a escala de técnicas de microencapsulación convencionales no sólo consume mucho tiempo sino que es impreciso.

45 Se efectuaron pruebas en un intento de aumentar a escala un procedimiento de formación de emulsiones de laboratorio a partir de reactores de vidrio removidos pequeños para un equipo de producción para micropartículas que contienen benzoato de estradiol. El cizallamiento creado por los álabes del mezclador determinaba el tamaño de partícula de la emulsión; cuanto más alto sea el cizallamiento, más pequeñas serán las partículas. Debido a la baja viscosidad de la fase aceitosa (orgánica) en el procedimiento del
50 benzoato de estradiol, se requiere un bajo cizallamiento para producir las partículas de emulsión grandes que se deseaban. En reactores grandes es difícil mantener bajo cizallamiento y todavía proporcionar mezclado uniforme. La velocidad a la que debe ponerse en marcha el agitador para proporcionar una composición del depósito uniforme produce un tamaño de partícula pequeño con una amplia distribución de tamaños. Los diámetros de los álabes de mezclado mayores y múltiples álabes de mezclado a lo
55 largo del eje ayudaban a proporcionar mejor mezclado a bajo cizallamiento pero todavía producían una distribución muy amplia de tamaños. El control del tamaño de partícula se hacía menos fiable a medida que se incrementaba el tamaño de la partida.

60 De acuerdo con esto, una ventaja del método para preparar micropartículas de la presente invención es que puede realizarse un aumento a escala exacto y fiable desde tamaños de partida de laboratorio hasta comerciales, mientras se alcanza una distribución de tamaños estrecha y bien definida de micropartículas que contienen agentes biológicamente o farmacéuticamente activos. Esto puede alcanzarse para cualquier

técnica de encapsulación adecuada incluyendo, pero no limitada a, extracción de disolvente y separación de fases. Una ventaja adicional del método de la presente invención es que puede usarse el mismo equipo para formar micropartículas que contienen agentes activos de una distribución de tamaños bien definida para tamaños de partida variables. Otra ventaja más del método de la presente invención es que pueden obtenerse micropartículas de alta calidad que tienen una alta concentración de agente activo usando una sola etapa para retirar el disolvente, o a través de una técnica de separación de fases.

Sumario de la invención

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un método para preparar micropartículas, que comprende:

preparar una primera fase, comprendiendo dicha primera fase un agente activo y un polímero;

preparar una segunda fase;

preparar un líquido de remojo; y

bombear dicha primera fase y dicha segunda fase a través de un mezclador estático hacia dicho líquido de remojo formando de ese modo micropartículas que contienen dicho agente activo;

en donde el método no es:

un método para preparar esférulas que tienen uno o más ingredientes alimentarios o medicinales activos caracterizado porque en una primera fase se forman esférulas mediante la división controlada de una emulsión de aceite en agua primaria que consiste en un ingrediente alimentario o medicinal, aceite, una proteína y agua en un disolvente inmiscible con el agua, y a continuación las esférulas obtenidas se separan en una segunda fase.

La primera fase y la segunda fase preferiblemente son sustancialmente inmiscibles. Preferiblemente, el método comprende además configurar dicho mezclador estático con una pluralidad de elementos de mezcladura estática recibidos dentro de un conducto. Puede realizarse la etapa de bombeo en la que dicha primera fase se bombea a un primer caudal y dicha segunda fase se bombea a un segundo caudal mayor que dicho primer caudal.

La etapa de preparar dicha primera fase puede comprender además:

a) disolver dicho agente activo en una solución que contiene dicho polímero;

b) preparar una dispersión que comprende dicho agente activo; o

c) preparar una emulsión que comprende dicho agente activo.

Alternativamente, la etapa de preparar dicha primera fase también puede comprender además:

a) disolver poliláctido-co-glicólido en acetato de etilo para formar una solución de polímero y disolver acetato de trembolona en dicha solución de polímero, o

b) disolver poliláctido-co-glicólido en acetato de etilo para formar una solución de polímero y disolver testosterona en dicha solución de polímero, o

c) disolver poliláctido-co-glicólido en acetato de etilo para formar una solución de polímero y disolver benzoato de estradiol en dicha solución de polímero.

La segunda fase puede estar libre de disolventes para el polímero y el agente activo, y puede estar comprendida por una solución acuosa de un emulsionante. El procedimiento de la presente invención por el que se preparan micropartículas usando mezcladores estáticos puede usarse con cualquier técnica de encapsulación convencional incluyendo, pero no limitada a, extracción de disolvente y separación de fases.

ES 2 172 574 T3

La primera fase puede prepararse disolviendo el agente activo en una solución que contiene el polímero, preparando una dispersión que comprende el agente activo y preparando una emulsión que comprende el agente activo.

5 El método puede usarse para preparar micropartículas que contienen los siguientes agentes activos; risperidona; acetato de trembolona; noretindrona; testosterona; benzoato de estrodiol; albúmina de suero humana; albúmina de cerdo e interferón-alfa bovino recombinante.

10 En una modalidad de la invención, se usa una combinación de al menos dos disolventes sustancialmente atóxicos, libres de hidrocarburos halogenados, para disolver tanto el agente como el polímero. La combinación de disolventes que contiene el agente y el polímero disueltos se dispersa en una solución acuosa para formar gotículas. La emulsión resultante se añade a continuación a un medio de extracción acuoso que contiene preferiblemente al menos uno de los disolventes de la combinación, por lo que se controla la velocidad de extracción de cada disolvente, con lo que se forman las micropartículas biodegradables que contienen el agente biológicamente activo. El procedimiento tiene las ventajas de que se requiere menos medio de extracción debido a que la solubilidad de un disolvente en agua es sustancialmente independiente del otro y la selección de disolvente se incrementa, especialmente con disolventes que son particularmente difíciles de extraer.

20 Un sistema disolvente útil en un método para preparar una composición farmacéutica en forma de micropartículas diseñada para la liberación controlada de una cantidad eficaz de un fármaco a lo largo de un período de tiempo prolongado puede comprender al menos un agente farmacéutico y al menos un polímero encapsulante biocompatible y biodegradable.

25 Las micropartículas pueden prepararse preparando una primera fase "aceitosa" que contiene de aproximadamente 5 por ciento en peso a aproximadamente 50 por ciento en peso de sólidos de los que de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 por ciento en peso es una solución de aglutinante encapsulante polímero biodegradable e incorporando de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 por ciento en peso, basado en el aglutinante polímero, de un agente activo en una combinación de disolventes, comprendiendo la combinación primer y segundo disolventes mutuamente miscibles, libres de hidrocarburos halogenados, 30 teniendo cada uno una solubilidad en agua de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25 por ciento en peso a 20°C, formando una emulsión que contiene de 1:1 a 1:10 de la primera fase en un medio de procesamiento de emulsión para formar microgotículas de la composición de la primera fase en un medio de procesamiento de segunda fase acuosa continua, añadiendo las fases primera y segunda combinadas a un líquido de remojo de extracción acuoso a un nivel de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 35 litros de líquido de remojo acuoso por gramo de polímero y agente activo, conteniendo dicho líquido de remojo el disolvente de la combinación que tiene la mayor solubilidad en agua a un nivel de aproximadamente 20% a aproximadamente 70% del nivel de saturación de ese disolvente en el líquido de remojo a la temperatura que se usa, y recuperando micropartículas del líquido de remojo.

40 Un método para preparar micropartículas puede comprender las etapas de: preparar una primera fase, comprendiendo dicha primera fase un agente biológicamente activo, un polímero biodegradable y una combinación de al menos dos disolventes mutuamente miscibles para el agente y el polímero libres de hidrocarburos halogenados; preparar una segunda fase, en donde dicha primera fase es sustancialmente 45 inmiscible en dicha segunda fase; hacer fluir dicha primera fase a través de un mezclador estático a un primer caudal; hacer fluir dicha segunda fase a través de dicho mezclador estático a un segundo caudal de modo que dicha primera fase y dicha segunda fase fluyan simultáneamente a través de dicho mezclador estático formando de ese modo micropartículas que contienen dicho agente activo; y aislar dichas micro-
partículas.

50 Un método para preparar micropartículas puede comprender las etapas de: preparar una primera fase, comprendiendo dicha primera fase un agente biológicamente activo, un polímero biodegradable y una combinación de al menos dos disolventes mutuamente miscibles para el agente y el polímero libres de hidrocarburos halogenados; preparar una segunda fase, en donde dicha primera fase y dicha segunda 55 fase son sustancialmente inmiscibles; preparar un líquido de remojo; bombear dicha primera fase y dicha segunda fase a través de un mezclador estático a dicho líquido de remojo formando de ese modo micropartículas que contienen dicho agente activo.

60 La primera fase puede prepararse (1) disolviendo el agente biológicamente activo en una solución del polímero disuelto en al menos dos disolventes mutuamente miscibles libres de hidrocarburos halogenados, o (2) preparando una dispersión que comprende el agente activo en dicho disolvente o (3) preparando una emulsión que comprende el agente activo en dichos disolventes.

Breve descripción de los dibujos

- La figura 1 ilustra el flujo a través de un mezclador estático;
- 5 la figura 2 muestra un mezclador estático que puede usarse en el procedimiento de la presente invención;
- la figura 3 muestra una instalación de laboratorio para llevar a cabo un procedimiento preferido para
10 preparar las micropartículas de la presente invención;
- la figura 4 representa un gráfico de datos de prueba en animales de tiempo-liberación para dos formulaciones de micropartículas cargadas con noretindrona;
- 15 la figura 5 representa un gráfico de datos de disolución in vitro para micropartículas de risperidona de la partida Prodex 3, tanto según se produce como liofilizada;
- la figura 6 representa un gráfico de datos de disolución in vitro para micropartículas de risperidona de la partida Prodex 2, tanto según se produce como liofilizada;
- 20 la figura 7 representa un gráfico de datos de disolución in vitro acelerada para micropartículas de risperidona de las partidas Prodex 3 y Prodex 2;
- la figura 8 representa una gráfica de curvas de concentración en plasma medias (n = 2)-tiempo para
25 un resto activo (suma de risperidona y 9-hidroxi-risperidona) después de la administración intramuscular a perros beagle de formulaciones de depósitos de risperidona a una dosis aproximada de 2,5 mg/kg. El período de actividad antiemética (en al menos 2 de 3 perros) en la prueba de vómitos con apomorfina se da en la leyenda para cada una de las formulaciones. Un asterisco (*) indica que la actividad antiemética se interrumpe en al menos 2 de 3 perros al principio del estudio. La línea quebrada indica una concentración en plasma mínima más baja aproximada necesaria para la actividad antiemética. El signo //
30 indica que para la formulación Prodex 2 no se muestreó sangre los días 14, 18 y 21;
- la figura 9 representa una gráfica de porcentaje acumulativo por tamaño de micropartículas de micropartículas cargadas con benzoato de estradiol;
- 35 la figura 10 representa una gráfica de diferencial de porcentaje por tamaño de micropartículas de micropartículas cargadas con benzoato de estradiol;
- la figura 11 representa una gráfica de datos de pruebas en animales de tiempo-liberación para micropartículas cargadas con benzoato de estradiol;
- 40 la figura 12 representa una gráfica de porcentaje acumulativo por tamaño de micropartículas de micropartículas cargadas con acetato de trembolona;
- 45 la figura 13 representa una gráfica de datos de pruebas en animales de tiempo-liberación para micropartículas cargadas con testosterona;
- las figuras 14A-C representan tres gráficas que muestran el efecto de sembrar el líquido de remojo con acetato de etilo sobre las características de las micropartículas de noretindrona (NET); y
- 50 las figuras 15A-C representa tres gráficos que muestran el efecto del volumen del baño de remojo sobre las características de micropartículas de NET.

Descripción de las modalidades preferidas

- 55 La presente invención puede implicar el uso de una combinación de disolventes, libre de hidrocarburos halogenados, que comprende al menos dos disolventes, para producir micropartículas biodegradables que comprenden al menos un agente biológicamente activo. Un primer componente de disolvente de la combinación de disolventes puede ser un disolvente pobre para el agente activo, pero un buen disolvente para
60 el polímero biodegradable usado en la misma. Un segundo componente de disolvente de la combinación de disolventes puede ser un buen disolvente tanto para el agente activo como para el polímero.

El método de la presente invención proporciona ventajas sobre otros métodos conocidos en la técnica. El presente método proporciona, entre otras cosas, un sistema biodegradable, un sistema inyectable que evita la pérdida de dosis durante el tratamiento, la capacidad para mezclar micropartículas que contienen diferentes fármacos, micropartículas libres de residuos de hidrocarburo halogenado y la capacidad para la liberación programada (modelos de liberación multifásicos) para dar velocidades más rápidas o más lentas de liberación de fármaco según sea necesario.

Los productos preparados mediante el método de la presente invención ofrecen la ventaja de duraciones de acción que varían de 30 a más de 200 días, dependiendo del tipo de micropartícula seleccionado. En una modalidad preferida, las micropartículas se diseñan para proporcionar tratamiento a pacientes durante un período de 30 a 60 días. La duración de la acción puede controlarse fácilmente mediante la manipulación de la composición del polímero, la relación polímero:fármaco y el tamaño de las micropartículas.

Otra ventaja importante de las micropartículas preparadas mediante el procedimiento de la presente invención es que prácticamente todo el agente activo puede suministrarse al paciente debido a que el polímero usado en el método de la invención puede ser biodegradable, permitiendo de ese modo que todo el agente atrapado se libere al paciente.

En el procedimiento de la presente invención, un agente activo puede disolverse o dispersarse en una combinación de disolventes libre de hidrocarburos halogenados y al medio que contiene agente se añade el material de matriz polímero en una cantidad relativa al agente activo que proporciona un producto que tiene la carga deseada de agente activo. Opcionalmente, todos los ingredientes del producto en micropartículas pueden combinarse entre sí en el medio de combinación de disolventes.

El sistema disolvente usado aquí puede ser una combinación de al menos dos disolventes. Los disolventes deben ser:

- (1) mutuamente miscibles entre sí,
- (2) capaces, cuando se combinan, de disolver o dispersar el agente activo,
- (3) capaces, cuando se combinan, de disolver material de matriz polímero,
- (4) químicamente inertes para el agente activo,
- (5) biocompatibles,
- (6) sustancialmente inmiscibles con el líquido de remojo, por ejemplo, teniendo una solubilidad de no más de aproximadamente 0,1 a 25 %, y
- (7) disolventes distintos a los hidrocarburos halogenados.

Por "hidrocarburos halogenados" se entiende disolventes orgánicos halogenados, es decir, alcanos halogenados de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, cloruro de metileno, cloroformo, cloruro de metilo, tetracloruro de carbono, dicloruro de etileno, cloruro de etileno, 2,2,2-tricloroetano y similares.

Una combinación de disolventes ideal para la encapsulación de un agente activo debe tener una alta solubilidad para el agente encapsulante polímero de generalmente al menos aproximadamente 5 por ciento en peso y, preferiblemente, al menos aproximadamente 20 por ciento en peso a 20°C. El límite superior de solubilidad no es crítico, pero si más de aproximadamente 50 por ciento en peso de la solución es polímero encapsulante, la solución puede hacerse demasiado viscosa para manejarse eficazmente y convenientemente. Por supuesto, esto depende de la naturaleza del polímero encapsulante y su peso molecular.

El sistema disolvente, aunque sustancialmente inmiscible con el medio de procesamiento de fase continua y el líquido de remojo, que habitualmente están basados en agua, tiene preferiblemente una solubilidad limitada en el mismo. Si el sistema disolvente fuera infinitamente soluble en el medio de procesamiento, las microgotículas serían incapaces de formarse durante la fase de emulsión; si la solubilidad del sistema disolvente en el medio de remojo extractivo es demasiado baja, sin embargo, se necesitan grandes cantidades de medio de remojo. Generalmente, solubilidades del disolvente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25 % en el medio de procesamiento y el medio de remojo son aceptables para usar aquí. A menudo será ventajoso que el medio de remojo contenga de aproximadamente 70 a aproximadamente

20 por ciento en peso del punto de saturación del primer disolvente, es decir, el disolvente de solubilidad superior en el medio de remojo, para controlar la velocidad de pérdida del primer disolvente desde las micropartículas hacia el medio de remojo.

5 Consideraciones añadidas al elegir un componente de la combinación de disolventes de la presente invención incluyen el punto de ebullición (es decir, la facilidad con la que los disolventes pueden evaporarse para formar un producto acabado) y el peso específico (tendencia de la “fase aceitosa” a flotar durante la emulsificación y el remojo). Finalmente, el sistema disolvente debe tener baja toxicidad.

10 Generalmente, la composición de combinación de disolventes contendrá de aproximadamente 25 a aproximadamente 75 por ciento en peso del primer disolvente y, de forma correspondiente, de aproximadamente 75 a aproximadamente 25 por ciento en peso del segundo disolvente.

15 La combinación de disolventes de la presente invención es preferiblemente una combinación de al menos dos de los siguientes: un éster, un alcohol y una cetona. Esteres preferidos son de la estructura R^1COOR^2 , donde R^1 y R^2 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en restos alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, es decir, metilo, etilo, propilo, butilo e isómeros de los mismos. El éster más preferido para usar como un componente de la combinación de disolventes empleada en la práctica de la presente invención es el acetato de etilo. Alcoholes preferidos son de la estructura R^3CH_2OH , donde
 20 R^3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono y arilo de 6 a 10 átomos de carbono. Se prefiere más que R^3 sea arilo. El alcohol más preferido para usar como un componente de la combinación de disolventes empleada en la práctica de la presente invención es el alcohol bencílico. Cetonas preferidas son de la estructura R^4COR^5 , donde R^4 se selecciona del grupo que consiste en restos alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, es decir, metilo, etilo, propilo, butilo e isómeros de
 25 los mismos, y R^5 se selecciona del grupo que consiste en restos alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, es decir, etilo, propilo, butilo e isómeros de los mismos. La cetona más preferida para usar como un componente de la combinación de disolventes dada en la práctica de la presente invención es la metil-etil-cetona.

30 El material de matriz polímero de las micropartículas preparadas mediante el procedimiento de la presente invención puede ser un material polímero biocompatible y biodegradable. El término “biocompatible” se define como un material polímero que es atóxico para el cuerpo humano, no es carcinógeno y no induce significativamente la inflamación en los tejidos corporales. El material de matriz debe ser biodegradable en el sentido de que el material polímero debe degradarse mediante procesos corporales hasta productos fácilmente eliminables por el cuerpo y no debe acumularse en el cuerpo. Los productos
 35 de la biodegradación también deben ser biocompatibles con el cuerpo en el mismo sentido en el que la matriz polímera es biocompatible con el cuerpo, como debe ser cualquier disolvente residual que pueda permanecer en las micropartículas.

40 Ejemplos adecuados de materiales de matriz polímeros incluyen poli(ácido glicólico), poli - (ácido D,L - láctico), poli - (ácido L - láctico), copolímeros de los precedentes, poli(ácidos carboxílicos alifáticos), copolioxalatos, policaprolactona, polidioxoneno, poli(orto - carbonato), poli(acetales), poli(ácido láctico - caprolactona), poliortoésteres, poli(ácido glicólico) - caprolactona, polianhídridos, polifosfacinas y polímeros naturales incluyendo albúmina, caseína y ceras, tales como mono - y di - estearato de glicerol, y similares. Diversos materiales de poli(láctido - co - glicólido) (PLGA) disponibles comercialmente pueden usarse en
 45 el método de la presente invención. Por ejemplo, el poli(ácido d,l - láctico - co - glicólico) está disponible comercialmente de Medisorb Technologies International L.P. (Cincinnati, OH). Un producto adecuado disponible comercialmente de Medisorb es un poli(ácido (D,L) - láctico - co - glicólico) 50:50 conocido como MEDISORB® 5050 DL. Este producto tiene una composición en porcentaje molar de 50% de láctido y 50% de glicólido. Otros productos disponibles comercialmente son MEDISORB® 65:35 DL,
 50 75:25 DL, 85:15 DL y poli(ácido d,l - láctico) (d,l - PLA). Los poli(láctido - co - glicólidos) también están disponibles comercialmente de Boehringer Ingelheim (Alemania) bajo su marca Resomer, por ejemplo, PLGA 50:50 (Resomer RG 502), PLGA 75:25 (Resomer RG 752) y d,l.PLA (Resomer RG 206) y de Birmingham Polymers (Birmingham, Alabama). Esos copolímeros están disponibles en un amplio intervalo de pesos moleculares y relaciones de ácido láctico a ácido glicólico.

55 El polímero más preferido para usar en la práctica de esta invención es el poli(dl-láctido-co-glicólido). Se prefiere que la relación molar de láctido a glicólido en tal copolímero esté en el intervalo de aproximadamente 85:15 a aproximadamente 50:50.

60 El peso molecular del material de matriz polímero es de alguna importancia. El peso molecular debe ser suficientemente alto para permitir la formación de revestimientos de polímero satisfactorios, es decir, el polímero debe ser un buen formador de película. Habitualmente, un peso molecular satisfactorio está en

el intervalo de 5.000 a 5000.000 daltons, preferiblemente aproximadamente 150.000 daltons. Sin embargo, puesto que las propiedades de la película también dependen parcialmente del material polímero particular que se use, es muy difícil especificar un intervalo de peso molecular apropiado para todos los polímeros. El peso molecular de un polímero también es importante desde el punto de vista de su influencia sobre la velocidad de biodegradación del polímero. Para un mecanismo difusional de liberación de fármaco, el polímero debe permanecer intacto hasta que todo el fármaco se libere desde las micropartículas y a continuación debe degradarse. El fármaco también puede liberarse desde las micropartículas a medida que el excipiente polímero se bioerosiona. Mediante una selección apropiada de materiales polímeros puede elaborarse una formulación de micropartículas en la que las micropartículas resultantes exhiben propiedades tanto de liberación difusional como de liberación por biodegradación. Esto es útil para proporcionar modelos de liberación multifásicos.

La formulación preparada mediante el procedimiento de la presente invención contiene un agente activo dispersado en el material de matriz de polímero en micropartículas. La cantidad de agente incorporada en las micropartículas varía habitualmente de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 90 % en peso, preferiblemente de 30 a 50 % en peso, más preferiblemente de 35 a 40 % en peso. Por % en peso se entiende partes de agente por peso total de micropartículas. Por ejemplo, 10 % en peso de agente significaría 10 partes de agente y 90 partes de polímero en peso.

Al llevar a cabo el procedimiento de la presente invención, el polímero encapsulante debe estar esencialmente 100 % disuelto en la combinación de disolventes en el momento en el que la solución se emulsifica. El agente activo puede dispersarse o disolverse en la combinación de disolventes en el momento en el que se añade al medio de procesamiento de fase continua. El contenido de material normalmente sólido (agente activo más polímero encapsulante) en la combinación de disolventes en el momento en el que se emulsifica en primer lugar debe ser al menos 5 por ciento en peso y preferiblemente al menos 20 % en peso. Minimizar el disolvente en la "fase aceitosa" proporciona una micropartícula de mejor calidad y requiere menos medio de extracción.

Un agente activo preferido que puede encapsularse mediante el procedimiento de la presente invención es la noretindrona (NET) otros son la risperidona y la testosterona.

El acetato de etilo sólo es un disolvente pobre para la NET requiriendo de ese modo más disolvente y temperaturas superiores que el procedimiento con cloroformo de la técnica anterior. Aunque las cargas de núcleo de las micropartículas de producto son aceptables, los rendimientos, especialmente en el intervalo de 63-90 μm , son bajos. Las micrografías electrónicas de exploración muestran que estas micropartículas más grandes se abren agrietándose (es decir, se descascarillan) y colapsan. Las velocidades de liberación superiores a las normales para estas micropartículas corroboran este fenómeno.

Experimentos que usaban alcohol bencílico sólo como el disolvente daban como resultado un control fácil del tamaño de las micropartículas según se determinaba mediante la inspección del contenido del depósito de remojo mediante microscopía óptica. Al secarse, sin embargo, se encontró que había resultado una calidad generalmente pobre. A menudo, la recuperación era difícil debido a la pegajosidad. Además, los residuos de disolvente tendían a ser elevados. Usar un sistema disolvente de acetato de etilo y alcohol bencílico para la "fase aceitosa" mejoraba la calidad de las micropartículas y las características de liberación.

La mezcla de ingredientes en el sistema disolvente de la "fase aceitosa" se emulsifica preferiblemente en un medio de procesamiento de fase continua; siendo tal el medio de fase continua que se forma una dispersión de microgotículas que contienen los ingredientes indicados en el medio de fase continua.

Aunque no es absolutamente necesario, se prefiere saturar el medio de procesamiento de fase continua con al menos uno de los disolventes que forman el sistema disolvente de la "fase aceitosa". Esto proporciona una emulsión estable, evitando el transporte de disolvente fuera de las microgotículas antes del remojo. De forma similar, puede aplicarse un vacío como en U.S. 4.389.330. Cuando el acetato de etilo y el alcohol bencílico son los componentes del sistema disolvente, la fase acuosa de la emulsión contiene preferiblemente de 1 a 8 por ciento en peso de acetato de etilo y de 1 a 4 por ciento en peso de alcohol bencílico.

Habitualmente, se añade un tensioactivo o un coloide hidrófilo al medio de procesamiento de fase continua para evitar que las microgotículas de disolvente se aglomeren y para controlar el tamaño de las microgotículas de disolvente en la emulsión. Ejemplos de compuestos que pueden usarse como tensioactivos o coloides hidrófilos incluyen, pero no se limitan a, poli(alcohol vinílico), carboximetilcelulosa,

gelatina, poli(vinilpirrolidona), Tween 80, Tween 20 y similares. La concentración de tensioactivo o coloide hidrófilo en el medio de procesamiento debe ser suficiente para estabilizar la emulsión y afectará al tamaño final de las micropartículas. Generalmente, la concentración del tensioactivo o el coloide hidrófilo en el medio de procesamiento será de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % en peso basado en el medio de procesamiento, dependiendo del tensioactivo o el coloide hidrófilo, el sistema disolvente de la “fase aceitosa” y el medio de procesamiento usado. Una combinación de medios dispersantes preferida es una solución al 0,1 a 10 % en peso, más preferiblemente 0,5 a 2 % en peso, de poli(alcohol vinílico) en agua.

La emulsión puede formarse mediante la agitación mecánica de las fases mezcladas o añadiendo pequeñas gotas de la fase orgánica que contiene agente activo y material formador de pared al medio de procesamiento de fase continua. La temperatura durante la formación de la emulsión no es especialmente crítica, pero puede influir en el tamaño y la calidad de las micropartículas y la solubilidad del agente activo en la fase continua. Por supuesto, es deseable tener tan poco agente activo en la fase continua como sea posible. Por otra parte, dependiendo de la combinación de disolventes y el medio de procesamiento de fase continua empleados, la temperatura no debe ser demasiado baja o el disolvente y el medio de procesamiento pueden solidificarse o hacerse demasiado viscosos para propósitos prácticos. Por otra parte, no debe ser tan alta que el medio de procesamiento se evapore o que no se mantenga líquido el medio de procesamiento. Por otra parte, la temperatura de la emulsión no puede ser tan alta que la estabilidad del agente activo particular que se incorpora en las micropartículas sea afectada adversamente. De acuerdo con esto, el procedimiento de dispersión puede efectuarse a cualquier temperatura que mantenga las condiciones de operación estables, preferiblemente de aproximadamente 20°C a aproximadamente 60°C, dependiendo del agente activo y el excipiente seleccionados.

Según se indica previamente, para crear micropartículas que contienen un agente activo, se combinan una primera fase, preferiblemente orgánica, y una segunda fase, preferiblemente acuosa. Las fases orgánica y acuosa son principalmente o sustancialmente inmiscibles, constituyendo la fase acuosa la fase continua de la emulsión. La fase orgánica incluye el agente activo así como el polímero formador de pared, es decir, el material de matriz polímero. La fase orgánica puede prepararse disolviendo o dispersando el agente o los agentes activos en un sistema disolvente orgánico. La fase orgánica y la fase acuosa se combinan bajo la influencia de un mezclador estático para formar las micropartículas de la presente invención. Preferiblemente, las fases orgánica y acuosa combinadas se bombean a través de un mezclador estático para formar una emulsión y en un gran volumen de líquido de remojo, para obtener micropartículas que contienen el agente activo encapsulado en el material de matriz polímero.

En muchas de las técnicas conocidas para la microencapsulación de agentes biológicos o farmacéuticos, las micropartículas se forman cuando el disolvente que contiene el agente activo y el polímero se emulsifica o se dispersa en un segundo disolvente inmiscible mediante remoción, agitación, vibración o alguna técnica de mezcla dinámica, a menudo durante un período de tiempo relativamente prolongado. Tales técnicas de mezcla dinámica tienen varias desventajas. Por ejemplo, es difícil controlar el tamaño de las micropartículas resultantes o la distribución de tamaños obtenida. Como consecuencia, el uso de mezcla dinámica también presenta problemas cuando se preparan micropartículas que contienen agentes biológicos o farmacéuticos a escala de producción o comercial. Particularmente, el equipo de producción incluye un depósito de emulsión costoso, incluyendo el equipo para remover o agitar los fluidos. Uno de los factores de control para el tiempo del procedimiento global es el tiempo requerido para formar una emulsión uniforme. Los tamaños de partida incrementados en depósitos más grandes requieren un tiempo más prolongado para formar la emulsión dando como resultado un tiempo del procedimiento de producción global más prolongado. Los tiempos de exposición más prolongados del agente activo a los disolventes del procedimiento y los polímeros en solución pueden conducir a la degradación o la desactivación del agente activo. El aumento a escala hasta un procedimiento de producción desde un procedimiento de emulsión de laboratorio es particularmente difícil para la microencapsulación de agentes biológicos o farmacéuticos ya que, a medida que el tamaño de la partida y el depósito se incrementan, las velocidades de remoción y las viscosidades dentro del depósito más grande tienen que determinarse empíricamente, y optimizarse, mediante un método de tanteos en cada fase del aumento a escala. Este procedimiento no sólo consume mucho tiempo sino que es impreciso.

De acuerdo con esto, una ventaja de preparar micropartículas usando un mezclador estático es que puede realizarse el aumento a escala preciso y fiable desde tamaños de partida de laboratorio hasta comerciales mientras que se alcanza una distribución estrecha y bien definida de micropartículas que contienen agentes biológicamente o farmacéuticamente activos. Una ventaja adicional de este método es que puede usarse el mismo equipo para formar micropartículas que contienen agentes activos de una distribución de tamaños bien definida para tamaños de partida variables. Otra ventaja más del método es que pueden

obtenerse micropartículas de alta calidad que tienen una alta concentración de agente activo usando una sola etapa para retirar el disolvente sin la necesidad de un procedimiento de retirada de disolvente en dos etapas como el descrito en la Patente de Tice y otros mencionada previamente (U.S. 4.389.330). Además de mejorar la tecnología del procedimiento, los mezcladores estáticos tienen bajo mantenimiento, su pequeño tamaño requiere menos espacio que los mezcladores dinámicos, tienen bajas demandas de energía y coste de inversión comparativamente bajo.

Los mezcladores estáticos o sin movimiento consisten en un conducto o tubo en el que se recibe un número de elementos de mezcladura estáticos. Los mezcladores estáticos proporcionan mezcladura uniforme en una longitud de conducto relativamente corta y en un período de tiempo relativamente corto. Con los mezcladores estáticos, el fluido se mueve a través del mezclador, en vez de alguna parte del mezclador, tal como un álabe, que se mueve a través del fluido. El flujo a través de un tipo de mezclador estático se ilustra en la figura 1. Una bomba (no mostrada) introduce una corriente de uno o más fluidos en un mezclador 10 estático que se muestra generalmente en 1. La corriente se divide y se fuerza hacia paredes exteriores opuestas según se muestra generalmente en 2. Se crea un vórtice axial a la línea central del mezclador 10 estático, según se muestra generalmente en 3. El vórtice se somete a cizallamiento y el procedimiento se repite, pero con la relación opuesta, según se muestra generalmente en 4. El movimiento en sentido horario/antihorario asegura un producto homogéneo.

Un ejemplo de un mezclador estático se muestra en la figura 2. El mezclador 10 estático incluye un número de elementos 14 de mezcladura estacionarios o estáticos dispuestos en serie dentro de un conducto o una tubería 12. El número de elementos puede variar desde 4 hasta 32 o más. El conducto 12 es de sección transversal circular y está abierto en extremos 18 y 20 opuestos para introducir y retirar fluidos. El elemento 14 de mezcladura comprende segmentos 142. Cada segmento 142 consiste en una pluralidad de placas o aspas 144. Dos segmentos 142 sustancialmente idénticos están preferiblemente alternados en zigzag axialmente uno con respecto a otro. Un mezclador estático como el mostrado en la figura 2 se describe más a fondo en la Patente de EE.UU. N° 4.511.258, que se incorpora aquí mediante referencia.

Cuando se usa un mezclador estático para formar una emulsión, una variedad de factores determinan el tamaño de las gotículas de la emulsión. Estos factores incluyen la densidad y la viscosidad de las diversas soluciones o fases que han de mezclarse, la relación en volumen de las fases, la tensión interfacial entre las fases, los parámetros del mezclador estático (diámetro de los conductos; longitud del elemento de mezcladura; número de elementos de mezcladura) y la velocidad del fluido a través del mezclador estático. La temperatura es una variable debido a que afecta a la densidad, la viscosidad y la tensión interfacial. La variable de control primaria es la velocidad del fluido. La velocidad de cizallamiento y la caída de presión por unidad de longitud de mezclador estático también son parámetros importantes. Particularmente, el tamaño de las gotículas disminuye a medida que se incrementa la velocidad del fluido y, alternativamente, el tamaño de las gotículas se incrementa a medida que disminuye la velocidad del fluido (y la caída de presión). Las gotículas alcanzarán un tamaño de equilibrio después de moverse a través de un número fijo de elementos para un caudal dado. Cuanto mayor es el caudal, menos elementos se necesitan. Debido a estas relaciones, el aumento a escala desde tamaños de partida de laboratorio hasta tamaños de partida comerciales es fiable y preciso, y puede usarse el mismo equipo para tamaños de partida de laboratorio y comerciales.

En un procedimiento de la presente invención, la fase orgánica y la fase acuosa se bombean de modo que las dos fases fluyen simultáneamente a través de un mezclador estático, formando de ese modo una emulsión que comprende micropartículas que contienen el agente activo encapsulado en el material de matriz polímero. Las fases orgánica y acuosa se bombean a través del mezclador estático en un gran volumen de líquido de remojo. El líquido de remojo puede ser agua pura, una solución acuosa u otro líquido adecuado. El disolvente orgánico puede retirarse de las micropartículas mientras se están lavando o se están removiendo en el líquido de remojo. El procedimiento de la presente invención, por el que las fases orgánica y acuosa se bombean a través de un mezclador estático en un líquido de remojo para la retirada del disolvente, da como resultado la formación de micropartículas de alta calidad que tienen una alta concentración de agente activo sin la necesidad del procedimiento de retirada de disolvente en dos etapas descrito en la patente de Tice mencionada previamente (4.389.330). Después de que las micropartículas se laven en un líquido de remojo para extraer o retirar el disolvente orgánico, se aíslan, por ejemplo a través de un tamiz, y se secan.

En otra modalidad de la presente invención, la fase orgánica puede comprender una solución de polímero y un agente activo que puede suspenderse como un polvo seco o disolverse en una solución acuosa y emulsificarse. El polímero puede disolverse en un disolvente orgánico apropiado, preferiblemente un disolvente no halogenado tal como acetato de etilo. La fase orgánica se combina con un no

disolvente en un mezclador estático donde tiene lugar la coacervación o precipitación de las gotículas de polímero alrededor de las partículas o gotículas de agente activo, es decir, la separación de fases. El tiempo de permanencia del disolvente y el no disolvente que fluyen a través del mezclador estático es un factor importante en el procedimiento. El tiempo de permanencia puede alterarse cambiando las dimensiones de los elementos de mezcladura y el conducto así como las velocidades lineales de las soluciones que fluyen a través del mezclador estático. Otros factores importantes que pueden afectar a la formación de microesporas son la densidad y la viscosidad de las dos fases que han de mezclarse, la relación en volumen de las fases y la tensión interfacial entre las fases. El control del tamaño de la microesfera, sin embargo, está determinado principalmente por el tamaño y la uniformidad de la suspensión o emulsión inicial del agente activo en la fase orgánica.

Una instalación de laboratorio para llevar a cabo un procedimiento en mezclador estático se ilustra en la figura 3. Se prepara una fase 30 orgánica o aceitosa disolviendo un agente activo y un material de matriz polímero en un recipiente 32 agitado. Sin embargo, el procedimiento no se limita a preparar la fase 30 orgánica disolviendo un agente activo. Alternativamente, la fase 30 orgánica puede prepararse dispersando un agente activo en una solución que contiene un material de matriz polímero. En tal dispersión, el agente activo es sólo ligeramente soluble en la fase 30 orgánica. Alternativamente, la fase 30 orgánica puede prepararse preparando una emulsión que contiene un agente activo y un material de matriz polímero (procedimiento de doble emulsión). En el procedimiento de doble emulsión, se prepara una emulsión primaria que contiene un agente activo y un material de matriz polímero (fase 30 orgánica). La emulsión primaria puede ser una emulsión de agua en aceite, una emulsión de aceite en agua o cualquier emulsión adecuada. La emulsión primaria (fase 30 orgánica) y una fase acuosa se bombean a continuación a través de un mezclador estático para formar una segunda emulsión que comprende microgotículas que contienen el agente activo encapsulado en el material de matriz polímero. Un ejemplo de preparar micropartículas que contienen un agente activo usando el procedimiento doble emulsión de la presente invención se proporciona más adelante como Ejemplo 7.

La fase 30 orgánica se bombea fuera del recipiente 32 agitado mediante una bomba 34 de engranajes accionada magnéticamente. Sin embargo, se entiende que puede usarse cualquier medio de bombeo adecuado. La descarga de la bomba 34 alimenta una conexión 36 en "Y". Un brazo 361 de la conexión 36 en "Y", vuelve al recipiente 32 para el flujo de recirculación. El otro brazo 362 alimenta un mezclador 10 estático en línea. La fase 40 acuosa o en agua se prepara de manera similar, con un recipiente 42 agitado, una bomba 44 de engranajes accionada magnéticamente y una conexión 46 en "Y". Un brazo 461 de la conexión 46 en "Y" vuelve al recipiente 42 para el flujo de circulación. El otro brazo 462 alimenta el mezclador 10 estático en línea.

Los brazos 362 y 462 de cada solución, que alimentan el mezclador 10 estático en línea, se unen mediante otra conexión 50 en "Y" y alimentan a través de la conducción 51 de la entrada del mezclador hacia el mezclador 10 estático. El mezclador 10 estático se descarga a través de la conducción 52 de la salida del mezclador hacia el depósito 60 de lavado. Se usa una tubuladura de silicona y adaptadores de polipropileno en el sistema ilustrado en la figura 3. La tubuladura de silicona que tiene un diámetro interno de 3/8 pulgadas se usa para todas las conducciones excepto la conducción 52 de la salida del mezclador. Se usa una tubuladura de diámetro inferior (diámetro interno 3/16 de pulgada) para la conducción 52 de la salida del mezclador para evitar el colapso de la emulsión tanto en la conducción 52 de la salida del mezclador como durante la entrada al depósito 60 de lavado.

En una realización del procedimiento, las bombas 34 y 44 se encienden en modo de recirculación y se fijan los caudales deseados para la fase 30 orgánica y la fase 40 en agua. El caudal de la fase 40 en agua es preferiblemente mayor que el caudal de la fase 30 orgánica. Sin embargo, los dos caudales pueden ser sustancialmente iguales. La relación del caudal de la fase 40 en agua al caudal de la fase 30 orgánica está preferiblemente en el intervalo de 1:1 a 10:1. La conexión 46 en "Y" se cambia a continuación de modo que la fase 40 en agua fluya a través del brazo 462 hacia el mezclador 10 estático. Una vez que la fase 40 en agua llena la conducción 51 de la entrada del mezclador, el mezclador 10 estático y la conducción 52 de la salida del mezclador; la conexión 36 en "Y" se cambia de modo que la fase 30 orgánica fluya a través del brazo 362 hacia el mezclador 10 estático. La fase 30 orgánica y la fase 40 en agua en este punto fluyen simultáneamente a través del mezclador 10 estático. Cuando la cantidad deseada de fase orgánica se ha bombeado al mezclador 10 estático, la conexión 36 en "Y" se cambia hasta recirculación a través del brazo 361. La fase 40 en agua continua fluyendo durante un tiempo corto para limpiar cualquier fase orgánica que permanezca en la conducción 51 de la entrada del mezclador, el mezclador 10 estático y la conducción 52 de la salida del mezclador. La conexión 46 en "Y" se cambia a continuación hasta la recirculación a través del brazo 461.

La fase 30 orgánica y la fase 40 acuosa se mezclan en el mezclador 10 estático para formar una emulsión. La emulsión formada comprende microgotículas que contienen agente activo encapsulado en material de matriz polímero. Las microgotículas se remueven en el depósito 60 de lavado que contiene una solución de remojo para retirar el disolvente orgánico de las microgotículas dando como resultado la formación de micropartículas endurecidas. Las micropartículas se aíslan a continuación de la solución acuosa de remojo mediante cualquier medio de separación conveniente; el fluido puede decantarse de las micropartículas o la suspensión de micropartículas puede filtrarse o puede usarse a una columna tamizadora. Pueden usarse diversas otras combinaciones de técnicas de separación, si se desea. Las micropartículas se secan a continuación usando técnicas de secado convencionales, y puede llevarse a cabo un aislamiento por tamaños adicional.

Después del movimiento de las microgotículas desde el mezclador estático y la entrada en el depósito de lavado, el medio de procesamiento de fase continua se diluye y el resto de disolvente en las micropartículas se retira mediante extracción. En esta etapa de remojo extractivo, las micropartículas pueden suspenderse en el mismo medio de procesamiento de fase continua usado durante la emulsificación, con o sin coloide hidrófilo o tensioactivo, o en otro líquido. El medio de extracción retira el disolvente de las micropartículas, pero no las disuelve. Durante la extracción, el medio de extracción que contiene disolvente disuelto, opcionalmente, puede retirarse y reemplazarse por medio de extracción reciente. Esto se hace mejor en una base continua cuando la velocidad de la reposición del medio de extracción es crítica. Si la velocidad es demasiado lenta, cristales del agente activo pueden sobresalir de las micropartículas o crecer en el medio de extracción. Esta velocidad crítica de reposición del medio de extracción para un procedimiento dado es una variable que puede determinarse en el momento en el que se realice el procedimiento y, por lo tanto, no necesitan predeterminarse límites precisos para la velocidad. Después de que el resto del disolvente se haya retirado, las micropartículas se aíslan según se indica previamente y a continuación se secan mediante la exposición al aire o mediante otras técnicas de secado convencionales, tales como secado al vacío, secado sobre un desecante o similares. Este procedimiento es muy eficaz para encapsular un agente activo ya que pueden obtenerse cargas de núcleo de hasta aproximadamente 80 % en peso, preferiblemente de hasta aproximadamente 50 % en peso.

Uno de los disolventes en la combinación de disolventes usada para formar las gotículas de la "fase aceitosa" en la emulsión se extraerá más rápidamente que el otro disolvente, por ejemplo, el primer disolvente, acetato de etilo, en el caso de la combinación preferida de acetato de etilo/alcohol bencílico. Así, se apartan muchos residuos del segundo disolvente (aquí, alcohol bencílico). Debido al alto punto de ebullición del alcohol bencílico, no se retira fácilmente mediante la exposición de las micropartículas a aire u otros medios evaporativos convencionales. Para vencer esto, algo del disolvente extraído más rápidamente se añade al medio de extracción antes de la adición de la emulsión. La concentración del disolvente extraído más rápidamente en el medio de extracción es generalmente de aproximadamente 20 a aproximadamente 70 % del punto de saturación del disolvente en el medio a la temperatura que ha de usarse para la extracción. Así, cuando la emulsión se añade al líquido de remojo, la extracción del disolvente extraído más rápidamente se retarda y se retira más del segundo disolvente extraído más lentamente.

La cantidad exacta de esta "siembra" de disolvente extraído más rápidamente es de importancia para la calidad final de las micropartículas. Demasiado disolvente (es decir, cerca del punto de saturación) da como resultado micropartículas porosas con agente activo visible sobre la superficie, provocando lo que puede ser una velocidad de liberación indeseablemente alta. Demasiado poco disolvente en el medio de extracción da como resultado muchos residuos del disolvente extraído más lentamente y escasa calidad de las micropartículas. La temperatura del medio de extracción también es importante ya que afecta a la solubilidad del disolvente y a la velocidad de extracción.

Tanto la temperatura como la cantidad de siembra de disolvente pueden ajustarse para proporcionar las características deseadas finales del producto, es decir, micropartículas de liberación rápida altamente porosas o micropartículas de liberación lenta que tienen una porosidad baja.

El líquido de remojo puede ser agua pura, una solución en agua, u otro líquido adecuado, cuyo volumen, cantidad y tipo dependen de los disolventes usados en la fase de emulsión. El líquido de remojo preferiblemente es agua. Generalmente, el volumen del líquido de remojo es del orden de 10 veces el volumen saturado (es decir, 10 veces el volumen del baño de remojo necesario para adsorber completamente el volumen de disolvente en la emulsión). Dependiendo del sistema disolvente, sin embargo, el volumen del baño de remojo puede variar de aproximadamente 2 a aproximadamente 20 veces el volumen saturado. Adicionalmente, es conveniente describir el requerimiento del volumen del baño de remojo relativo al tamaño de la partida (producto en micropartículas). Esta relación es una indicación de la eficacia de

la etapa de extracción y, en algunos casos, dicta el tamaño de la partida para una disposición dada del equipo. Cuanto más grande es la relación, más volumen se requiere por peso de producto. Por otra parte, con una relación menor, puede obtenerse más producto a partir de la misma cantidad de volumen del baño de remojo. Esta relación puede variar de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 litros de volumen del baño de remojo por gramo de micropartículas producido. Se prefieren los procedimientos con una relación de menos de aproximadamente 1 litro por gramo.

Cuando se usa la combinación de disolventes preferida de alcohol bencílico y acetato de etilo, el acetato de etilo del líquido de remojo parece afectar al nivel de disolvente residual en las micropartículas de producto. Con bajos contenidos de acetato de etilo en el líquido de remojo, los residuos de alcohol bencílico en las micropartículas son altos mientras que el acetato de etilo puede ser casi indetectable. Con altos contenidos de acetato de etilo en el líquido de remojo, 5-7% en peso o más, puede ser retenido por las micropartículas más acetato de etilo que alcohol bencílico. A un volumen del baño de remojo de aproximadamente 1 litro por gramo de agente activo y material encapsulante polímero que se remoja, aproximadamente 3-4 por ciento en peso de acetato de etilo en el líquido de remojo es óptimo a 0-4°C. La carga de núcleo de las micropartículas varía ligeramente con cambios en la concentración de acetato de etilo en el líquido de remojo, disminuyendo con concentraciones altas y bajas de acetato de etilo. Las velocidades de liberación in vitro de las micropartículas varían sustancialmente a medida que se varía el contenido de acetato de etilo del líquido de remojo. En el caso de la NET, se observa una liberación más rápida de NET a los contenidos de acetato de etilo extremos. La observación con un microscopio electrónico de exploración muestra la presencia de NET y poros sobre la superficie de las micropartículas cuando están presentes extremos de acetato de etilo en el líquido de remojo.

Alterar el volumen del líquido de remojo también tiene un efecto profundo sobre la cantidad relativa de residuos de disolvente en las micropartículas. A volúmenes bajos, la relación de alcohol bencílico a acetato de etilo es alta y disminuye hasta menos uno a medida que el volumen del baño de remojo se incrementa hasta aproximadamente 1,5 l por gramo de agente activo y material encapsulante polímero que se remoja. La velocidad de liberación de agente activo desde las micropartículas de producto es marcadamente alta. (A 0,125 l de líquido de remojo por gramo de solución de NET y material encapsulante polímero, las micrografías electrónicas de exploración muestran que las micropartículas de producto son extremadamente porosas. A partir de 0,25 a 1,5 l de líquido de remojo por gramo de solución de NET y material encapsulante polímero, la velocidad de liberación de NET a partir de las micropartículas de producto varía ligeramente con un mínimo posible a 1 l de líquido de remojo por gramo de NET y material encapsulante polímero que se remoja).

El procedimiento de la presente invención por el que se preparan micropartículas usando un mezclador estático puede llevarse a cabo para una variedad de técnicas usadas para encapsular agentes activos. El procedimiento de la presente invención no está limitado a la técnica de extracción de disolvente analizada anteriormente, sino que puede usarse con otras técnicas de encapsulación. Por ejemplo, el procedimiento de la presente invención también puede usarse con una técnica de encapsulación por separación de fases. Para hacer esto, se prepara una fase orgánica que comprende un agente activo suspendido o dispersado en una solución de polímero. La segunda fase de no disolvente está libre de disolventes para el polímero y el agente activo. Una segunda fase de no disolvente preferida es aceite de silicona. La fase orgánica y la fase de no disolvente se bombean a través de un mezclador estático hacia un líquido de remojo no disolvente, tal como heptano. Las partículas semisólidas se remojan para el endurecimiento completo y el lavado. Ejemplos de usar tal procedimiento se proporcionan más adelante como "Ejemplos de Referencia 2-5".

El producto en micropartículas está constituido habitualmente por partículas de una conformación esférica, aunque a veces las micropartículas pueden ser de conformación irregular. Las micropartículas pueden variar en tamaño, fluctuando desde diámetros submicrométricos a milimétricos. Preferiblemente, se preparan micropartículas de 1-500 micras, más preferiblemente 25-180 micras, por lo que la administración de las micropartículas a un paciente puede llevarse a cabo con una aguja calibrada estándar.

Preferiblemente, las partículas cargadas con fármaco se dispensan a los pacientes en una sola administración, liberando el fármaco de una manera constante o pulsatoria al paciente y eliminando la necesidad de inyecciones repetitivas.

Las micropartículas que tienen agente activo se obtienen y se almacenan como un material seco. Antes de la administración a un paciente, las micropartículas secas pueden suspenderse en un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable, tal como una solución al 2,5% en peso de carboximetilcelulosa, después de lo cual la suspensión de micropartículas se inyecta en el cuerpo.

Las micropartículas pueden mezclarse por tamaño o por tipo a fin de proporcionar el aporte de agente activo al paciente de una manera multifásica y/o de una manera que proporcione diferentes agentes activos al paciente en diferentes momentos, o una mezcla de agentes activos en el mismo momento. Por ejemplo, pueden combinarse antibióticos secundarios, vacunas o cualquier agente activo deseado, en forma de micropartículas o en forma no encapsulada convencional, con un agente activo primario y proporcionarse al paciente.

Agentes activos adecuados incluyen estrógenos tales como dietilestilbestrol, 17-beta-estradiol, estrona, etinilestradiol, mestranol y similares; progestinas tales como noretindrona, norgestrel, diacetato de etinodiol, linestrenol, acetato de medroxiprogesterona, dimestisterona, acetato de meggestrol, acetato de clormadinona, norgestimato, noretisterona, etisterona, melengestrol, noretinodrel y similares; y compuestos espermicidas tales como nonilfenoxipolioxietilenglicol, cloruro de bencetonio, clorindanol y similares.

Otros agentes biológicamente activos que pueden incorporarse usando el procedimiento de la presente invención incluyen agentes terapéuticos gastrointestinales tales como hidróxido de aluminio, carbonato cálcico, carbonato magnésico, carbonato sódico y similares; agentes antifertilizantes no esteroideos; agentes parasimpatomiméticos; agentes psicoterapéuticos; risperidona; tranquilizantes principales tales como HCl de clorpromazina, clozapina, mesoridazina, metiapina, reserpina, tioridazina y similares; tranquilizantes secundarios tales como cloridazepóxido, diazepam, meprobamato, temazepam y similares; descongestivos rinológicos; hipnóticos sedantes tales como codeína, fenobarbital, pentobarbital sódico, secobarbital sódico y similares; esteroides tales como testosterona y propionato de testosterona; sulfonamidas; agentes simpatomiméticos; vacunas; vitaminas y nutrientes tales como los aminoácidos esenciales; grasas esenciales y similares; agentes antimaláricos tales como 4-aminoquinolinas, 8-aminoquinolinas, pirimetamina y similares; agentes antimigrañosos tales como mazindol, fentermina y similares; agentes anti-parkinsonianos tales como L-dopa; antiespasmódicos tales como atropina, bromuro de metescopolamina y similares; antiespasmódicos y agentes anticolinérgicos tales como terapia biliar, digestivos, enzimas y similares; antitusivos tales como desxtrometorfano, noscapina y similares, broncodilatadores; agentes cardiovasculares tales como compuestos antihipertensivos, alcaloides de Rauwolfia, vasolidadores coronarios, nitroglicerina, nitratos orgánicos, pentaeritritotetranitrato y similares; sustituyentes de electrolitos tales como cloruro potásico; ergotalcaloides tales como ergotamina con y sin cafeína, alcaloides de cornezuelo hidrogenados, metanosulfato de dihidroergocristina, metanosulfonato de dihidroergocornina, metanosulfato de dihidroergocriptina y combinaciones de los mismos; alcaloides tales como sulfato de atropina, belladona, hidrobromuro de hioscina y similares; analgésicos; narcóticos tales como codeína, dihidrocodienona, meperidina, morfina y similares; no narcóticos tales como salicilatos, aspirina, acetaminofeno, d-propoxifeno y similares, antibióticos tales como las cefalosporinas, cloranfenicol, gentamicina, kanamicina A, kanamicina B, las penicilinas, ampicilina, estreptomycin A, antimicina A, cloropanteniol, metroimidazol, oxitetraciclina, penicilina G, las tetraciclinas y similares; agentes anticancerosos; anticonvulsivos tales como mefenitoína, fenobarbital, trimetadiona; antieméticos tales como tietylperazina; anhistaminas tales como clorofinazina, dimenhidrinato, difenhidramina, perfenazina, tripelenamina y similares; agentes antiinflamatorios tales como agentes hormonales, hidrocortisona, prednisolona, prednisona, agentes no hormonales, alopurinol, aspirina, indometacina, fenilbutazona y similares, prostaglandinas, fármacos citotóxicos tales como tiotepa, clorambucil, ciclofosfamida, melfalano, hiperita nitrogenada, metotrexato y similares; antígenos de microorganismos tales como *Neisseria gonorrhoea*; *Mycobacterium tuberculosis*, *Herpes virus* (humonis, tipos 1 y 2), *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Haemophilus vaginalis*, *Streptococcus coli* Grupo B, *Microplasma hominis*, *Hemophilus ducreyi*, *Granuloma inguinale*, *Lymphopatiua venereum*, *Treponema pallidum*, *Bruvella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella canis*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter fetus intestinalis*, *Leptospira pomona*, *Listeria monocytogenes*, *Brucella ovis*, virus de herpes equino 1, virus de arteritis equina, virus IBR-IBP, virus BVD-MB, *Chlamydia psittaci*, *Trichomonas foetus*, *Toxoplasma gondii*, *Escherichia colti*, *Actinobacillus equuli*, *Salmonella abortus equi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium equi*, *Corynebacterium pyogenes*, *Actinobacillus seminis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Aspergillus fumigatus*, *Absidia ramosa*, *Trypanosoma equiperdum*, *Babesia caballi*, *Clostridium tetani* y similares; anticuerpos que contrarrestan los microorganismos previos; y enzimas tales como ribonucleasa, neuramidinasa, tripsina, glicógeno foforilasa, dihidrogenasa láctica de esperma, hialuronidasa de esperma, adenosintrifosfatasa, fosfatasa alcalina, fosfatasa alcalina esterasa, aminopeptidasa, tripsina, quimotripsina, amilasa muramidasa, proteína acrosomal, diesterasa, ácido glutámico deshidrogenasa, ácido succínico deshidrogenasa, beta-glicofosfatasa, lipasa, ATP-asa alfa-peptato gamma-glutamilotranspeptidasa, esterol-3-beta-ol-deshidrogenasa y DPN-di-aprorasa.

Otros agentes bioactivos macromoleculares más que pueden elegirse para la incorporación incluyen, pero no se limitan a, factores de coagulación de la sangre, factores hematopoyéticos, citoquinas, interleuquinas, factores estimulantes de colonias, factores de crecimiento, y análogos y fragmentos de los mismos.

ES 2 172 574 T3

Los siguientes ejemplos describen adicionalmente los materiales y métodos usados para llevar a cabo la invención. Los ejemplos no pretenden limitar la invención de ninguna manera.

5 Ejemplo 1

Preparación de Micropartículas de Noretindrona Cargadas Teóricamente al 30 %, 33 % y 50 %

10 Una partida de 1 kg de micropartículas cargadas con noretindrona al 30 % se prepara usando un mezclador estático de 9,905 cm (3/4") de diámetro por 12 elementos (Koflo, M/N:3/4-TU-3-12RH-11, Koflo Corp., Cary, Illinois). La solución de polímero/fármaco (fase orgánica) se prepara como sigue. Se disuelven 329 g de noretindrona USP en una solución calentada (65-70°C) de 770 g de PLGA Medisorb[®] 85:15 dl (Viscosidad Inherente (VI) = 0,65 dl/g) en 2,2 kg de acetato de etilo NF y 2,2 kg de alcohol bencílico NF. La solución se filtra (0,2 μm) y se mantiene a 65-70°C. La solución en agua del procedimiento (fase
15 acuosa) se prepara como sigue. Se añaden 150 g de poli(alcohol vinílico) (PVA - Elvanol[®] 51-05 de Du Pont) a 27,27 kg de WFI (Agua Para Inyección) y se calientan (65-70°C) hasta que se disuelven, y a continuación se filtran (0,2 μm). Se añaden a esta solución 810 g de alcohol bencílico filtrado (0,2 μm) y 1770 g de acetato de etilo filtrado (0,2 μm). La solución se mantiene a 65-70°C. La solución de remojo se prepara como sigue: se disuelven 26,25 kg de acetato de etilo NF (filtrado 0,2 μm) en 750 litros de WFI
20 fría y se mantienen a 2-4°C.

La fase orgánica se bombea a través del mezclador estático a un caudal de 909 cc/minuto, y la fase acuosa a un caudal de 4500 cc/minuto en la solución de remojo. Después de 1 hora de remojo, el material se hace pasar a través de tamices de 90 y 25 μm. La porción de 25-90 μm se seca a vacío con agitación
25 durante 36 horas a temperatura ambiente. El rendimiento del procedimiento es 650 g de micropartículas cargadas con noretindrona.

Una partida de 1 kg de micropartículas cargadas con noretindrona al 33 % se prepara usando un mezclador estático de 9,905 cm (3/4") de diámetro por 12 elementos (Koflo, M/N:3/4-TU-3-12RH-11, Koflo
30 Corp., Cary, Illinois). La solución de polímero/fármaco (fase orgánica) se prepara como sigue. Se disuelven 363 g de noretindrona USP en una solución calentada (65-70°C) de 737 g de PLGA Medisorb[®] 85:15 dl (VI = 0,62 dl/g) en 2,2 kg de acetato de etilo NF y 2,2 kg de alcohol bencílico NF. La solución se filtra (0,2 μm) y se mantiene a 65-70°C. La solución en agua del procedimiento (fase acuosa) se prepara como sigue. Se añaden 150 g de PVA (Elvanol[®] 51-05 de Du Pont) a 27,27 kg de WFI y se calientan
35 (65-70°C) hasta que se disuelven, y a continuación se filtran (0,2 μm). Se añaden a esta solución 810 g de alcohol bencílico filtrado (0,2 μm) y 1770 g de acetato de etilo filtrado (0,2 μm). La solución se mantiene a 65-70°C. La solución de remojo se prepara como sigue: se disuelven 750 litros de acetato de etilo NF al 3,5 % (filtrado 0,2 μm) en WFI y se mantienen a 2-4°C.

40 La fase orgánica se bombea a través del mezclador estático a un caudal de 909 cc/minuto, y la fase acuosa a un caudal de 4500 cc/minuto en la solución de remojo. Después de 1 hora de remojo, el material se hace pasar a través de tamices de 90 y 25 μm. La porción de 25-90 μm se seca a vacío con agitación durante 36 horas a temperatura ambiente. El rendimiento del procedimiento es 630 g de micropartículas cargadas con noretindrona.

45 Una partida de 1 kg de micropartículas cargadas con noretindrona al 50 % se prepara usando un mezclador estático de 9,905 cm (3/4") de diámetro por 12 elementos (Koflo, M/N:3/4-TU-3-12RH-11, Koflo Corp., Cary, Illinois). La solución de polímero/fármaco (fase orgánica) se prepara como sigue. Se disuelven 546 g de noretindrona USP en una solución calentada (65-70°C) de 550 g de PLGA Medisorb[®] 85:15 dl (un copolímero de 85 % en moles de ácido láctico y 15 % en moles de ácido glicólico, poli(láctido-co-
50 glicólido)) (VI = 0,62 dl/g) en 2,2 kg de acetato de etilo NF y 2,2 kg de alcohol bencílico NF. La solución se filtra (0,2 μm) y se mantiene a 65-70°C. La solución en agua del procedimiento (fase acuosa) se prepara como sigue. Se añaden 150 g de PVA (Elvanol[®] 51-05 de Du Pont) a 27,27 kg de WFI y se calientan (65-70°C) hasta que se disuelven, y a continuación se filtran (0,2 μm). Se añaden a esta solución 810 g de alcohol bencílico filtrado (0,2 μm) y 1770 g de acetato de etilo filtrado (0,2 μm). La solución se mantiene
55 a 65-70°C. La solución de remojo se prepara como sigue: se disuelven 26,25 kg de acetato de etilo NF (filtrado 0,2 μm) en 750 litros de WFI fría y se mantienen a 2-4°C.

60 La fase orgánica se bombea a través del mezclador estático a un caudal de 909 cc/minuto, y la fase acuosa a un caudal de 4500 cc/minuto en la solución de remojo. Después de 1 hora de remojo, el material se hace pasar a través de tamices de 90 y 25 μm. La porción de 25-90 μm se seca a vacío con agitación durante 36 horas a temperatura ambiente. El rendimiento del procedimiento es 685 g de micropartículas

cargadas con noretindrona.

Las partículas cargadas al 30 % y 50 % se usaron a continuación para preparar dos formulaciones de 65 mg (NET) para inyectar en mandriles. La Formulación para Mandriles 1 consistía en 35 % de las partículas cargadas al 50 % y 65 % de las partículas cargadas al 30 %. La Formulación para Mandriles 2 consistía en 50 % de cada una de las partículas cargadas al 30 % y cargadas al 50 %. Los datos de liberación frente al tiempo para las Formulaciones para Mandriles 1 y 2 se muestran en la figura 4.

Ejemplo 2

10 *Preparación de Micropartículas de Risperidona Cargadas Teóricamente al 35 % (Partida Prodex 2)*

En primer lugar, la fase acuosa (solución A) se prepara pesando y mezclando 906,1 g de poli(alcohol vinílico) (Vinol 205, Air Products and Chemical Inc., Allentown, PA) al 1 %, 29,7 g de alcohol bencílico (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) y 65,3 g de acetato de etilo (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ). A continuación, la fase orgánica (solución B) se prepara disolviendo 29,3 g de (poliláctido-co-glicólido) dl 75:25 de alta viscosidad (Medisorb Technologies International, L.P., Cincinnati, OH) en 108,7 g de acetato de etilo y 108,4 g de alcohol bencílico. Una vez que el polímero está completamente disuelto, se añaden 15,7 g de base de risperidona (Jansen Pharmaceutica, Beerse, Bélgica) y se disuelven en la solución de polímero. El tiempo de exposición de la risperidona disuelta con el polímero se mantiene hasta un mínimo (<10 minutos). Las soluciones A y B se bombean a continuación a través de un mezclador estático de 0,635 cm (1/4 de pulgada) de diámetro (Cole Parmer L04667-14) a través de una bomba accionada por engranaje de un cabezal (Cole-Parmer L07149-04, L07002-16) a caudales de 198 y 24 ml/minuto, respectivamente, hacia un medio de remojo (lavado) compuesto por 55 litros de agua para inyección que contienen 1276,0 g de acetato de etilo, 92,3 g (0,02 molar) de bicarbonato sódico anhidro y 116,2 g (0,02 molar) de carbonato sódico anhidro (Mallinckrodt Specialty Chemicals, París, KY) a 11°C. Las micropartículas se dejan remover en este primer lavado durante 1 y 3/4 horas, a continuación se aíslan tamizando con un tamiz de 25 micras. El producto retenido por el tamiz se transfiere a un segundo lavado de 20 litros de WFI a 13°C. Después de remover en el segundo lavado durante 2 y 1/4 horas, las micropartículas se aíslan y se fraccionan por tamaños tamizando a través de una columna tamizadora de acero inoxidable de tamaños de malla de 25 y 180 micras. Las micropartículas se secan durante la noche y a continuación se recogen y se pesan.

Ejemplo 3

35 *Preparación de Micropartículas de Risperidona Cargadas Teóricamente al 40 % (Partida Prodex 3)*

En primer lugar, la fase acuosa (solución A) se prepara pesando y mezclando 904,4 g de poli(alcohol vinílico) (Vinol 205, Air Products and Chemical Inc., Allentown, PA) al 1 %, 30,1 g de alcohol bencílico (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) y 65,8 g de acetato de etilo (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ). A continuación, la fase orgánica (solución B) se prepara disolviendo 27,1 g de (poliláctido-co-glicólido) dl 75:25 de alta viscosidad (Medisorb Technologies International, L.P., Cincinnati, OH) en 99,3 g de acetato de etilo y 99,1 g de alcohol bencílico. Una vez que el polímero está completamente disuelto, se añaden 18,1 g de base de risperidona (Jansen Pharmaceutica, Beerse, Bélgica) y se disuelven en la solución de polímero. El tiempo de exposición de la risperidona disuelta con el polímero se mantiene hasta un mínimo (<10 minutos). Las soluciones A y B se bombean a continuación a través de un mezclador estático de 0,635 cm (1/4 de pulgada) de diámetro (Cole Parmer L04667-14) a través de una bomba accionada por engranaje de un cabezal (Cole-Parmer L07149-04, L07002-16) a caudales de 198 y 24 ml/minuto, respectivamente, hacia un medio de remojo (lavado) compuesto por 55 litros de agua para inyección que contienen 1.375,6 g de acetato de etilo, 92,4 g (0,02 molar) de bicarbonato sódico anhidro y 116,6 g (0,02 molar) de carbonato sódico anhidro (Mallinckrodt Specialty Chemicals, París, KY) a 12°C. Las micropartículas se dejan remover en este primer lavado durante 2 horas, a continuación se aíslan tamizando con un tamiz de 25 micras. El producto retenido por el tamiz se transfiere a un segundo lavado de 20 litros de WFI a 12°C. Después de remover en el segundo lavado durante 3 horas, las micropartículas se aíslan y se fraccionan por tamaños tamizando a través de una columna tamizadora de acero inoxidable de tamaños de malla de 25 y 180 micras. Las micropartículas se secan durante la noche y a continuación se recogen y se pesan.

Ejemplo de Referencia 1

60 *Liofilización e Irradiación Gamma de Micropartículas de las Partidas Prodex 2 y Prodex 3 (Muestras Prodex 4A, Prodex 4B y Prodex 4C)*

Las micropartículas de las partidas Prodex 2 y Prodex 3 se liofilizaron como sigue. Las micropartículas

se pesaron en viales para suero de 5 cc. A continuación, se añadió a los viales un vehículo acuoso compuesto por 0,75 % de CMC, 5 % de Manitol y 0,1 % de Tween 80. Las micropartículas se suspendieron en el vehículo mediante agitación, y a continuación se congelaron rápidamente en un baño de hielo seco/acetona. Los viales se liofilizaron a continuación en un liofilizador a escala piloto (Dura Stop Micro-processor Control, FTS Systems, Inc., Stone Ridge, N.Y.) empleando un ciclo de temperatura máxima de 30°C graduado durante 50 horas. Las Muestras Prodex 4A y Prodex 4C eran muestras liofilizadas de Prodex 2 y Prodex 3, respectivamente. La Muestra Prodex 4B se liofilizó a partir de Prodex 2 que se había esterilizado subsiguientemente mediante irradiación gamma de 2,2 MRad a partir de una fuente de ^{60}Co .

Estudios de Disolución In Vitro

Se efectuaron estudios de disolución in vitro sobre Prodex 2, Prodex 3, Prodex 4A, Prodex 4B y Prodex 4C. Se usaron metodologías en tiempo real y aceleradas. El equipo consistía en un aparato de disolución de álabes, USP, de 6 celdillas, de investigación, de Hanson (Método II) intercalado con un espectrofotómetro y una estación de datos. Los medios de recepción se recircularon continuamente desde cada celdilla hasta celdillas de flujo dentro del espectrofotómetro. La absorbancia de los medios receptores se controló a 236 nm para la cuantificación de la risperidona.

El modelo de tiempo real medía las velocidades de liberación de micropartículas en un medio receptor que consistía en tampón de tris 50 mM a pH 7,4 a 37°C. Se encontró que la risperidona tenía suficiente solubilidad ($\geq 0,5$ mg/ml) para permitir experimentos in vitro con este medio receptor. La cantidad de risperidona se mantuvo por debajo de 20% de saturación para proporcionar condiciones de inmersión infinitas. Los datos se muestran en las figuras 5 y 6.

También se desarrolló un modelo acelerado. Se usó un medio receptor de 27,5 % en peso de etanol en WFI. Los resultados se muestran en la figura 7.

Dosificación y muestreo de sangre en animales

Se efectuaron estudios in vivo sobre producto proporcionado como micropartículas secas (Prodex 2, Prodex 3) y en forma liofilizada (Prodex 4A, Prodex 4B, Prodex 4C). Las micropartículas secas se cargaron con una jeringa y se resuspendieron en la jeringa con un vehículo de inyección comprendido por carboximetilcelulosa (CMC) al 2,5%. Las muestras liofilizadas (Prodex 4A, Prodex 4B, Prodex 4C) se reconstituyeron en WFI antes de la inyección.

Perros macho y hembra, que pesaban $11,6 \pm 2,3$ kg, se dividieron en grupos de tres perros cada uno. Los perros se alojaron en grupos de tres y se alimentaron de acuerdo con condiciones de laboratorio estándar.

Los volúmenes apropiados de las formulaciones de depósito respectivas se dosificaron intramuscularmente en el bíceps femoral de la pata trasera izquierda al nivel del muslo de los perros a una dosis de aproximadamente 2,5 mg/kg de risperidona.

Se tomaron muestras de sangre (5 ml en EDTA) de una de las venas yugulares a las 0 (predosis), 1, 5 y 24 horas después de la dosificación y también los días 4, 7, 11, 14, 18, 23, 25, 28, 32, 35, 39, 42, 46, 49, 53 y 56 en el momento de la prueba de vómitos con apomorfina. La prueba de apomorfina fue descrita por P.A.J. Janssen y C.J.E. Niemegeers en *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)*, 9:765-767 (1959). Si durante el transcurso de los experimentos cada uno de los tres perros de un grupo ya no mostraba protección contra el vómito inducido por apomorfina, el muestreo de sangre se interrumpió. Las muestras de sangre se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos y el plasma se separó. Las muestras de plasma se almacenaron a $\leq 20^\circ\text{C}$ hasta el análisis.

Las muestras de plasma se analizaron con respecto a la risperidona (RISP) y con respecto a la 9-hidroxirisperidona (9-OH RISP) usando radioinmunoensayo (RIA). Para las muestras de plasma analizadas con RIA, se usaron dos procedimientos de RIA diferentes, uno para risperidona inalterada y el otro para el resto activo (suma de risperidona y 9-hidroxirisperidona, no ha de confundirse con el término "agente activo" usado aquí en otras partes). Para las últimas muestras de plasma, las concentraciones de 9-hidroxi-risperidona se calcularon como la diferencia entre las concentraciones del resto activo y las de risperidona. Los límites de cuantificación para los métodos de RIA eran 0,20 ng/ml para la risperidona y 0,50 ng/ml para el resto activo.

Para cada una de las formulaciones, se calcularon las concentraciones en plasma medias (\pm D.E., $n = 3$) de risperidona, 9-hidroxi-risperidona y del resto activo. Las relaciones de las concentraciones en plasma de 9-hidroxi-risperidona a las de risperidona se calcularon cuando era posible. Las concentraciones en plasma máximas y los tiempos máximos de risperidona, 9-hidroxi-risperidona y su suma se determinaron mediante la inspección visual de los datos. Los valores de AUC (“área bajo la curva”) de risperidona y 9-hidroxi-risperidona se calcularon entre el tiempo cero y el tiempo usando la regla trapezoidal. El tiempo t es el último punto temporal en el que las concentraciones de risperidona o 9-hidroxi-risperidona eran superiores que el límite de cuantificación en al menos uno de tres perros. Para perros pertenecientes al mismo grupo de formulación, las AUCs se calcularon hasta el mismo tiempo final d , usando el valor del límite de cuantificación, si una concentración era inferior que el límite de cuantificación, si dos concentraciones consecutivas eran inferiores que el límite de cuantificación, la concentración del punto de muestreo previo se fijaba igual al límite de cuantificación, y la concentración del punto de muestreo ulterior se tomaba como cero. Las AUCs no se extrapolaron hasta el infinito. La AUC del resto activo se calculó como la suma de las AUCs de risperidona y 9-hidroxi-risperidona.

Las concentraciones en plasma medias o medianas y/o los parámetros farmacocinéticos de la risperidona, la 9-hidroxi-risperidona y el resto activo para las formulaciones Prodex 2/3/4A/4B/4C se dan en la Tabla 1. Las curvas de concentración en plasma media-tiempo para las formulaciones Prodex 2/3/4A/4B/4C se muestran en la figura 8. Para cada uno de los grupos de formulación, los resultados se analizan en primer lugar para la risperidona, a continuación para la 9-hidroxi-risperidona y finalmente para el resto activo. Para el resto activo, las concentraciones en plasma se relacionan con el efecto antiemético en la prueba de vómitos con apomorfina.

Después de la administración de las formulaciones Prodex 2 a Prodex 4C, los niveles en plasma máximos medios de risperidona eran bajos. Se alcanzaron en puntos temporales muy diferentes. La liberación adicional de risperidona de las diferentes formulaciones avanzaba gradualmente y era de larga duración. Esto daba como resultado bajas concentraciones en plasma tanto de risperidona como de su metabolito. Los tiempos máximos medios para la 9-hidroxi-risperidona variaban todos de 26 a 30 días. El perfil de concentración en plasma-tiempo del resto activo era similar para las formulaciones Prodex 2 a Prodex 4C. Al principio del experimento, las concentraciones en plasma del resto activo mostraban un pico en 1 ó 2 días, debido a una liberación inicial rápida de risperidona. El máximo fue seguido por una disminución de las concentraciones con una caída a los 5-8 días. A partir del día 8 en adelante, las concentraciones se incrementaban de nuevo hasta el día 20, tiempo después del cual permanecían a un nivel más o menos constante durante un período de, de promedio, 15 días. Durante este período, para cada una de las formulaciones, las concentraciones del resto activo mostraban un segundo pico y las concentraciones eran superiores que para el primer pico. La actividad antiemética duraba de 35 a 42 días para las formulaciones Prodex 2, Prodex 4A y Prodex 4B. Para la formulación Prodex 4C, duraba 49 días, pero sin interrupción en ninguno de los perros. La actividad más prolongada de la formulación Prodex 4C era paralela a la C_{max} , T_{max} y AUC_{0-1} más altas para el resto activo, en comparación con las otras 4 formulaciones del mismo grupo.

La duración de acción de estas formulaciones de risperidona basadas en micropartículas en la prueba de émesis inducida con apomorfina en perros también se estudió. Los neurolépticos antagonizaban la émesis inducida por apomorfina bloqueando receptores de dopamina D_2 en el área postrema del cuarto ventrículo. La prueba se usa generalmente para predecir el comienzo y la duración de la acción antipsicótica de neurolépticos en el hombre (Janssen y otros, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 10:1196-1206 (1965); Niemegeers y otros, *Life Sci.* 24:2201-2216 (1979)). La 9-OH-risperidona tiene un perfil farmacológico que es virtualmente idéntico al de su compuesto originario. El compuesto originario y el metabolito activo constituyen juntos el “resto activo” que determina la actividad biológica de la risperidona.

Se administró apomorfina subcutáneamente en 0,31 mg/kg a los perros dos veces por semana, durante todo el transcurso del experimento. Los perros fueron observados con respecto a los vómitos durante un período de 1 hora después de la administración de apomorfina. Se consideraba que la ausencia completa de émesis durante 1 hora después de la estimulación con apomorfina reflejaba una actividad antiemética significativa. La duración de la acción antiemética se definió como el intervalo de tiempo durante el cual se protegían dos de tres perros de la émesis.

Las formulaciones se inyectaron en un volumen de 0,5 ml en el bíceps femoral de una de las patas traseras al nivel del muslo. A varios intervalos de tiempo después de la inyección intramuscular, se tomaron muestras de sangre y, inmediatamente después, los perros fueron estimulados con una dosis de apomorfina. Se consideraba que la ausencia completa de émesis en 1 h después de la estimulación con apomorfina (que nunca se observa en animales de control; $n > 1000$) reflejaba una actividad antiemética

ES 2 172 574 T3

significativa.

La Tabla 2 indica si los perros estaban protegidos (+) o no estaban protegidos (-) de la émesis inducida por apomorfina a los diversos intervalos de tiempo después de la inyección intramuscular de las formulaciones de depósito. Todas las formulaciones mostraban un comienzo inmediato de acción antiemética.

TABLA 1

Concentraciones en plasma medias (\pm D.E.; $n = 3$) o medianas y parámetros farmacocinéticos medios (\pm D.E.; $n = 3$) de risperidona, 9-hidroxi-risperidona y su suma (= el "resto activo") después de la administración intramuscular de formulaciones de depósito de risperidona en 2,5 mg/kg a perros de Beagle

	Prodex 2		Prodex 3		Prodex 4A	
Tiempo (días)	RISP	9-OH RISP	RISP	9-OH RISP	RISP	9-OH RISP
0	$\leq 0,20$	$\leq 0,50$	$\leq 0,20$	$\leq 0,50$	$\leq 0,20$	$\leq 0,50$
0,042 (1 h)	8,36 \pm 1,06	4,17 \pm 1,71	21,4 \pm 8,8	14,4 \pm 9,1	3,25 \pm 0,57	1,18 \pm 0,50
0,208 (5 h)	2,87 \pm 0,20	7,34 \pm 2,02	7,55 \pm 3,38	27,4 \pm 22,0	2,61 \pm 0,60	5,13 \pm 1,08
1	1,25 \pm 0,72	6,92 \pm 3,88	2,90 \pm 1,70	23,0 \pm 17,8	1,13 \pm 0,24	7,82 \pm 3,55
4	0,67 \pm 0,61	4,36 \pm 3,32	1,22 \pm 0,77	6,58 \pm 3,07	0,74 \pm 0,38	2,54 \pm 1,20
7	0,35*	1,65 \pm 1,24	1,96 \pm 1,70	8,79 \pm 6,72	0,39*	1,90 \pm 1,52
11	0,41 \pm 0,15	1,16 \pm 0,35	1,52 \pm 0,91	11,2 \pm 11,7	2,40 \pm 3,55	12,7 \pm 20,2
14	-**	-**	4,36 \pm 1,99	29,4 \pm 25,0	2,23 \pm 1,19	12,6 \pm 15,0
18	-	-	6,33 \pm 2,48	44,1 \pm 35,4	4,28 \pm 1,41	23,3 \pm 12,5
21	-	-	8,61 \pm 2,25	44,8 \pm 26,3	6,97 \pm 1,57	27,1 \pm 11,3
25	6,79 \pm 1,74,	44,6 \pm 13,6	9,08 \pm 3,95	47,9 \pm 19,5	6,03 \pm 1,50	32,3 \pm 2,8
29	6,84 \pm 3,19	46,0 \pm 15,1	9,26 \pm 5,27	54,2 \pm 33,6	6,52 \pm 1,40	40,2 \pm 16
32	4,97 \pm 1,896	39,5 \pm 36,6	5,60 \pm 2,78	38,8 \pm 25,2	3,81 \pm 1,72	35,2 \pm 16,3
35	3,61 \pm 1,84,	25,8 \pm 11,5	4,70 \pm 3,39	28,4 \pm 21,9	2,55 \pm 1,31	22,1 \pm 14,4
39	1,44 \pm 0,51	13,0 \pm 7,1	2,01 \pm 1,47	16,4 \pm 9,6	1,13 \pm 0,82	10,4 \pm 6,4
42	1,05 \pm 0,45	7,73 \pm 3,77	1,31 \pm 0,79	10,7 \pm 6,5	0,68*	6,08 \pm 4,26
46	$\leq 0,20^*$	2,94 \pm 1,35	0,45*	5,55 \pm 4,04	$\leq 0,20^*$	2,48 \pm 1,81
49	-	-	0,23*	2,13 \pm 1,34	$\leq 0,20$	1,23*
53	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-
Cmax (ng/ml)	8,61 \pm 1,41	61,0 \pm 19,7	21,4 \pm 8,8	56,3 \pm 32,2	7,75 \pm 0,78	43,9 \pm 6,6
Tmax (días)	10 \pm 17	29 \pm 4	0,042 \pm 0,000	26 \pm 2	25 \pm 4	30 \pm 2
AUC0-t (ng.h/ml)	3212 \pm 914	21496 \pm 4854	5048 \pm 2397	30632 \pm 19866	3280 \pm 576	19632 \pm 8274
t (días)	46	46	49	49	46	49
	RISP + 9-OH RISP		RISP + 9-OH RISP		RISP + 9-OH RISP	
Cmax (ng/ml)	67,3 \pm 19,8		66,0 \pm 37,0		49,6 \pm 6,7	
Tmax (días)	29 \pm 4		26 \pm 2		30 \pm 2	
AUC0-t (ng.h/ml)	24708 \pm 5341		35680 \pm 22261		22912 \pm 8822	

* Valor medio.

** Sin muestreo de sangre desde el día 14 hasta el día 25 del experimento, debido a la ausencia de protección contra vómitos inducidos por apomorfina. Las concentraciones en cursiva indican actividad antiemética en al menos dos de tres perros.

ES 2 172 574 T3

TABLA 1 (Continuación)

	Prodex 4B		Prodex 4C	
Tiempo (días)	RISP	9-OH RISP	RISP	9-OH RISP
0	$\leq 0,20$	$\leq 0,50$	$\leq 0,20$	$\leq 0,50$
0,042 (1 h)	$3,32 \pm 0,75$	$2,53 \pm 0,79$	$15,5 \pm 5,2$	$3,33 \pm 2,18$
0,208 (5 h)	$1,52 \pm 0,33$	$5,56 \pm 2,43$	$15,1 \pm 7,7$	$19,2 \pm 6,2$
1	$1,22 \pm 0,58$	$7,10 \pm 3,40$	$4,49 \pm 1,04$	$25,0 \pm 7,1$
4	$0,58^*$	$2,25 \pm 1,00$	$2,00 \pm 0,42$	$12,1 \pm 2,5$
7	$0,35^*$	$1,78^*$	$1,47 \pm 0,29$	$7,96 \pm 0,74$
11	$0,53^*$	$1,87^*$	$3,23 \pm 1,72$	$13,4 \pm 4,6$
14	$4,06 \pm 3,47$	$22,1 \pm 20,3$	$7,67 \pm 4,54$	$30,9 \pm 17,8$
18	$1,41 \pm 0,14$	$5,13 \pm 0,85$	$8,15 \pm 4,69$	$48,5 \pm 34,5$
21	$7,22 \pm 4,98$	$27,1 \pm 21,1$	$13,1 \pm 9,4$	$69,3 \pm 41,4$
25	$5,39 \pm 3,41$	$41,0 \pm 29,7$	$8,37 \pm 0,88$	$67,8 \pm 28,0$
29	$4,66 \pm 1,47$	$31,1 \pm 13,3$	$13,8 \pm 5,2$	$77,9 \pm 17,7$
32	$3,50 \pm 1,81$	$21,4 \pm 9,8$	$10,3 \pm 4,5$	$80,9 \pm 51,3$
35	$1,91 \pm 0,71$	$14,9 \pm 4,5$	$7,58 \pm 3,49$	$61,4 \pm 15,1$
39	$0,67 \pm 0,16$	$7,15 \pm 2,47$	$3,90 \pm 1,34$	$31,2 \pm 10,7$
42	$\leq 0,20^*$	$3,83 \pm 0,40$	$2,97 \pm 1,35$	$23,2 \pm 13,7$
46	$\leq 0,20^*$	$1,08 \pm 0,53$	$0,68 \pm 0,39$	$10,4 \pm 6,3$
49	-	-	$0,26^*$	$6,04 \pm 3,75$
53	-	-	$\leq 0,20^*$	$2,98 \pm 2,39$
56	-	-	$\leq 0,20^*$	$1,89 \pm 1,40$
Cmax (ng/ml)	$7,71 \pm 4,23$	$42,6 \pm 27,3$	$16,3 \pm 6,6$	$95,4 \pm 41,7$
Tmax (días)	24 ± 5	26 ± 2	$0,097 \pm 0,096$	30 ± 2
AUC0-t (ng.h/ml)	2648 ± 1199	15656 ± 8104	7424 ± 3018	46840 ± 19125
t (días)	46	46	56	56
	RISP 9-OH RISP		RISP + 9-OH RISP	
Cmax (ng/ml)	$48,5 \pm 29,8$		108 ± 44	
Tmax (días)	26 ± 2		30 ± 2	
AUC0-t (ng.h/ml)	18311 ± 92222		54264 ± 22055	

* Valor medio

** Sin muestreo de sangre desde el día 14 hasta el día 25 del experimento, debido a la ausencia de protección contra vómitos inducidos por apomorfina. Las concentraciones en cursiva indican actividad antiemética en al menos dos de tres perros.

ES 2 172 574 T3

TABLA 2

Protección (+) o no protección (-) de émesis inducida por apomorfina en perros a intervalos temporales sucesivos después de la administración intramuscular de formulaciones de depósito basadas en micropartículas de la risperidona antipsicótica a un nivel de dosis aproximado de 2,5 mg/kg (continúa de la página previa)

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

Form.	Prodex 2			Prodex 3			Prodex 4A			Prodex 4B			Prodex 4C		
Peso del Perro (kg)	14,2	11,5	9,8	12,9	12,4	13,4	10,0	12,3	9,2	9,7	8,6	10,6	13,2	16,4	16,2
Volumen (ml/perro)	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
Dosis (mg/kg)	2,5	2,5	2,8	2,5	2,5	2,5	2,5	2,3	2,6	2,5	2,5	2,6	2,4	2,4	2,5
Ruta	im	im	im	im	im	im	im	im	im	im	im	im	im	im	im
1 h	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
5 h	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	±	+
1 d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 d	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
7 d	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
11 d	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
14 d				+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
18 d				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21 d				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25 d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29 d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32 d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35 d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
39 d	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
42 d	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
46 d	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-

TABLA 2 (Continuación)

Form.	Prodex 2	Prodex 3	Prodex 4A	Prodex 4B	Prodex 4C
49 d	Parada	- - -	- - -	Parada	+ + -
53 d		Parada	Parada		- + -
56 d					- - -
					Parada

3 Volumen de inyección: 0,5 ml/perro; la concentración de las micropartículas se adaptó al peso corporal.

Ejemplo 4

Preparación de Micropartículas de Benzoato de Estradiol Cargadas Teóricamente al 20 % y 30 %

La Tabla 3 muestra la distribución de los tamaños de partícula para ensayos experimentales para micropartículas cargadas al 20 % y 30 %. La distribución de los tamaños de partícula también se muestran en la figura 9 que representa el porcentaje acumulativo por tamaño de las micropartículas (“Porcentaje en Volumen Mayor”) para una partida de micropartículas cargadas al 20 %. La figura 10 representa el diferencial de porcentaje por tamaño de las micropartículas (“Diferencial de Volumen”) para una partida de micropartículas cargadas al 20 %. A partir de estos datos, puede observarse que incrementar el caudal disminuía el tamaño de partícula. No se observó una diferencia significativa entre mezcladores de 12 y 24 elementos. Incrementar la relación de fase acuosa o en agua: fase orgánica estrecha la distribución de tamaños de partícula. Se produjeron buenas micropartículas en el intervalo del flujo de transición, Número de Reynolds (Re) de 2000-4000.

Se prepararon subsiguientemente partidas adicionales de micropartículas cargadas al 20 % y 30 %. Se preparó una partida de 7 kg de micropartículas cargadas con fármaco al 20 % usando un mezclador estático de 1,27 cm (1/2”) de diámetro x 24 elementos (Cole-Parmer, polipropileno disponible 04667, Cole-Parmer Instrument Company, Chicago, Illinois). La fase orgánica estaba comprendida por 4,0 % de benzoato de estradiol (agente activo), 16,0 % de PLGA del 85:15 (un copolímero de 85 % en moles de ácido láctico y 15 % en moles de ácido glicólico, poliláctido-co-glicólido) y 80,0 % de acetato de etilo a 60-70°C. La fase en agua estaba comprendida por 1,0 % de poli(alcohol vinílico), 5,0 % de acetato de etilo y 94,0 % de agua a 60-70°C. El caudal de la fase orgánica y el caudal de la fase en agua eran iguales a 1100 ml/minuto. Una bomba Cole-Parmer 6231-26 con un cabezal 7001-80 se usó tanto para la fase orgánica como para la fase en agua. La distribución del tamaño de partícula resultante era 15 % < 25 μm, 14 % 25-45 μm, 56 % 45-90 μm, 12 % 90-150 μm y 3 % > 150 μm.

Se preparó una partida de 5 kg de micropartículas cargadas con fármaco al 30 % usando un mezclador estático de 1/2” de diámetro por 24 elementos y un mezclador estático d 3/8” de diámetro por 11, 12 y 24 elementos (Cole-Parmer disponible). La fase orgánica estaba comprendida por 4,3 % de benzoato de estradiol (agente activo), 10,0 % de PLGA dl 85:15 y 85,7 % de acetato de etilo a 60-70°C. Se usó la misma fase en agua que en las micropartículas cargadas al 20 %. El caudal de la fase orgánica era 880 ml/minuto y el caudal de la fase en agua era 1650 ml/minuto. La distribución de tamaño de partícula resultante era 44 % < 25 μm, 31 % 25-45 μm y 25 % > 45 μm.

Las micropartículas cargadas con benzoato de estradiol se pesaron en jeringas convencionales y se administraron a becerros Holstein jóvenes a una dosis de 40 mg de fármaco activo por animal. Las micropartículas se suspendieron en un vehículo de carboximetilcelulosa acuosa y se inyectaron en la base de la oreja. Se recogió suero y los niveles de estradiol se determinaron mediante radioinmunoensayo; los resultados se muestran en la figura 11.

TABLA 3

Ensayos Experimentales con Mezcladores Estáticos en Línea

	Caudal			Elemento	Mezclador		Tamaño		
	Agua (ml/min)	Aceite (ml/min)	Total (ml/min)		Relación	diámetro (pulgadas)	velocidad (pies/segundo)	máximo (μm)	anchura (μm)
5	Producto Cargado con Fármaco al 30 %								
10	200	200	400	1:1	11	3/8	0,30	sin esferas	
	400	400	800	1:1	11	3/8	0,61	buenas esferas	
15	500	500	1000	1:1	11	3/8	0,77	50	60
	750	750	1500	1:1	11	3/8	1,15	menor que 25	
	400	400	800	1:1	12	3/8	0,61	70	125
	500	500	1000	1:1	12	3/8	0,77	45	55
20	400	400	800	1:1	24	3/8	0,61	70	110
	533	266	800	2:1	24	3/8	0,61	45	50
	600	200	800	3:1	24	3/8	0,61	62	45
	533	266	800	2:1	24	3/8	0,61	70	50
	400	200	600	2:1	24	3/8	0,46	95	82
25	600	300	900	2:1	24	3/8	0,69	55	42
	400	400	800	1:1	24	3/8	0,61	75	64
	534	266	800	2:1	24	3/8	0,61	65	46
	1166	638	1804	1,8:1	24	1/2	0,77	55	45
	1300	726	2026	1,8:1	24	1/2	0,87	45	35
30	1520	792	2312	1,9:1	24	1/2	1,00	40	40
	1650	880	2530	1,9:1	24	1/2	1,09	35	50
35	Producto Cargado con Fármaco al 30 %								
	1540	990	2530	1,6:1	24	1/2	1,09	55	50
	1320	990	2310	1,3:1	24	1/2	1,00	60	50
	1100	1100	2200	1:1	24	1/2	0,95	65	45

- 40 Nota: 1. Los cuatro primeros usaban bomba peristáltica en lugar de bomba de engranajes.
 2. Tamaño de partícula por Hiac Royco excepto los dos últimos estimados a partir de tamizado

Fórmulas

- 45 Fase Aceitosa al 30 %: 85,7% de acetato de etilo
 (60-70°C) 10,0% de PLGA dl 85:15
 4,3% de benzoato de estradiol
- Fase Aceitosa al 20 % 80,0% de acetato de etilo
 50 (60-70°C) 16,0% de PLGA dl 85:15
 4,0% de benzoato de estradiol
- Fase en Agua: 94,0% de agua para inyección
 (60-70°C) 5,0% de acetato de etilo
 55 1,0% de poli(alcohol vinílico)

Ejemplo 5

Preparación de Micropartículas de acetato de trembolona cargadas teóricamente al 40 %

- 60 Se prepararon nueve partidas de micropartículas de acetato de trembolona (TBA) usando un mezclador estático. Se prepararon micropartículas que contenían 40 % de TBA y 5 % de hidroxitolueno butilado (BHT, usado como un antioxidante) mediante el siguiente procedimiento. PLGA (relación molar de D,L-

lácido a glicólido: 85:15, pesos moleculares mediante GPC: $M_w = 86.810$; $M_n = 36.417$), TBA y BHT se disolvieron en acetato de etilo (EtOAc) a 55°C (relación de EtOAc a PLGA: 10 ~ 20:1). El EtOAc se calentó hasta 55°C y se añadió PLGA a EtOAc bajo remoción rápida. Después de que el polímero se disolviera, BTH y a continuación TBA se disolvieron en la solución de polímero. Simultáneamente, solución en agua de poli(alcohol vinílico) (PVA) (3% en peso) sembrada con EtOAc (relación de solución de PVA a EtOAc: 10:1) se cargó a un matraz con camisa y se calentó hasta 55°C . Cuando la temperatura de la solución de polímero-fármaco (fase orgánica) y la solución de PVA (fase acuosa) era constante, la solución de polímero-fármaco y la solución de PVA se bombearon separadamente a un mezclador estático (1 cm de diámetro y 12 cm de longitud). El mezclador estático estaba fabricado por Cole-Parmer, modelo número 6-04667-06, y contenía 12 elementos de mezcladura. La relación de caudales de solución de polímero-fármaco a solución de PVA se variaba de 1:1,2 a 1:2. La relación de agua de remojo a EtOAc era 100~150:1. La temperatura del agua de remojo era aproximadamente 1°C . Después de lavarse durante 6 horas, las micropartículas se tamizaron a través de una columna tamizadora ($25\ \mu\text{m}$, $90\ \mu\text{m}$, $150\ \mu\text{m}$ y $212\ \mu\text{m}$) y a continuación se secaron.

La distribución de los tamaños de partícula de una partida de micropartículas se representa en la figura 12.

Ejemplo 6

Preparación de micropartículas de testosterona cargadas teóricamente al 46 %

Se prepara una partida de 1 kg de micropartículas cargadas con testosterona al 46% usando un mezclador estático de 1,905 cm ($3/4''$) de diámetro por 12 elementos (Koflo, M/N:3/4-TU-3-12RH-11, Koflo Corp., Cary, Illinois). La solución de polímero/fármaco (fase orgánica) se prepara como sigue. Se disuelven 506 g de testosterona USP en una solución calentada ($65\text{-}70^\circ\text{C}$) de 594 g de PLGA dl 75:25 Medisorb[®] (un copolímero de 75% en moles de ácido láctico y 25% en moles de ácido glicólico, polilácido-co-glicólido) ($VI = 0,68\ \text{dl/g}$) en 3,683 kg de acetato de etilo NF. La solución se filtra ($0,2\ \mu\text{m}$) y se mantiene a $65\text{-}70^\circ\text{C}$. La solución de agua de procedimiento (fase acuosa) se prepara como sigue. Se añaden 52 g de PVA (Du Pont Elvanol[®] 51-05) a 9,75 kg de WFI y se calientan ($65\text{-}70^\circ\text{C}$) hasta que se disuelven, y a continuación se filtran ($0,2\ \mu\text{m}$). Se añaden a esta solución 626 g de acetato de etilo NF filtrado ($0,2\ \mu\text{m}$). La solución se mantiene a $65\text{-}70^\circ\text{C}$. El líquido de remojo está comprendido por 750 litros de WFI, mantenidos a $0\text{-}4^\circ\text{C}$.

La fase orgánica se bombea a través del mezclador estático a un caudal de 2150 cc/minuto y la fase acuosa a un caudal de 4300 cc/minuto. Después de 1 hora de remojo, el material se hace pasar a través de tamices de 45 y $150\ \mu\text{m}$. La porción de $45\text{-}150\ \mu\text{m}$ se seca a vacío con agitación durante 36 horas a temperatura ambiente. El rendimiento del procedimiento es 875 g de micropartículas cargadas con testosterona.

Las micropartículas cargadas al 46% se usaron para preparar dosis de testosterona de 125 mg (rellenas con suspensión y liofilizadas) que fueron administradas a mandriles. Los datos de liberación con el tiempo se muestran en la figura 13.

Ejemplo 7

Preparación de micropartículas de rpg 120 cargadas teóricamente al 1,7 %

Se prepara una partida de 10 g de micropartículas cargadas con rpg 120 (una glicoproteína) al 1,7% usando un mezclador estático de 0,635 cm ($1/4''$) de diámetro por cinco elementos (Koch, 0,635 cm ($1/4''$) SMV-DY; 0,635 cm ($1/4''$) de Dia, 5 elementos, 316SS, Koch Engineering Company, Inc., Wichita, KS). La solución de polímero/fármaco (fase orgánica) se prepara como sigue. Se elabora una emulsión primaria añadiendo 3 cc de 56 mg/ml de rpg 120 en tampón Tris (Tris 20 mM, NaCl 120 mM, pH 7,4) a 10 g de Medisorb, PLGA dl 65:35 (un copolímero de 65% en moles de ácido láctico y 35% en moles de ácido glicólico, polilácido-co-glicólidos) ($VI = 0,61$) en 47 g de acetato de etilo. La emulsión se forma mediante sonicación (Vibra cell sonicator, 600 vatios, 20 segundos, 50% de potencia con sonda de $1,27\ \text{cm}$ ($1/2''$)). La emulsión se mantiene a $0\text{-}4^\circ\text{C}$. La solución en agua (fase acuosa) del procesamiento se prepara como sigue. Se añaden 225 g de PVA (Air Products, Vinol 205) a 2025 g de WFI y se calientan ($65\text{-}70^\circ\text{C}$) hasta que se disuelven. Se añaden a esta solución 250 g de acetato de etilo. La solución se mantiene a $0\text{-}4^\circ\text{C}$. El líquido de remojo está comprendido por 12 litros de agua, mantenidos a $0\text{-}4^\circ\text{C}$.

La fase orgánica se bombea a través del mezclador estático a un caudal de 40 cc/minuto y la fase

ES 2 172 574 T3

acuosa a un caudal de 1500 cc/minutos. Después de 1 hora de remojo, las micropartículas se hacen pasar a través de tamices de 150 y 20 μm . La porción de 20-150 μm se lava con 13 litros de solución de Tween 20 al 0,1 % a 0-4°C y a continuación se liofiliza. El rendimiento del procedimiento es 3,09 g de micropartículas cargadas con rgp 120.

5 Ejemplo 8

Preparación de micropartículas de ivermectina cargadas teóricamente al 60 %

10 Para preparar una partida de 35 g de micropartículas de ivermectina cargadas teóricamente al 60 %, la fase dispersada (Solución A) se prepara disolviendo 21,03 g de ivermectina en 116,72 g de solución de polímero comprendida por 9,5 % de (poliláctido-co-glicólido) dl 65:35 (Medisorb Technologies International, L.P., Cincinnati, OH) y 90,5 % de acetato de etilo (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) a 52°C. A continuación, 1300 g de la fase continua (solución B) comprendida por 1 % de poli(alcohol vinílico) 15 (Vinoll 205, Air Products and Chemical Inc., Allentown, PA) y 99 % de WFI se pesa y se calienta hasta 52°C. A continuación, las soluciones A y B se bombean a través del mezclador estático (Cole-Parmer, número de pieza L04667-14) a través de una bomba accionada por engranajes y un cabezal (Cole-Parmer L07149-04, L07002-16) a caudales de 88 y 165 ml/minuto, respectivamente, y en un líquido de remojo compuesto por 35 litros de CWFI (Agua Fría para Inyección) a 0°C. Las micropartículas se dejan remover 20 durante aproximadamente 20 minutos, a continuación se aíslan tamizando el baño de remojo a través de un tamiz de 25 μm . El producto retenido por el tamiz se transfiere a un lavado de 20 litros de CWFI en remoción a 0°C. Después de remover durante 2 horas, las micropartículas se aíslan y se fraccionan por tamaños tamizando el lavado a través de tamices de 25 y 212 micras. Las micropartículas se secan al aire durante la noche y se recogen.

25 Ejemplo 9

Preparación de Micropartículas de Base de Bupivacaína Cargadas Teóricamente al 60 %

30 Se prepara un exceso de la fase continua acuosa añadiendo 216,1 g de acetato de etilo (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) a 3780,3 g de una solución acuosa de poli(alcohol vinílico) (Vinol 205, Air Products and Chemical Inc., Allentown, PA) al 5 % y ajustando hasta pH 8,5 con NaOH 1N a temperaturas ambientales. La fase orgánica se prepara a continuación disolviendo 8,05 g de poliláctido-co-glicólido dl 50:50 de baja viscosidad (un copolímero de 50 % en moles de ácido láctico y 50 % en moles de ácido glicólico) 35 (Mediosrb Technologies International, L.P.) y 12,05 g de base de bupivacaína (Aceto Corporation, Lake Success, NY) en 92,1 g de acetato de etilo a temperatura ambiente. Las soluciones acuosa y orgánica se bombean a continuación simultáneamente a través de un mezclador estático de 1/4" de diámetro y 24 elementos (Cole-Parmer L04667) a través de bombas activadas por engranajes y cabezales (Cole-Parmer L07144-05, bomba; L07002-16, cabezal, acuosa; cabezal L07002-26, orgánica) a caudales de 233 y 116 40 ml/minuto, respectivamente, en un líquido de remojo de 12 litros de agua para inyección ajustada hasta pH 8,5 a temperatura ambiente. Las micropartículas se agitan en el agua de remojo durante 1 hora y a continuación se aíslan tamizando a través de tamices de acero inoxidable de malla 25, 45 y 90 μm . Las micropartículas se secan al aire durante la noche y se protegen de la luz antes de pesarse.

45 Ejemplo de Referencia 2

Preparación de microesferas de albúmina de cerdo cargadas teóricamente al 17,5 %

50 Se preparó una partida de 2 g de microesferas cargadas con albúmina de cerdo usando un mezclador estático de 1,27 cm (1/2") de diámetro x 30,48 cm (12") de largo. La solución de polímero/fármaco (fase orgánica) se preparó como sigue: se disolvieron 1,65 g de PLGA dl 75:25 Medisorb (Viscosidad Inherente, 0,65 dl/g) en 70 g de acetato de etilo. La concentración de polímero en la fase orgánica era 2,36 %. Se suspendieron 0,35 g de albúmina de cerdo micronizada (Sigma, lote N° 95F-9358) en la solución de polímero mediante 2 x 10 segundos de sonicación (Tekmar Sonication Disruptor, Modelo 350 con micropunta). Se 55 produjo una dispersión uniforme y fina. La suspensión se vertió en un reactor de 50 ml equipado con una válvula de salida en el fondo. La mezcladura se inició con un propulsor de 6 álabes de turbina a aproximadamente 700 rpm. Una bomba peristáltica se conectó a la salida del reactor para bombear la fase orgánica a una velocidad de 7,0 g/minuto hacia el mezclador estático. Otra bomba peristáltica se graduó para alimentar aceite de silicona 350 cs (Dow Corning, Lote N° HH121209) a un caudal de 9,0 60 g/minuto hacia la entrada del mezclador estático.

El flujo de aceite de silicona se comenzó en primer lugar y la fase orgánica siguió aproximadamente

ES 2 172 574 T3

2-5 segundos más tarde. En un depósito de remojo, 1,2 l de heptano (Chem Pure, Lote N° M138KLAP) se agitó a una velocidad moderada usando un propulsor accionado con aire. La conducción de salida del mezclador estático se puso 1,27 cm (1/2") por debajo de la superficie del heptano. Al terminar la transferencia de la fase orgánica a través del mezclador estático, se usaron 8-10 g de acetato de etilo para barrer la fase orgánica restante del mezclador. El flujo de aceite de silicona se mantuvo durante este período de enjuague. Las partículas semisólidas se remojaron en heptano durante 1,5 horas a temperatura ambiente para completar el endurecimiento y el lavado. Las microesferas se recogieron a continuación mediante filtración a vacío usando un filtro de membrana Vesapor-3000, tamaño de poros 3 μm (Gelman). Las microesferas recogidas se lavaron sobre el filtro con 300 ml de heptano reciente y se transfirieron a un desecador de vacío para el secado adicional. El procedimiento daba 1,91 g de microesferas cargadas con albúmina de cerdo. Las partículas eran principalmente esféricas y en un intervalo de tamaños de 25-200 μm (micras).

Se preparó una segunda formulación que mostraba que puede usarse un mezclador estático más corto (1,27 cm) (1/2") de diámetro x 15,24 cm (6") de largo con un caudal total inferior. El caudal de la fase orgánica era 6,5 g/minuto en el mezclador estático, en oposición a 7,0 g/minuto en la primera formulación. El caudal del aceite de silicona era 8,8 g/minuto, en oposición a 9,0 g/minuto en la primera formulación. Sin embargo, la relación de caudal de fase orgánica a caudal de aceite de silicona es aproximadamente la misma en la segunda formulación que en la primera formulación. El rendimiento de sólidos de esta formulación era 90%.

Ejemplo de Referencia 3

Preparación de microesferas de interferón- α rBo cargadas teóricamente al 10,0 %

Se preparó una partida de 1,89 g de micropartículas cargadas con interferón- α rBo (Interferón alfa bovino recombinante) usando un mezclador estático de 1,27 cm (1/2") x 30,48 cm (12"). La concentración de polímero (PLGA dl 75:25 disuelto en acetato de etilo) en la fase orgánica era 2,70%. La proteína se disolvió en 0,5 ml de agua para inyección y se emulsificó en la solución de polímero mediante sonicación para formar la fase orgánica (fase de polímero/agente activo). La emulsión se vertió en un reactor y la preparación de microesferas se comportaba de manera similar al Ejemplo de Referencia 2. El caudal de la fase orgánica era 6,6 g/minuto y el caudal del aceite de silicona era 10,9 g/minuto. Las micropartículas semisólidas se remojaron en 1,0 l de heptano durante 1,5 horas.

Ejemplo de Referencia 4

Preparación de microesferas de HSA cargadas teóricamente al 17,5 %

Se preparó una partida de microesferas cargadas con HSA (albúmina de suero humana) usando un mezclador estático de 1,27 cm (1/2") x 15,24 cm (6"). La concentración de polímero (PLGA dl 75:25 disuelto en acetato de etilo) en la fase orgánica era 2,36%. Se usó una fase en agua interna de 1,0 ml para disolver completamente la proteína. La proteína disuelta se emulsificó en la solución de polímero mediante sonicación para formar la fase orgánica. Para mantener el tiempo de permanencia requerido para inducir la coacervación por el no disolvente (aceite de silicona) en una trayectoria de flujo más corta de 15,24 cm (6"), se usó un caudal total inferior. El caudal de la fase orgánica era 4,9 g/minuto y el caudal del aceite de silicona era 5,6 g/minuto. El caudal total inferior daba como resultado un rendimiento de sólidos de 65% para esta muestra. La relación de caudal de aceite de silicona a caudal de fase orgánica en esta muestra era ligeramente inferior que en la muestra preparada en el Ejemplo de Referencia 3, 1,1 en comparación con 1,4. Las microesferas semisólidas se remojaron en 0,8 l de heptano durante 1,5 horas. Puesto que se usaba menos no disolvente (aceite de silicona), se requería menos heptano (segundo no disolvente).

Ejemplo de Referencia 5

Preparación de microesferas de albúmina de cerdo cargadas teóricamente al 10,0 %

Esta formulación se preparó de forma similar a una del Ejemplo de Referencia 3, usando albúmina de cerdo como la proteína modélica (agente activo que ha de encapsularse). El caudal total de las dos fases en el mezclador estático era inferior en esta muestra; el caudal de la fase orgánica era 6,0 g/minuto y el caudal del aceite de silicona era 8,8 g/minuto. Las microesferas se remojaron en 1,2 l de heptano durante 1,5 horas. Se alcanzaba para esta formulación un rendimiento de sólidos totales similar al Ejemplo de Referencia 4.

ES 2 172 574 T3

Las características de las formulaciones para los Ejemplos de Referencia 2-5 se resumen en la Tabla 4.

TABLA 4

Ejemplo de Referencia	Carga del Núcleo (%)	Proteína	Concentración de Polímero	H ₂ O (ml)	Caudal (g/minuto) Fase Orgánica	Aceite de silicona	2° no disolvente volu- men (l)	Período (horas)
2	17,5	Albúmina de Cerdo	2,36	0	7,0	9,0	0,8	1,0
2	17,5	Albúmina de Cerdo	2,36	0	6,5	8,8	0,8	1,5
3	10,0	Interferón- α rBo	2,70	0,5	6,6	10,9	1,0	1,5
4	17,5	HSA	2,36	1,0	4,9	5,6	0,8	1,5
5	10,0	Albúmina de Cerdo	2,70	0,5	6,0	8,8	1,2	1,5

Ejemplo de Referencia 6

Se disolvieron secuencialmente un copolímero de D,L-láctido/ácido glicólico 85:15 (10,6 g) y noretindrona USP (9,4 g) en una combinación 50:50 (peso) de acetato de etilo y alcohol bencílico (80 g) (“fase aceitosa”). Una vez disuelta, la solución se transfirió a una mezcla de baño de emulsión de 500 g a 60-65°C compuesta por 0,5 por ciento en peso de poli(alcohol vinílico) (Vinol 205, Air Products, que tiene un peso molecular medio numérico de 15.000 a 27.000 y un grado de hidrólisis de 87-89%), 5,9 por ciento en peso de acetato de etilo, 2,7 por ciento en peso de alcohol bencílico y 90,9 por ciento en peso de agua, contenida en un vaso de precipitados con camisa de 1000 ml equipado con un removedor de turbina y un calentador termostático. Esta mezcla de baño de emulsión se aproximaba a una solución saturada tanto para acetato de etilo como para alcohol bencílico a 60°C. Durante la formación de la emulsión, la extracción de disolvente de la “fase aceitosa” puede prevenirse así y cualquier efecto del tiempo durante esta etapa puede minimizarse. La velocidad de remoción se ajustó para proporcionar un tamaño de las gotículas de aceite de aproximadamente 90 μm . La emulsión resultante se transfirió a un depósito de agua refrigerado (2-4°C) que contenía diversas cantidades de agua y acetato de etilo, según se presenta en las figuras 14 y 15. Después de 1 hora, las micropartículas se recogieron sobre una pila de tamices (25, 45, 63 y 90 μm) y se dejaron secar durante la noche bajo una campana. Al día siguiente, las micropartículas se combinaron (15%:25-45 μm ; 50%:45-63 μm y 35%:63-90 μm) y se muestrearon. Los resultados se presentan en las figuras 14 y 15.

Ejemplo de Referencia 7

Se repite el Ejemplo de Referencia 6, excepto que el tamaño de la solución de la “fase aceitosa” de NET y polímero es 5 g en cada caso, el baño de emulsificación es 300 ml de agua que contiene 0,5% en peso de poli(alcohol vinílico) usado en el Ejemplo de Referencia 6. Los resultados se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5

Partida N°	Descripción	Contenido de Disolvente (%)	Condiciones de la Emulsión			Remojo Vol (l)	Rendimiento (%)		Carga del Núcleo	Disolución In Vitro	Disolvente Residual	Microscopía Electrónica de Exploración
			Temp (°C)	RPM	Tiempo (min)		Total	25-90 µm				
3151	NET disuelta/ 50:50; ETAC:BA	90,0	Amb	230	15	5	57,2	46	0,461	12% de estallido, 60% de liberación en 18 horas (muestra no combinada)	ETAC/BA 0,0003/3,77	Muy porosa, no redonda, inconsistente
3161	NET disuelta 50:50; ETAC:BA	84,5	37	247	26	5/10	60,4	35	0,416	40% de liberación en 18 horas (muestra no combinada)	0,83/1,5	Inconsistente, menos porosa
3181	NET disuelta 50:50; ETAC:BA	89,9	Amb	226	9	5/10	57,0	32	0,456	Sin estallido 25 % liberación en 18 horas (muestra no combinada)	0,51/1,99,	Superficie rugosa, inconsistente
3251	NET disuelta 50:50; ETAC:BA	80,9	60	250	7	5/10	61,4	29	0,445	Sin estallido 18 % liberación en 18 horas (muestra no combinada)	0,38/2,56	Redonda, alguna irregularidad, más consistente
3261	NET disuelta 50:50; ETAC:BA	75,0	75	199	7	5/10	61,0	7,6	0,422	7% de estallido, 58% de liberación en 18 horas (muestra no combinada)	0,53/2,72	Redonda, algo porosa, menos consistente
3301	NET disuelta 50:50; ETAC:BA	80,9	60	250	11	5	72,0	49	0,431	nd	no det/ 12,3	nd
3381	NET disuelta 50:50; ETAC:BA	90,1	25	118	17	5/10	39,2	39,2	0,421	Sin estallido 20,3% liberación en 18 horas (muestra no combinada)	0,37/3,06	Redonda, algo lisa
3391	NET disuelta 50:50; ETAC:BA	80,9	63	220	10	5/10	6,2	2,2	0,431	nd	nd	Redonda, superficie irregular
3401	NET disuelta 50:50; ETAC:BA	80,9	61	234	8	5/10	24,8	24,8	0,427	Sin estallido 46,1 % liberación en 18 horas (muestra no combinada)	0,22/2,09	Redonda, superficie irregular

ES 2 172 574 T3

Ejemplo de Referencia 8

Se elaboró una partida de 20 gramos de micropartículas cargadas con testosterona como sigue: se disolvieron 10,8 g del polímero del Ejemplo de Referencia 6 y 9,2 g de testosterona en 67 g de una combinación 75:25 de acetato de etilo y alcohol bencílico y se calentó hasta aproximadamente 65°C. La solución se transfirió a continuación a una mezcla acuosa de 500 g de 0,5 % de poli(alcohol vinílico) y 6,5% de acetato de etilo en un recipiente de reacción de vidrio con camisa de 1000 ml equipado con un removedor de turbina. La velocidad de remoción se ajustó hasta aproximadamente 245 rpm. Después de 5 minutos, la emulsión se transfirió a un depósito refrigerado (0-4°C) que contenía 20 litros de agua sembrados con acetato de etilo en una concentración de 5 %. Después de 1 hora, las micropartículas se recuperaron sobre una pila de tamices de 25 y 150 micras y se dejaron secar durante la noche bajo una campana de laboratorio. Al día siguiente, las micropartículas sobre el tamiz de 25 micras se recuperaron y se muestrearon. El producto contenía 39,7% de testosterona, 3,67% de acetato de etilo y 0,89% de alcohol bencílico. Un modelo de liberación in vitro acelerada indicaba que se liberaba 15% del fármaco después de 18 horas en el fluido receptor.

Aunque se han descrito previamente diversas modalidades de la presente invención, debe entenderse que se han presentado a modo de ejemplo solamente, y no de limitación. Así, la extensión y el alcance de la presente invención no deben estar limitadas por ninguna de las modalidades ejemplares descritas previamente, sino que deben definirse sólo de acuerdo con las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.

25

30

35

40

45

50

55

60

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar micropartículas, que comprende:

5 preparar una primera fase, comprendiendo dicha primera fase un agente activo y un polímero;

preparar una segunda fase;

10 preparar un líquido de remojo; y

bombear dicha primera fase y dicha segunda fase a través de un mezclador estático hacia dicho líquido de remojo formando de ese modo micropartículas que contienen dicho agente activo;

15 en donde el método no es:

20 un método para preparar esférulas que tienen uno o más ingredientes alimentarios o medicinales activos **caracterizado** porque en una primera fase se forman esférulas mediante la división controlada de una emulsión de aceite en agua primaria que consiste en un ingrediente alimentario o medicinal, aceite, una proteína y agua en un disolvente inmiscible con el agua, y a continuación las esférulas obtenidas se separan en una segunda fase.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha primera fase y dicha segunda fase son sustancialmente inmiscibles.

25 3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende además:

configurar dicho mezclador estático con una pluralidad de elementos de mezcladura estática recibidos dentro de un conducto.

30 4. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en el que se realiza dicha etapa de bombeo en la que dicha primera fase se bombea a un primer caudal y dicha segunda fase se bombea a un segundo caudal mayor que dicho primer caudal.

35 5. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicha etapa de preparar dicha primera fase comprende además:

a) disolver dicho agente activo en una solución que contiene dicho polímero;

40 ^o

b) preparar una dispersión que comprende dicho agente activo; o

c) preparar una emulsión que comprende dicho agente activo.

45 6. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicha etapa de preparar dicha primera fase comprende además:

50 a) disolver poliláctido-co-glicólido en acetato de etilo para formar una solución de polímero y disolver acetato de trembolona en dicha solución de polímero, o

55

60

b) disolver poliláctido-co-glicólido en acetato de etilo para formar una solución de polímero y disolver testosterona en dicha solución de polímero, o

5 c) disolver poliláctido-co-glicólido en acetato de etilo para formar una solución de polímero y disolver benzoato de estradiol en dicha solución de polímero.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

NOTA INFORMATIVA: Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

55

60

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

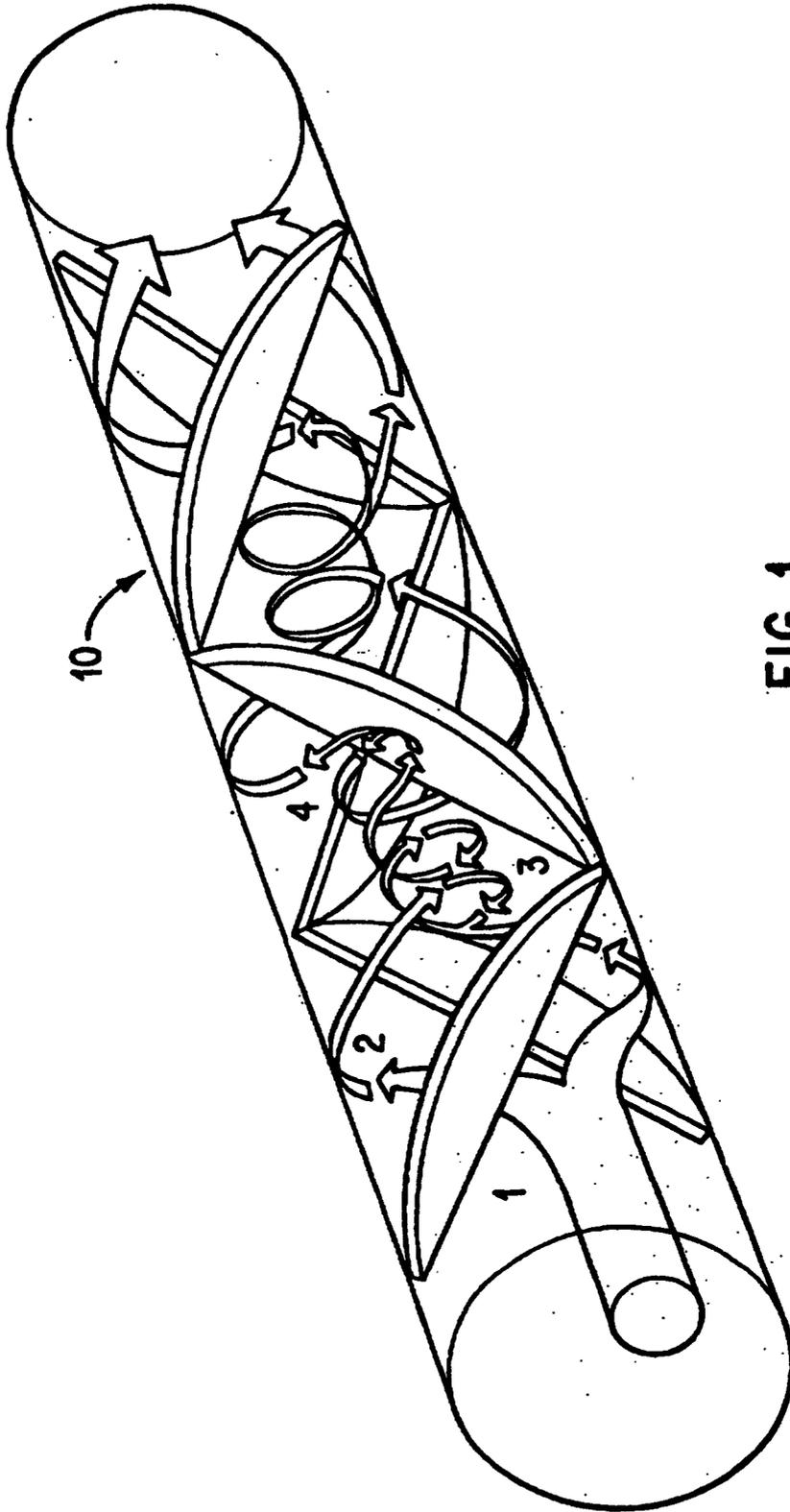


FIG. 1

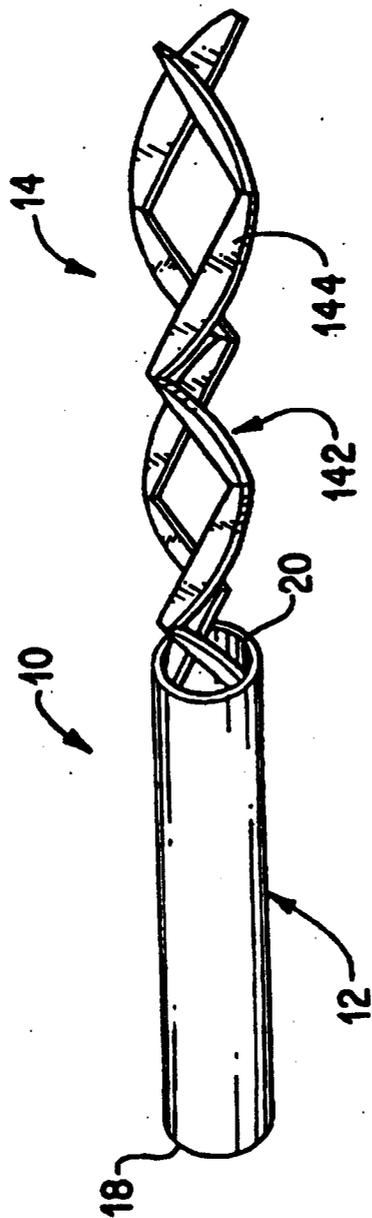
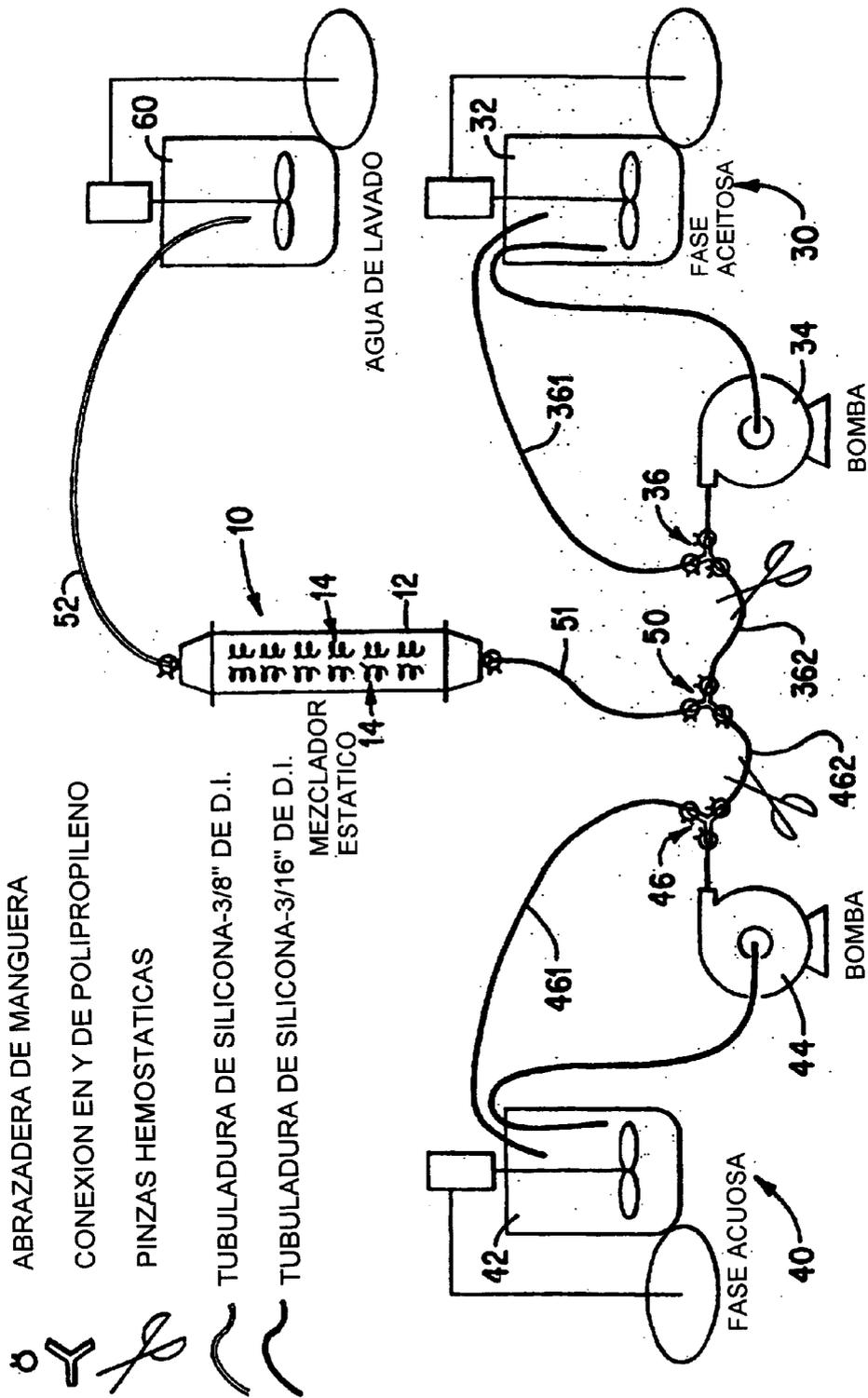


FIG. 2



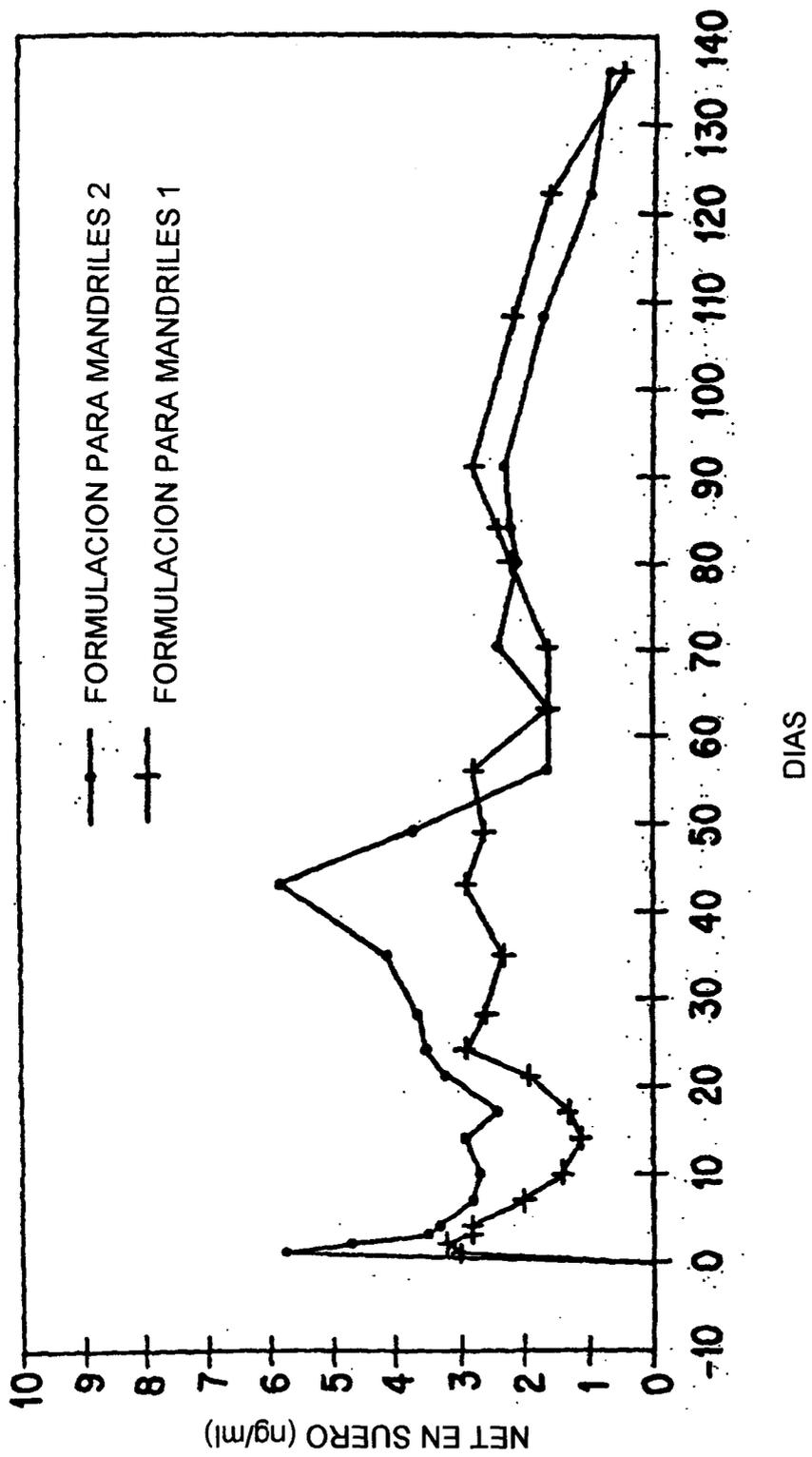


FIG. 4

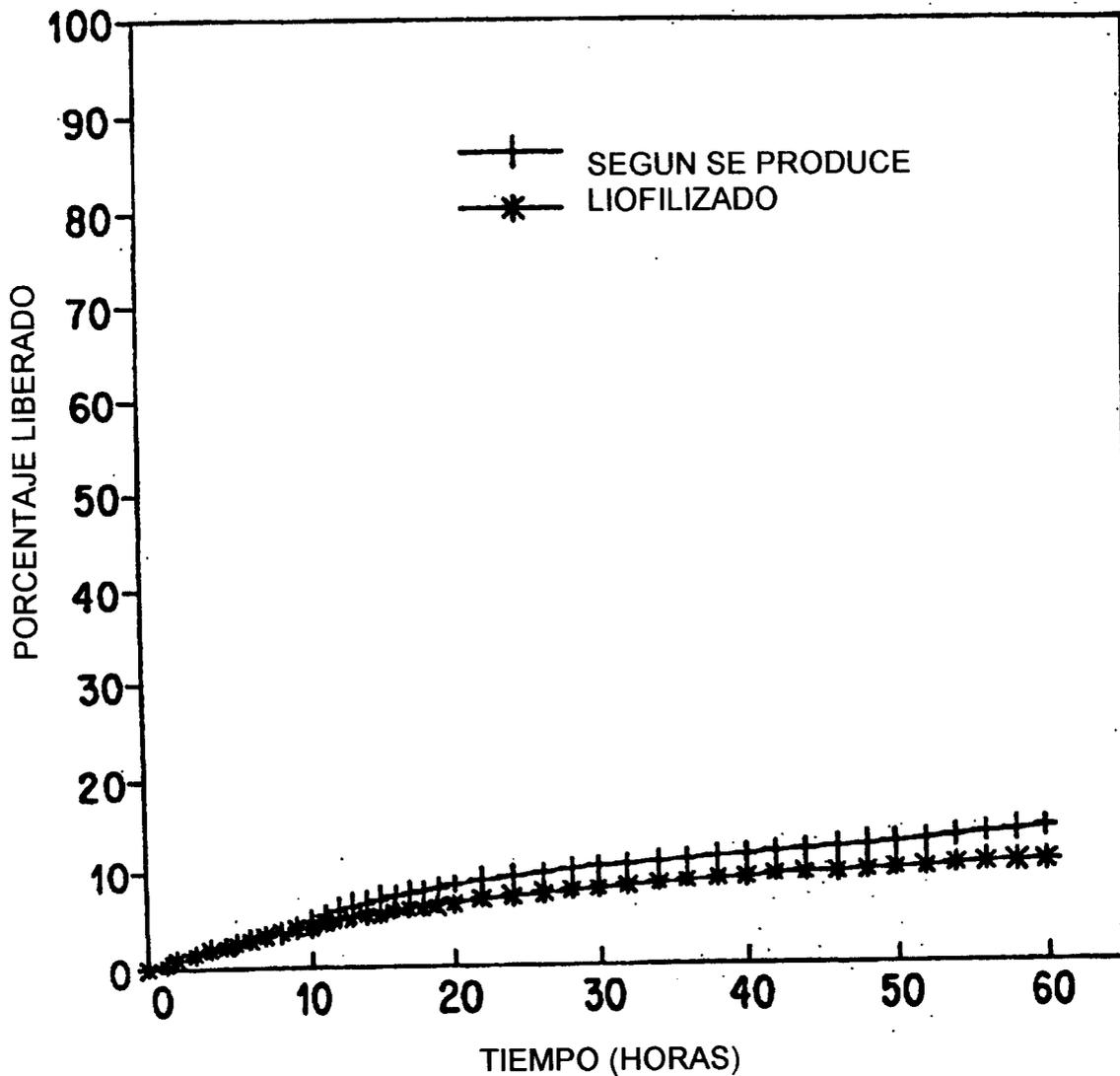


FIG. 5

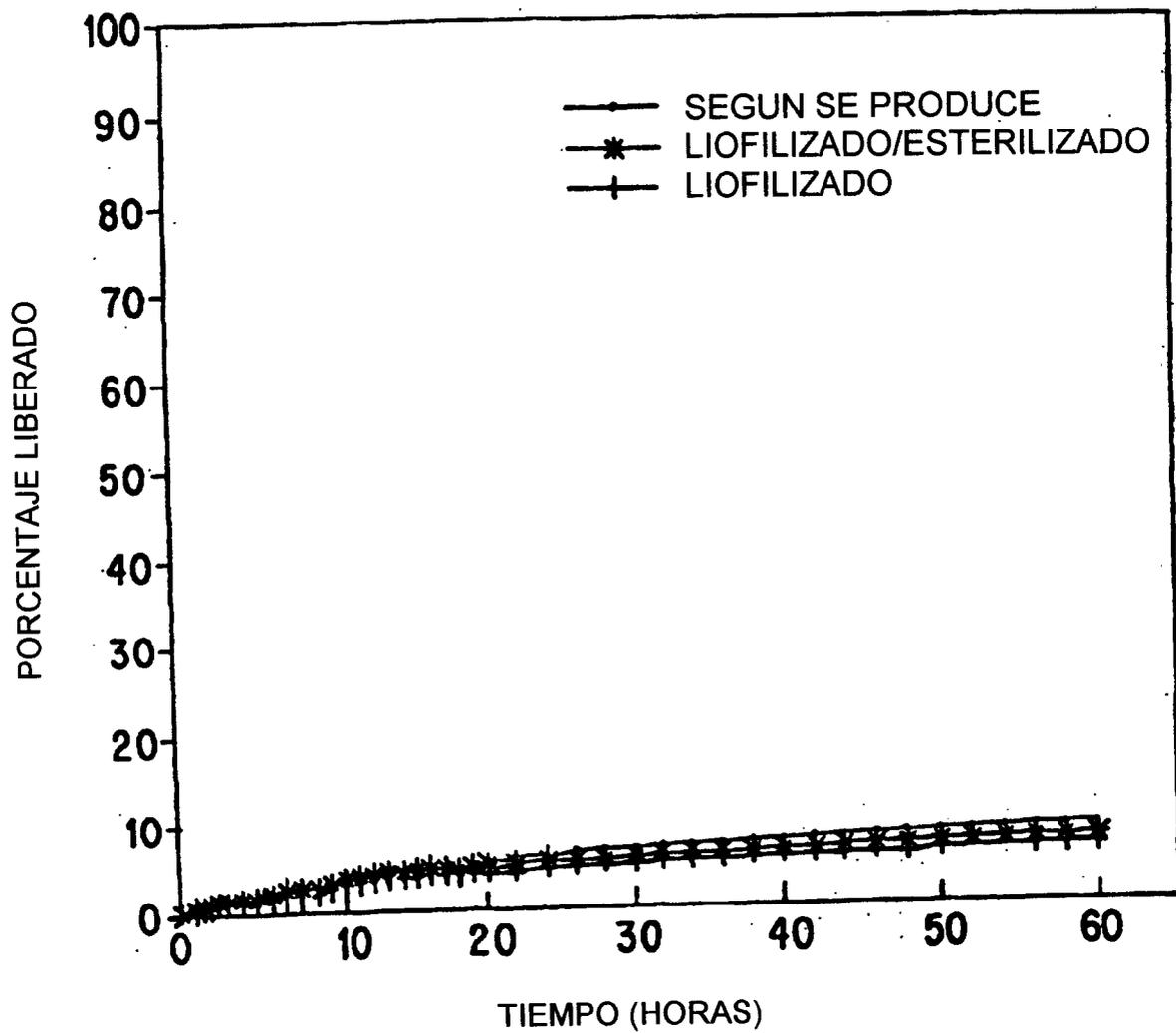


FIG. 6

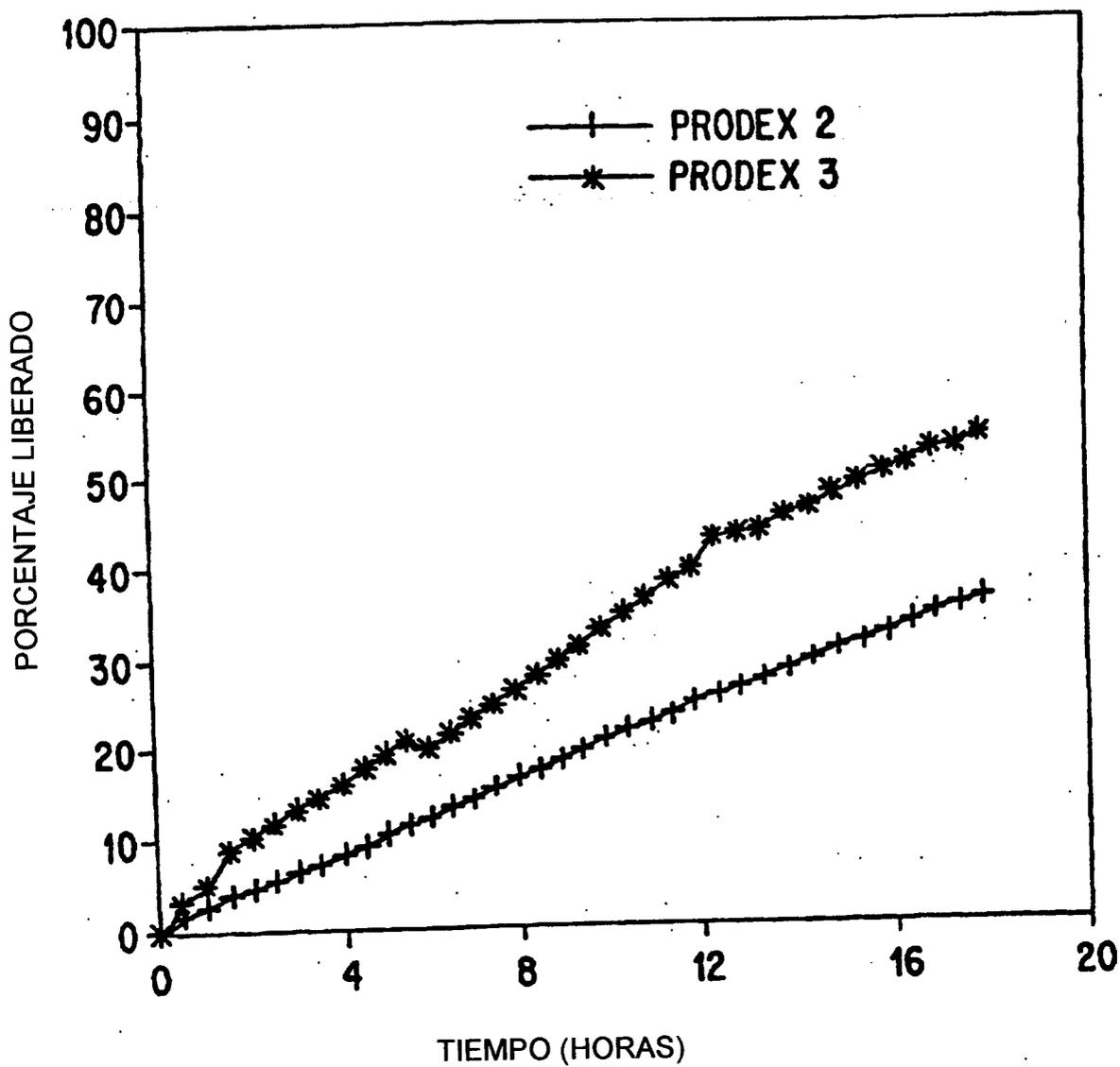


FIG. 7

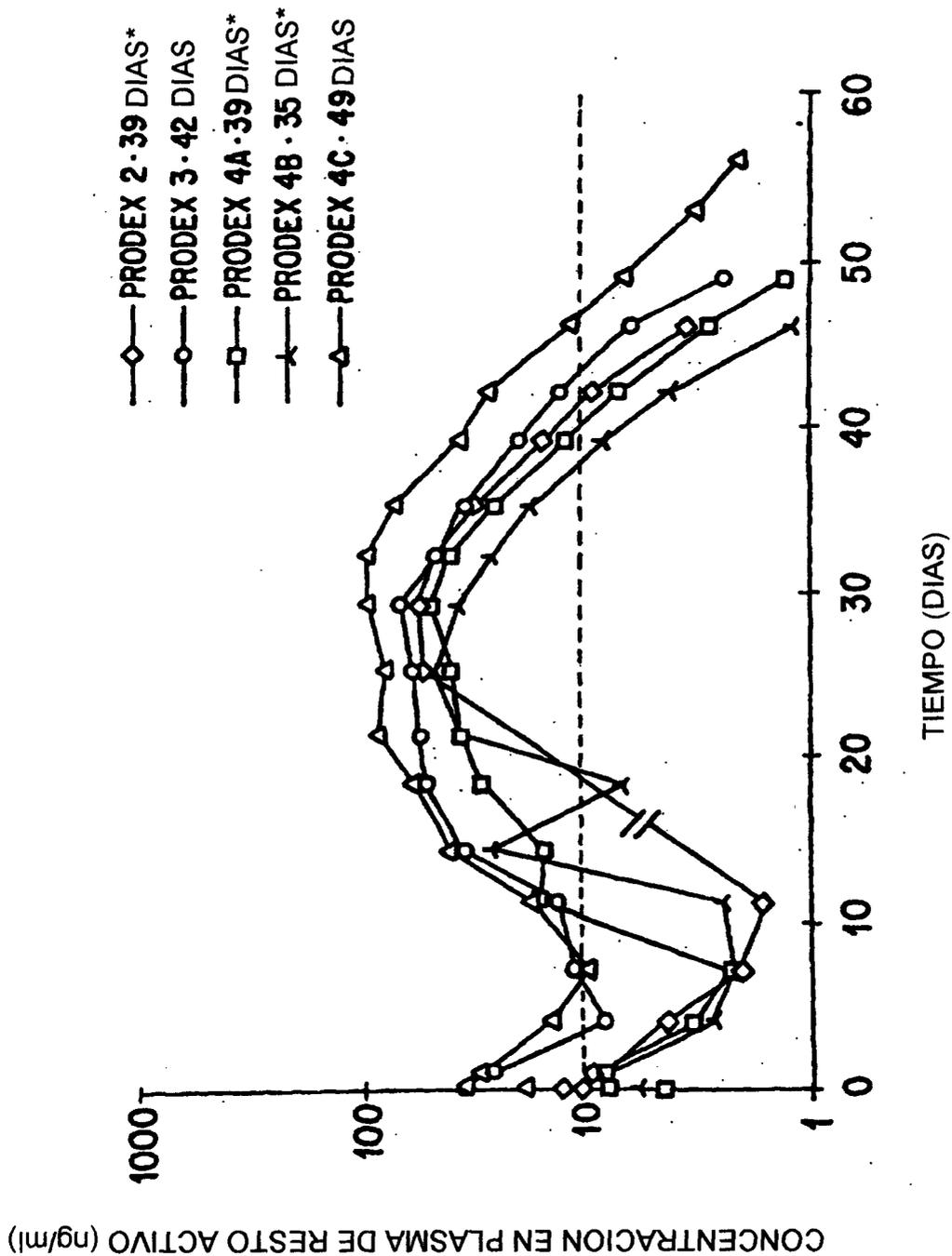


FIG. 8

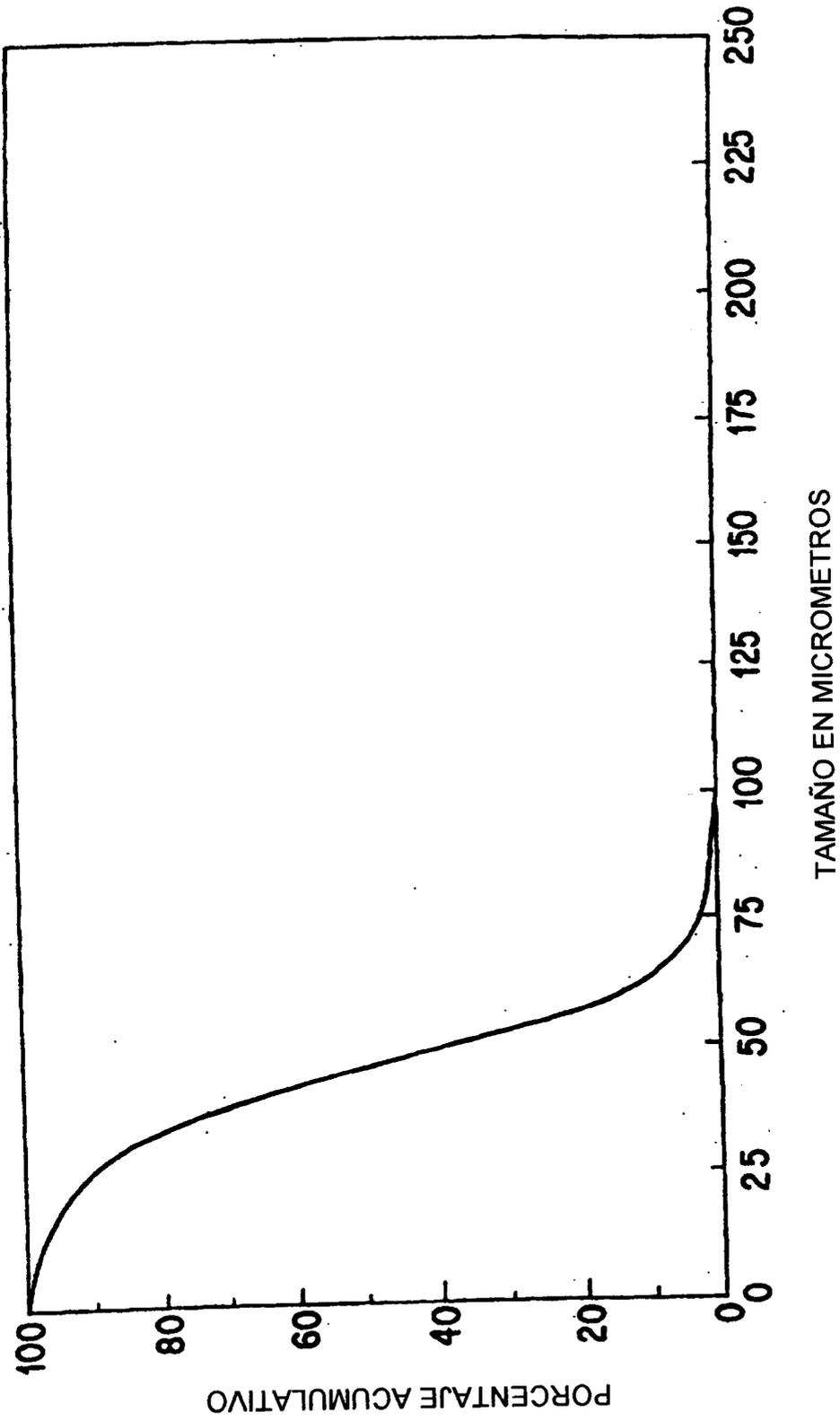


FIG. 9

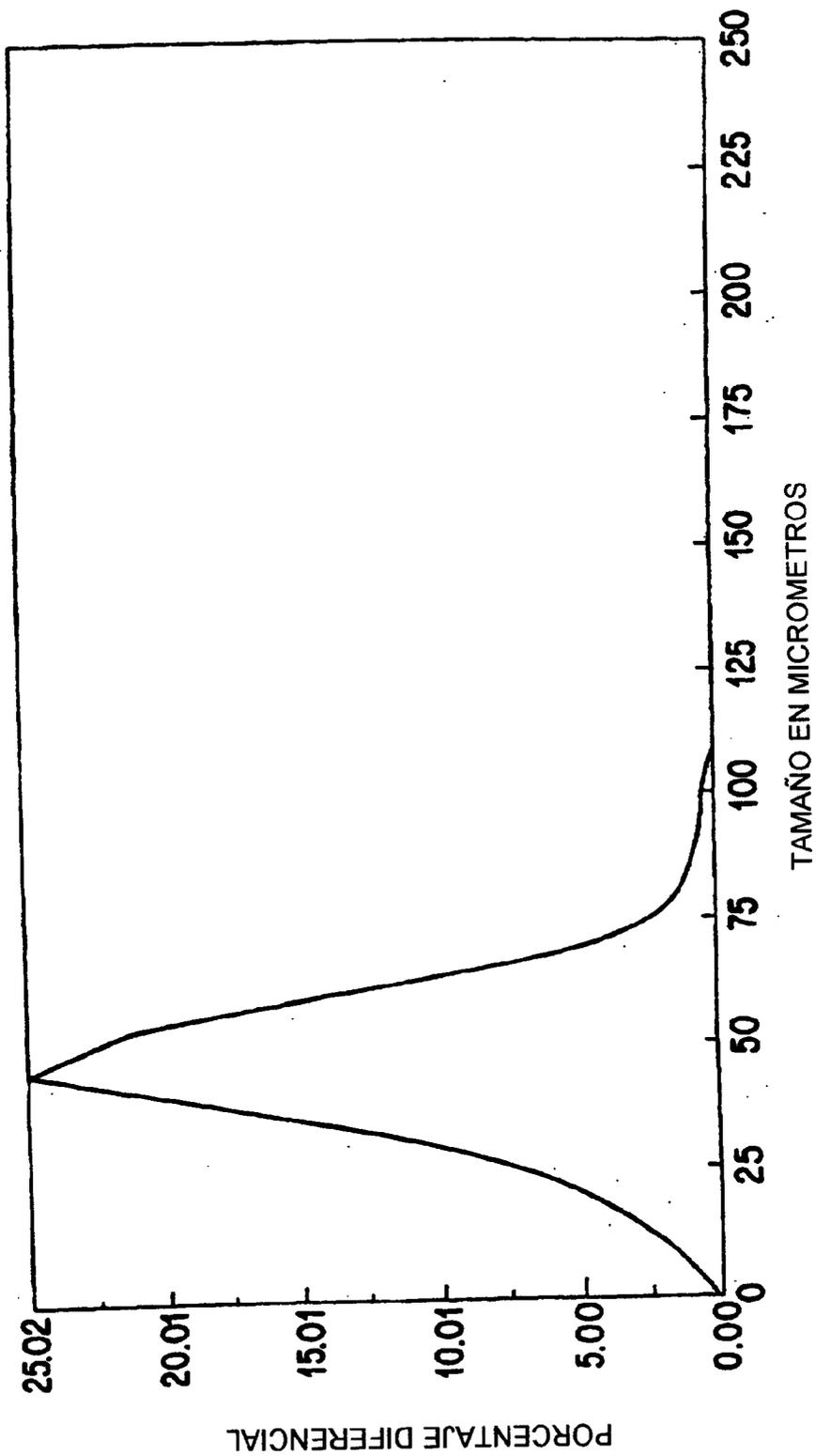


FIG. 10

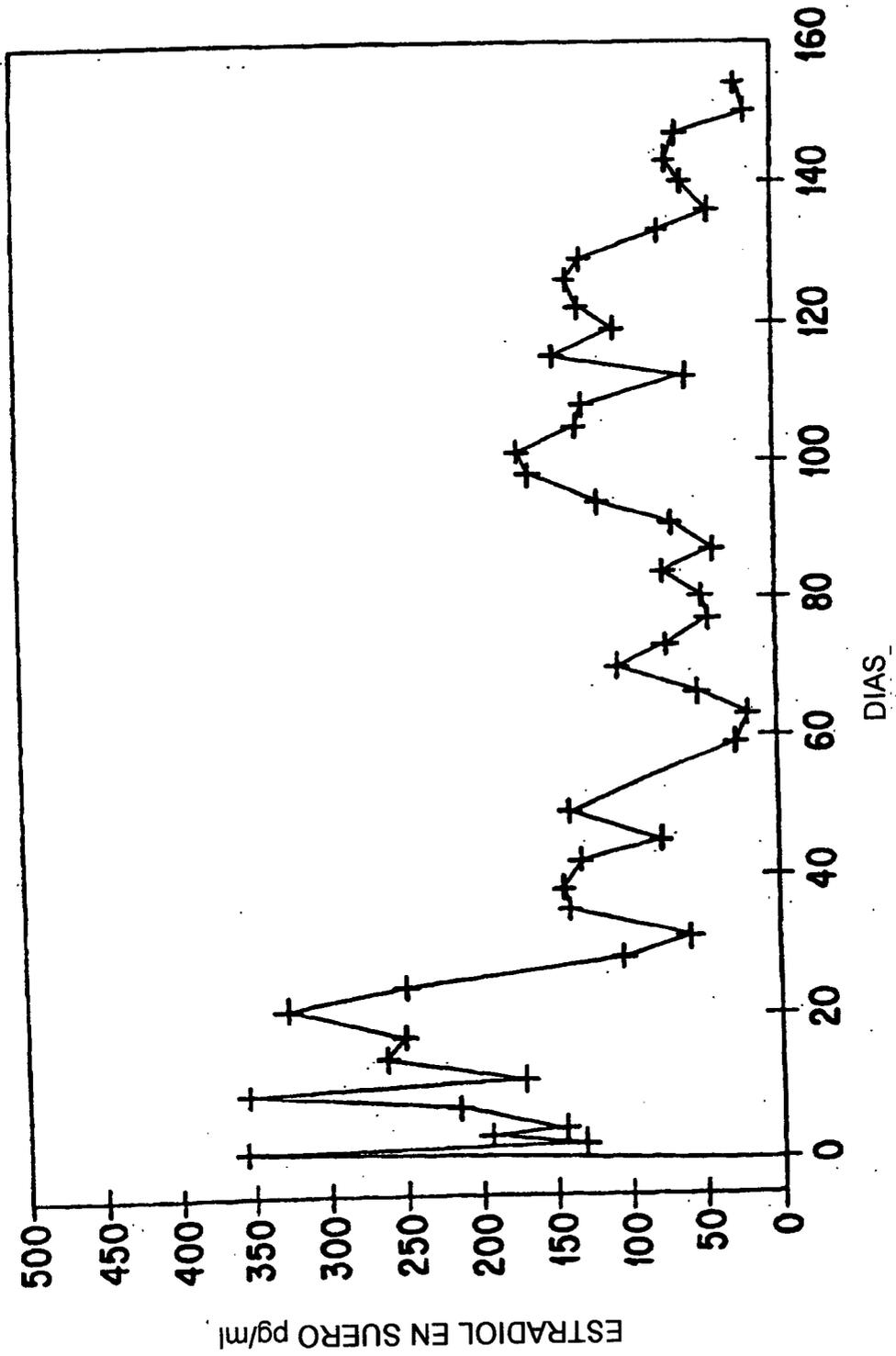


FIG.11

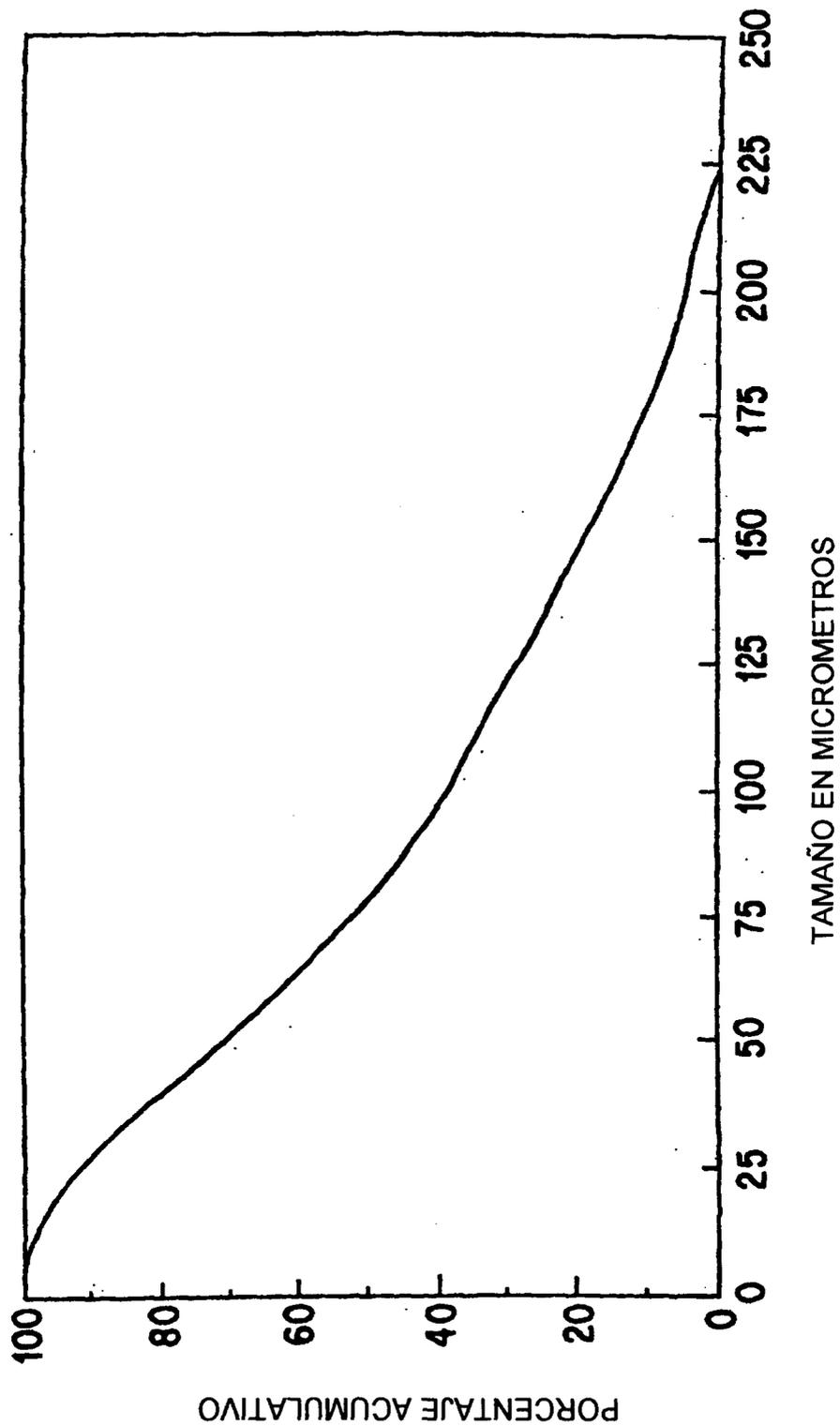


FIG.12

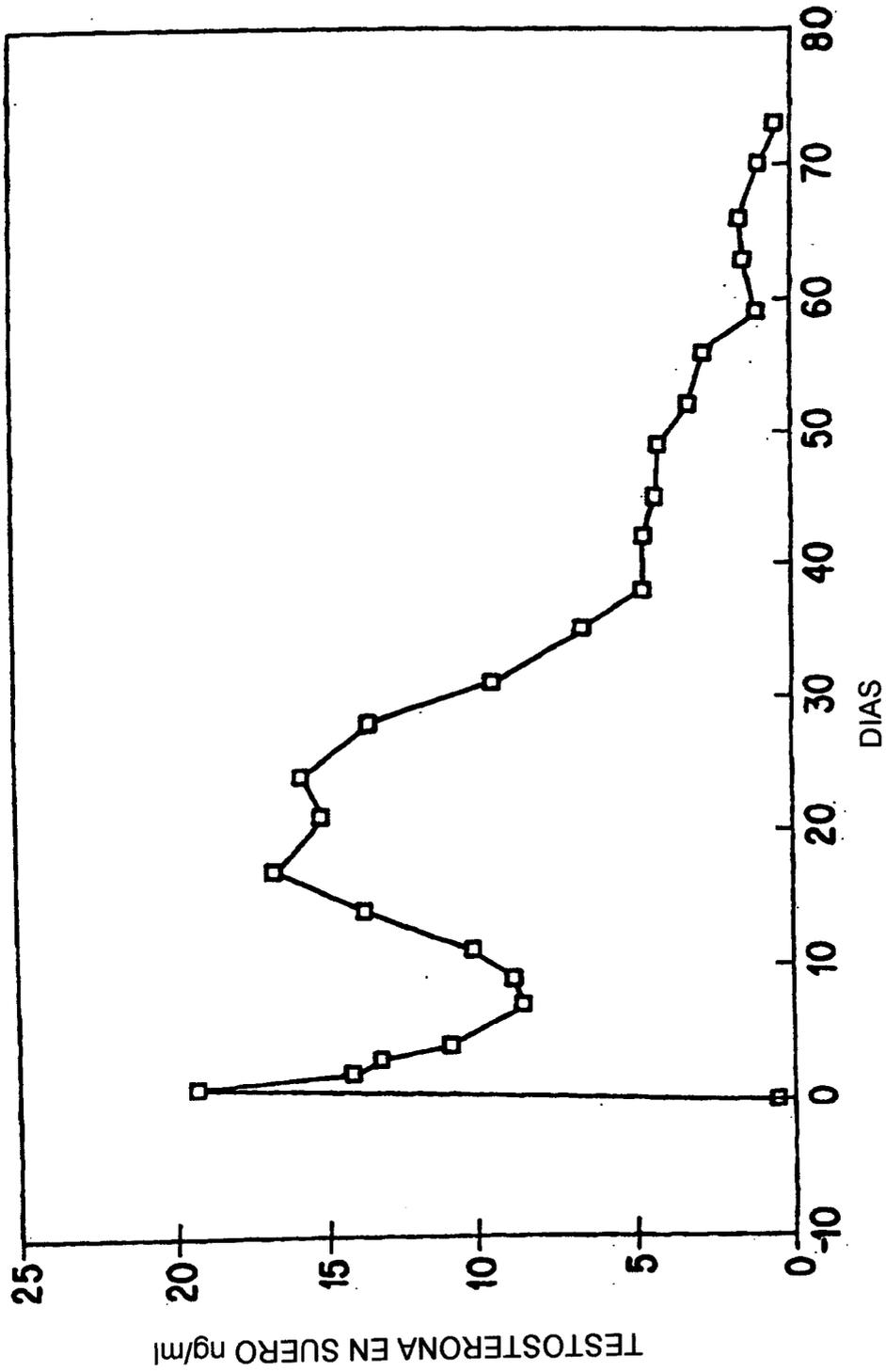


FIG.13

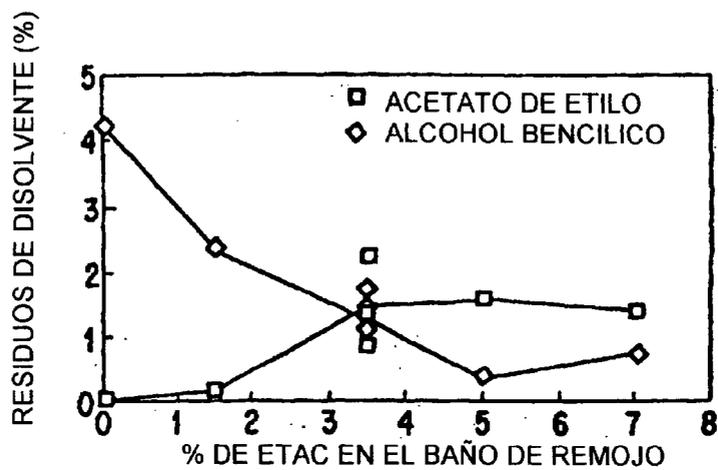


FIG. 14A

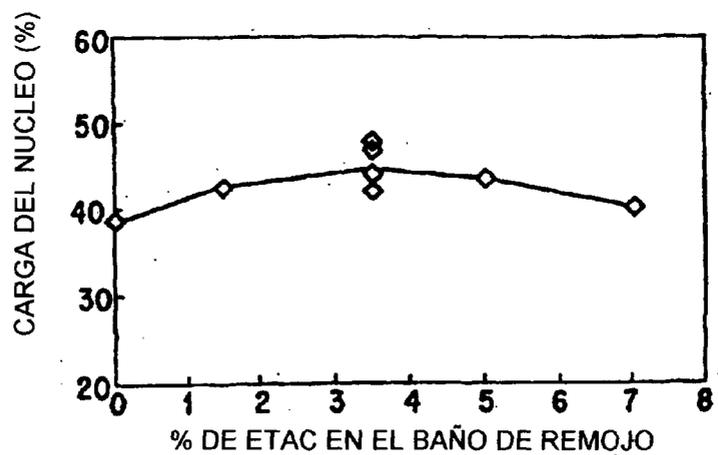


FIG. 14B

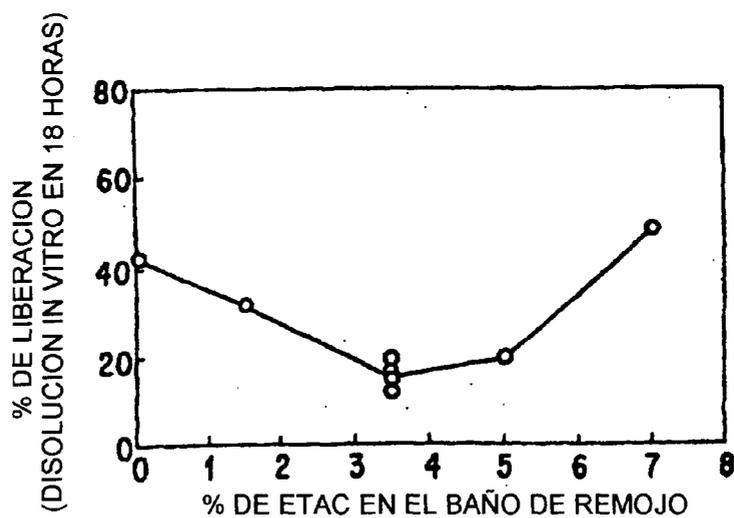


FIG 14C

