



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 286 157**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/16** (2006.01)

**A61K 9/50** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01992358 .0**

86 Fecha de presentación : **19.12.2001**

87 Número de publicación de la solicitud: **1343480**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **17.09.2003**

54

Título: **Procedimiento de transición de fase inducida para la producción de micropartículas que contienen agentes activos hidrófobos.**

30

Prioridad: **21.12.2000 US 257527 P**  
**21.06.2001 US 300021 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.12.2007**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.12.2007**

73

Titular/es: **Alrise Biosystems GmbH**  
**Robert-Rossle-Strasse 10**  
**13125 Berlin, DE**

72

Inventor/es: **Albayrak, Celal**

74

Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 286 157 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento de transición de fase inducida para la producción de micropartículas que contienen agentes activos hidrófobos.

Esta invención está dirigida a un procedimiento para la producción de micropartículas que contienen un agente biológicamente activo insoluble en agua así como a las micropartículas producidas por este procedimiento. De acuerdo con la invención, se proporciona un procedimiento simplificado, en un recipiente para producir tales micropartículas. También está dirigida a un procedimiento para la producción de micropartículas, en el que agentes activos específicos en la forma de una suspensión acuosa se someten a la formación de micropartículas como se explica a continuación.

Muchos fármacos biológicamente activos poseen propiedades lipófilas fuertes, lo que da como resultado una solubilidad insignificante en agua. El desarrollo de una formulación de estas sustancias activas es por lo tanto un desafío.

Una alternativa a las formulaciones actualmente disponibles de estas sustancias farmacológicamente activas es el encapsulado en nano y micropartículas poliméricas biodegradables. Tales formulaciones de depósito para fármacos o péptidos o proteínas hidrófobos son ampliamente conocidas y están descritas en la bibliografía.

Sin embargo, la mayoría de los procedimientos de la técnica anterior usan hidrocarburos halogenados como disolvente (diclorometano o cloroformo), que tienen un enorme potencial toxicológico (Henschler D.; Angew. Chem. 196 (1994), 1997-2012). A continuación se discuten brevemente ejemplos de la técnica anterior.

#### I. Evaporación de Disolventes

La evaporación de disolventes incluye la disolución del polímero en un disolvente orgánico que contiene el agente activo disuelto o en dispersión. A continuación se agrega la mezcla de polímero/agente activo a una fase en agitación continua que es típicamente acuosa. En la fase acuosa se incluyen emulsivos para estabilizar la emulsión de aceite en agua. Posteriormente se evapora el disolvente orgánico durante un período de varias horas o más, depositando de este modo el polímero alrededor del material del núcleo central. El procedimiento de evaporación del disolvente está descrito en la Patente de EEUU N° 4.389.330.

Sin embargo, la técnica de evaporación de disolventes frecuentemente no resulta de preferencia porque el ingrediente activo frecuentemente se pierde durante el procedimiento de extracción de disolventes. Esto es porque el procedimiento incluye el emulsionado en una fase acuosa, y un fármaco soluble en agua frecuentemente se repartirá rápidamente de la fase de solución de polímero más hidrófoba hacia el entorno acuoso.

El encapsulado mediante el procedimiento de evaporación de disolventes también lleva a la producción de microesferas. El ingrediente activo a encapsular se dispersa tradicionalmente en una solución de polímero en un disolvente orgánico volátil. Esta fase se emulsiona por medio de un agente activo de superficie en un medio de dispersión no miscible (agua o aceite mineral). El disolvente orgánico se evapora con agitación. Tras la evaporación, se recuperan las microesferas por filtración o centrifugación.

Las ventajas de la técnica son la ausencia de disolventes tóxicos tales como heptano, y la ausencia de aglomeración de las microesferas. La evaporación del disolvente es más simple, más flexible y fácil de industrializar que otros procedimientos tales como la coacervación o separación de fases, y hace posible usar cantidades reducidas de disolvente.

Tradicionalmente, la evaporación de disolventes se aplica principalmente al encapsulado de sustancias lipófilas tales como esteroides y nitrosoureas. El microencapsulado de ingredientes activos hidrófilos requiere el uso de una fase de dispersión apolar tal como un aceite mineral. De manera convencional se usan sistemas de acetona/parafina. Sin embargo, los niveles de incorporación del ingrediente activo hidrófilo en las microesferas en relación con las cantidades usadas en el procedimiento son bastante bajas y, además, este sistema incluye una limitación con respecto a los tipos de polímeros que pueden usarse ya que necesita que el polímero sea soluble en acetona, que es el caso de los polímeros de ácido láctico, pero que no es el caso de los copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico. Esta técnica por emulsión/evaporación es por lo tanto reconocida tradicionalmente como inadecuada para péptidos solubles en agua y para todas las sustancias solubles en agua.

Las micropartículas producidas según el procedimiento de evaporación de disolvente están descritas en dos Solicitudes de Patente Canadiense, CA 2.100.925 (Rhone-Merieux) y CA 2.099.941 (Tanabe Seiyaku Co.).

Según la solicitud CA 2.099.941, el ingrediente activo soluble en agua y el polímero biodegradable se disuelven inicialmente en un disolvente o mezcla de disolventes. A continuación se elimina la mezcla disolvente/disolvente y se disuelve la dispersión sólida formada en otro disolvente orgánico no miscible con agua. Se emulsiona la solución resultante (fase oleosa) en una fase acuosa de manera que se forma una emulsión Aceite/Agua. Finalmente se evapora el disolvente orgánico de la fase oleosa. Los ejemplos específicos citados en la patente describen el uso de polímero poli-(lactida-co-glicólido) (PLGA) como matriz y hormona liberadora de tirotrópina (TRH) o uno de sus derivados como principal agente activo.

## ES 2 286 157 T3

Los componentes se disuelven inicialmente en una mezcla de acetonitrilo/etanol y opcionalmente en agua, o sólo en acetonitrilo, o en una mezcla constituida por acetonitrilo y gelatina acuosa o diclorometano y etanol.

5 Los disolventes orgánicos, como diclorometano o cloroformo, se usan para disolver la dispersión sólida formada. Una solución acuosa de alcohol polivinílico representa la fase acuosa. El tamaño de las micropartículas cae en un diámetro de desde 1 hasta 100  $\mu\text{m}$  y, según los ejemplos específicos, desde alrededor de 50  $\mu\text{m}$  hasta  $\leq 100 \mu\text{m}$ .

10 Según la solicitud CA 2.100.925, las micropartículas de hormona LHRH y análogos se producen por medio de dispersión de la hormona LHRH en polvo en dos disolventes orgánicos, el primer disolvente (disolvente de dispersión) permite la producción de una suspensión homogénea por agitación simple. El segundo disolvente es fácilmente miscible con agua y por consiguiente hace posible la microdispersión de la fase orgánica en la fase acuosa. Como segundo disolvente se usa diclorometano o, como una alternativa, cloroformo. Las micropartículas tienen un diámetro desde 1-250  $\mu\text{m}$ . Las micropartículas son de preferencia mayores que 50-60  $\mu\text{m}$ .

15 La morfología de las micropartículas producidas de esa manera es una vez más no homogénea. Como se mencionó anteriormente, los disolventes halogenados usados son también toxicológicamente objetables. Este procedimiento requiere también grandes cantidades de tensioactivos.

### II. Separación de Fases

20 Otra técnica que puede usarse para formar micropartículas es la separación de fases, que incluye la formación de una emulsión de agua en aceite o una emulsión de aceite en agua. Se precipita el polímero a partir de la fase continua sobre el agente activo por un cambio en la temperatura, pH, fuerza iónica o por la adición de precipitantes. Una vez más, este procedimiento sufre principalmente pérdida de ingrediente activo debida a la desnaturalización.

25 En consecuencia, el uso de la separación de fases para la producción de micropartículas puede resultar más adecuado para la formulación de micropartículas que contienen compuestos más solubles en agua, particularmente péptidos solubles en agua. Los procedimientos de separación de fases para la preparación de micropartículas permiten una incorporación más eficaz de fármacos y pueden ampliarse fácilmente para objetivos industriales. El procedimiento de separación de fases usualmente usa una emulsión o una suspensión de partículas del fármaco en una solución de un polímero de alto peso molecular y un disolvente orgánico de polímero. Posteriormente se agrega un no disolvente a la suspensión o emulsión, que causa la separación del polímero de la solución y el encapsulado de las partículas del fármaco suspendidas o gotas que las contienen. Las micropartículas resultantes (que aún están hinchadas con disolvente) se endurecen a continuación normalmente por medio de otro agregado de un no disolvente o por medio de algún otro procedimiento que endurece y mejora las propiedades de las micropartículas.

30 En primer lugar, se dispersa el producto a encapsular en la solución de un polímero previsto para formar posteriormente la matriz de las microcápsulas. En segundo lugar, se induce la coacervación del polímero mediante una modificación del medio de reacción, en particular por medio de un agente que induce la separación de fases. En tercer lugar, se estabilizan y solidifican las gotitas de coacervato que se forman alrededor del material a encapsular por medio de un no disolvente del polímero, por ejemplo heptano.

35 Las formulaciones farmacéuticas de péptidos y proteínas solubles en agua en forma de microcápsulas producidas en base a coacervación y separación de fases de emulsión son conocidas de las Patentes de EEUU N° 4.675.189, 4.675.800, 4.835.139, 4.732.763 y 4.897.268; Solicitud de Patente de RU N° 2.234.896; y los documentos EP 330.180 y EP 0 302 582 y de Ruiz y col. en *The International Journal of Pharmaceutics* (1989) 49:69-77 y en *Pharmaceutical Research* (1990) 9:928-934.

40 En estas descripciones se describen procedimientos en los que el copolímero usado, de preferencia polímero poli(lactida-co-glicólido), se disuelve en un disolvente orgánico halogenado, de preferencia diclorometano, y una solución acuosa de péptido dispersada en esta solución de polímero. A continuación se agrega un agente de coacervación. El agente de coacervación es soluble en el disolvente orgánico usado, pero el polímero no lo es, por lo tanto la precipitación del polímero se produce con incorporación de los polipéptidos dispersados.

55 El aceite de silicona se usa habitualmente como agente de coacervación para separación de fases. Tras la adición de aceite de silicona, debe añadirse también una gran cantidad de heptano, que produce el curado de las micropartículas. La eficacia de encapsulado de este procedimiento es de aproximadamente 70% (Patente de EEUU N° 4.835.139). Las microcápsulas producidas de esta manera tienen un diámetro de 1-500  $\mu\text{m}$ , según los ejemplos de preferencia 10-50  $\mu\text{m}$ .

60 La principal desventaja de este procedimiento es el uso de grandes cantidades de disolventes con, además de las limitaciones de coste, problemas de toxicidad ligados a los disolventes, tales como heptano, usados. Esto es porque las técnicas por coacervación que usan heptano no permiten su eliminación completa. En las microesferas se observa una gran cantidad de disolventes residuales, en el orden de 5 a 10% de heptano.

65 Independientemente de lo anterior, se ha observado también que frecuentemente se producen agregados de microesferas que causan una pérdida elevada del rendimiento en la producción de estas microesferas por este procedimiento y algunas veces es necesario rechazar totalmente algunos lotes que por lo tanto pierden su utilidad. La tendencia de

las microesferas a añadirse causa dificultades adicionales en el momento de suspender las microesferas por inyección, en el caso de microesferas inyectables.

5 Otra desventaja de la técnica por separación de fases es la distribución no homogénea de la sustancia activa en las microesferas con liberación irregular, y en general una primera fase de liberación acelerada (“efecto explosivo”). Esto se observa en particular cuando se suspende la sustancia activa en la solución de polímero, en particular porque no es soluble en el disolvente para el polímero. Esto se aplica generalmente, por ejemplo, a polipéptidos. Además, los problemas incluyen la formación de partículas no esféricas, formación de partículas que no son suaves y tienen defectos, la presencia de partículas grandes con una amplia variación de tamaños, y la presencia de material no  
10 particulado.

### III. Emulsión Doble

15 Otro ejemplo de un procedimiento para formar micropartículas se muestra en la Patente de EEUU N° 3.523.906. En este procedimiento se emulsiona un material a encapsular en una solución de un material polimérico en un disolvente que es inmiscible con agua y a continuación se emulsiona la emulsión en una solución acuosa que contiene un coloide hidrófilo. La eliminación del disolvente de las microcápsulas se realiza en una única etapa por evaporación y se obtiene el producto.

20 El procedimiento de emulsión doble (A/Ac/A) y evaporación de disolvente, que se describe también en la Patente de EEUU N° 3.523.906 es para aplicaciones técnicas, y usa polímeros no biodegradables como material de pared (por ejemplo, poliestireno), que se disuelven en hidrocarburos halogenados (diclorometano o cloroformo).

25 La Patente de EEUU N° 5.330.767 describe el uso de emulsión doble A/Ac/A y el uso del procedimiento evaporación de disolvente está descrito en la Patente de EEUU N° 3.523.906 para fines farmacéuticos. En contraste con el procedimiento descrito en la Patente de EEUU N° 3.523.906, aquí sólo se usan polímeros biodegradables. Otros procedimientos de emulsión doble para microencapsulación están descritos en los documentos EP 190.833 y WO 99/58112, y en las Patentes de EEUU N° 5.648.095, 5.902.834, 4.954.298, 5.841.451, 4.917.893 y 4.652.441.

30 Un defecto serio de estos procedimientos, sin embargo, es que las micropartículas producidas están constituidas por una mezcla de microcápsulas y microesferas monolíticas. Además de la limitada eficacia de encapsulado (30-60%), la morfología no homogénea de las micropartículas tiene un efecto significativo en el comportamiento de liberación del producto (R. Baker, *Controlled Release of Biologically Active Agents*, A Wiley-Interscience Publications, 1987). Esto obstaculiza simultáneamente también la reproducibilidad de la calidad del producto.

35 Por otra parte, el procedimiento incluye un procedimiento complejo de etapas múltiples, en el que la optimización razonable del procedimiento es también dificultosa. Este procedimiento es muy intensivo y necesita grandes volúmenes de soluciones de tensioactivos. Otro defecto del procedimiento es el uso de disolventes con alto potencial toxicológico (Henschler D., *Angew. Chem.* 106 (1994), 1997-2012).

### 40 IV. Pulverización y Secado

Otro procedimiento para la producción de micropartículas biodegradables, en el que pueden incorporarse péptidos y proteínas solubles en agua, descrito en el documento EP 0 315 875 (Hoechst A. G.), está basado en el procedimiento  
45 de pulverización y secado. En este procedimiento, se emulsiona una solución acuosa de péptidos o proteínas en una solución orgánica de polímero y a continuación se pulveriza y seca esta emulsión. Los ejemplos de otros procedimientos de pulverización y secado están descritos en las Patentes de EEUU N° 5.648.096, 5.723.269 y 5.622.657.

50 Como polímero biodegradable se usa una mezcla de ácido polihidroxibutérico y polímero poli(lactida-co-glicólido) en una proporción de mezcla de entre 99:1 y 20:80. A continuación el péptido/proteína está en forma micronizada o en solución acuosa. Como disolventes se consideran, cloroformo, diclorometano, DMF o una mezcla disolvente de agua/etanol/cloroformo. En los ejemplos mencionados se usa cloroformo. La pulverización y secado se producen de preferencia a temperaturas de entre 45°C y 95°C.

55 Los defectos de este procedimiento incluyen el bajo rendimiento (45% del teórico posible) y el elevado efecto explosivo inicial. Además, el uso de disolventes, como diclorometano y cloroformo, lleva a la contaminación con disolvente residual toxicológicamente objetable del producto final. Las micropartículas obtenidas por pulverización y secado, en principio, exhiben también una fuerte tendencia a sufrir aglomeración, y frecuentemente forman aglomerados con un diámetro de hasta 100 µm.

60 En la pulverización y secado se mezclan el polímero y el fármaco juntos en un disolvente para el polímero. Posteriormente se evapora el disolvente por pulverización de la solución en una cámara de secado a la que también se le proporciona una fuente de agente de secado. Esto da como resultado gotitas poliméricas que contienen el fármaco. Sin embargo, las sustancias sensibles tales como proteínas pueden ser inactivadas durante el procedimiento debido a las elevadas temperaturas usadas y la exposición a las interfaces disolvente orgánico/aire. Otras desventajas incluyen la generación de elevada porosidad debida a la rápida eliminación del disolvente orgánico. Una variación que se ha introducido para evitar estos defectos es el uso de baja temperatura durante la formación de las microesferas (Patente de EEUU N° 5.019.400, documento WO 90/13780 y Patente de EEUU N° 4.166.800). Se han preparado microcápsu-

## ES 2 286 157 T3

las usando pulverización y recubrimiento de micropartículas que contienen fármacos con polímeros PLGA como se describe en la Patente de EEUU N° 4.568.559.

Otros ejemplos de procedimientos de microencapsulación son conocidos en la técnica anterior. Por ejemplo, otro ejemplo de un procedimiento convencional de la técnica anterior se muestra en la Patente de EEUU N° 3.737.337 en el que se prepara una solución de un material polimérico de pared o estructura de recubrimiento en un disolvente. El disolvente es sólo parcialmente soluble en agua. Se disuelve o dispersa un material sólido o central en la solución que contiene el polímero y de allí en adelante en una única etapa, se dispersa la solución que contiene el material central en un líquido acuoso que es inmiscible con el disolvente orgánico con el fin de eliminar el disolvente de las microcápsulas. En otro procedimiento más, como se muestra en la Patente de EEUU N° 3.691.090, se evapora el disolvente orgánico de una dispersión de microcápsulas en un medio acuoso en una única etapa, de preferencia bajo presión reducida. De manera similar, la descripción de la Patente de EEUU N° 3.891.570 muestra un procedimiento en el que se evapora el disolvente de una dispersión de microcápsulas en un medio de alcohol polihídrico de las microcápsulas por la aplicación de calor o colocando las microcápsulas bajo presión reducida. Otro ejemplo de procedimiento de eliminación de disolvente en una etapa se muestra en la Patente de EEUU N° 3.960.757.

El documento WO 97/19676 describe un procedimiento para la microencapsulación de agentes activos hidrófilos. Se agrega una solución acuosa del agente activo con un pH de 6,0-8,0 a la solución de polímero. Posteriormente se agrega una fase acuosa de tensioactivo para formar microcápsulas que contienen un núcleo interno acuoso que contiene el agente activo.

El documento WO 99/20253 describe un procedimiento para formar micropartículas en el que se inyecta una emulsión o dispersión del fármaco en una solución acuosa de polietilenglicol (PEG) que actúa como una fase continua y como un medio de extracción. El disolvente para la emulsión o dispersión debería ser inmiscible pero poco o muy poco soluble en la solución agua/PEG. Los ejemplos incluyen acetato de etilo, diclorometano, metil etil cetona y metil isobutil cetona solos o en combinación. Se usa una concentración elevada de PEG para evitar la difusión del agente activo desde las gotitas/partículas. El procedimiento necesita varias horas de mezcla para producir las micropartículas.

En las Patentes de EEUU N° 6,291,013, 5,792,477, 5,643,605, 5,922,357, 6,309,569 y en las Publicaciones PCT WO 99/59548 y WO 01/28591 se describen otros procedimientos para producir micropartículas. Cualquiera que sea el procedimiento, el patrón de liberación del fármaco para una micropartícula es dependiente de numerosos factores. Por ejemplo, el tipo de fármaco encapsulado y la forma en que está presente (es decir, líquido o polvo) pueden afectar el patrón de liberación del fármaco. Otro factor que puede afectar el patrón de liberación del fármaco es el tipo de polímero usado para encapsular el fármaco. Otros factores que afectan el patrón de liberación del fármaco incluyen la carga de fármaco, la manera de distribución en el polímero, el tamaño de partícula y la forma de las partículas. A pesar de las numerosas modificaciones a los procedimientos anteriores para producir micropartículas para aplicaciones farmacéuticas, persisten problemas que reducen la eficacia y reproducibilidad de las micropartículas producidas por estos procedimientos, particularmente para uso en sistemas de administración de liberación controlada.

### 40 Definiciones

Como se usa en este documento, el término “fase de fármaco” se refiere a la fase que contiene polímero/agente activo durante la fabricación de micropartículas de acuerdo con la invención que es el resultado de la adición de un agente activo a una solución de polímero existente previo al agregado de la fase acuosa de tensioactivo. La fase de fármaco puede ser una solución, dispersión, suspensión o emulsión.

Como se usa en este documento, el término “microcápsula” se refiere a una micropartícula en la que una pared polimérica rodea un núcleo constituido por una solución o suspensión acuosa. En el caso de microcápsulas que encapsulan agentes activos hidrófobos, el agente activo puede estar contenido en el núcleo, en cuyo caso el núcleo comprende una suspensión acuosa del agente activo, o el agente activo puede estar incluido en la pared polimérica, en cuyo caso el núcleo comprende una solución o suspensión acuosa en la que el agente activo está sustancialmente ausente.

Como se usa en este documento, el término “micropartícula” se refiere a partículas sustancialmente esféricas con un diámetro medio de entre 20 nm y 1000  $\mu\text{m}$  e incluye microcápsulas, microesferas y microesponjas.

Como se usa en este documento, el término “microesfera” se refiere a una micropartícula en la que está incluido un agente activo dentro de una matriz polimérica sólida.

Como se usa en este documento, el término “microesponja” se refiere a una micropartícula en la que está incluido un agente activo dentro de una matriz polimérica que comprende una estructura de células abiertas.

Como se usa en este documento, el término “fase de tensioactivo” se refiere a una solución acuosa que tiene un tensioactivo o mezcla de tensioactivos disueltos en la misma con o sin otros excipientes.

Como se usa en este documento, el término “fracción de volumen” se refiere al volumen de la fase de referencia con respecto al volumen total de material usado para producir la suspensión de micropartículas de acuerdo con la invención. Por ejemplo, la fracción de volumen de la fase acuosa de tensioactivo es el volumen de fase acuosa de tensioactivo dividido por el volumen total de la fase de fármaco y la fase acuosa de tensioactivo.

## ES 2 286 157 T3

La presente invención proporciona un procedimiento nuevo, simple y suave para el encapsulado de agentes activos no solubles en agua en polímeros biodegradables que evita o reduce las desventajas observadas en la técnica anterior. El procedimiento produce micropartículas que no se aglomeran en un intervalo de tamaños desde 20 nm hasta 1.000  $\mu\text{m}$  con eficacias de encapsulado mayores del 85%, de preferencia mayores del 90% usando disolventes toxicológicamente aceptables. El procedimiento de la presente invención usa un volumen mínimo de solución de tensioactivo lo que da como resultado un tiempo de producción reducido comparado con otros procedimientos de la técnica anterior. Además, el procedimiento de acuerdo con la invención puede ampliarse fácilmente para alcanzar las necesidades de producción comercial ya que proporciona un procedimiento en un recipiente, muy simplificado comparado con los procedimientos de la técnica.

Además, el procedimiento de acuerdo con la presente invención proporciona un mayor control sobre la distribución del tamaño de partículas y permite una disminución de la energía necesaria para realizar la mezcla para obtener las micropartículas. Además, la presente invención proporciona la ventaja de que es necesaria una menor cantidad de solución de tensioactivo para formar la suspensión de micropartículas comparado con los procedimientos de la técnica anterior en los que la fase de fármaco típicamente se inyecta en un gran exceso de solución de tensioactivo. Esto reduce en gran manera el tiempo de procesamiento necesario y minimiza la cantidad de tensioactivo que, en algunos casos, es necesario eliminar de las micropartículas previo a su uso proyectado.

Más específicamente, la presente invención se refiere a procedimientos como se definen en las reivindicaciones.

La Figura 1 representa un esquema del procedimiento de acuerdo con un aspecto de la invención.

La Figura 2 representa la liberación *in vitro* desde micropartículas preparadas de acuerdo con los Ejemplo 19-22.

Se ha encontrado sorprendentemente que mediante la selección y agregado adecuados de una fase acuosa de tensioactivo a una fase de fármaco que comprende un disolvente o mezcla de disolventes orgánicos que es al menos parcialmente miscible con agua y de preferencia tiene una solubilidad en agua de aproximadamente 1,5-40% en peso, la fase acuosa de tensioactivo actúa como fase continua y medio de extracción, permitiendo de esta manera la formación casi inmediata de una suspensión de micropartículas sin necesidad de evaporación del disolvente u otra etapa de eliminación del disolvente. De acuerdo con una forma de realización de preferencia, el procedimiento de la presente invención puede llevarse a cabo para preparar micropartículas que son predominantemente microesferas, de preferencia al menos 80% en peso de microesferas, siendo el remanente una mezcla de microcápsulas y microesponjas.

De acuerdo con la presente invención, el polímero para microencapsulación se disuelve en un disolvente o mezcla de disolventes libre de halógenos parcialmente miscible con agua para formar una solución orgánica de polímero. La solubilidad del disolvente o mezcla de disolventes orgánica en agua o en la fase acuosa de tensioactivo, con o sin tampones, tiene un valor entre 1,5% (p/p) y 40% (p/p). Cuando se usan disolventes con una solubilidad en agua mayor de 40% p/p, se usan mezclados con un volumen mayor de otro disolvente de menor solubilidad en agua de manera que la solubilidad de la mezcla de disolventes en agua disminuye a menos del 40% p/p. A continuación se prepara una fase de fármaco dependiendo del agente activo a encapsular y la morfología de micropartícula deseada como se describe en detalle a continuación.

Una vez preparada la fase de fármaco, se agrega una fase acuosa de tensioactivo al recipiente en el que está contenida la fase de fármaco como se detalla a continuación. El disolvente de polímero se selecciona en base a su miscibilidad en la fase acuosa de tensioactivo. De acuerdo con la presente invención, el de disolvente de polímero y las soluciones acuosas de tensioactivo se seleccionan en base a sus parámetros de solubilidad ( $\delta(\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2}$ ). De acuerdo con formas de realización de preferencia,  $\delta_{\text{disolvente de polímero}} - \delta_{\text{fase acuosa}} < 0$ , de preferencia  $\delta_{\text{disolvente de polímero}} - \delta_{\text{fase acuosa}}$  está dentro del intervalo de 0 a  $-15 (\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2}$ .

Además de los parámetros de solubilidad, las fracciones de volumen de cada una de las soluciones combinadas de acuerdo con el procedimiento de la presente invención se seleccionan para que se forme una suspensión de micropartículas casi inmediatamente tras combinar la fase de fármaco con la fase acuosa. Por consiguiente, la relación de volúmenes de fase de polímero:fase de tensioactivo está dentro del intervalo de 1:2 a 1:30, de preferencia de 1:2 a 1:20.

Inmediatamente se forma una suspensión de micropartículas, de preferencia en el transcurso de un minuto de mezclado. Se realiza más mezclado, de preferencia durante hasta aproximadamente 30 minutos, y de más preferencia aproximadamente 4-10 minutos. A continuación las micropartículas pueden retirarse de la suspensión por medio de técnicas bien conocidas. El sorprendentemente simple procedimiento para producir micropartículas da como resultado mejoras significativas sobre la técnica anterior, que incluyen el uso de menos disolventes tóxicos de polímero, el control sobre la morfología de las micropartículas y un procedimiento muy simplificado con un tiempo de producción espectacularmente reducido en comparación con los procedimientos de la técnica anterior. Además, la presente invención se presta fácilmente al aumento para una producción a gran escala.

Una primera forma de realización de la presente invención está dirigida al encapsulado sustancialmente homogéneo de agentes activos hidrófobos en microcápsulas. De acuerdo con esta forma de realización, el agente activo hidrófobo puede incluirse dentro de la pared polimérica de las microcápsulas o puede estar contenido dentro del núcleo de la microcápsula como una suspensión acuosa, dependiendo de la preparación de la fase de fármaco como se describe a continuación y como se observa, por ejemplo, en los Ejemplos 1-4.

Si la fase de fármaco preparada comprende una solución, el procedimiento producirá microcápsulas que comprenden el agente activo incluido en las paredes poliméricas de la microcápsula. Específicamente, se prepara la fase de fármaco disolviendo el agente activo hidrófobo y el polímero en un disolvente orgánico para formar una solución. A continuación se agrega una solución acuosa de tampón mezclando a la fase de fármaco. Posteriormente se agrega una solución acuosa de tampón, opcionalmente con otro tampón, a la fase de fármaco como se discutió anteriormente para inducir una transición de fases y formar inmediatamente una suspensión de microcápsulas.

Si la fase de fármaco se prepara como una suspensión, el procedimiento de la invención producirá microcápsulas que comprenden un núcleo que contiene una suspensión acuosa del agente activo hidrófobo. Específicamente, se prepara para la fase de fármaco agregando una suspensión acuosa del agente activo hidrófobo, con o sin tampón, a la solución de polímero. A continuación se agrega una fase acuosa de tensioactivo a la fase de fármaco como se discutió anteriormente para inducir una transición de fases. Esto último es el resultado de los tiempos de procesamiento relativamente rápidos de la presente invención y el uso de sólo la cantidad de disolvente de polímero necesaria para disolver el polímero tal que la adición de la fase acuosa de tensioactivo extrae el disolvente de polímero de la fase orgánica hacia la fase acuosa de tensioactivo induciendo de esta manera una transición de fases y la formación inmediata de una suspensión de microcápsulas.

Una forma de realización de preferencia de la presente invención está dirigida al encapsulado de agentes activos hidrófobos en una mezcla sustancialmente homogénea de microesferas, de preferencia al menos 80% en peso de microesferas. Las partículas restantes comprenden microcápsulas o microesponjas. Esta forma de realización de preferencia se describirá con referencia a la Figura 1. De acuerdo con esta forma de realización, se prepara la fase de fármaco disolviendo el agente activo en la solución orgánica de polímero para formar una solución polímero/fármaco 100. A continuación se agrega la solución polímero/fármaco 100 al recipiente 300. Posteriormente se agrega una fase acuosa de tensioactivo 200 al recipiente 300 que contiene la fase de fármaco como se discutió anteriormente con la finalidad de producir la suspensión de micropartículas.

De acuerdo con esta forma de realización dirigida al encapsulado de agentes activos hidrófobos que son solubles en la solución orgánica de polímero, puede efectuarse el control sobre la morfología de las partículas controlando la velocidad de agregado de la fase acuosa de tensioactivo a la fase de fármaco o mediante la selección del disolvente orgánico adecuado. La adición rápida (inmediata) de la fase de tensioactivo a la fase de fármaco da como resultado la producción de una suspensión que comprende sustancialmente todas microesferas, mientras que la adición gradual (durante un período de tiempo que exceda de preferencia un minuto) da como resultado la producción de una mezcla de microcápsulas, microesferas y microesponjas. Como alternativa, la selección de disolventes orgánicos más hidrófobos da como resultado la producción de sustancialmente todas microesferas, mientras que la selección de disolventes más hidrófilos da como resultado la producción de una mezcla de microcápsulas y microesferas que comprende hasta aproximadamente 70-80% p/p de microesferas y 30-20% p/p de microcápsulas o microesponjas.

En otra forma de realización, se suspenden los agentes activos hidrófobos que no son solubles en la solución orgánica de polímero en la misma para formar la fase de fármaco. A continuación se agrega la fase acuosa de tensioactivo a la fase de fármaco como se discutió anteriormente, lo que da como resultado la producción de una suspensión de microesferas de morfología sustancialmente uniforme.

Para formar la suspensión de micropartículas, se agrega un volumen definido de una solución acuosa o solución tampón que contiene un tensioactivo o mezcla de tensioactivos como fase continua a la fase de fármaco producida por homogeneización durante la agitación, de manera que se produce una fase de transición de la fase orgánica a la fase acuosa con formación inmediata de una suspensión de micropartículas. En una forma de realización de preferencia, el volumen necesario de fase acuosa continua de tensioactivo se calcula asumiendo que las micropartículas de polímero en la fase acuosa continua de tensioactivo ocupan las cavidades en un arreglo "cúbico centrado en el cuerpo" o "cúbico centrado en las caras" o "paquete hexagonal cerrado". De acuerdo con esta forma de realización de preferencia, la fracción de volumen de la fase acuosa de tensioactivo es mayor que aproximadamente 60%, de preferencia entre 65 y 80%, y de mayor preferencia entre 68% y 74%.

La adición de la fase acuosa de tensioactivo a la fase de fármaco da como resultado la formación casi inmediata de una suspensión de micropartículas. Como resultado, el procedimiento de la presente invención proporciona mejor control sobre las distribuciones de tamaño de partícula y produce micropartículas de diámetros medios menores y una morfología más uniforme y eficacia de encapsulado aumentada. Además, la suspensión de micropartículas se forma dentro de minutos tras añadir la fase acuosa de tensioactivo a la fase de fármaco, de preferencia dentro de un minuto en comparación con los procedimientos de la técnica anterior que necesitan tiempos de producción de hasta varias horas. Una vez formada la suspensión de micropartículas, se elimina el disolvente o mezcla de disolventes mediante los procedimientos usuales, de preferencia en vacío y/o una corriente de aire/nitrógeno, o también por filtración o extracción. Tras eliminar el disolvente, se somete a las partículas además a filtración por flujo cruzado "cross-flow" si se desea; como resultado, se las libera suavemente de restos de tensioactivo y restos de disolvente así como de cualquier sustancia activa no encapsulada o, según el caso, cualquier sustancia activa adherida a la superficie.

Las micropartículas se concentran tras lavar con agua (por centrifugación o filtración) y opcionalmente se liofilizan o se secan por pulverización como se describió en las patentes a las que se hizo referencia anteriormente, o se secan en un lecho fluido como se describe por ejemplo en la Patente de EEUU N° 6.080.429.

## ES 2 286 157 T3

De acuerdo con una forma de realización de preferencia, se agrega un modificador de viscosidad a la fase acuosa de tensioactivo. Se ha descubierto sorprendentemente que el reemplazo de una porción del agua de la fase acuosa de tensioactivo con un agente modificador de viscosidad tal como glicerol da como resultado diámetros medios de micropartícula menores y distribuciones de tamaños de micropartícula menores, así como también aumentos en la carga de fármaco y eficacia de encapsulado.

La viscosidad de la fase acuosa de tensioactivo puede variarse en varios órdenes de magnitud por medio de sucesivos reemplazos de agua por glicerina. De acuerdo con esta forma de realización, se proporciona la fase acuosa de tensioactivo con aproximadamente 1-80% en peso, de preferencia 5-50% en peso, de un modificador de viscosidad tal como glicerol. Otros modificadores de viscosidad incluyen polietilenglicol, ácido hialurónico, polímeros de celulosa y derivados de los mismos, quitosán, polímeros bioadhesivos, y otros agentes conocidos en la técnica tales como aquellos descritos en las Patentes de EEUU N° 4.652.441, 4.711.282, 4.917.893 y 5.061.492, incorporadas en este documento en su totalidad por referencia.

De acuerdo con otra forma de realización de preferencia, se agrega un codisolvente a la fase acuosa de tensioactivo. El codisolvente es miscible con agua y está caracterizado además por ser un disolvente para el disolvente de polímero aunque no es un disolvente para el polímero. De acuerdo con esta forma de realización, la fase acuosa de tensioactivo es capaz de extraer más disolvente de polímero de la solución orgánica de polímero en comparación con un volumen equivalente de fase acuosa de tensioactivo en ausencia de cualquier codisolvente. Esto disminuye la fracción de volumen de fase acuosa de tensioactivo necesaria para formar la suspensión de micropartículas, disminuyendo así la cantidad de tensioactivo a eliminar de la suspensión de micropartículas. La cantidad de codisolvente a añadir a la fase acuosa de tensioactivo depende en primer lugar del polímero y del disolvente de polímero seleccionados. Típicamente, se agrega aproximadamente 1-40% en peso de codisolvente a la fase acuosa de tensioactivo de acuerdo con esta forma de realización. Los codisolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a, alcoholes tales como etanol, metanol, éteres y polietilenglicol.

Puede proporcionarse a la fase acuosa de tensioactivo un tampón con el objetivo de mantener el pH de la fase acuosa de tensioactivo en un intervalo en el que el agente activo no es soluble. Tal selección de tampones actúa manteniendo el agente activo en la fase de fármaco y evita la migración del agente activo hacia el medio de extracción de la fase acuosa de tensioactivo, aumentando de esta manera la eficacia de encapsulado del agente activo dentro de las microcápsulas. Debe entenderse que tal uso de tampones puede también usarse para aumentar las eficacias de encapsulado de acuerdo con cualquier otra forma de realización expuesta anteriormente.

De acuerdo con la presente invención, puede ajustarse el tamaño de partícula deseado a través de la velocidad de agitación y el tiempo de agitación y también a través de la concentración del tensioactivo. Las microesferas de la presente invención pueden prepararse de cualquier tamaño deseado, que varía desde aproximadamente 0,1  $\mu\text{m}$  hasta más de aproximadamente 1000  $\mu\text{m}$  de diámetro, variando los parámetros del procedimiento tales como velocidad de agitación, volumen de disolvente usado en la etapa de transición de fase, temperatura, concentración de polímero(s) y viscosidad inherente del(los) polímero(s). Tales criterios de selección pueden ser determinados fácilmente por un experto en la técnica.

La presente invención puede practicarse para encapsular una amplia variedad de agentes activos hidrófobos. Los ejemplos de agentes adecuados para uso en esta invención incluyen, pero no se limitan a, calcitonina, eritropoyetina (EPO), Factor VIII, Factor IX, ceredasa, cerezima, ciclosporina, factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF), inhibidor de proteinasa  $\alpha$ -1, elcatonina, factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), hormonas del crecimiento incluyendo hormona de crecimiento humana (HGH) y hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH), heparina, heparina de bajo peso molecular (LMWH), interferones incluyendo interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, interleucina-2, hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) y análogos de LHRH incluyendo goserelina, insulina, somatostatina, análogos de somatostatina incluyendo octreotida, vasopresina y sus análogos, hormona estimulante del folículo (FSH), factor de crecimiento similar a insulina, insulintropina, antagonista del receptor de interleucina-1, interleucina-3, interleucina-4, interleucina-6, factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor de crecimiento neural, hormona paratiroidea (PTH), timosina alfa 1, inhibidor IIb/IIIa, alfa-1 antitripsina, VLA-4, anticuerpo contra virus respiratorio sincitial, gen regulador de membrana de fibrosis quística (CFTR), desoxirribonucleasa (Dnasa), proteína bactericida/incrementadora de permeabilidad (BPI), anticuerpo anti-CMV, receptor de interleucina-1, vacunas, ácido 13-cis retinoico, isetioato de pentamidina, sulfato de albuterol, sulfato de metaproterenol, dipropionato de beclometasona, triamcinolona acetamida, budesonida acetónido, fluticasona, bromuro de ipratropio, flunisolida, cromolina sódica, tartrato de ergotamina y los análogos, agonistas y antagonistas de los anteriores.

La cantidad de agente activo a encapsular depende del tipo de sustancia, duración, tiempo y efecto deseado. Las cargas de fármacos de acuerdo con esta invención varían hasta aproximadamente 40% en peso (grado de carga = peso del principio activo X 100/peso del principio activo + peso del polímero).

Los polímeros adecuados para la práctica de la presente invención se conocen a través de la bibliografía e incluyen, por ejemplo, poliamidas, polianhídridos, poliésteres, poliortoésteres, poliacetatos, polilactonas y poliortocarbonatos. Un polímero biodegradable de preferencia de acuerdo con la invención comprende un poliéster de ácidos  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -hidroxicarboxílicos, o copolímeros de bloque de poliésteres de ácidos  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -hidroxicarboxílicos y poli(etilengli-

## ES 2 286 157 T3

coles) lineales o de forma de estrella. Los polímeros de polilactida-co-glicólido representan una clase de polímeros particularmente de preferencia de acuerdo con la invención.

5 Típicamente, una solución de polímero adecuada contiene aproximadamente entre 1% (p/p) y aproximadamente 50% (p/p) de un polímero biocompatible, en la que el polímero biocompatible se disuelve típicamente en un disolvente de polímero adecuado. De preferencia, una solución de polímero contiene aproximadamente 5% (p/p) hasta aproximadamente 30% (p/p) de polímero. La tasa de degradación para las micropartículas de la invención está determinada en parte por el peso molecular del polímero. Pueden mezclarse polímeros de diferentes pesos moleculares (o viscosidades inherentes) para dar un perfil de degradación deseado. De acuerdo con una forma de realización de preferencia, la tasa de degradación se controla por la proporción de lactida con respecto a glicólido en el polímero.

15 Los ejemplos de polímeros biodegradables para uso en el procedimiento de la presente invención son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, poliglicólidos (PGA) y copolímeros de glicólidos tales como copolímeros de glicólido/lactida (PGA/PLLA) o copolímeros de glicólido/carbonato de trimetileno (PGA/TMC); L-polilactidas (PLA) y estéreo copolímeros de polilactidas tales como copolímeros de poli(L-lactida) (PLLA), poli(DL-lactida) y copolímeros de L-lactida/DL-lactida; copolímeros de PLA tales como copolímeros de lactida/tetrametilglicólido, copolímero de lactida/ $\delta$ -valerolactona y copolímero de lactida/ $\epsilon$ -caprolactona; copolímeros de poli( $\beta$ -hidroxibutirato) (PHBA), PBBA/ $\beta$ -hidroxivalerato (PHBA/HVA), poli( $\beta$ -hidroxipropionato) (PHPA), poli(p-dioxanona) (PDS), poli( $\delta$ -valerolactona), poli( $\epsilon$ -caprolactona), poli(poliaminoácidos), polisacáridos transformados en hidrófobos, o ácido hialurónico transformado en hidrófobo, o dextranos transformados en hidrófobos, o amilopectina o ácido hialurónico transformados en hidrófobos de una manera autoorganizada.

20 Los copolímeros de bloque AB que comprenden PLA y PEG, los copolímeros de tribloque ABA que comprenden PLA-PEG-PLA, los copolímeros de bloque S(3)-PEG-y los copolímeros de bloque S(4)-PEG-PLA son adecuados para uso en el procedimiento de acuerdo con la invención como copolímeros de bloque poliésteres de ácidos hidrocarbóxicos y poli(etilenglicoles) (PEG) lineales o de forma de estrella.

30 Los polímeros adecuados disponibles comercialmente para uso de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, Resomer<sup>®</sup> (Boehringer-Ingelheim) L-104, L-206, L-207, L-208, L-209, L-210, L-214, R-104, R-202, R-203, R-206, R-207, R-208, G-110, G-205, LR-909, RG-502, RG-502H, RG-503, RG-503H, RG-504, RG-504H, RG-505, RG-505H, RG-506, RG-508, RG-752, RG-755, RG-756 y Resomer<sup>®</sup> RG-858.

35 Los disolventes o mezclas de disolventes de preferencia de acuerdo con la invención incluyen acetona, etanol, acetatos de alquilo, tales como acetato de metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo o butilo, formiatos de alquilo, como formiato de metilo, etilo, propilo, isopropilo o de isobutilo, triacetina, citrato de trietilo y/o lactatos de alquilo C1-C4, por ejemplo, lactatos de metilo o etilo, metil etil cetona, metil isobutil cetona, tetrahidrofurano, sulfóxido de dimetilo, 1-metil-2-pirrolidona y 3-metil-1-butanol, acetonitrilo, THF, DMSO, PEG 100, PEG 200, PEG 300, PEG 400, N-metil pirrolidona, glicofurrol, dietilcarbonato, citrato de trietilo y 2-metil-1-propanol.

40 Los tensioactivos de preferencia incluyen tensioactivos catiónicos, aniónicos y noiónicos que incluyen, pero no se limitan a Poloxamere<sup>®</sup> Poloxamine<sup>®</sup>, alquiléteres de polietilenglicol, polisorbatos (Tween<sup>®</sup>, Span<sup>®</sup>), ésteres de sacarosa (Sisterna<sup>®</sup>, Holanda), ésteres de sacarosa (Ryoto Sugar Ester, Tokyo), gelatinas, polivinilpirrolidona, poliglucósidos de alcoholes grasos, Charps, Charpso, decil- $\beta$ -D-glucopiranosido, decil- $\beta$ -D-maltopiranosido, dodecil- $\beta$ -D-maltopiranosido, oleato de sodio, polietilenglicol, alcohol polivinílico, ésteres de ácidos grasos polietoxilados (Brij<sup>®</sup>), Triton X 100 o sus mezclas. Las cantidades eficaces para proporcionar una formulación acuosa estable se usarán, usualmente en el intervalo desde aproximadamente 0,1% (p/v) hasta aproximadamente 30% (p/v).

50 La eficacia de encapsulado del procedimiento es de al menos 85%, de preferencia se alcanzan eficacias de encapsulado de entre 90 y 95%. Se entiende que la eficacia de encapsulado significa el peso del ingrediente activo encapsulado X 100/peso del ingrediente activo usado. Además, la presente invención proporciona morfologías altamente uniformes de manera tal que las micropartículas comprenden al menos 85% en peso, de preferencia al menos 90% en peso, y de mayor preferencia más del 95% en peso de una morfología única uniforme (es decir al menos 95% de microesferas).

55 Las formulaciones de la presente invención pueden contener un conservante, múltiples excipientes, tales como polietilenglicol (PEG) además de polioles tales como trehalosa o manitol. Los ejemplos de conservantes adecuados para la formulación incluyen fenol, alcohol bencílico, metacresol, metilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio y cloruro de bencetonio. Los conservantes de preferencia incluyen aproximadamente 0,2 a 0,4% (p/v) de fenol y aproximadamente 0,7 a 1% (p/v) de alcohol bencílico, aunque el tipo de conservante y el intervalo de concentración no son críticos.

65 En general, la fase de fármaco, la solución orgánica de polímero y/o la fase de tensioactivo de la presente invención puede contener otros componentes en cantidades sin importancia para la preparación de formas estables y en cantidades adecuadas para la administración farmacéutica eficaz y segura. Por ejemplo, otros excipientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica pueden formar parte de las composiciones de esta invención. Estos incluyen, por ejemplo, sales, diversos agentes de carga, agentes tamponadores adicionales, agentes quelantes, antioxidantes, codisolventes y similares; los ejemplos específicos de éstos incluyen sales de tris-(hidroximetil)amino metano ("tampón Tris"), y edetato disódico. Para la liofilización se agregan opcionalmente crioprotectores tales como

## ES 2 286 157 T3

azúcares, alcoholes de azúcares o inhibidores de cristalización, tales como aquellos descritos en la Patente de EEUU Nº 5.676.968, tal como polivinilpirrolidona de bajo peso molecular y derivados.

De acuerdo con un uso de preferencia de las micropartículas para aplicación farmacéutica, se colocan las microesferas en formulaciones isotónicas, estériles, farmacéuticamente aceptables junto con cualquier cofactor necesario, y se administran opcionalmente a través de medios convencionales bien conocidos en el campo. Las formulaciones de microesferas se almacenan típicamente como un polvo seco. Debe entenderse que las micropartículas de la presente invención podrían encontrar uso en otras aplicaciones tales como químicos industriales, herbicidas, fertilizantes y colorantes.

La invención se explica además en los ejemplos prácticos a continuación.

### Ejemplo 1

#### *Principios activos lipófilos*

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer® RG-756 en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se dispersan 5 ml de una solución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano (50 mmol, pH 7,4) que contiene 20 mg de Budesonida en la solución de polímero durante 4 minutos a 9.000 rpm a temperatura ambiente por medio de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Posteriormente se agregan 50 ml de una solución de tampón citrato (50 mmol y pH 6,0) que contiene 4% de Pluronic F-68 como una fase continua durante la agitación a 9.000 rpm. Tras un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Posteriormente se elimina el disolvente formiato de etilo a 20°C mediante la aplicación de vacío, por medio de introducción de nitrógeno o aire o por medio de extracción con agua. Tras 5 horas, se lava la suspensión con 5 l de agua o una solución acuosa y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración.

La filtración por flujo cruzado se produce con un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (punto de corte 0,2 µm). Se congela la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante lo más rápido posible con nitrógeno líquido y hielo seco.

El liofilizado, resuspendido con agua o con una solución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido de principio activo de 2,2%. Las microcápsulas tienen un diámetro de entre 0,2 y 20 µm con el agente activo budesonida suspendido en el núcleo de la microcápsula. La eficacia del encapsulado es de 85%.

### Ejemplo 2

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer® RG-756 junto con 20 mg de Budesonida en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Se agregan 5 ml de una solución de Tris(hidroximetil)aminometano (50 mmol, pH 7,4) a la solución y se dispersa en la solución de polímero durante 4 minutos a 9.000 rpm por medio de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Se agregan 50 ml de una solución de tampón citrato (50 mmol y pH 6,0) que contiene Pluronic F-68 a la dispersión formada durante la agitación (9.000 rpm). Tras un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se procesa además como en el Ejemplo 1.

El liofilizado, resuspendido con agua o con una solución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido de principio activo de 2,2%. Las microcápsulas tienen un diámetro de entre 0,2 y 20 µm con el agente activo budesonida incluido en la pared polimérica de la microcápsula. La eficacia del encapsulado es de 85%.

### Ejemplo 3

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer® RG-756 en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se dispersan 5 ml de una solución acuosa de 20 mg de Taxol y solución de Tris(hidroximetil)aminometano (50 mmol, pH 7,4) en la solución de polímero durante 4 minutos a 9.000 rpm a temperatura ambiente por medio de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Posteriormente se agregan 50 ml de una solución de tampón citrato (50 mmol y pH 6,0) que contiene 4% de Pluronic F-68 a la dispersión formada durante la agitación (9.000 rpm). Tras un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Posteriormente se elimina el disolvente formiato de etilo a 20°C mediante la aplicación de vacío, por medio de introducción de nitrógeno o aire o por medio de extracción con agua. Tras 5 horas, se lava la suspensión con 5 l de agua o una solución acuosa y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración.

## ES 2 286 157 T3

La filtración por flujo cruzado se realiza con un sistema Sartocon mini<sup>®</sup> (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (punto de corte 0,2  $\mu\text{m}$ ). Se congela la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante lo más rápido posible con nitrógeno líquido y hielo seco.

- 5 El liofilizado, resuspendido con agua o con una solución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido de principio activo de 2,2%. Las microcápsulas tienen un diámetro de entre 0,2 y 20  $\mu\text{m}$  con el agente activo taxol suspendido en el núcleo de la microcápsula. La eficacia del encapsulado es de 85%.

### Ejemplo 4

10

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer<sup>®</sup> RG-756 junto con 20 mg de Taxol en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Se dispersan posteriormente 5 ml de una solución de Tris(hidroximetil)aminometano (50 mmol, pH 7,4) en la solución de polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente por medio de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

15

Posteriormente se agregan 50 ml de una solución de tampón citrato (50 mmol y pH 6,0) que contiene 4% de Pluronic F-68 a la dispersión formada a una agitación de 10.000 rpm. Tras un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se procesa además como en el Ejemplo 3.

20

El liofilizado, resuspendido con agua o con una solución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido de principio activo de 2,2%. Las microcápsulas tienen un diámetro de entre 0,2 y 20  $\mu\text{m}$  con el agente activo taxol incluido en la pared polimérica de la microcápsula. La eficacia del encapsulado es de 85%.

25

### Ejemplo 5

(Ejemplo de Referencia)

30

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer<sup>®</sup> RG-756 en 15 ml de acetato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón citrato (pH 6,0 y 50 mmol) que contiene 2 g de Pluronic F68 como una fase continua durante la agitación (6.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

35

Posteriormente se elimina el disolvente acetato de etilo a temperatura ambiente por medio de la aplicación de vacío o por extracción con un litro de agua. Tras 2 horas, la suspensión se lava con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración. La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartocon mini<sup>®</sup> (Sartorius AG, Göttingen).

40

Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un diámetro de entre 1 y 20  $\mu\text{m}$ .

45

### Ejemplo 6

50 (Ejemplo de Referencia)

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer<sup>®</sup> RG-756 en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón citrato (pH 6,0 y 50 mmol) que contiene 2 g de Pluronic F68 como una fase continua durante la agitación (6.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. El procesamiento posterior de la suspensión de micropartículas se produce como se describe en el Ejemplo 5. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un diámetro de entre 1 y 30  $\mu\text{m}$ .

55

60

### Ejemplo 7

(Ejemplo de Referencia)

65

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer<sup>®</sup> RG-756 en 15 ml de acetato de metilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón citrato (pH 6,0 y 50 mmol) que contiene 2 g de Tween-20 como una fase continua durante la agitación (6.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2

## ES 2 286 157 T3

cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. El procesamiento posterior de la suspensión de micropartículas se produce como se describe en el Ejemplo 5. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un diámetro de entre 0,2 y 15  $\mu\text{m}$ .

### 5 Ejemplo 8

(Ejemplo de Referencia)

10 Polímero: RG-858, cantidad usada: se disuelven 750 mg del polímero en 15 ml del disolvente que se muestra en la Tabla 1.

15 Solución tensioactiva: volumen: 50 ml, se disuelven 2 g de tensioactivo que se muestra en la Tabla 8 en 50 ml de tampón citrato de pH 6,0, 50 mmol.

15 Las microesferas de los componentes que se muestran en este ejemplo se produjeron de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 5. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un diámetro de entre 1 y 30  $\mu\text{m}$ .

20 TABLA 1

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
25 Acetato de metilo							
Acetato de etilo							
30 Acetato de isopropilo							
Formiato de etilo							
Formiato de propilo							
35 Formiato de isopropilo							
Etil metil cetona							

### 40 Ejemplo 9

45 (Ejemplo de Referencia)

Polímero: RG 756, cantidad usada: se disuelven 750 mg del polímero en 15 ml del disolvente que se muestra en la Tabla 2.

50 Solución tensioactiva: volumen: 50 ml, se disuelven 2 g de tensioactivo que se muestra en la Tabla 9 en 50 ml de tampón PBS de pH 7,4, 50 mmol.

55 Las microesferas de los componentes que se muestran en este ejemplo se produjeron de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 5. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un diámetro de entre 1 y 20  $\mu\text{m}$ .

60

65

## ES 2 286 157 T3

TABLA 2

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
Acetato de metilo							
Acetato de etilo							
Acetato de isopropilo							
Formiato de etilo							
Formiato de propilo							
Formiato de isopropilo							

### Ejemplo 10

(Ejemplo de Referencia)

Polímero: RG 502H, cantidad usada: se disuelven 750 mg del polímero en 15 ml del disolvente que se muestra en la Tabla 3.

Solución tensioactiva: volumen: 50 ml, se disuelven 2 g del tensioactivo que se muestra en la Tabla 3 en 50 ml de tampón Tris, pH 7,4, 50 mmol.

Las microesferas de los componentes que se muestran en este ejemplo se produjeron de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 5. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un diámetro de entre 0,2 y 8  $\mu\text{m}$ .

TABLA 3

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
Acetato de metilo							
Acetato de etilo							
Formiato de etilo							

### Ejemplo 11

(Ejemplo de Referencia)

Polímero: R-202, cantidad usada: se disuelven 750 mg del polímero en 15 ml del disolvente que se muestra en la Tabla 4.

Solución tensioactiva: volumen: 50 ml, se disuelven 2 g del tensioactivo que se muestra en la Tabla 4 en 50 ml de tampón citrato, pH 6,6, 50 mmol.

Las microesferas de los componentes que se muestran en este ejemplo se produjeron de acuerdo al procedimiento descrito en el Ejemplo 5. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un diámetro de entre 0,2 y 10  $\mu\text{m}$ .

# ES 2 286 157 T3

TABLA 4

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
5	Acetato de metilo						
	Acetato de etilo						
10	Acetato de isopropilo						
	Formiato de metilo						
	Formiato de etilo						
15	Formiato de propilo						
	Formiato de isopropilo						
20	Etil metil cetona						

## Ejemplo 12

25 Se disuelven 750 mg de polímero Resomer® RG-503 y 40 mg de Budesonida en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón citrato (pH 6,0 y 50 mmol) que contiene 2 g de Pluronic F68 como una fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

35 Posteriormente se elimina el disolvente acetato de etilo a temperatura ambiente por medio de la aplicación de vacío o por extracción con un litro de agua. Tras 2 horas, la suspensión se lava con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración. La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartocoon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

40 Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Budesonida de 4% (peso de Budesonida X 100/(peso de Budesonida + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 0,2 y 10 µm.

## Ejemplo 13

45 Se disuelven 750 mg de polímero Resomer® RG-503 y 30 mg de Budesonida en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón citrato (pH 6,0 y 50 mmol) que contiene 2 g de Pluronic F127 como una fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

55 El procesamiento posterior se realiza como se describió en el Ejemplo 12.

El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Budesonida de 3% (peso de Budesonida X 100/(peso de Budesonida + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 0,2 y 10 µm.

## Ejemplo 14

65 Se disuelven 750 mg de polímero Resomer® RG-858 y 50 mg de Budesonida en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón citrato (pH 6,0 y 50 mmol) que contiene 2 g de Pluronic F68 como una fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras aproximadamente 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

## ES 2 286 157 T3

El procesamiento posterior se realiza como se describió en el Ejemplo 12.

El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Budesonida de 6% (peso de Budesonida X 100/(peso de Budesonida + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 15  $\mu\text{m}$ .

### Ejemplo 15

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer<sup>®</sup> RG-756 y 50 mg de Budesonida en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón Tris (pH 7,4 y 50 mmol) que contiene 2 g de Pluronic F68 como una fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

El procesamiento posterior se realiza como se describió en el Ejemplo 12.

El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Budesonida de 6% (peso de Budesonida X 100/(peso de Budesonida + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 0,2 y 10  $\mu\text{m}$ .

### Ejemplo 16

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer<sup>®</sup> RG-503 y 40 mg de Taxol en 15 ml de acetato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón fosfato (pH 7,4 y 50 mmol) que contiene 2 g de Tween-80 como una fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras aproximadamente 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

El procesamiento posterior se realiza como se describió en el Ejemplo 12.

El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 4% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 20  $\mu\text{m}$ .

### Ejemplo 17

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer<sup>®</sup> RG-756 y 40 mg de Taxol en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón citrato (pH 6,0 y 50 mmol) que contiene 2 g de Pluronic F68 como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras aproximadamente 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

El procesamiento posterior se realiza como se describió en el Ejemplo 12.

El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 4,3% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 20  $\mu\text{m}$ .

### Ejemplo 18

Se disuelven 750 mg de polímero Resomer<sup>®</sup> RG-858 y 40 mg de Taxol en 15 ml de formiato de etilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 50 ml de una solución acuosa de tampón citrato (pH 6,0 y 50 mmol) que contiene 2 g de Pluronic F68 como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

El procesamiento posterior se realiza como se describió en el Ejemplo 12.

El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 4% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 20  $\mu\text{m}$ .

## ES 2 286 157 T3

### Ejemplo 19

Se disuelven 4 g de polímero Resomer® RG-502 y 50 mg de Taxol en 16 ml de formiato de etilo y 4 ml de formiato de propilo y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno).  
5 Posteriormente se agregan 100 ml de agua que contiene 4 g de Pluronic F-127 como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 1 l y se agita con un agitador magnético.

10 Se elimina el disolvente a temperatura ambiente mediante la aplicación de vacío o mediante extracción con un litro de agua. Tras dos horas, se lava la suspensión con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado.

15 La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

20 Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 1,00% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 30 µm.

### Ejemplo 20

25 Se disuelven 2 g de polímero Resomer® RG-756 y 25 mg de Taxol en 20 ml de terc-butilformiato y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 100 ml de agua que contiene 4 g de Pluronic F-127 como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 1 l y se agita con un agitador magnético.  
30

35 Se elimina el disolvente a temperatura ambiente mediante la aplicación de vacío o mediante extracción con un litro de agua. Tras dos horas, se lava la suspensión con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado.

La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

40 Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 0,97% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 30 µm.

### 45 Ejemplo 21

Se disuelven 2 g de polímero Resomer® RG-756 y 25 mg de Taxol en 20 ml de isopropilformiato y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 100 ml de agua que contiene 4 g de Pluronic F-127 como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 1 l y se agita con un agitador magnético.  
50

55 Se elimina el disolvente a temperatura ambiente mediante la aplicación de vacío o mediante extracción con un litro de agua. Tras dos horas, se lava la suspensión con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado.

60 La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 0,96% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 30 µm.  
65

## ES 2 286 157 T3

### Ejemplo 22

Se disuelven 2 g de polímero Resomer® RG-756 y 25 mg de Taxol en 20 ml de isopropilacetato y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 100 ml de agua que contiene 4 g de Pluronic F-127 como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 1 l y se agita con un agitador magnético.

Se elimina el disolvente a temperatura ambiente mediante la aplicación de vacío o mediante extracción con un litro de agua. Tras dos horas, se lava la suspensión con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado.

La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 0,93% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 30 µm.

### Ejemplo 23

Se disuelven 0,75 g de polímero Resomer® RG-756 y 50 mg de Taxol en 15 ml de metilformiato y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 150 ml de agua que contiene 12 g de Gelatina B como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 1 l y se agita con un agitador magnético.

Se elimina el disolvente a temperatura ambiente mediante la aplicación de vacío o mediante extracción con un litro de agua. Tras dos horas, se lava la suspensión con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado.

La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 5,30% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 30 µm.

### Ejemplo 24

Se disuelven 0,75 g de polímero Resomer® RG-756 y 50 mg de Taxol en 15 ml de isopropilformiato y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se agregan 150 ml de agua que contiene 12 g de Gelatina B como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 1 l y se agita con un agitador magnético.

Se elimina el disolvente a temperatura ambiente mediante la aplicación de vacío o mediante extracción con un litro de agua. Tras dos horas, se lava la suspensión con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado.

La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microesferas con un contenido de Taxol de 5,34% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 30 µm.

### Ejemplo 25

Se disuelven 0,75 g de polímero Resomer® RG-756 y 50 mg de Taxol en 15 ml de isopropilformiato y se transfiere a un recipiente de acero de doble pared (11,0 cm de altura interna, 4,0 cm de diámetro interno). Posteriormente se

## ES 2 286 157 T3

agregan 150 ml de agua que contiene 6 g de Gelatina B como fase continua durante la agitación (8.000 rpm) con un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm). Tras 5 minutos de agitación, la suspensión de micropartículas se transfiere a un matraz de dos bocas de 1 l y se agita con un agitador magnético.

5 Se elimina el disolvente a temperatura ambiente mediante la aplicación de vacío o mediante extracción con un litro de agua. Tras dos horas, se lava la suspensión con 6 l de agua o una solución acuosa y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado.

10 La purificación y concentración puede llevarse a cabo en condiciones más suaves con filtración por flujo cruzado mediante un sistema Sartoccon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

15 Se mezcla la suspensión libre de disolvente y prácticamente libre de emulsionante con un crioprotector (por ejemplo, con un azúcar, alcohol de azúcar o un derivado de una polivinilpirrolidona), congelados lo más rápido posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y hielo seco. El liofilizado, resuspendido con agua o una solución acuosa, contiene microsferas con un contenido de Taxol de 4,92% (peso de Taxol X 100/(peso de Taxol + peso de polímero) = grado de carga) y tienen un diámetro de entre 1 y 30  $\mu\text{m}$ .

Ejemplo 26

### 20 *Liberación de Taxol in vitro*

25 Las micropartículas de taxol de los Ejemplos 19-22 se evaluaron en pruebas de liberación *in vitro*. Se pesaron 9,8-10,2 mg de microsferas liofilizadas en viales de liofilización de 25 ml. Se probaron dos viales para cada tiempo a analizar y se preparó el número de viales adecuados para realizar un estudio de liberación *in vitro* de hasta 6 semanas. Se añadieron 5 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) 10 mM, con pH 7,4 que contenía azida sódica al 0,1% y Tween 20 al 0,01% y se colocaron los viales en un agitador orbital a 130 rpm y 37°C.

30 En intervalos predeterminados de tiempo se retiraron 2 viales por cada tiempo a analizar. Se separaron las micropartículas del medio de liberación por centrifugación, se lavaron dos veces con agua bidestilada y se centrifugó nuevamente. Se liofilizó el sedimento húmedo durante la noche. Se pesó con precisión el remanente seco en viales de liofilización y se disolvió en DMSO. Se filtró esta solución a través de filtros de 0,22  $\mu\text{m}$  previo al análisis y a continuación se ensayó el contenido de taxol usando un procedimiento de HPLC.

35 La liberación *in vitro* está representada en la Fig. 2.

40

45

50

55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la producción de micropartículas poliméricas que comprende disolver un polímero en un disolvente libre de halógenos que es al menos parcialmente miscible con agua para formar una solución de polímero, añadir un agente activo no soluble en agua a la solución de polímero para formar una fase de fármaco contenida en un recipiente; añadir una cantidad predeterminada de una fase acuosa de tensioactivo al recipiente que contiene la fase de fármaco mezclando, siendo dicha cantidad predeterminada suficiente para (i) dar como resultado una fracción de volumen de la fase de tensioactivo de al menos 60%, y (ii) convertir la fase de tensioactivo en fase continua y medio de extracción con el fin de extraer una cantidad de dicho disolvente de dicha fase de fármaco de manera que se produzca una suspensión de micropartículas tras la adición de la fase de tensioactivo a la fase de fármaco sin necesidad de eliminar el disolvente del recipiente.

2. Un procedimiento para la producción de micropartículas poliméricas que comprende disolver un polímero en un disolvente libre de halógenos que es al menos parcialmente miscible con agua para formar una solución de polímero; añadir un agente activo, en forma de suspensión acuosa, seleccionado de calcitonina, eritropoyetina (EPO), Factor VIII, Factor IX, ceredasa, cerezima, ciclosporina, factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF), inhibidor de proteinasa  $\alpha$ -1, elcatonina, factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), hormonas del crecimiento incluyendo hormona de crecimiento humana (HGH) y hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH), heparina, heparina de bajo peso molecular (LMWH), interferones incluyendo interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, interleucina-2, hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), goserelina, insulina, somatostatina, octreotida, vasopresina, hormona estimulante del folículo (FSH), factor de crecimiento similar a insulina, insulintropina, antagonista del receptor de interleucina-1, interleucina-3, interleucina-4, interleucina-6, factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor de crecimiento neural, hormona paratiroidea (PTH), timosina alfa 1, inhibidor IIb/IIIa, alfa-1 antitripsina, VLA-4, anticuerpo contra virus respiratorio sincitial, gen regulador transmembrana de fibrosis quística (CFTR), desoxirribonucleasa (Dnasa), proteína bactericida/incrementadora de permeabilidad (BPI), anticuerpo anti-CMV, receptor de interleucina-1, vacunas, ácido 13-cis retinoico, isetiuato de pentamidina, sulfato de albuterol, sulfato de metaproterenol, dipropionato de beclometasona, triamcinolona acetamida, budesonida acetónido, fluticasona, bromuro de ipratropio, flunisolida, cromolina sódica y tartrato de ergotamina a la solución de polímero para formar una fase de fármaco contenida en un recipiente; añadir una cantidad predeterminada de una fase acuosa de tensioactivo al recipiente que contiene la fase de fármaco mezclando, siendo dicha cantidad predeterminada suficiente para (i) dar como resultado una fracción de volumen de la fase de tensioactivo de al menos 60%, y (ii) convertir la fase de tensioactivo en fase continua y medio de extracción con el fin de extraer una cantidad de dicho disolvente de dicha fase de fármaco de manera que se produzca una suspensión de micropartículas tras la adición de la fase de tensioactivo a la fase de fármaco sin necesidad de eliminar el disolvente del recipiente.

3. Un procedimiento según la reivindicación 1 ó 2 que además comprende eliminar el disolvente.

4. Un procedimiento según la reivindicación 3 en el que el disolvente se elimina mediante lavado, filtración, vacío o evaporación.

5. Un procedimiento según la reivindicación 1 ó 2 en el que el disolvente tiene una solubilidad en agua de al menos 1,5 a 40% en peso en agua.

6. Un procedimiento según la reivindicación 5 en el que la solubilidad del disolvente es de al menos 5% en peso en agua.

7. Un procedimiento según la reivindicación 6 en el que la solubilidad del disolvente es de al menos 10% en peso en agua.

8. Un procedimiento según la reivindicación 1 ó 2 en el que la fracción de volumen de la fase de tensioactivo es de 65% a 75%.

9. Un procedimiento según la reivindicación 1 que además comprende añadir un codisolvente miscible con agua a la fase de tensioactivo en la que dicho disolvente de polímero es soluble en dicho codisolvente y dicho polímero no es soluble en dicho codisolvente.

10. Un procedimiento según la reivindicación 9 en el que dicho codisolvente se selecciona del grupo constituido por alcoholes, polietilenglicol y éteres.

11. Un procedimiento según la reivindicación 10 en el que el codisolvente se selecciona del grupo constituido por etanol, metanol, alcohol isopropílico y polietilenglicol.

12. Un procedimiento según la reivindicación 1 que además comprende añadir un tampón a la fase de tensioactivo.

13. Un procedimiento según la reivindicación 12 en el que el polímero no es soluble en la fase de tensioactivo.

14. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que las micropartículas comprenden microcápsulas.

## ES 2 286 157 T3

15. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que las micropartículas comprenden microesponjas.

16. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que las micropartículas comprenden microesferas.

5 17. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que la fase hidrófoba se disuelve en la solución de polímero para formar la fase de fármaco.

10 18. Un procedimiento según la reivindicación 17 que además comprende añadir una solución acuosa de tampón a la fase de fármaco.

19. Un procedimiento según la reivindicación 18 que además comprende añadir una fase acuosa de tensioactivo a la fase de fármaco lentamente durante un período de al menos 1 minuto.

15 20. Un procedimiento según la reivindicación 18 que además comprende añadir la fase acuosa de tensioactivo a la fase de fármaco inmediatamente.

21. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que se agrega una suspensión del fármaco hidrófobo a la solución de polímero.

20 22. Un procedimiento según la reivindicación 1 que además comprende añadir un modificador de viscosidad a la fase acuosa de tensioactivo.

23. Un procedimiento según la reivindicación 22 que comprende la adición de 5 a 50% en peso del modificador de viscosidad.

25 24. Un procedimiento según la reivindicación 23 en el que el modificador de viscosidad se selecciona del grupo constituido por glicerol o polietilenglicol.

30 25. Un procedimiento según la reivindicación 12 en el que la solución tamponada se selecciona del grupo constituido por una solución de tampón fosfato, una solución de tampón citrato y una solución de tris(hidroximetil)amino-metano.

35 26. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que el polímero se selecciona del grupo constituido por poliamidas, polianhídridos, poliésteres, poliortoésteres, poliacetatos, polilactonas y poliortocarbonatos.

27. Un procedimiento según la reivindicación 26 en el que el polímero se selecciona del grupo constituido por poliésteres de ácidos  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -hidroxicarboxílicos, o copolímeros de bloque de poliésteres de ácidos  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -hidroxicarboxílicos y poli(etilenglicoles) lineales o de forma de estrella.

40 28. Un procedimiento según la reivindicación 27 en el que el polímero comprende un polímero de poli lactida co-glicólido.

45 29. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que el disolvente parcialmente miscible con agua se selecciona del grupo constituido por acetona, etanol, acetatos de alquilo, formiatos de alquilo, triacetina, citrato de trietilo y lactatos de alquilo o mezclas de los mismos.

50 30. Un procedimiento según la reivindicación 29 en el que el disolvente se selecciona del grupo constituido por etanol, acetona, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo, acetato de butilo, formiato de metilo, formiato de etilo, formiato de propilo, formiato de isopropilo, formiato de butilo, triacetina, citrato de trietilo, lactato de metilo, lactato de etilo o mezclas de los mismos.

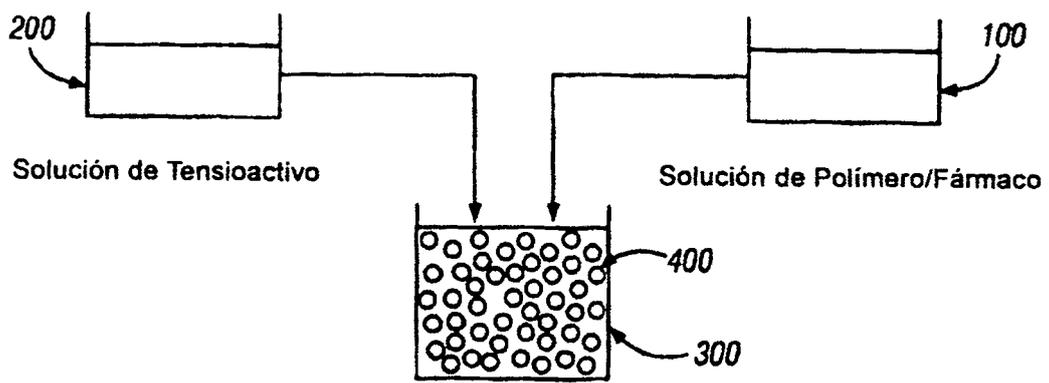
31. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que el tensioactivo es un tensioactivo no iónico.

55 32. Un procedimiento según la reivindicación 1 ó 2 en el que  $\delta_{\text{disolvente de polímero}} - \delta_{\text{fase acuosa}} [(\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2}]$  es menor que cero.

33. Un procedimiento según la reivindicación 32 en el que  $\delta_{\text{disolvente de polímero}} - \delta_{\text{fase acuosa}} [(\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2}]$  está dentro del intervalo de 0 a -15.

60 34. Un procedimiento según la reivindicación 1 ó 2 en el que la relación de volumen de la fase de polímero:fase de tensioactivo está dentro del intervalo de 1:2 a 1:30.

65



**FIG. 1**

