



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 356**

51 Int. Cl.:
A61K 9/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05701939 .0**

96 Fecha de presentación : **19.01.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1722761**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.11.2006**

54 Título: **Método para producir micropartículas.**

30 Prioridad: **21.01.2004 GB 0401291**
13.08.2004 GB 0418141

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.06.2011

73 Titular/es: **The School of Pharmacy**
University of London
29-39 Brunswick Square
London WC1N 1AX, GB

72 Inventor/es: **Basit, Abdul Waseh;**
Kendall, Richard Andrew y
Murdan, Sudax Shina

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 360 356 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).

DESCRIPCION

El presente invento se refiere a un método para producir micropartículas, en particular micropartículas de un fármaco encapsulado por un polímero que permite la liberación retardada y/o prolongada del fármaco en el tracto gastrointestinal.

5 El concepto de utilizar polímeros sensibles al pH para dirigir fármacos a regiones específicas del tracto gastrointestinal (GI) no es nuevo. Rutinariamente se administran fármacos gástricos irritantes o lábiles como sistemas entéricos de tabletas o glóbulos revestidos y, al elegir un polímero con un pH umbral de disolución adecuadamente elevado, se ha intentado focalizar la región del íleon terminal/colon para el tratamiento de enfermedades intestinales inflamatorias específicas de esta zona.

10 Sin embargo, estos métodos no carecen de limitaciones. El gran tamaño de estos sistemas da normalmente lugar a un vaciamiento gástrico retardado, especialmente cuando se administran después de una comida, lo que da lugar a un inicio retardado e impredecible de la acción farmacológica. El tiempo de tránsito GI de los sistemas monolíticos grandes está también sujeto a una mayor variación que el de los sistemas de múltiples partículas, y esto puede conducir a una variación en la biodisponibilidad.

15 Debido a su pequeño tamaño, se podría esperar que las micropartículas se suspendieran en el contenido gástrico y, por lo tanto, se descargarán rápidamente a través del píloro tanto en el estado posprandial como en el de ayunas. El tránsito a través del intestino delgado debería ser más reproducible, y el tránsito a través del colon debería ser más lento, lo que reduciría las posibilidades de que una forma de dosificación dirigida al colon se evacuara intacta. La gran superficie específica de un sistema de micropartículas debería también permitir una liberación más rápida del fármaco una vez que se alcanza el umbral de pH. Por lo tanto, se espera que la disolución del fármaco sea más rápida, una ventaja particular para la dirección del fármaco a la región colónica dado el limitado volumen de fluido en esta zona. En cuanto al potencial del colon como un sitio para distribución de proteínas y péptidos, la microencapsulación puede ser un método preferible para meter dichos fármacos en un sistema de distribución, lo que supondría un esfuerzo mecánico sobre estas moléculas lábiles mucho menor que en el caso de la preparación de glóbulos o tabletas.

25 Para formulaciones de liberación prolongada y retardada, en la industria farmacéutica se usa una gran variedad de polímeros para liberación modificada como revestimientos para tabletas, glóbulos y cápsulas. La etilcelulosa y el acetato de celulosa, dos derivados de celulosa, los copolímeros de metacrilato de amonio (por ejemplo, Eudragit RS y RL) y el poli(acetato de vinilo) son ejemplos de polímeros para liberación prolongada. Para liberación retardada, los polímeros son generalmente solubles por encima de un pH umbral, que corresponde al pH de cierta región del tracto gastrointestinal [por ejemplo, Eudragit L100-55 (pH de 5,5) y L100 (6,0) para la focalización intestinal y Eudragit S100 (7,0) y P4135 (7,0-7,4) para la focalización colónica]. En particular, los intentos previos para formular micropartículas de Eudragit L100 y Eudragit S100 han resultado infructuosos, dando lugar a partículas con mala morfología y mal control de la liberación del fármaco, y han acarreado métodos de producción complicados que implicaban una homogeneización y un cuidadoso control de la temperatura (para la producción de una buena emulsión y/o una buena eliminación del disolvente) o de la velocidad de adición del agente tensioactivo [Goto et al. (1986), Morishita et al. (1991), Squillante et al. (2003)].

30 Dadas las teóricas ventajas de los sistemas de micropartículas con respecto a las formas de dosificación convencionales, el presente solicitante decidió intentar superar los problemas que habían conducido a la producción de micropartículas con mala morfología y mal control de la liberación del fármaco. Se decidió optimizar el método de emulsionamiento/evaporación del disolvente para la producción de micropartículas de Eudragit L/S100, un método de microencapsulación comúnmente utilizado, y aplicar este método optimizado a otros polímeros para liberación modificada.

35 Se conocen métodos para formar microesferas. Por ejemplo, en el Documento US 2002/0076444 se describe un método para la formación de microesferas mediante el cual se dispersa un agente formador de matrices en una disolución hidroalcohólica que contiene un ingrediente activo. Se mencionan los agentes tensioactivos Crodesta F-70 y Span 60. El procedimiento es fundamentalmente diferente del descrito más adelante.

El método de emulsionamiento/evaporación del disolvente es un procedimiento conceptualmente sencillo de tres operaciones.

40 En la operación uno, se disuelve el polímero en un disolvente adecuado (en el que se dispersa, o preferentemente disuelve, el fármaco). Este disolvente es también conocido como "fase interna". La disolución de fármaco y polímero es luego emulsionada en una fase no disolvente (o "externa") que contiene normalmente un agente tensioactivo para mejorar la estabilidad de la emulsión.

En la operación dos, se deja que se evapore el disolvente, normalmente bajo agitación.

45 En la operación tres (una vez que se ha completado la operación dos), las partículas son solidificadas y pueden ser separadas por filtración y purificadas.

55 La formación de una emulsión estable en las primeras fases es importante si se van a aislar micropartículas discretas. Se ha hallado también que la elección del disolvente influye en la morfología de la micropartícula dependiendo de la velocidad a la cual migra desde la disolución de polímero hasta la fase no disolvente y es separada por evaporación. La solubilidad del polímero en el disolvente elegido y el punto de ebullición son factores que afectan a

la velocidad a que solidifican las partículas. Durante este proceso, las "partículas" que se forman evolucionarán de ser gotitas líquidas en emulsión, a partículas "pegajosas" semisólidas, y a partículas solidificadas discretas. Se espera que el periodo de tiempo durante el cual existen las partículas en forma semisólida influya en la coalescencia de las partículas en formación y en la morfología global del producto final.

5 Los intentos previos para la microencapsulación de Eudragit L100 y S100 han conducido a partículas con mala morfología (véanse Goto et al. y Morishita et al.).

10 En Acta Technologiae et Legis Medicamenti, 2003, 14 (1), 53-66 (Mateovic), se describe la preparación de microesferas de Eudragit® RS por medio del método de evaporación del disolvente utilizando los agentes tensioactivos siguientes: estearato de magnesio, Span 20, y una combinación de estearato de magnesio y Span 20. Se tamizaron las microesferas resultantes y se determinaron el contenido y la disolución del fármaco en la fracción de 315 – 400 µm. Sin embargo, las partículas producidas mediante este método no se comportan de la forma esperada. Aun teniendo en cuenta el contenido de polímero bioadhesivo, el Eudragit RS insoluble en agua está claramente destinado a prolongar la liberación del fármaco desde las partículas pero, en realidad, el 100% del fármaco se libera en el periodo de una hora. Por lo tanto, la formulación se comporta como una formulación de liberación intermedia (cuya definición es una liberación del 70% en 45 minutos).

15 Jameela et al., en Journal of Controlled Release 52 (1998), 17-24, describen un procedimiento para preparar partículas que comprende mezclar progesterona con una disolución de quitosán en ácido acético y dispersar esta mezcla en parafina líquida y sesquioleato de sorbitán.

20 Pradhan et al., en Journal of Controlled Release 30 (1994), describen un procedimiento para la producción de microesferas que comprende emulsionar una suspensión de homopéptido de glicocola, poli-D,L-lactida y acetona en aceite mineral con sesquioleato de sorbitán y evaporar luego la acetona. Sin embargo, en ninguno de estos documentos se describe la preparación de microesferas formadas a partir de un polímero basado en un compuesto acrílico, una celulosa o un compuesto polivinílico.

25 De acuerdo con el primer aspecto del presente invento, se proporciona un método para producir micropartículas que comprenden un agente bioactivo y un vehículo, método que comprende proporcionar un disolvente que tiene un agente bioactivo disperso o disuelto en él y un vehículo disuelto en él, llevar a cabo un emulsionamiento en una fase no disolvente para producir una emulsión que comprende el agente bioactivo y el vehículo en una fase disolvente, y evaporar el disolvente para dejar dichas micropartículas, en el que se emplea una mezcla de al menos dos agentes tensioactivos para estabilizar dicha emulsión, y el equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB; del inglés, hydrophilic-lipophilic balance) de la mezcla es de 2 a 5 con objeto de que el diámetro mediano de las micropartículas sea de hasta 100 µm; y el vehículo es un polímero basado en un compuesto acrílico, un polímero basado en celulosa o un polímero basado en un compuesto polivinílico.

30 Hasta ahora, ha existido un problema a la hora de controlar la liberación de fármacos cuando se utilizan polímeros para liberación dependiente del pH. Con objeto de resolver este problema, se ha supuesto que las micropartículas han de ser relativamente grandes (teniendo quizás diámetros medianos del orden de milímetros) con objeto de distribuir eficazmente *in vivo* el fármaco cargado. Esto es porque se piensa que las partículas más pequeñas con una superficie específica relativamente grande liberan el fármaco demasiado rápidamente en condiciones ácidas. Los presentes inventores han realizado el sorprendente descubrimiento de que se pueden obtener velocidades de disolución del fármaco mejoradas al formar micropartículas con dimensiones mucho más pequeñas. En particular, se ha hallado que por medio del presente invento se pueden producir micropartículas que tengan un diámetro mediano de hasta 100 µm, preferiblemente de 20 a 60 µm y muy preferiblemente de 30 a 50 µm.

35 Se apreciará que métodos de emulsionamiento tales como el método presente dan lugar a un conjunto de micropartículas con tamaños variables. En particular, es probable que el diámetro de las partículas adopte la llamada "distribución normal", teniendo muy pocas partículas diámetros extremos y teniendo la mayoría diámetros medios. De este modo, ciertos métodos de la técnica previa pueden dar bien lugar a algunas micropartículas que tengan diámetros de 100 µm o menos. Sin embargo, se cree que no hay métodos en la técnica previa que den lugar a una distribución de micropartículas cuyo diámetro mediano sea 100 µm o menos.

40 El HLB de la mezcla de agentes tensioactivos es de 2 a 5, y preferiblemente de 3 a 5 (alternativamente de 3 a 4).

50 Por "agente tensioactivo" se quiere significar una molécula que tiene una porción hidrófoba que es una cadena hidrocarbonada, y una porción hidrófila tal como grupos iónicos o polares colgantes. De esta manera, cuando se lleva a cabo un proceso de emulsionamiento de aceite en agua o de agua en aceite, la molécula tensioactiva puede llegar a orientarse para que la porción hidrocarbonada (o "grasa") interaccione con la fase oleosa, y la porción polar/iónica ("no grasa") interaccione con la fase acuosa, estabilizándose por ello la emulsión. A dicha molécula se hace referencia como "anfipática" (porque interacciona con moléculas tanto polares como apolares), y por "agente tensioactivo" se quiere aquí significar "agente tensioactivo anfipático". No abarca agentes tensioactivos no anfipáticos tales como agentes antiespumantes.

55 En términos sencillos, el HLB es el porcentaje en moles de la porción hidrófila de la molécula tensioactiva dividido por 5. Por lo tanto, una molécula completamente hidrófila tendrá un valor de HLB de 20, y una molécula completamente hidrófoba tendrá un valor de HLB de cero. La mayoría de los agentes tensioactivos son anfipáticos y tendrán valores de HLB de entre 0 y 20, lo que les permitirá orientarse en la interfase entre las dos fases de una emul-

sión, estabilizando por ello dicha emulsión como se explicó anteriormente.

La mezcla de agentes tensioactivos es preferiblemente una mezcla equimolar de sólo dos agentes tensioactivos, y puede comprender monooleato de sorbitán y dioleato de sorbitán. Otras combinaciones de agentes tensioactivos incluyen Tween 80 y Span 85, Span 80 y Span 85, Span 85 y Span 20, Span 80 y Span 20, o una combinación de dos cualesquiera de ellos.

En una realización particularmente preferida, se utiliza sesquioleato de sorbitán como agente tensioactivo para estabilizar dicha emulsión. El sesquioleato de sorbitán se puede obtener de Uniquema bajo el nombre comercial Arlancel 83 y es una mezcla equimolar de monooleato de sorbitán y dioleato de sorbitán.

Sin pretender verse forzado por la teoría, una posible explicación es que es la combinación de dos o más agentes tensioactivos (una combinación equimolar de monooleato de sorbitán y dioleato de sorbitán en el caso del Arlancel 83) la que actúa a nivel molecular para estabilizar la emulsión. Sin embargo, se piensa que el agente tensioactivo compuesto debería tener aún un HLB en el intervalo apropiado.

En una realización alternativa, dicha mezcla de al menos dos agentes tensioactivos no incluye Span 20 y Span 80 en combinación.

El vehículo es un polímero que permite (preferiblemente) la liberación del agente bioactivo, dependiendo del pH y/o independiente del pH, en el tracto gastrointestinal. Las clases de polímero usadas en este invento son polímeros basados en compuestos acrílicos (tales como metacrilato), polímeros basados en celulosa y polímeros basados en compuestos polivinílicos. Por "basado en" se quiere significar que una porción (preferiblemente una parte sustancial) de la cadena del polímero comprende dicho grupo.

Los polímeros particularmente preferidos comprenden Eudragit[®] L100 [poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metilo) 1:1], Eudragit[®] L100-55 [poli(ácido metacrílico-co-acrilato de etilo) 1:1], Eudragit[®] S100 [poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metilo) 1:2], Eudragit[®] P4135, Eudragit[®] RS100 [poli(acrilato de etilo-co-metacrilato de metilo-co-cloruro de metacrilato de trimetilamónioetilo) 1:2:0,1] y etilcelulosa. Sin embargo, en una realización el vehículo no es Eudragit[®] RS solo.

Se cree que se puede usar el presente método para formar micropartículas de una gran variedad de fármacos.

El disolvente (fase interna) es preferiblemente etanol puro, pero también se puede utilizar una diversidad de mezclas de disolventes orgánicos dependiendo de las solubilidades del fármaco y el polímero. El no disolvente (fase externa) es preferiblemente parafina líquida.

Creemos que hemos desarrollado un nuevo método de emulsión/evaporación del disolvente que permite la fabricación, *inter alia*, de partículas polímeras de Eudragit L100-55, L100, S100 y P4135 y mezclas de los polímeros, sensibles al pH y cargadas con fármacos. Hemos demostrado la microencapsulación exitosa de los polímeros Eudragit RS100 y etilcelulosa insolubles en agua.

Hemos demostrado en particular la utilidad del Arlancel 83 (sesquioleato de sorbitán) para la producción de partículas de Eudragit L100 y S100 y creemos que nuestro método es superior a otros métodos de la bibliografía en términos de sencillez y posibilidad de un futuro progreso a mayor escala, así como de calidad del producto final.

Las partículas tienen un tamaño ideal para distribución oral (tamaño en el intervalo de 30-50 μm), y su excelente morfología debería impartir unas buenas propiedades de fluencia que permitieran un relleno eficaz y reproducible de cápsulas. Las partículas pueden ser también adecuadas para administración utilizando una suspensión taponada.

Hemos demostrado un perfil de liberación sensible al pH para Eudragit L100-55, L100 y S100 *in vitro*. La liberación del fármaco desde todas las micropartículas sensibles al pH es mínima en el pH gástrico pero rápida por encima del umbral de los polímeros. Se ha utilizado un método de cambio de pH para caracterizar la liberación del fármaco desde las micropartículas de L100 y S100. Se puede manipular la carga del fármaco para que tenga lugar una liberación inferior al 10% después de 2 horas en ácido, mientras que el tiempo para una liberación del fármaco del 100% es inferior a 5 minutos una vez que se eleva el pH a los niveles intestinales/colónicos para las micropartículas de L100 y S100, respectivamente.

En un segundo aspecto del presente invento, se proporciona una composición de micropartículas obtenibles por medio de un método como el anteriormente definido.

También se describe un método para producir micropartículas que comprenden un agente bioactivo y un vehículo, método que comprende proporcionar un disolvente que tiene un agente bioactivo disperso o disuelto en él y un vehículo disuelto en él, llevar a cabo un emulsiónamiento para producir una emulsión de micropartículas que comprenden el agente bioactivo y el vehículo en una fase disolvente, y evaporar el disolvente para dejar dichas micropartículas, en el que se emplea dioleato de sorbitán para estabilizar dicha emulsión.

Hemos tomado con buena eficacia diversos modelos de fármaco con diferentes propiedades físico-químicas, pero creemos que el método permite microencapsular una gran variedad de agentes farmacéuticos. También puede ser posible la encapsulación de fármacos proteicos y peptídicos, y es menos probable que estos fármacos lábiles

resulten desactivados por este método de formulación con respecto a los métodos más tradicionales para formación de tabletas o glóbulos.

5 Todos los productos químicos utilizados en el procedimiento son muy asequibles, relativamente baratos y seguros. Hemos mostrado que es posible la microencapsulación usando una mezcla de disolventes orgánicos y, preferiblemente, etanol solo, evitándose por ello el uso de disolventes más tóxicos. El equipo utilizado en el procedimiento es también muy asequible.

10 En la actualidad, no existe un método para la producción de partículas de Eudragit L100 y S100 a gran escala. El secado por pulverización ha demostrado ser poco exitoso a causa de la naturaleza termoplástica de los polímeros y su tendencia a formar agregados viscosos. Esto deja al método que hemos desarrollado como la alternativa más viable.

Referencias

- 15 S. Goto, M. Kawata, M. Nakamura, K. Maekawa y T. Aoyama (1986), *Eudragit E, L and S (acrylic resins) microcapsules as pH sensitive release preparations of ketoprofen*, J. Microencapsulation 3(4), 305-316.
- I. Morishita, M. Morishita, Y. Machida y T. Nagai (1991), *Controlled release microspheres based on Eudragit L100 for the oral administration of erythromycin*, Drug Design and Delivery 7, 309-319.
- E. Squillante, G. Morshed, S. Bagchi y K. A. Mehta (2003), *Microencapsulation of β -galactosidase with Eudragit L100*, J. Microencapsulation 20 (2), 153-167.

20 Se describirán ahora diversas realizaciones preferidas del presente invento con referencia a los dibujos siguientes:

Las Figuras 1 a 8 y 18 muestran diversas micrografías electrónicas de barrido (SEMs; del inglés, scanning electron micrographs) de ejemplos y ejemplos comparativos de micropartículas de mezclas de fármaco/polímero:

- 25 La Figura 1 muestra Span 85 al 1%;
- La Figura 2A muestra Brij 92 al 1%;
- La Figura 2B muestra Brij 92 al 2%;
- La Figura 2C muestra Brij 92 al 3%;
- La Figura 2D muestra Brij 52 al 1% (disuelto en la fase de disolvente orgánico);
- La Figura 2E muestra Brij 52 al 1% (calentado);
- 30 La Figura 3A muestra Arlacel 83 al 1%;
- La Figura 3B muestra Arlacel 83 al 2%;
- La Figura 3C muestra Arlacel 83 al 3%;
- La Figura 4A muestra (Tween 80 al 14,4% y Span 85 al 85,6%) al 1%;
- La Figura 4B muestra [Span 80/85 (1,3:1)] al 1%;
- 35 La Figura 5 muestra Eudragit L100/Arlacel 83 al 1%/20 ml de acetona/10 ml de metanol;
- La Figura 6A muestra 15 ml de acetona/15 ml de metanol;
- La Figura 6B muestra 15 ml de acetona/15 ml de etanol;
- La Figura 6C muestra 20 ml de acetona/10 ml de etanol;
- La Figura 6D muestra 25 ml de acetona/5 ml de etanol;
- 40 La Figura 6E muestra 25 ml de acetona/5 ml de metanol;
- La Figura 7A muestra 3 g de L100-55/30 ml de etanol/Arlacel 83 al 1%;
- La Figura 7B muestra 3 g de L100/30 ml de etanol/Arlacel 83 al 1%;
- La Figura 7C muestra 3 g de S100/30 ml de etanol/Arlacel 83 al 1%;
- La Figura 8A muestra 3 g de RS/30 ml de acetona;

La Figura 8B muestra 3 g de RS/30 ml de acetona/etanol (1:1);

La Figura 8C muestra RS/L acetona/etanol (2:1);

La Figura 8D muestra RS/L acetona/etanol (1:1);

La Figura 8E muestra RS/L acetona/etanol (1:2);

5 La Figura 8F muestra RS/S acetona/etanol (2:1);

La Figura 8G muestra RS/S acetona/etanol (1:1);

La Figura 8H muestra RS/S acetona/etanol (1:2);

La Figura 18A muestra etilcelulosa N100;

La Figura 18B muestra HPMCP50; y

10 La Figura 18C muestra PVAP.

Las Figuras 9 a 17 muestran perfiles de liberación de fármaco desde diversas micropartículas preparadas de acuerdo con el invento.

15 Se llevaron a cabo experimentos preliminares utilizando Span 85 como agente tensioactivo, para optimizar la elección de la mezcla de disolventes. Se ensayaron mezclas de 30 ml de acetona y etanol o metanol en diferentes relaciones y se halló que las mezclas de acetona/metanol se comportaban mejor que las de acetona/etanol, debido probablemente a la más rápida evaporación del metanol como resultado de un menor punto de ebullición y una afinidad reducida por el polímero, Eudragit S100. Cuando se utilizó metanol solo, se produjeron partículas grandes, huecas y a veces agrietadas. Con acetona sola no se produjeron micropartículas. Un aumento de la proporción de acetona redujo el tamaño, pero pareció que aumentaba el grado de agregación. 20 ml de acetona/10 ml de metanol fue la mezcla de disolventes óptima, según se estimó mediante un análisis por SEM, y se decidió utilizar dicha mezcla en experimentos futuros y cambiar el agente tensioactivo.

25 Decidimos investigar agentes tensioactivos con un HLB en el intervalo de 1 a 10. Por lo tanto, se obtuvieron agentes tensioactivos con HLB en este intervalo, y próximo a él, y se ensayó un sistema sencillo usando parafina líquida como no disolvente, con agitación superior por hélice procedente de un agitador Heidolph RZR1 calibrado a 1000 rpm.

30 Se utilizó una mezcla de 30 ml de acetona/metanol (2:1) para disolver 3 gramos del polímero Eudragit S100. No se añadió fármaco alguno en estos experimentos ya que con ellos sólo se pretendía investigar la formación de micropartículas. Se dejó que la agitación y la evaporación del disolvente transcurrieran durante la noche, y el producto fue recogido por filtración bajo vacío a través de un filtro de vidrio sinterizado el día siguiente, lavado con tres porciones de 50 ml de hexano para eliminar los restos de parafina líquida, y secado en una estufa de vacío durante 24 horas.

Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado, y el polímero utilizado en el proceso de optimización fue siempre Eudragit S100.

35 Inicialmente se emplearon los agentes tensioactivos siguientes en una concentración de 1%, y 2 y 3% si era necesario: Span 85 (HLB de 1,8), Span 80 (HLB de 4,3), Span 20 (HLB de 8,6), Brij 92 (HLB de 4,9), Brij 52 (HLB de 5,3) y sesquioleato de sorbitán (Arlacel 83; HLB de 3,7).

40 En primer lugar, examinamos las partículas por microscopía óptica (Nikon Microphot FXA) con un aumento del objetivo de x4 y x10 y capturamos las imágenes utilizando una cámara de video JVC. Fue posible una indicación de la morfología global y el grado de agregación pero, para observar con detalle las características superficiales de las micropartículas, se tomaron SEMs de las partículas prometedoras. Se fijaron las microesferas sobre almohadillas adhesivas para SEM y se revistieron con oro utilizando un módulo para pulverización catódica de oro en un evaporador de alto vacío (Emitech K550). Las muestras se examinaron con el microscopio electrónico de barrido (Philips XL30 TMP) a 10 kV.

Resultados

Ejemplo Comparativo 1: Uso de agentes tensioactivos Span

45 Cuando se usó Span 95 como agente tensioactivo, pareció que Eudragit S100 producía partículas agregadas cuando se examinaban éstas bajo el microscopio óptico. El análisis por SEM confirmó la presencia de partículas agregadas semiformadas, que posiblemente se originaban por coalescencia de las partículas durante la evaporación del disolvente (véase la Figura 1). Se puede concluir que Span 85 no estabiliza suficientemente la emulsión para permitir la formación de micropartículas discretas.

50 Span 80 produjo grandes pellas no corpusculares de polímero, con un diámetro superior a 1 mm, y no se requirió un análisis ulterior del producto.

Span 20 produjo delgadas fibras polímeras de tipo ahusado (datos no mostrados); de nuevo no fue

necesario un análisis ulterior.

Span 65 es una crema/sólido amarillo a temperatura ambiental y resultó inmisible con la parafina líquida después de calentamiento. Además, no se disolvió en la mezcla de acetona/metanol y, por lo tanto, fue incapaz de estabilizar la emulsión y producir micropartículas.

5 Ejemplo Comparativo 2: Uso de agentes tensioactivos Brij

Luego se probaron dos Brijs con apropiados valores de HLB: Brij 52 con un HLB de 5,3, y Brij 92 con un HLB de 4,9. Brij 52 es un sólido ceroso a temperatura ambiental; Brij 92 es un líquido. Se probaron Brij 52 y 92 en las concentraciones de 1, 2 y 3%.

10 Con Brij 92 en la concentración de 1%, vemos de nuevo agregados de partículas esféricas semiformadas. Un aumento de la concentración a 2 y 3% no ejerce una influencia positiva sobre la morfología de las micropartículas, y parece que la muestra con 3% tiene la peor morfología de las 3 muestras (véanse las Figuras 2A, 2B y 2C).

15 A temperatura ambiental, Brij 52 era un sólido y no era miscible con parafina líquida pero, tras un calentamiento, se pudo disolver Brij 52 al 1% en parafina líquida y no precipitó tras enfriamiento. Resultó soluble en la mezcla de acetona/metanol. Estos dos métodos de formulación producían partículas agregadas, como se ve en las Figuras 2D y 2E.

Para disolver el agente tensioactivo en la fase interna, parece que es preferible un calentamiento para que se incorpore Brij 52 a la fase de parafina líquida, como se puede ver en las Figuras 2D y 2E. Las partículas producidas al utilizar la primera estrategia de formulación tienen un aspecto más esférico, están menos polidispersas y tienen un tamaño menor. Sin embargo, aún están agregadas.

20 Ejemplo 3: Uso de sesquioleato de sorbitán (Arlacel 83) como agente tensioactivo

25 Se incorporó el agente tensioactivo Arlacel 83 al sistema en concentraciones de 1, 2 y 3% (véanse las Figuras 3A, 3B y 3C). El Arlacel 83 es un éster de ácido graso y sorbitán, similar a los Spans, con un valor de HLB de 3,7, y es una mezcla equimolar de monooleato de sorbitán y dioleato de sorbitán. En todas las concentraciones ejercía un drástico efecto sobre el aspecto de las microesferas, produciendo partículas esféricas no porosas y no agregadas en el intervalo de tamaños requerido. También parecía que las muestras estaban monodispersas.

Ejemplo 4

Objetivo: Investigar la formación de micropartículas utilizando una diversidad de agentes tensioactivos con HLBs combinados de aproximadamente 3,7.

30 **Método:** Se añadió una mezcla de Tween 80 al 14,4% y Span 85 al 85,6%, y Span 80 al 56,5% y Span 85 al 43,5% a parafina líquida en una concentración de 1%. Ambas mezclas tienen un valor de HLB de 3,7, el mismo que el del Arlacel 83. Se llevó a cabo el método de emulsión/evaporación del disolvente como antes.

Resultados: La SEM de las partículas se muestra más adelante en las Figuras 4A y 4B.

Conclusiones: Parece que una mezcla de dos agentes tensioactivos con un HLB combinado de 3,7 es capaz de estabilizar la emulsión para facilitar la producción de micropartículas con una morfología aceptable.

35 Ejemplo 5

Se puede también utilizar el propuesto método de microencapsulación para Eudragit L100 y mezclas de L100 y S100.

Objetivo: Producir micropartículas de Eudragit L100 y Eudragit L/S100 mixto utilizando Arlacel 83.

40 **Método:** Se disolvieron 3 gramos de Eudragit L100 y 3 gramos de una mezcla 1:1 de Eudragit L100 y S100 en 30 ml de acetona/metanol (1:1), como previamente, y se emulsionó la disolución en 200 ml de parafina líquida que contenían Arlacel 83 al 1%.

Resultados: En ambas ocasiones se formaron partículas con una morfología excelente, comparable a la de las partículas de Eudragit S100 (véase la Figura 5). Ahora debería ser posible formular micropartículas que liberaran el fármaco en un pH de entre 6,0 y 6,8.

45 Ejemplo 6

La siguiente operación fue ensayar las mezclas de disolventes que se habían comportado mejor cuando se utilizó Span 85 como agente tensioactivo.

Objetivo: Estudiar el efecto del disolvente de la fase interna sobre la morfología de las micropartículas de Eudragit S100 producidas mediante el método de emulsión/evaporación del disolvente.

50 **Método:** Se llevaron a cabo experimentos como antes pero disolviendo 3 gramos de Eudragit S100 en diferentes mezclas de acetona y metanol o etanol. Como fase externa se usó Arlacel 83 al 1% en 200 ml de parafina líquida. Las com-

posiciones de disolventes utilizadas se muestran en la tabla siguiente, y se decidieron a partir de experimentos preliminares en que se usaba Span 85 en parafina líquida, en los que descubrimos que composiciones de disolventes de alcohol/acetona en el intervalo de 1:1 a 5:1 eran óptimas y podían influir en la morfología de las micropartículas, siendo las mezclas de acetona/metanol más eficaces que las de acetona/etanol.

Muestra	Disolvente de la fase interna
1	15 ml de acetona/15 ml de metanol
2	15 ml de acetona/15 ml de etanol
3	20 ml de acetona/10 ml de metanol
4	20 ml de acetona/10 ml de etanol
5	25 ml de acetona/5 ml de metanol
6	25 ml de acetona/5 ml de etanol

5

Resultados: Las SEMs de los experimentos anteriores se muestran en las Figuras 6A a 6E.

Conclusiones: A partir de los resultados del experimento anterior, diversas combinaciones de acetona y metanol o etanol han permitido la formación de micropartículas de Eudragit S100 con una morfología excelente. La elección del disolvente ejerce poco efecto sobre la morfología de las micropartículas. Esto proporciona evidencia de que la elección del agente tensioactivo es más crucial que la elección del disolvente del polímero. Ninguna partícula está agregada, ninguna es porosa y todas tienen el deseado intervalo de tamaños.

10

Ejemplo 7

Uso de etanol como un único disolvente para la producción de micropartículas de L100, S100 y L100-55.

15

Sería deseable producir partículas usando sólo etanol como disolvente de la fase dispersa, para simplificar el método de producción y reducir los problemas de toxicidad debidos a cualquier disolvente residual en las micropartículas, siendo el etanol menos tóxico que la acetona y el metanol. Por lo tanto, se utilizaron porciones de 30 ml de etanol para disolver 3 gramos de L100-55, L100 y S100. Se utilizó el emulsionamiento/evaporación del disolvente como antes, con 200 ml de parafina líquida que contenían Arlacel 83 al 1% (peso/peso) como agente tensioactivo. Las SEMs de las micropartículas se muestran en las Figuras 7A a 7C.

20

Conclusiones: Las SEMs muestran que se pueden preparar partículas de L100-55, L100 y S100 con excelente morfología utilizando un único disolvente relativamente atóxico.

Ejemplo 8: Uso de Eudragit RS100 y mezclas de RS100 con L100 y S100

Se ensayó la microencapsulación del polímero Eudragit RS100 insoluble en agua, solo y en combinación con L100 y S100. El RS100 solo puede ser usado para aplicaciones de liberación continua y, en combinación con los Eudragits sensibles al pH, puede modificar la liberación desde estos polímeros. 3 gramos de RS100 eran solubles en 30 ml de acetona y 30 ml de acetona/etanol (1:1), pero no en 30 ml de etanol. Las mezclas 1:1 de RS100/L100 y RS100/S100 eran solubles en las tres mezclas de disolventes. En las Figuras 8A-8H se muestran las SEMs de los productos obtenidos.

25

30

Conclusiones: Las SEMs muestran que el método produce buenas partículas cuando se utiliza RS100 solo o en combinación con L100 o S100. Se espera que RS100 retarde la liberación del fármaco desde un sistema de micropartículas sensibles al pH. La combinación RS/S puede permitir una liberación continua del fármaco en la región colónica, al contrario de la descarga de dosis de una sola vez que puede tener lugar desde un sistema puramente sensible al pH. Es previsible que dicho sistema produzca beneficios en la terapia tópica de enfermedades inflamatorias intestinales, evitando la liberación prematura total del fármaco y la absorción sistémica, pero sería improbable que fuera evacuado antes de que hubiera tenido lugar una significativa liberación del fármaco a causa de la prolongada retención colónica de los sistemas de pequeñas partículas.

35

Similarmente, la mezcla de RS/L puede permitir una liberación controlada por toda la longitud del intestino delgado. Las partículas formadas a partir de RS100 pueden tener aplicaciones de liberación continua y también muestran la versatilidad de nuestro método de microencapsulación, particularmente para la variedad Eudragit de polímeros.

40

Prueba de concepto: Perfiles de liberación de fármacos *in vitro***Ejemplos 9 a 15**

5 Las Figuras 9 a 14 muestran los siguientes perfiles de liberación de fármacos *in vitro* para micropartículas en medios con diferente pH, usando un aparato de paletas USP II. Todas las micropartículas se formaron usando Arlacel 83 como agente tensioactivo.

La Figura 9 muestra la liberación de prednisolona desde partículas de Eudragit L100 (10:1) en un pH de 1,2-6,8. Éste es un perfil promediado de una serie de seis muestras diferentes.

La Figura 10 muestra una comparación de la liberación de prednisolona desde micropartículas de Eudragit S100 y desde un sistema equivalente de tabletas revestidas con S100, en un pH de 1,2-7,4.

10 La Figura 11 es una comparación de la liberación de prednisolona desde micropartículas de Eudragit S100 con diferentes cargas de fármaco.

La Figura 12 muestra la liberación de prednisolona desde micropartículas de Eudragit RS/S (1:1) en un pH de 1,2-7,4 para demostrar que el Eudragit RS insoluble en agua mantiene la liberación desde partículas de S100 en el pH colónico.

15 La Figura 13 es un perfil de liberación para 6 lotes de micropartículas de Eudragit S100/prednisolona (5:1) en un pH de 1,2-7,4, que demuestra la reproducibilidad de lote a lote.

20 La Figura 14 es un perfil que muestra la liberación de prednisolona desde micropartículas de Eudragit RS/S (1:1) en un pH gástrico durante 2 horas, un pH intestinal proximal durante 1 hora y un pH colónico durante 2 horas. Se ve poca liberación de prednisolona durante las 3 primeras horas pero, cuando se cambia el pH a 7,4, se libera la mayoría del fármaco a lo largo de un periodo de aproximadamente una hora. Éste es un perfil promediado de cuatro muestras diferentes.

25 La Figura 15 es un perfil de liberación que permite comparar RS/S100 (50:50) con etilcelulosa/S100 (50:50) en un pH de 1,2-7,4. Esencialmente, esto es una comparación de la capacidad de dos polímeros insolubles en agua, cada uno en combinación con S100, para alcanzar perfiles de liberación continua. Parece que la etilcelulosa se comporta mejor, pero el mezclado de diferentes proporciones de cualquiera de los dos polímeros insolubles en agua proporcionará diferentes perfiles de liberación a medida.

Ejemplo 16

Se mezclaron ahora agentes tensioactivos para identificar el intervalo de HLB en el que actuarían conjuntamente 2 agentes tensioactivos para estabilizar la emulsión y producir micropartículas aceptables:

30 (a) Span 80 al 50%/Span 85 al 50% (HLB de 3)

(b) Span 85 al 53%/Span 20 al 47% (HLB de 5)

(c) Span 80 al 60%/Span 20 al 40% (HLB de 6)

(d) Span 80 al 35%/Span 20 al 65% (HLB de 7)

(Los anteriores valores de HLB se dan hasta 1 cifra significativa).

35 Todos se utilizaron como previamente, en una concentración de 1% en peso/peso. Se examinaron las micropartículas por microscopía y se estimó que tenían una morfología aceptable. Se prepararon partículas cargadas con fármaco (Eudragit S/prednisolona, 5:1) y se evaluó la liberación del fármaco *in vitro* (pH de 1,2 durante 2 horas, elevado a 7,4).

40 Todas las partículas se comportaron del modo dictado por el pH umbral de disolución del polímero; es decir, poca liberación de fármaco después de 2 horas de incubación en ácido, y rápida y completa liberación del fármaco después del cambio de pH (véase la Figura 16).

Ejemplo 17

45 La Figura 17 muestra una comparación de las liberaciones de bendroflumetiazida, prednisolona y budesonida desde micropartículas de Eudragit S100 en un pH de 1,2-7,4. Esto demuestra que, para los tres fármacos, casi todo el fármaco cargado se libera rápidamente cuando el pH cambia del valor gástrico al colónico.

Ejemplo 18

50 Las Figuras 18A, 18B y 18C muestran SEMs de micropartículas producidas al utilizar Arlacel 83 al 1% como agente tensioactivo y etilcelulosa N100, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP50) y poli(acetato-ftalato de vinilo) (PVAP) como polímero en cada caso, respectivamente. No se ha realizado ningún trabajo sobre disolución de fármacos con estas micropartículas. No obstante, se incluyen los resultados para demostrar que se pueden formar micropartículas con polímeros basados en celulosa y basados en compuestos polivinílicos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para producir micropartículas que comprenden un agente bioactivo y un vehículo, método que comprende proporcionar un disolvente que tiene un agente bioactivo disperso o disuelto en él y un vehículo disuelto en él, llevar a cabo un emulsionamiento en una fase no disolvente para producir una emulsión que comprende el agente bioactivo y el vehículo en una fase disolvente, y evaporar el disolvente para dejar dichas micropartículas, en el que se emplea una mezcla de al menos dos agentes tensioactivos para estabilizar dicha emulsión y el equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) de la mezcla es de 2 a 5 con objeto de que el diámetro mediano de las micropartículas sea de hasta 100 μm ; y el vehículo es un polímero basado en un compuesto acrílico, un polímero basado en celulosa o un polímero basado en un compuesto polivinílico.
- 10 2. Un método como el reivindicado en la Reivindicación 1, en que dicho HLB es de 3 a 5.
4. 3. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que dicho HLB es de 3 a 4.
4. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que dicha mezcla comprende monooleato de sorbitán y dioleato de sorbitán.
- 15 5. Un método de acuerdo con la Reivindicación 4, en que dicha mezcla es sesquioleato de sorbitán.
6. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que dicha mezcla es una mezcla equimolar de dos agentes tensioactivos.
7. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que el vehículo es un polímero de metacrilato.
- 20 8. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que el vehículo comprende poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metilo) 1:1, poli(ácido metacrílico-co-acrilato de etilo) 1:1, poli(ácido metacrílico-co-metacrilato de metilo) 1:2, poli(acrilato de etilo-co-metacrilato de metilo-co-cloruro de metacrilato de trimetilamonioetilo) 1:2:0,1, o etilcelulosa.
- 25 9. Un método como el reivindicado en cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6, en que el vehículo no es poli(acrilato de etilo-co-metacrilato de metilo-co-cloruro de metacrilato de trimetilamonioetilo) 1:2:0,1 solo.
10. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que el agente bioactivo es prednisolona, bendrofluazida o budesonida.
11. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que el disolvente es etanol o una mezcla de acetona y etanol o metanol.
- 30 12. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que ambos agentes tensioactivos de dicha mezcla son añadidos a la fase disolvente, ambos son añadidos a la fase no disolvente, o cada uno es añadido a cada fase.
13. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que la fase no disolvente es parafina líquida.
- 35 14. Un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente, en que el emulsionamiento se lleva a cabo a una temperatura de 10 a 30 $^{\circ}\text{C}$.
15. Una composición de micropartículas obtenibles por medio de un método como el reivindicado en cualquier reivindicación precedente.
16. Una composición de acuerdo con la Reivindicación 15, para uso en un tratamiento médico.

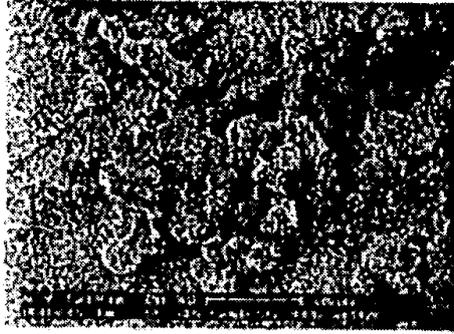


Fig 1



Fig 2A



Fig 2B

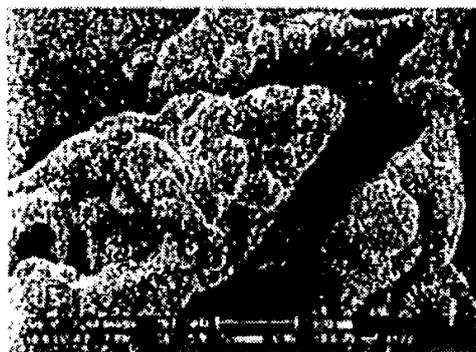


Fig 2C



Fig 2D

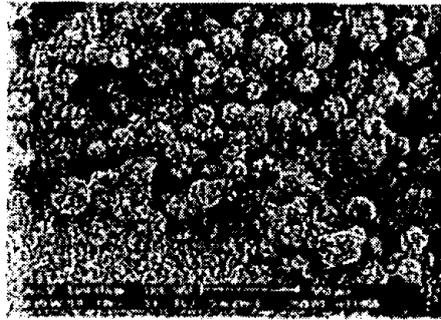


Fig 2E

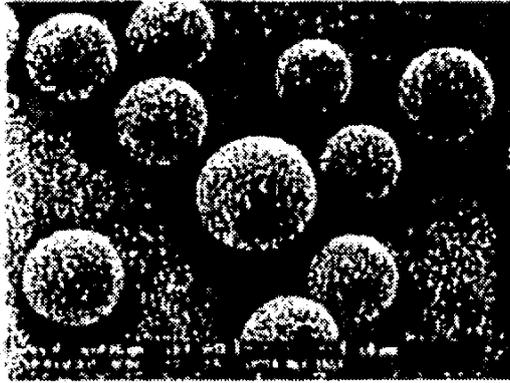


Fig 3A

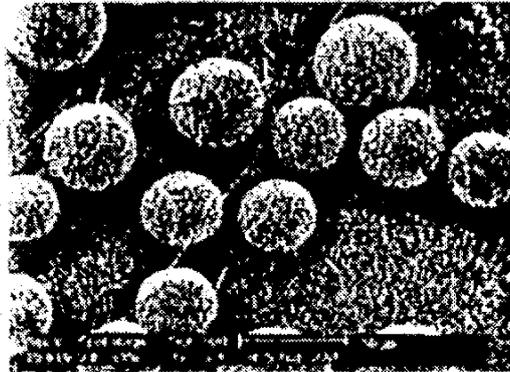


Fig 3B

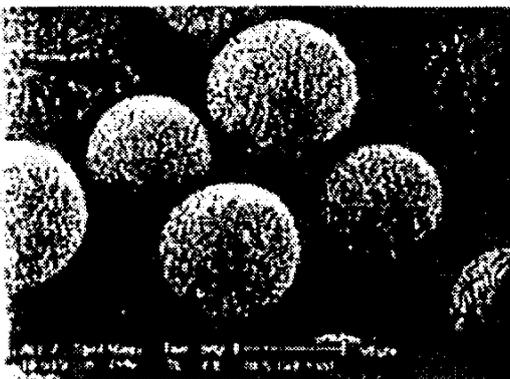


Fig 3C



Fig 4A

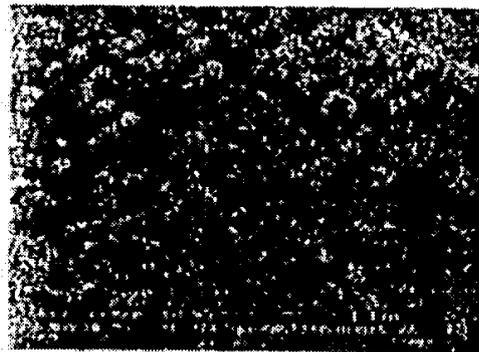


Fig 4B

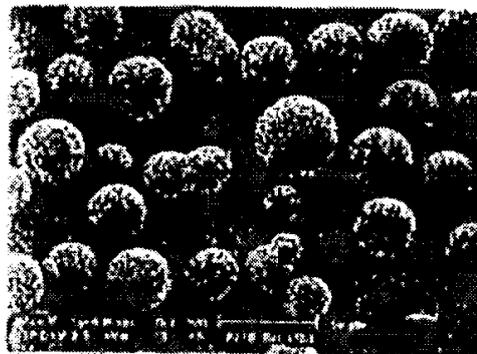


Fig 5

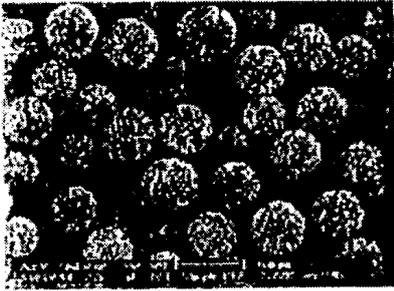


Fig 6A

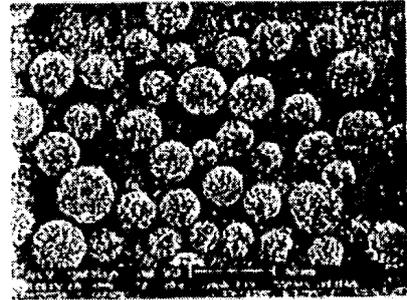


Fig 6B

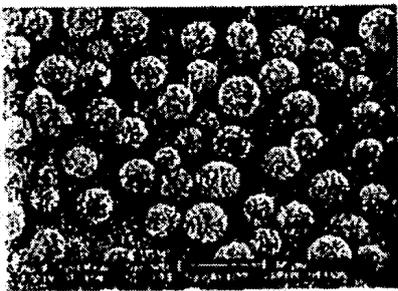


Fig 6C

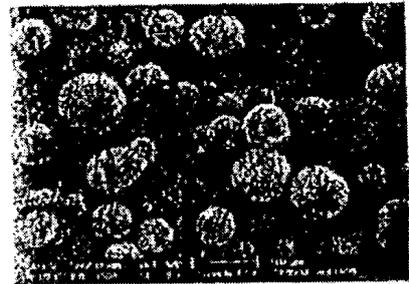


Fig 6D

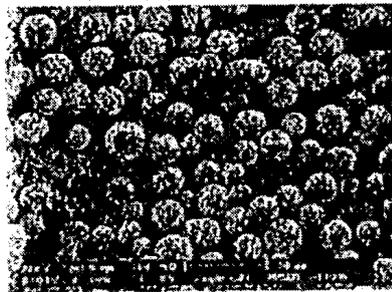


Fig 6E

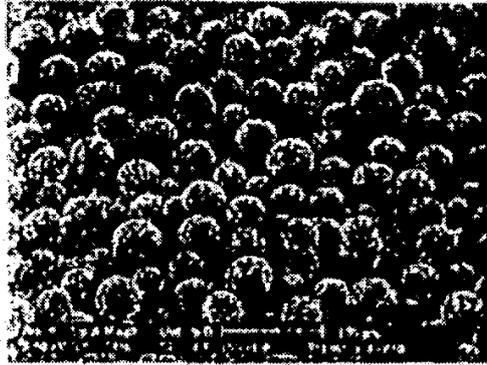


Fig 7A

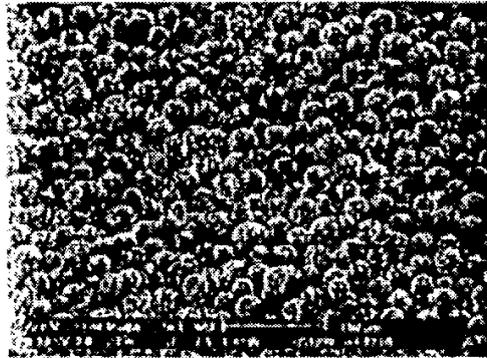


Fig 7B

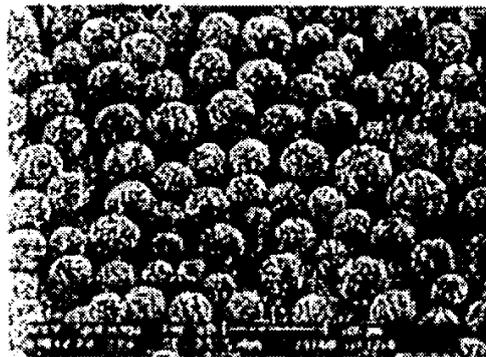


Fig 7C

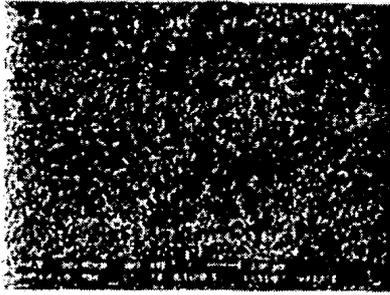


Fig 8A

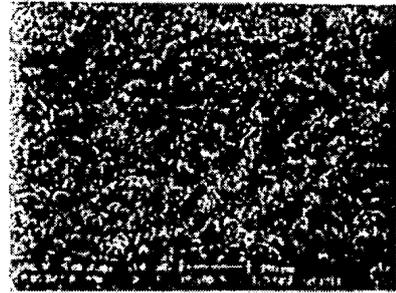


Fig 8B

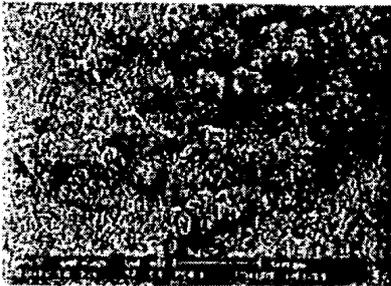


Fig 8C

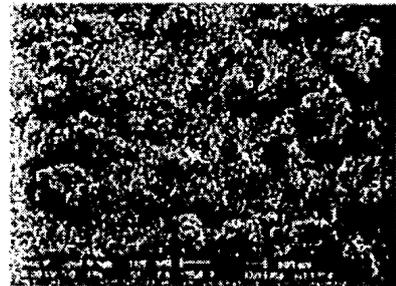


Fig 8D

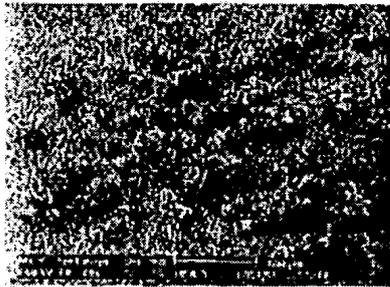


Fig 8E

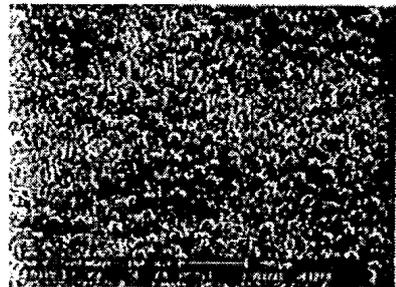


Fig 8F

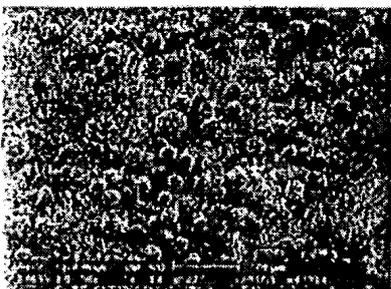


Fig 8G

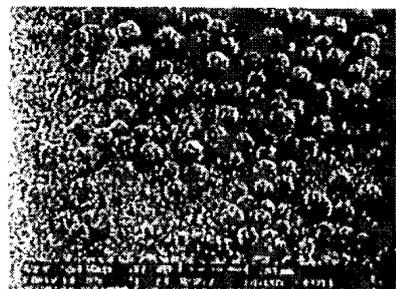


Fig 8H

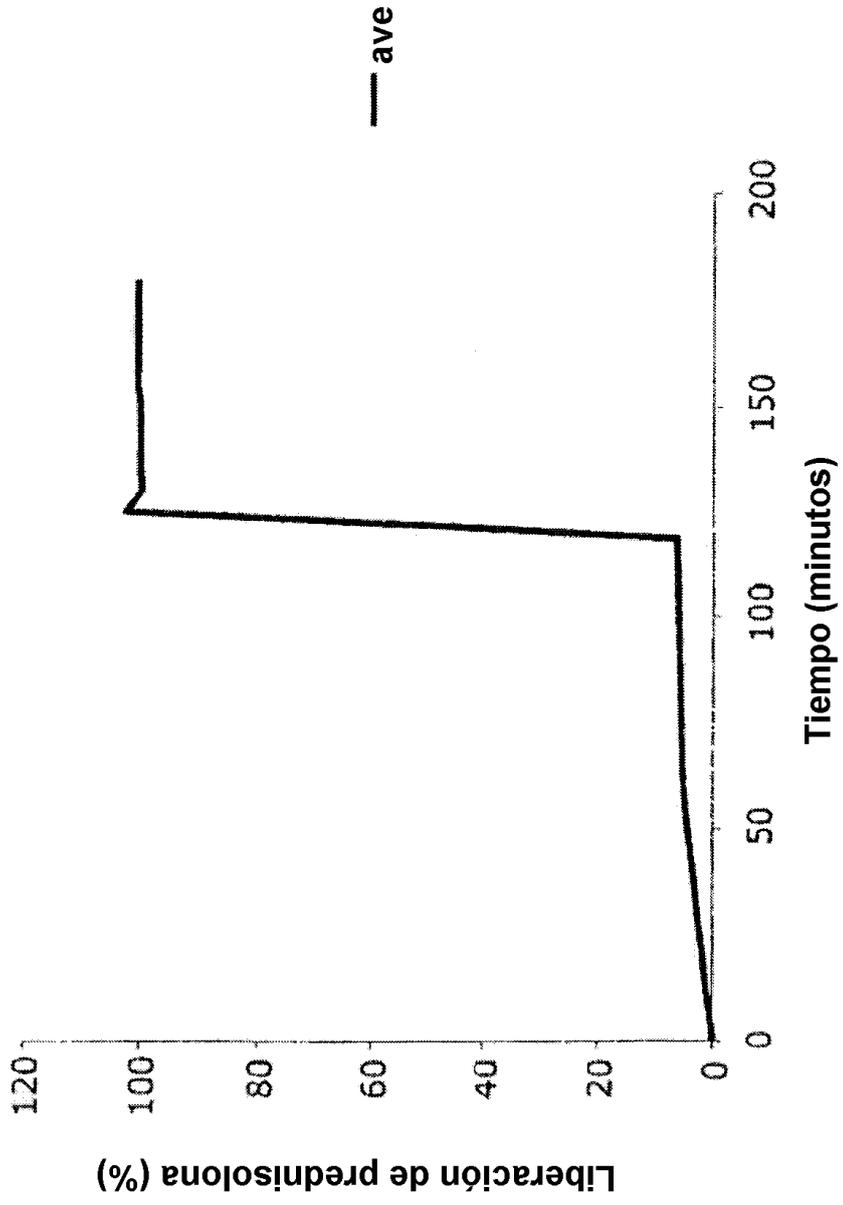


Fig. 9

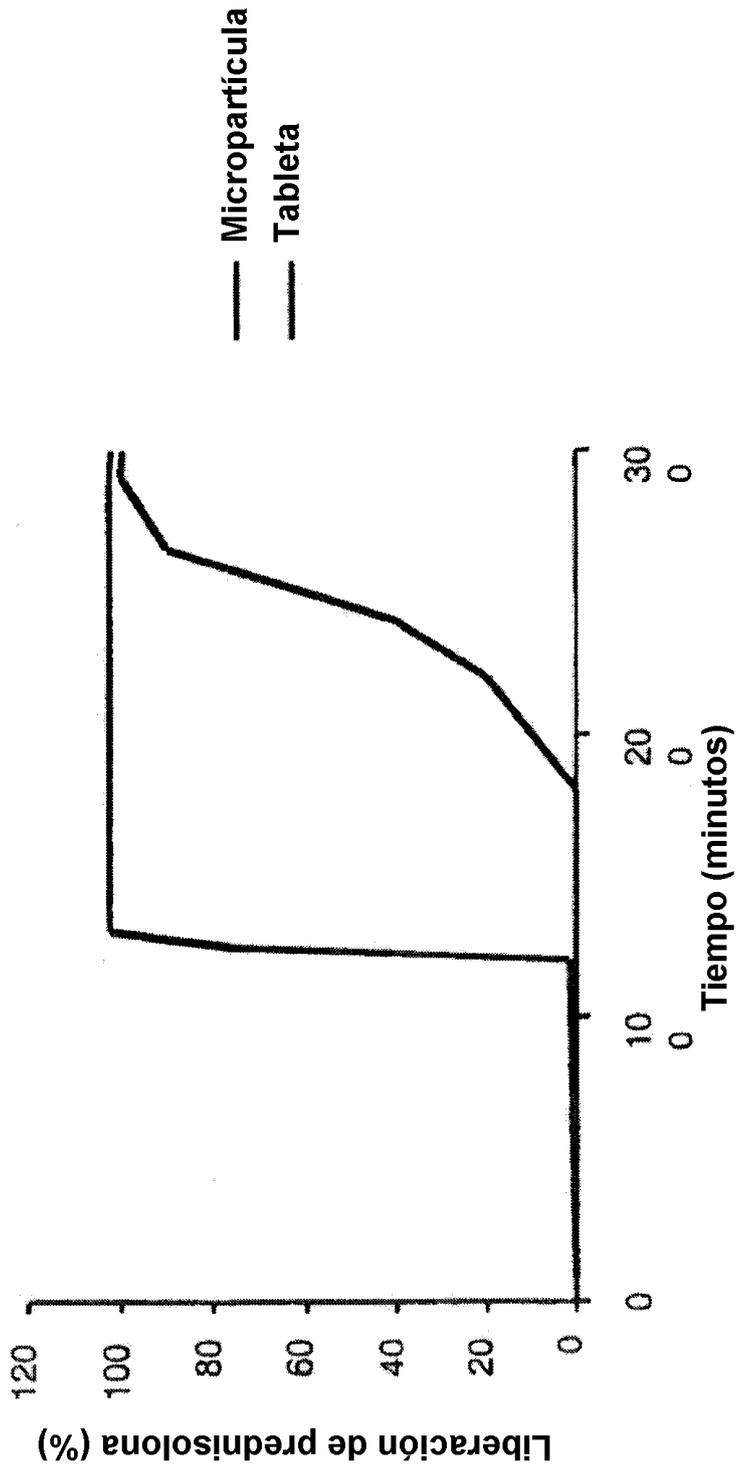


Fig. 10

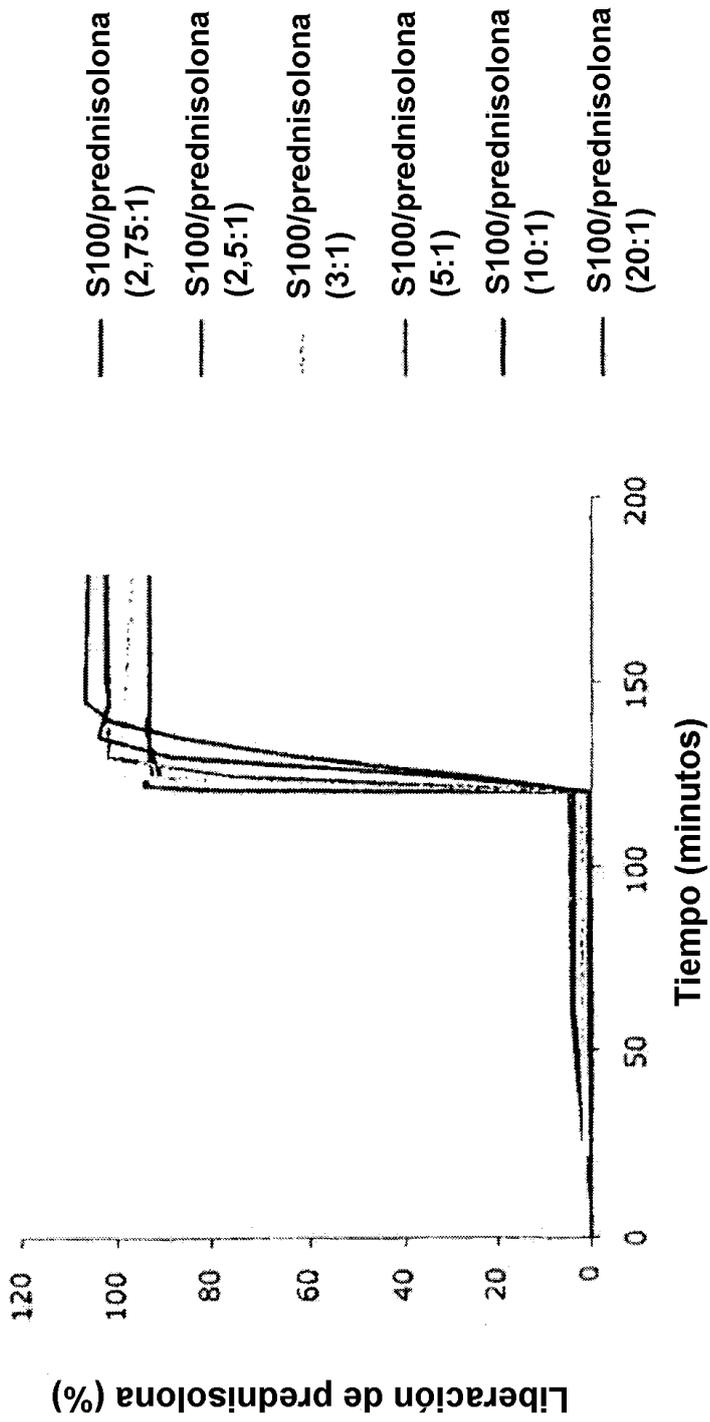


Fig. 11

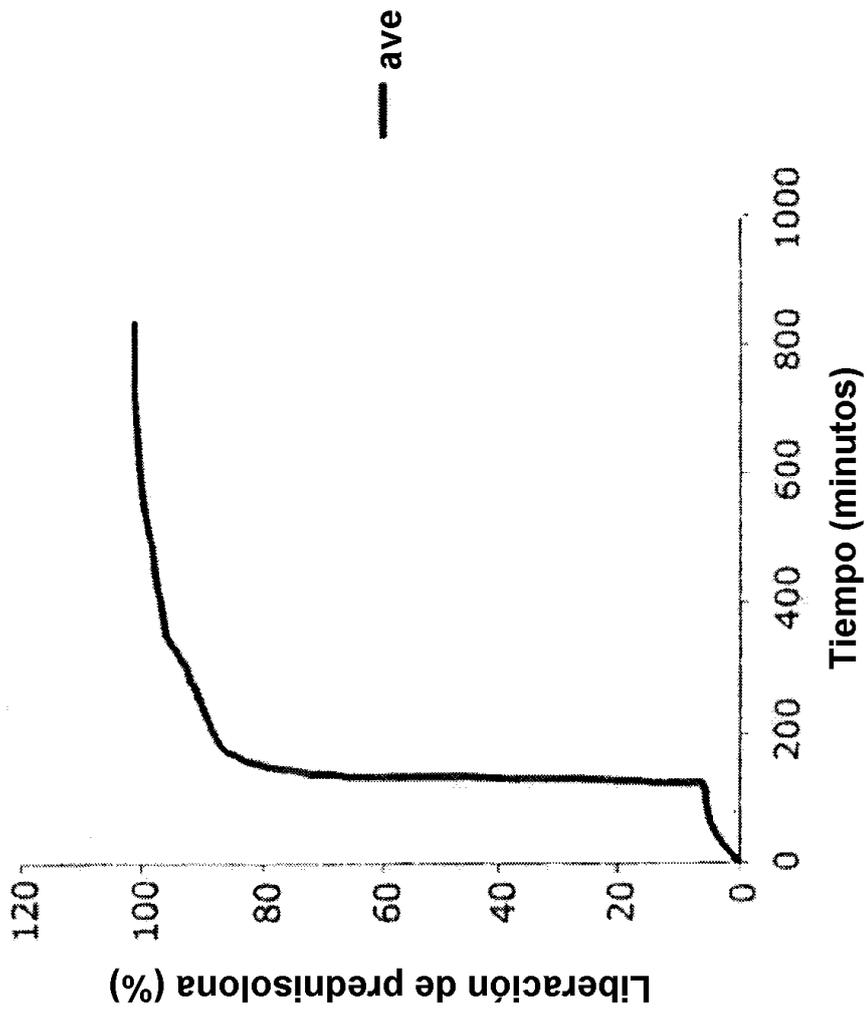


Fig. 12

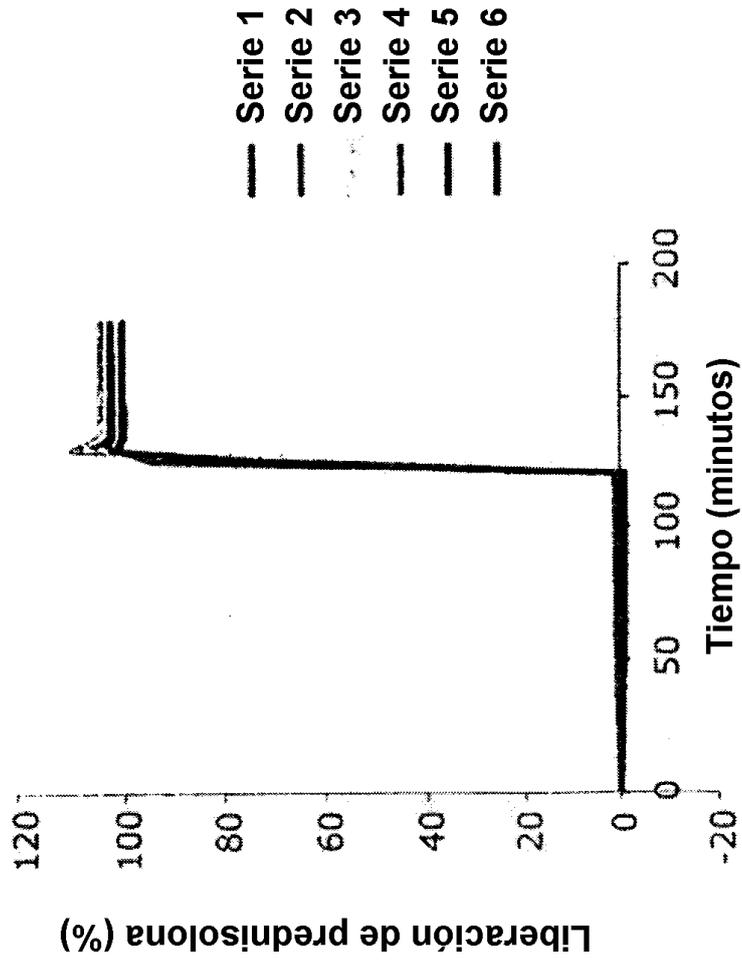


Fig. 13

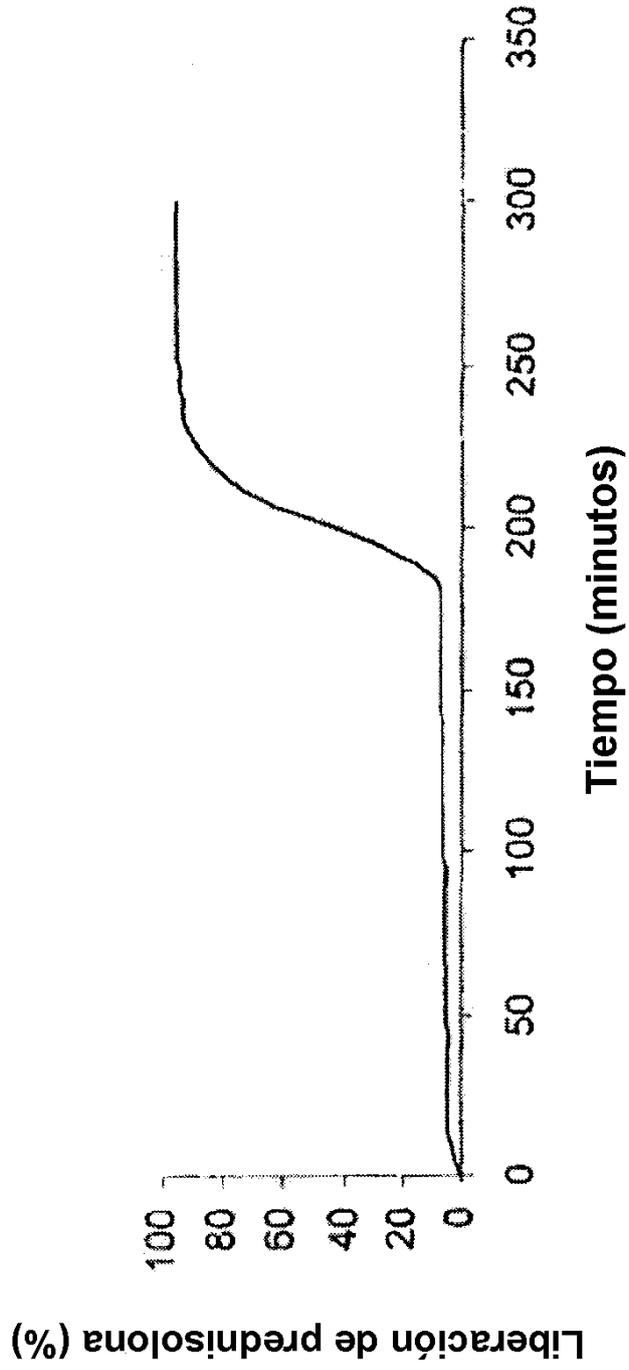


Fig. 14

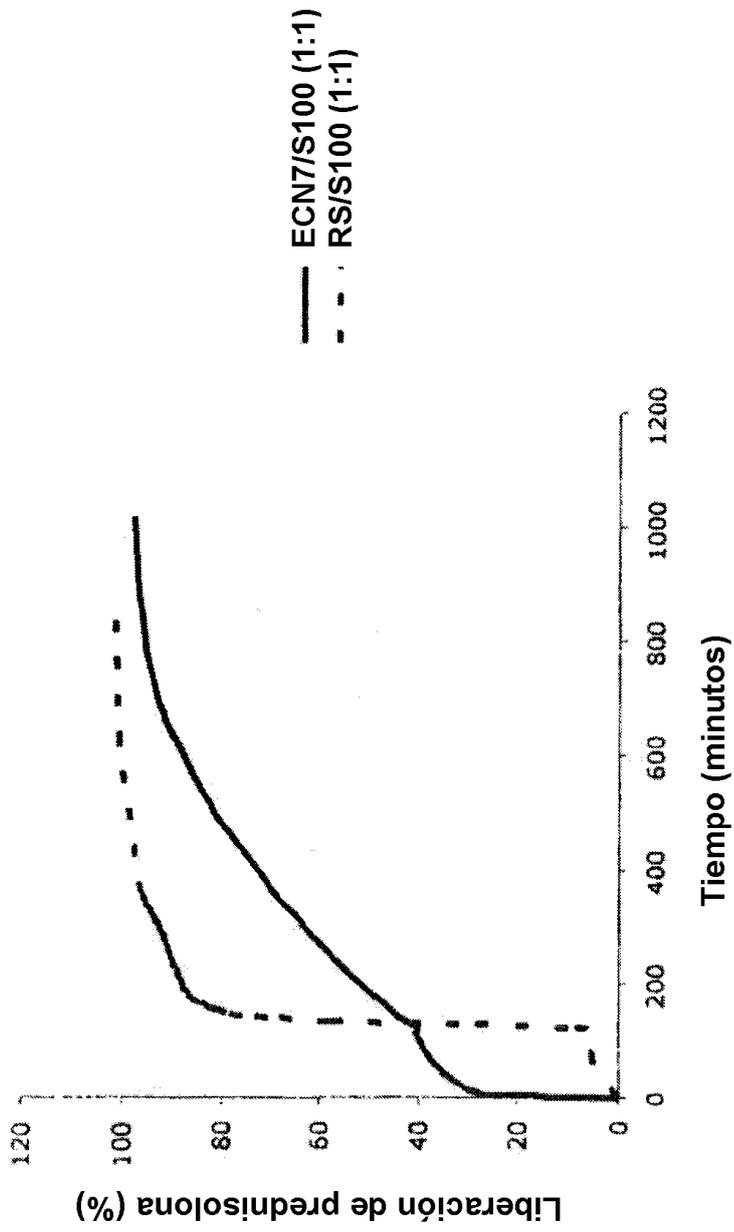


Fig. 15

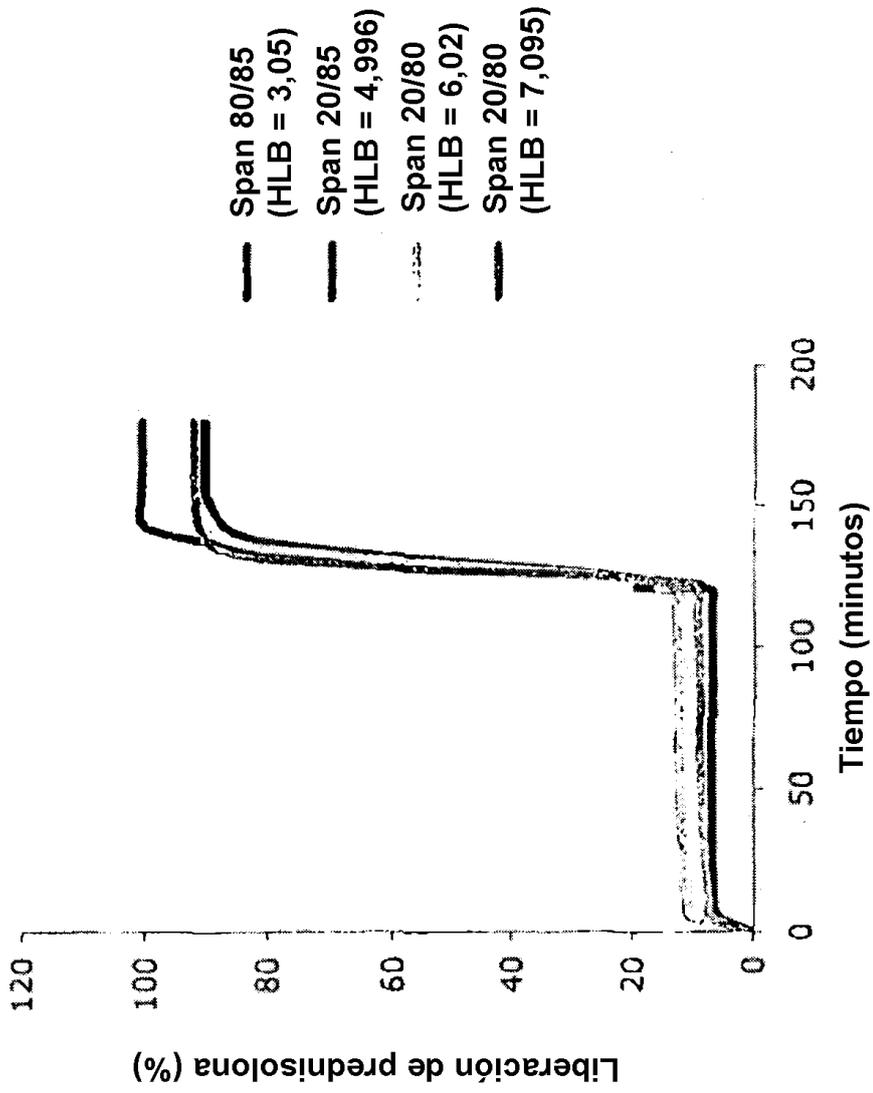


Fig. 16

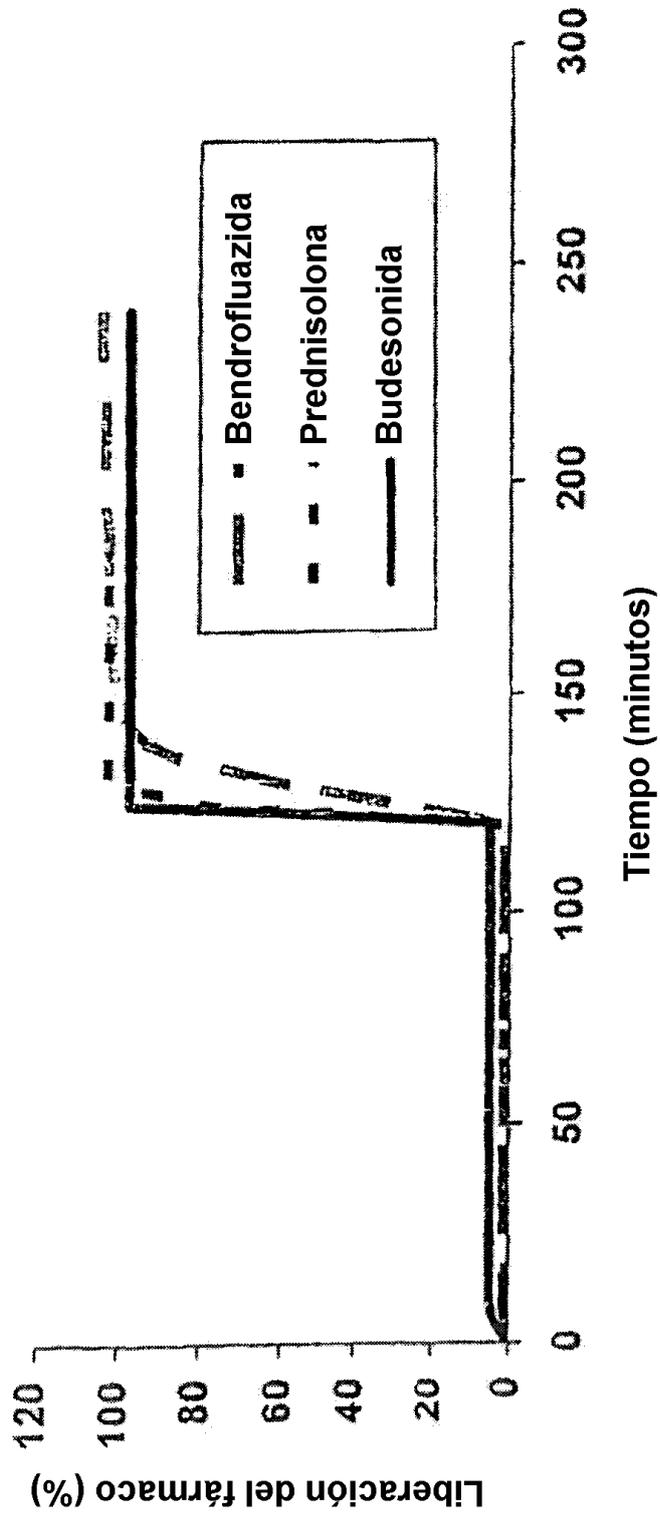


Fig. 17

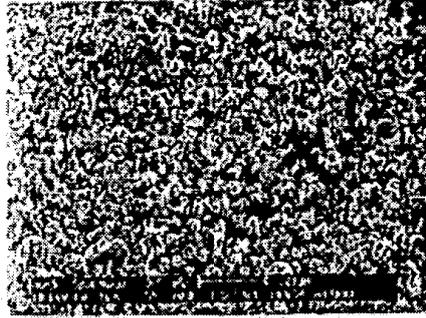


Fig 18A

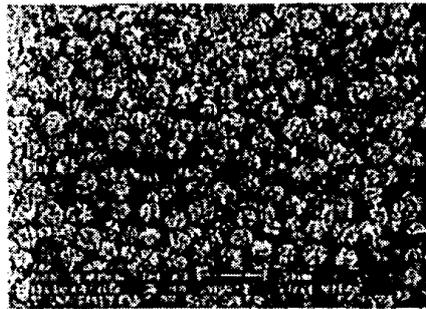


Fig 18B

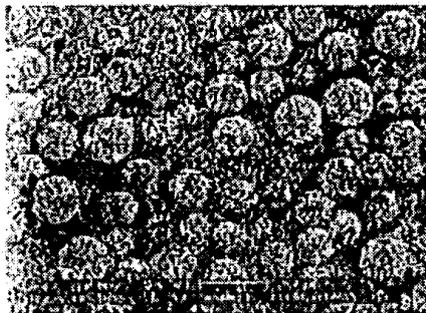


Fig 18C