

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 414 679**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/14** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.02.1998 E 98906435 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2013 EP 0994695**

54 Título: **Método de producción de microesferas en continuo**

30 Prioridad:

**13.02.1997 US 800924**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**22.07.2013**

73 Titular/es:

**OAKWOOD LABORATORIES L.L.C. (100.0%)  
7670 FIRST PLACE  
OAKWOOD, OH 44146, US**

72 Inventor/es:

**THANOO, BAGAVATHIKANUN, CHITHAMBARA y  
MURTAGH, JAMES**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 414 679 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**

Método de producción de microesferas en continuo.

**Antecedentes de la invención**

5 Las microcápsulas y microesferas formadas a partir de diversos polímeros y resinas naturales y sintéticos se han convertido en vehículos de administración muy populares para diversos agentes activos, tales como fármacos, reactivos diagnósticos y similares. Las microcápsulas y microesferas degradables son de particular interés para el uso en las llamadas formulaciones "depot", donde se desea la administración del agente activo a lo largo de un periodo de tiempo extenso. A pesar del creciente número de usos de las microcápsulas y microesferas, sigue habiendo una necesidad de un método económico y fiable para su fabricación que evite los residuos y gastos más significativos asociados con los métodos existentes, a la vez que proporcione simultáneamente productos que tengan las propiedades más deseables.

10 Los procedimientos para preparar microesferas implican típicamente la formación de al menos una fase dispersa en una fase continua. La fase dispersa incluye típicamente el agente activo y el polímero y, tras solidificación en la fase continua, se convierte en una microesfera. Las microcápsulas se forman de manera similar usando fases múltiples. 15 En una práctica típica, se forma una emulsión agua-aceite-agua (w/o/w), y se provoca que el polímero precipite de una fase sobre la superficie de una fase dispersa para formar una pared de cápsula sobre la misma tras la solidificación del polímero.

20 Una dificultad con los procedimientos actuales es su incapacidad para producir eficazmente partículas pequeñas que exhiban todas las propiedades deseadas de incorporación de fármaco, bajo contenido de disolvente residual y escalabilidad. Cuando las microesferas están destinadas a administración subcutánea, intramuscular o intravenosa, se requieren partículas pequeñas. Sin embargo, obtener partículas pequeñas requiere típicamente una fase continua que tiene una alta concentración de tensioactivos y/o viscosidad de la fase continua, y/o una fase dispersa de baja viscosidad. Esto puede necesitar ajustar la viscosidad, y aumenta el aporte de energía necesitada para partículas pequeñas, complicando más de este modo el procedimiento. Además, es necesario a menudo usar una fase dispersa altamente viscosa para obtener cargas de fármaco más altas. Sin embargo, es extremadamente difícil obtener partículas pequeñas con una fase dispersa altamente viscosa. Además, la agitación requerida para obtener los tamaños de partícula deseados da como resultado frecuentemente una espumación excesiva, especialmente cuando se usan concentraciones de tensioactivo aumentadas o fases continuas de viscosidad más baja. Esto es problemático en muchos sistemas porque, aunque enfriar el sistema aumentará la viscosidad y ayudará a estabilizar las gotitas y reducirá la espumación, la viscosidad de la FD tenderá a aumentar más drásticamente que, por ejemplo, una fase continua típicamente acuosa. Esto hará más difícil obtener gotitas pequeñas. Aún más, si la concentración del fármaco es cercana al límite de solubilidad de la solución de la fase dispersa, el fármaco podría separarse del sistema por cristalización, lo que puede dar como resultado una baja incorporación de fármaco y problemas de emisión súbita en el perfil de liberación.

35 En muchos casos, la espumación hará imposible obtener el tamaño de partícula deseado. En otros casos, las gotitas de la fase dispersa escapan de la zona de mezcla y darán como resultado partículas más grandes y una distribución de tamaños de partícula inaceptable. En aún otros casos, se podría conseguir un tamaño de partícula adecuado, pero la carga de fármaco es ineficaz, lo que puede hacer al proceso comercialmente inviable.

40 Otro problema encontrado con los procedimientos existentes se produce en el aumento a escala. Una vez que se obtiene un lote de microesferas o microcápsulas que tienen las características deseadas, tales como tamaño de partícula, carga de fármaco, perfil de liberación y similares, es necesario después aumentar a escala el procedimiento para la producción comercial. Aumentar a escala hasta la producción comercial implica típicamente varias series de producción sucesivamente más grandes, con diversos parámetros de proceso que cambian con cada aumento a escala sucesivo. Puede ser necesaria una gran cantidad de experimentación para obtener finalmente un lote a escala comercial que tenga las características de la serie inicial. Cuando un solo gramo de algunos de los fármacos más exóticos de hoy en día puede costar muchos miles de dólares, tener que experimentar en cada nivel sucesivo de aumento de escala puede ser extremadamente caro. Asimismo, el tiempo y gastos de capital asociados al aumento a escala de tales procedimientos nos puede poner en una desventaja competitiva significativa.

50 Hay una necesidad de un procedimiento que pueda producir eficazmente tamaños de partícula pequeños con buena carga de fármaco de una manera continua. El procedimiento debe adaptarse fácilmente a una amplia variedad de agentes activos y polímeros, permitir un aumento a escala económico y eficaz hasta la producción comercial y producir productos uniformes en toda una serie de producción dada.

55 El documento CH 653553 describe un procedimiento para preparar una suspensión de microesferas con una velocidad de alimentación de 100 ml/min.

**Descripción de la invención**

La presente invención está dirigida a un procedimiento continuo para producir microesferas de polímero que

- 5 contienen un agente activo de acuerdo con la reivindicación 1. Las microesferas producidas según el procedimiento inventivo son ideales para llevar fármacos, reactivos diagnósticos o diversos otros agentes activos. El procedimiento inventivo no sólo es continuo, también proporciona un medio sencillo, económico y eficaz de aumentar a escala desde un lote de ensayo hasta producción completa, a la vez que se mantiene un producto que tiene características uniformes en todo el ciclo de producción. No se requieren lotes sucesivamente más grandes para aumentar a escala. Una vez que se consigue una formulación deseada en una escala pequeña, sólo se necesita ejecutar el procedimiento durante un periodo de tiempo más largo para obtener cualquier tamaño de lote deseado. Ventajosamente, las microesferas producidas en todo el procedimiento tienen una excelente uniformidad.
- 10 Además, la espumación puede ser minimizada o eliminada por completo en la práctica del procedimiento inventivo, sin tener que aumentar la viscosidad de la fase continua. Se obtienen fácilmente en el procedimiento inventivo tamaños de partícula pequeños que tienen altas cargas de fármaco y bajas concentraciones de disolvente residual, incluso cuando es necesario emplear una fase dispersa viscosa. Es extremadamente difícil, si no imposible, obtener partículas pequeñas útiles con una fase dispersa altamente viscosa usando los procedimientos actuales. El procedimiento inventivo proporciona ventajosamente una gran cantidad de flexibilidad en el ajuste de diversos parámetros tales como el tamaño, sin poner en peligro la eficacia de carga, el rendimiento o la uniformidad, lo que permite el uso de las microesferas de la invención en una amplia variedad de métodos de administración. Por ejemplo, una ventaja de la realización preferida es que la intensidad de mezcla puede ser ajustada independientemente de los caudales de cualquiera o ambas de las fases dispersa y continua, lo que proporciona una flexibilidad significativa.
- 15 Por consiguiente, es un aspecto de la invención proporcionar un método continuo de preparación de microesferas de polímero que contienen agentes activos como se define en las reivindicaciones.
- 20 La fase dispersa es alimentada a dicho recipiente de reacción a una velocidad de aproximadamente 4 ml/min a aproximadamente 400 ml/min, y dicha fase continua es alimentada a dicho recipiente de reacción a una velocidad de aproximadamente 1.000 ml/min a aproximadamente 20.000 ml/min. En una realización preferida, la fase dispersa incluye un agente activo peptídico hidrófilo y un copolímero de lactida y glicolida, y el procedimiento comprende emulsionar las fases dispersa y continua de una manera eficaz para proporcionar un tamaño medio de partícula de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 40  $\mu\text{m}$ , y una carga de agente activo de al menos aproximadamente 9%. Aún más preferiblemente, el tamaño medio de partícula es de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 40  $\mu\text{m}$ , y la carga de agente activo es al menos aproximadamente 15%.
- 25 La fase continua y la fase dispersa son introducidas en el reactor en una relación de 40:1 a 200:1, y más preferiblemente, aproximadamente 80:1. La solidificación se produce dentro de aproximadamente 5 segundos.
- 30 En el método, el medio para formar una emulsión comprende un impulsor. El método comprende formar dicha emulsión haciendo funcionar dicho impulsor por encima de aproximadamente 5.000 revoluciones por minuto. En otra realización, el impulsor se hace funcionar de aproximadamente 6.000 a aproximadamente 10.000 revoluciones por minuto. Es otro aspecto de la invención que el diámetro de dicho impulsor define un diámetro de una zona cilíndrica que se extiende axialmente desde dicho impulsor, y dicha fase dispersa es introducida en dicha zona que se extiende axialmente.
- 35 En una realización, la fase dispersa es una solución homogénea. En otra realización, la fase dispersa es una emulsión. En una realización preferida, el tiempo de residencia medio de dicha fase dispersa en dicho reactor es menos que aproximadamente 5 segundos.
- 40 Es otro aspecto de la invención que las etapas del método se llevan a cabo durante un periodo suficiente para producir una población deseada de microesferas, y en donde las microesferas producidas al principio de dicho periodo tienen sustancialmente el mismo tamaño y carga de agente que las microesferas producidas al final de dicho periodo.
- 45 También se describe en la presente memoria un método para aumentar a escala la producción de cuerpos poliméricos que contienen un agente activo desde una primera población que tiene un tamaño medio de partícula y carga de agente deseados, hasta una segunda población, más grande, que tiene sustancialmente el mismo tamaño medio de partícula y carga de agente. Esta realización comprende introducir una fase continua y una fase dispersa que contiene dicho agente activo y polímero en un recipiente reactor, y mezclar dichas fases para formar una emulsión de dicha fase dispersa en dicha fase continua en dicho recipiente; transferir continuamente la emulsión desde dicho recipiente reactor a un recipiente de retirada de disolvente y retirar el disolvente de dicha emulsión en el mismo; obtener dicha primera población que tiene dichos tamaño medio de partícula y carga de agente deseados; y, después de eso, seleccionar una duración adecuada para realizar de manera continua las primeras dos etapas para producir una segunda población más grande deseada de cuerpos poliméricos que contienen agente, y realizar de manera continua las primeras dos etapas durante un periodo suficiente para obtener dicha segunda población.
- 50 En un aspecto preferido de este método, el tamaño medio de partícula y carga de agente deseados en dicha primera población se obtienen realizando las primeras dos etapas y ajustando al menos un parámetro seleccionado de la velocidad de alimentación de dicha fase dispersa en dicho recipiente reactor, la velocidad de alimentación de dicha
- 55

fase continua en dicho recipiente reactor, y la intensidad mediante la que son mezcladas dichas fases continua y dispersa, para obtener dicho tamaño medio de partícula y carga de agente deseados.

También se describen microesferas preparadas por el método descrito en la presente memoria.

5 Se tendrán muchos rasgos adicionales, ventajas y una comprensión más completa de la invención a partir de la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas y el dibujo acompañante.

### Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una representación esquemática estilizada de un aparato útil para llevar a cabo el procedimiento de la invención.

La Fig. 2 es una representación estilizada de una parte de un recipiente reactor preferido según la invención.

### 10 Descripción detallada de las realizaciones preferidas

En el procedimiento de la invención, una fase dispersa incluye un polímero y un agente activo. Preferiblemente, el agente activo es un fármaco o un agente diagnóstico, y las microesferas están destinadas a la administración de tal fármaco o agente diagnóstico a un paciente necesitado de los mismos. Los fármacos preferidos pueden ser fármacos peptídicos, fármacos proteínicos, fármacos esteroideos, fármacos no esteroideos, compuestos simples, etcétera. Se puede encontrar una lista representativa de fármacos adecuados y otros agentes activos en las patentes de EE.UU. Nos. 5.407.609, 4.767.628, 3.773.919 y 3.755.558, todas ellas incorporadas en la presente memoria por referencia. De particular interés son los agonistas de LH-RH tales como leuprolida, triptorelina, goserelina, nafarelina, historelina y busarelina, antagonistas de LH-RH, análogos de la somatostatina tales como octreotida, calcitonina humana, de salmón y de anguila, hormonas de crecimiento, hormonas liberadoras de hormonas del crecimiento, péptidos liberadores de hormonas del crecimiento, hormonas paratiroides y péptidos relacionados, interferón, eritropoyetina, GM-CSF, G-CSF, timosina, antitripsina, enterostatina, y fármacos de quimioterapia, antibióticos y analgésicos para administración regional. Un fármaco especialmente preferido para el uso en la presente invención es la leuprolida.

Para incorporar el agente activo en la fase dispersa, es necesario usualmente disolver el agente activo en un disolvente. Los disolventes para el agente activo variarán, por supuesto, dependiendo de la naturaleza del agente. Los disolventes típicos que se pueden usar en la fase dispersa para disolver el agente activo incluyen agua, metanol, etanol, dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida, dimetilacetamida, dioxano, tetrahidrofurano (THF), cloruro de metileno, cloruro de etileno, tetracloruro de carbono, cloroformo, éteres alquílicos inferiores tales como éter dietílico y éter metiletilílico, hexano, ciclohexano, benceno, acetona, acetato de etilo y similares. La selección de disolventes adecuados para un sistema dado estará dentro de la experiencia en la técnica a la vista de la presente descripción.

Los polímeros útiles en la presente invención también pueden variar. Se pueden encontrar ejemplos de polímeros conocidos por los expertos habituales en la técnica, y útiles en la presente invención, en, por ejemplo, las patentes de EE.UU. Nos. 4.818.542, 4.767.628, 3.773.919, 3.755.558 y 5.407.609, incorporadas en la presente memoria por referencia. Al seleccionar un polímero particularmente deseable para un sistema dado, se pueden considerar numerosos factores para los fines de producir un producto que tenga las características clínicas deseadas, tales como biodegradabilidad (p.ej., perfil de liberación) y biocompatibilidad. Una vez que un experto habitual en la técnica ha seleccionado un grupo de polímeros que proporcionarán las características clínicas deseadas, entonces los polímeros pueden ser evaluados en cuanto a las características deseables que optimizarán el procedimiento de fabricación. Por ejemplo, en algunos casos, puede ser posible seleccionar un polímero que interactúe con el agente activo de una manera que facilite el procesamiento de las microesferas, mejore la carga de fármaco, mejore la retirada del disolvente de la fase dispersa, o inhiba la migración del fármaco desde la fase dispersa hacia la fase continua.

Una consideración al seleccionar un polímero preferido es la hidrofiliidad/hidrofobicidad del polímero. Tanto los polímeros como los agentes activos pueden ser hidrófobos o hidrófilos. Donde sea posible, es deseable seleccionar un polímero hidrófilo para el uso con un agente activo hidrófilo, y un polímero hidrófobo para el uso con un agente activo hidrófobo. En las microesferas de LH-RH preferidas, se cree que una interacción iónica entre el fármaco y los grupos carboxílicos hidrófilos del polímero mejora la carga del fármaco. En general, sin embargo, dado que los fármacos hidrófilos son solubles en agua, si no hay afinidad entre el polímero y el fármaco, o la solidificación no es suficientemente rápida, la carga del fármaco puede disminuir. También es posible usar un fármaco hidrófilo en un polímero hidrófobo.

Al seleccionar un polímero particular, el efecto de la hidrofiliidad/hidrofobicidad del polímero sobre el disolvente residual en el sistema también debe ser considerado. Se puede esperar que un polímero hidrófilo dé un bajo contenido de disolvente residual con un fármaco hidrófilo, tal como un péptido hidrófilo. En el caso de las microesferas de leuprolida preferidas, el fármaco tiene tendencia a ayudar a eliminar el disolvente hidrófobo de las gotitas de la fase dispersa rápidamente y eficazmente. Además, se ha observado que una mayor carga de fármaco tiende a correlacionarse con concentraciones de disolvente residual más bajas. Por tanto, en algunos sistemas, hay

un beneficio indirecto, con un contenido de disolvente residual más bajo, cuando se incorporan fármacos hidrófilos en polímeros hidrófilos. Sin embargo, dado que hay otros factores influyentes sobre el disolvente residual aparte de la hidrofiliidad, este efecto puede no aplicarse uniformemente a fármacos no peptídicos. No obstante, se debe deducir que los agentes activos que mejoran la eliminación de disolvente de la gotita de fase dispersa, sin pérdida de fármaco concomitante, dan productos superiores.

Otra consideración es el peso molecular del polímero. Aunque el peso molecular de los polímeros afectará obviamente a las características del producto, tales como velocidad de liberación, perfil de liberación y similares, también puede afectar al procedimiento para producir las microesferas. Los polímeros de pesos moleculares más altos están asociados típicamente con una fase dispersa más viscosa, dando como resultado partículas más grandes o dificultades aumentadas para obtener partículas pequeñas y, en algunos casos, un disolvente residual incrementado. Por contraste, los polímeros de pesos moleculares más bajos están asociados típicamente con una solidificación más lenta, porque el polímero tiende a ser más soluble. En el sistema preferido, se ha encontrado que resulta un contenido de disolvente residual más alto, carga de fármaco más alta y eficacia de incorporación mejorada del uso de polímeros de peso molecular más alto. Una ventaja del procedimiento inventivo es su capacidad de formar microesferas buenas, pequeñas, de bajo contenido de disolvente residual, con polímeros de alto peso molecular, y, por ello, fases dispersas viscosas. Por supuesto, la selección particular también dependerá de las características deseadas del producto. Por ejemplo, cuanto más alto es el peso molecular, más largo es el tiempo de degradación en el cuerpo y más larga la duración de la liberación del fármaco.

Aún más, la concentración particular del polímero empleada puede afectar al sistema, no sólo desde el punto de vista de la morfología del producto, sino también desde el punto de vista del procesamiento. Un aumento en la concentración del polímero tiende a asociarse con una carga de fármaco más alta, porque una fase dispersa viscosa necesita eliminar menos disolvente para la solidificación. Una velocidad de solidificación aumentada tiende a causar una retención del fármaco más alta. Además, una fase dispersa viscosa conduce a menos difusión del fármaco en la fase continua durante la solidificación. En algunos sistemas esto también puede dar como resultado un contenido de disolvente residual más alto. En las realizaciones preferidas, la concentración de polímero en la fase dispersa será de aproximadamente 5 a aproximadamente 40%, y, aún más preferiblemente, de aproximadamente 8 a aproximadamente 30%.

Son polímeros especialmente preferidos los homopolímeros de ácido láctico, o copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico, es decir, polímeros de poli(lactida-co-glicolida) o "PLGA". La relación de residuos de ácido láctico a residuos de ácido glicólico puede variar, y oscilará típicamente de 25:75 a 75:25, aunque incluso podría encontrar uso un 10% de glicolida, dado que un alto contenido de lactida da como resultado una viscosidad más baja y una solubilidad más alta. Los copolímeros preferidos comprenden al menos aproximadamente 50% de residuos de ácido láctico, tal como polímeros 50:50 o 75:25. Los copolímeros de poli(lactida-co-glicolida) están disponibles en el mercado en varias fuentes, y se pueden preparar fácilmente por rutas de síntesis convencionales. Boeinger Inglehiem produce polímeros adecuados bajo las designaciones RG 502, RG 502H, RG 503, RG 503H, RG 752, RG 756 y otros. Con las microesferas de LH-RH preferidas se usa RG 502H y RG 503H en la fase dispersa, en concentraciones de 23% y 13% respectivamente. Tales copolímeros también se pueden preparar polimerizando ácido láctico y ácido glicólico o, preferiblemente, polimerizando los dímeros cíclicos del ácido láctico y del ácido glicólico, a saber, lactida y glicolida, como se describe en, por ejemplo, la patente de EE.UU. número 3.773.919, incorporada por referencia anteriormente.

Los disolventes para el polímero también variarán dependiendo de varios factores, que incluyen la naturaleza del polímero, el agente activo, la toxicidad, la compatibilidad con otros disolventes en el sistema e incluso el uso al que se destinará la microesfera. Por tanto, además de disolver el polímero, el disolvente debe ser inmiscible con la fase continua a fin de formar gotitas, altamente volátil para una eficacia de evaporación óptima, y deseablemente no inflamable por razones de seguridad. Los disolventes adecuados para los polímeros de poli(ácido láctico) o poli(lactida-co-glicolida) preferidos incluyen cloruro de metileno, cloroformo, acetato de etilo, pirrolidona sustituida y similares. En algunos casos, el disolvente para el agente activo será el mismo que el disolvente para el polímero. Algunos fármacos, típicamente agentes diagnósticos tales como sales inorgánicas radioactivas usadas en el análisis por toma de imágenes, no son solubles o son sólo ligeramente solubles en disolventes orgánicos. En estos casos, puede ser suspendido directamente un polvo fino, de tamaño submicrométrico, en la solución del polímero para formar microesferas. Aunque recurrir a esto será raro en la administración de fármacos, puede resultar útil con agentes diagnósticos.

El polímero, agente activo y disolvente o disolventes se combinan para formar la fase dispersa. En la realización preferida, la fase dispersa es una solución homogénea, verdadera, que se puede preparar mezclando entre sí el polímero, disolvente y agente activo para formar una solución. Alternativamente, se pueden preparar soluciones independientes de polímero y agente activo, cada uno en su propio disolvente, y mezclarlas posteriormente para formar la solución de la fase dispersa. En algunos casos, debido a la naturaleza del agente activo y/o polímero, la fase dispersa debe ser formada como una emulsión. Por ejemplo, cuando se disuelve un fármaco proteínico dado en un disolvente de agentes activos adecuado, la solución resultante puede ser completamente inmiscible con una solución del polímero en un disolvente del polímero particular. Para proporcionar una fase dispersa relativamente homogénea en la que el fármaco y el polímero estén entremezclados de manera relativamente uniforme, el fármaco y el disolvente del fármaco pueden ser emulsionados con el polímero y el disolvente del polímero para formar una

fase dispersa en emulsión. Tras la introducción de la fase dispersa en la fase continua se forma una emulsión agua/aceite/agua. En aún otros sistemas, la fase dispersa puede ser preparada formando una suspensión directa del agente activo en una solución de polímero.

5 De acuerdo con el procedimiento inventivo descrito más adelante, la fase dispersa descrita hasta ahora se dispersa o emulsiona en una fase continua para formar gotitas o inclusiones de la fase dispersa en la fase continua. Como se emplean en la presente memoria, los términos emulsionada o dispersa pretenden significar, en su sentido más amplio, regiones discretas de la fase dispersa entremezcladas dentro de la fase continua. Las inclusiones citadas se producirán típicamente como gotitas generalmente esféricas, pero en algunos casos pueden ser inclusiones irregulares debido a condiciones de emulsificación particulares. Se puede usar como fase continua cualquier medio adecuado en el que la fase dispersa forme gotitas o inclusiones, siendo especialmente deseables aquellos que proporcionen un espacio del disolvente máximo para el disolvente de la fase dispersa. Frecuentemente, la fase continua también contendrá tensioactivo, estabilizantes, sales u otros aditivos que modifiquen o afecten al proceso de emulsificación. Los tensioactivos típicos incluyen dodecilsulfato de sodio, dioctilsulfosuccinato de sodio, span, polisorbato 80, tween 80, pluronics y similares. Los estabilizantes particulares incluyen talco, PVA e hidróxido de magnesio coloidal. Los potenciadores de la viscosidad incluyen poli(acrilamida), carboximetilcelulosa, hidroximetilcelulosa, metilcelulosa y similares. Se pueden usar sales amortiguadoras como estabilizantes de fármacos, e incluso se puede usar sal común para ayudar a impedir la migración del agente activo hacia la fase continua. Un problema asociado con la saturación de sal de la fase continua es que el PVA y otros estabilizantes pueden tener tendencia a precipitar de la fase continua como sólidos. En tales casos se podría usar un estabilizante en partículas. Las sales adecuadas, tales como cloruro de sodio, sulfato de sodio y similares, y otros aditivos, serían evidentes para los expertos habituales en la técnica a la vista de la presente descripción.

25 En la realización preferida, la fase continua es agua. La fase continua acuosa incluirá típicamente un estabilizante. Un estabilizante preferido es el poli(alcohol vinílico) (PVA), en una cantidad de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5,0%. Aún más preferiblemente, el PVA está presente en una cantidad de aproximadamente 0,35%. Otros estabilizantes adecuados para el uso en la fase continua serían evidentes para los expertos habituales en la técnica a la vista de la presente descripción.

30 La selección de polímeros, disolventes y fases continuas particulares variará, por supuesto, dependiendo del agente activo y las características deseadas del producto. Una vez que se establecen las características deseadas del producto, tales como aplicación clínica, perfil de liberación y similares, puede haber no obstante alguna libertad en la selección de polímeros, disolventes y fases continuas para facilitar el proceso de producción.

35 Por ejemplo, en sistemas de solidificación lenta, o sistemas donde se desean partículas pequeñas, puede ser necesaria una fase continua viscosa y una concentración más alta de estabilizante para obtener las microesferas deseadas. Asimismo, si fuera necesario, la fase dispersa se puede preparar más viscosa enfriando, aumentando el peso molecular del polímero o aumentando la concentración del polímero. Por supuesto, ajustar la viscosidad de la fase continua complica más el procedimiento, y el uso de una fase dispersa con una alta viscosidad hace más difícil obtener partículas pequeñas. Aún más, además de complicar tanto el procedimiento como el aparato, enfriar la fase viscosa tendrá tendencia a reducir la solubilidad del disolvente de la fase dispersa en la misma, lo que puede conducir a contenidos de disolvente residual más altos y/o periodos de retirada del disolvente más largos. La cristalización del fármaco podría también ser un problema con el enfriamiento. Una ventaja de la realización preferida de la invención es que, como la espumación no es un impedimento significativo, no es necesario enfriar o ajustar de otro modo la viscosidad de las fases para obtener tamaños de partícula pequeños. El presente procedimiento nos permite obtener tamaños de partícula pequeños incluso cuando es necesario usar una fase dispersa viscosa, sin tener que ajustar la viscosidad de la fase continua para impedir la espumación. Esto simplifica el procedimiento y reduce los costes.

45 Al llevar a cabo el procedimiento, una vez que se preparan las fases dispersa y continua, son alimentadas a un recipiente de reacción en el que la fase dispersa es entremezclada o emulsionada para formar gotitas o inclusiones en la fase continua como se describe más adelante.

50 Haciendo referencia a la Fig. 1, el procedimiento comienza después de que el recipiente 10 de reacción es cebado con un volumen de partida adecuado de fase continua desde el reservorio 12 de la fase continua. En el caso de, por ejemplo, un recipiente 10 reactor de 90 ml, el volumen de partida será del orden de aproximadamente 70 ml. Por supuesto, el volumen de partida o cebado real dependerá del tamaño y configuración del recipiente reactor, la ubicación de la tubería 20 de recogida y, en el caso de un recipiente reactor cerrado, la cantidad mínima de espacio en cabeza necesitado para controlar la espumación. Los expertos habituales en la técnica pueden seleccionar empíricamente el volumen de cebado adecuado para cualquier sistema dado.

55 El recipiente 10 reactor puede ser abierto o cerrado, y es preferiblemente cerrado. Los fluidos son movidos ventajosamente a través del sistema cerrado por la acción bombeadora del mezclador. Además, un recipiente de reacción cerrado también reduce el potencial de problemas de espumación. Un recipiente 10 preferido está disponible en el mercado en Silverson Machines Inc., designado como montaje mezclador en línea para L4R/L4RT. A fin de implementar los rasgos ventajosos del procedimiento inventivo, el aparato citado fue modificado para añadir un segundo orificio de entrada para la fase dispersa, como se describe en más detalle más adelante. El tubo de

entrada tenía un diámetro de aproximadamente 1/5 a 1/10 del diámetro del tubo de entrada que viene con el aparato. La punta del tubo fue posicionada aproximadamente 0,63 centímetros (1/4 de pulgada) por debajo de la cabeza del agitador.

5 Una vez que el reactor 10 es cebado, la fase continua es bombeada o extraída hacia el reactor 10 por medio de una tubería 16 de alimentación de la fase continua, y la fase dispersa es bombeada o extraída simultáneamente hacia el reactor 10 por medio de la tubería 18 de alimentación de la fase dispersa desde el reservorio 13 de la fase dispersa. En el caso de un reactor abierto, la emulsión de la fase continua es bombeada o extraída continuamente del reactor 10 por medio de la tubería 20 de recogida hacia el tanque 22 de evaporación del disolvente. En el reactor 10 cerrado preferido, las microesferas formadas o formándose son bombeadas desde el reactor 10 para un procesamiento posterior mediante la acción del mezclador. En una escala piloto pequeña, la fase dispersa es almacenada en un embudo de adición pequeño, por ejemplo, de 125 ml, que es presurizado para alimentar al recipiente reactor. La fase continua es retenida en un reservorio grande, pero en la producción a gran escala ambas fases (fluidos) pueden ser contenidas en tanques de presión estándar de acero inoxidable. Después de eso, una válvula medidora en la tubería de adición de la fase continua puede controlar el flujo de fase continua desde el tanque presurizado. 10 15 Alternativamente, para aparatos de pequeña escala, la fase continua puede ser bombeada hacia el reactor desde un recipiente no presurizado usando una bomba peristáltica calibrada. El caudal de la fase dispersa desde, por ejemplo, un recipiente presurizado de vidrio o acero inoxidable, puede ser controlado uniformemente usando una válvula de aguja micrométrica precalibrada. Para la producción a gran escala, se podrían usar dispensadores de bomba medidores sin válvula desde un tanque no presurizado.

20 Dos aspectos importantes del procedimiento de la invención implican la introducción de la fase dispersa y la fase continua en el recipiente 10. Primero, la relación de la fase dispersa a la fase continua, que puede afectar a la velocidad de solidificación, la carga de agente activo, la eficacia de retirada del disolvente de la fase dispersa, y la porosidad del producto final, es controlada ventajosamente y fácilmente controlando el caudal de las fases dispersa y continua hacia el recipiente 10 por medio de las tuberías 16 y 18 de alimentación. Segundo, el tamaño de las gotitas, la velocidad de solidificación y la eficacia de retirada del disolvente son afectados también por el lugar donde se introduce la fase dispersa en el reactor 10 en relación al dispositivo de emulsificación. Cada uno de estos aspectos de la invención se discuten en más detalle a continuación.

30 Primero, como se indicó, la relación de fase dispersa a fase continua afecta a la velocidad de solidificación, la carga de fármaco y, de manera importante, la cantidad de disolvente residual en la microesfera. Como mínimo, debe haber suficiente fase continua en relación al disolvente de la fase dispersa para crear un espacio para el disolvente de la fase dispersa. Por tanto, como mínimo, la cantidad de fase continua debe ser mayor que el límite de solubilidad del disolvente de la fase dispersa en la fase continua. La relación máxima de fase dispersa a fase continua estará limitada por el tamaño físico del aparato usado, la cantidad deseada de espacio en cabeza, el tamaño del tanque de evaporación y similares. La regla general es que, aumentando la cantidad de fase continua, se crea un mayor espacio para el disolvente de la fase dispersa. Además, aumentar la cantidad de espacio en cabeza, conjuntamente con un dispositivo de barrido con aire u otros medios para reemplazar o retirar aire/vapor de la zona por encima de la superficie de la fase continua, puede mejorar también la naturaleza del espacio de la fase continua. En la práctica, esto se hará preferiblemente en un tanque de retirada del disolvente y no en el reactor. 35

40 Entre las cantidades máxima y mínima deseadas de fase continua a fase dispersa, el presente procedimiento proporciona una gran cantidad de flexibilidad en el control y ajuste de la relación, a la vez que permite simultáneamente que el procedimiento sea ejecutado de una manera continua. Ventajosamente, en el procedimiento continuo de la invención, la relación de fase dispersa a fase continua puede ser controlada fácilmente controlando la velocidad de alimentación de cada una al recipiente reactor. Esto a su vez se consigue fácilmente y con precisión usando reguladores de flujo disponibles en el mercado, tales como medidores de flujo de turbina, de rueda de palas, 45 de tipo rueda dentada, de desplazamiento positivo o magnético, o bombas medidoras sin válvula o aparatos similares evidentes para los expertos habituales en la técnica. Un beneficio único de la presente invención es que la relación de fase dispersa a fase continua puede ser mantenida constantemente en todo el procedimiento entero, lo que permite la producción consistente de microesferas uniformes en toda la duración entera de una serie de producción dada.

50 Las relaciones reales de fase continua a fase dispersa dependerán del producto deseado, el polímero, el fármaco, los disolventes, etc., y pueden ser determinadas empíricamente por los expertos habituales en la técnica. En el método de la invención, la relación de fase continua a fase dispersa oscilará de aproximadamente 40:1 a aproximadamente 200:1. En el sistema LH-RH preferido, la relación óptima es aproximadamente 80:1. Esto se traduce en caudales para la fase dispersa de aproximadamente 1.000 ml/min a aproximadamente 5 ml/min, más preferiblemente de aproximadamente 40 ml/min a aproximadamente 12 ml/min, y aún más preferiblemente aproximadamente 25 ml/min, con un caudal de fase continua fijado a 2.000 ml/min. Si el caudal de la fase continua es aumentado, el caudal de la fase dispersa cambiará de manera correspondiente. En una escala de producción, el caudal de la fase continua puede ser tan alto como 20.000 ml/minuto para reducir el tiempo de procesamiento. En el procedimiento preferido para preparar microesferas de LH-RH, el caudal de la fase continua será del orden de 60 aproximadamente 2.000 ml/min y el caudal de la fase dispersa será del orden de aproximadamente 25 ml/min.

Como se muestra en la Fig. 1, la tubería 16 de alimentación de la fase continua es sustancialmente más grande que

la tubería 18 de alimentación de la fase dispersa, para adaptarse al significativamente mayor volumen de fase continua usado. El caudal de las fases dispersa y continua puede ser controlado por bombas y reguladores de flujo, tales como la bomba peristáltica calibrada y la válvula de aguja medidora citadas anteriormente. Como se muestra, las FC y FD pueden ser bombeadas hacia el recipiente 10 reactor por las bombas 24. Alternativamente, pueden ser extraídas hacia el recipiente mediante vacío o por la acción bombeadora del mezclador, y sus caudales pueden ser controlados por diversos reguladores de flujo. Asimismo, la emulsión de la fase continua puede ser bombeada desde el reactor 10 hasta el tanque 22 de evaporación del disolvente por la bomba 26, en el caso de un sistema reactor abierto, o por la acción bombeadora del impulsor en un sistema cerrado. En un aparato a escala de laboratorio, la bomba 24 de la fase continua puede ser una bomba peristáltica simple. Sin embargo, debido a la presión de cabeza por encima de la fase dispersa, el uso de una bomba peristáltica es difícil para entregar la fase dispersa al recipiente 10. Por supuesto, este problema se reduce o elimina si se usa un disolvente menos volátil. Después de formar la emulsión en el recipiente 10 reactor, la emulsión de la fase continua es extraída o bombeada fácilmente desde el recipiente 10 reactor hacia el tanque 22 de evaporación del disolvente. Por supuesto, dependiendo del aparato específico usado, puede sin embargo ser necesario emplear bombas en las tuberías 16,18 de alimentación de la fase continua y la fase dispersa, y como mínimo reguladores de flujo. La selección de bombas adecuadas, reguladores de flujo y similares estará dentro de la experiencia en la técnica a la vista de la presente descripción.

Como se indicó anteriormente, la ubicación de las tuberías 16,18 de alimentación de la fase continua y la fase dispersa puede ser extremadamente importante, independientemente de si el recipiente 10 de reacción es abierto o cerrado. En particular, es deseable tener la entrada de fase dispersa al recipiente 10 en la zona óptima para la formación de microesferas que tengan las características deseadas.

Se cree que una ventaja de la presente invención se deriva del uso de una emulsificación de intensidad excepcionalmente alta. Mezclando mecánicamente las fases dispersa y continua bajo alta turbulencia, se cree que la velocidad de retirada del disolvente de la fase dispersa aumenta. Presumiblemente, esto es porque la intensidad de mezcla aumentada causa que la fase dispersa interactúe con más fase continua por unidad de tiempo. Una velocidad aumentada de retirada de disolvente de la fase dispersa a la fase continua tiende a aumentar la velocidad de solidificación de la fase dispersa. Incluso en aquellos casos donde, debido al polímero, a los disolventes y/o a la fase continua usada, la fase dispersa se solidifica inherentemente de manera lenta, el cizallamiento o turbulencia aumentado inducido por la intensidad de mezcla aumentada asociada con la realización preferida debe proporcionar un efecto de retirada del disolvente mejorado y, por ello, una velocidad de solidificación ventajosamente aumentada y un contenido de disolvente residual reducido.

Se cree también que la mezcla de alta intensidad acorde con la invención afecta ventajosamente al tamaño y carga de agente de las microesferas. Debido al alto cizallamiento y/o alta turbulencia asociados con el procedimiento inventivo, la fase dispersa es forzada a formar agregados más pequeños o gotitas. Además, la rápida solidificación ayuda a impedir la migración del fármaco desde la fase dispersa, y dificulta la capacidad de la fase dispersa de agregarse en gotitas progresivamente más grandes. Como tal, es posible obtener microesferas muy pequeñas que tienen ventajosamente una alta carga de fármaco. Suponiendo que el fármaco es adecuadamente fóbico a la fase continua, tal como por la naturaleza del fármaco, los aditivos para la FC o similares, o porque el fármaco ha potenciado su afinidad por el polímero o similares, la rápida solidificación asociada con la emulsificación de alta intensidad de la invención puede proporcionar microesferas muy pequeñas que tienen una excelente carga de fármaco. La intensidad de mezcla y los tamaños de las microesferas asociados con la presente invención se consiguen sin problemas serios de espumación ni tener que complicar adicionalmente el procedimiento adoptando medidas para compensar la espumación. Además, se pueden conseguir microesferas pequeñas incluso cuando es necesario o deseable emplear una fase dispersa más viscosa.

Aunque es deseable una intensidad de mezcla aumentada de acuerdo con la invención, el cizallamiento real entre dos superficies, tal como una impulsor de cuchillas y un estátor de rejilla, también puede afectar de manera adversa a las microesferas resultantes. Por ejemplo, donde la fase dispersa es introducida directamente en una zona de alto cizallamiento, tal como el hueco entre el impulsor y la rejilla, las microesferas pueden solidificarse tan rápidamente y ser sometidas a fuerzas de cizallamiento tan intensas que llegan a ser alargadas y deformes, en lugar de esféricas como se prefiere. Por consiguiente, la ubicación de las tuberías de alimentación, en particular la alimentación de la fase dispersa, puede afectar significativamente al procedimiento. Situando apropiadamente la introducción de la fase dispersa en el recipiente 10, se puede asegurar la producción de partículas esféricas uniformes, y la rápida solidificación. En la realización mostrada en la Fig. 2, la punta de la tubería 18 de alimentación de la fase dispersa no necesita entrar físicamente en la cámara del recipiente. Como se muestra, la tubería de alimentación puede ser empotrada en el canal 19 de tal modo que las fases continua y dispersa puedan entrar en la zona de mezcla juntas. Sin embargo, es deseable que las fases continua y dispersa no se junten demasiado tiempo antes de entrar en el recipiente reactor.

De acuerdo con la invención, la fase dispersa debe ser introducida en una zona de mezcla altamente intensa, caracterizada por un alto cizallamiento y/o alta turbulencia eficaz para causar una alta velocidad de retirada de disolvente desde la fase dispersa hasta la fase continua y, preferiblemente, correspondiente a una alta velocidad de solidificación del polímero. Sin embargo, la fase dispersa no debe ser introducida en tales fuerzas de alto cizallamiento como para deformar o afectar de manera adversa de otro modo a las microesferas. La ubicación óptima de las tuberías de alimentación puede ser determinada empíricamente por los expertos habituales en la

técnica en base a la presente descripción, y variarán obviamente dependiendo del aparato particular usado.

5 En el método de la invención, la zona de mezcla de alta intensidad se define como aquella en la que el polímero de la fase dispersa se solidifica en menos que aproximadamente 5 segundos. En la realización de LH-RH preferida, las microesferas se solidifican en menos que aproximadamente 3 segundos. La introducción en la zona de mezcla adecuada se puede llevar a cabo situando la tubería de entrada de la fase dispersa en cercana proximidad al impulsor de emulsificación. En una realización preferida, mostrada en la Fig. 1, el aparato de emulsificación incluye un impulsor 27, y un estátor 28 o rejilla emulsora correspondiente. El impulsor tiene un diámetro que define un diámetro de una zona cilíndrica que se extiende axialmente desde dicho impulsor y ortogonal al plano de rotación del impulsor, mostrado en dos dimensiones en Z en la Fig. 1. En esta realización, la fase dispersa es introducida preferiblemente dentro de la zona Z. Más preferiblemente, la fase dispersa es introducida dentro de la zona Z en cercana proximidad, dentro de aproximadamente 20 mm, del impulsor. Aún más preferiblemente, la fase dispersa es introducida aproximadamente 3 a 10 mm por debajo del impulsor. En el caso del aparato Silverson preferido, el impulsor tiene un diámetro de 32 mm, y el estátor de rejilla un diámetro de 34 mm. Así, en este caso la zona cilíndrica tendrá un diámetro de aproximadamente 32 mm, y en la que las fuerzas de cizallamiento más intensas son establecidas en el espacio de dos milímetros entre el impulsor y el estátor.

10 El emulsificador de alta intensidad de turbulencia es un aparato de tipo impulsor. Una ventaja de los mezcladores no estáticos es que se puede controlar la intensidad de mezcla independientemente de los caudales de las fases hacia el dispositivo. Lo que es importante es que es capaz de proporcionar una adecuada intensidad de mezcla de acuerdo con el procedimiento de la invención. Con el aparato de tipo impulsor, se puede obtener una intensidad de emulsión adecuada haciendo funcionar el impulsor por encima de aproximadamente 5.000 rpm. Preferiblemente, el impulsor se hace funcionar de aproximadamente 6.000 a aproximadamente 10.000 rpm, y lo más preferiblemente aproximadamente 7.000. Las revoluciones por minuto de los dispositivos de tipo impulsor proporcionan una buena aproximación a la intensidad de mezcla adecuada. Por supuesto, la magnitud de las fuerzas de cizallamiento, y con ello la intensidad de mezcla, también puede ser aumentada ajustando el espacio entre el impulsor y el emulsor de rejilla o estátor. Asimismo, la intensidad experimentada por la fase dispersa también puede ser ajustada situando apropiadamente la alimentación, como se discutió anteriormente. Los aparatos disponibles en el mercado adaptables para el presente procedimiento incluyen mezcladores en línea de Silverson, mezcladores Ross y similares. Una ventaja significativa de la realización preferida es que se puede emplear una emulsión de alta intensidad, tal como la inducida usando un impulsor a velocidades superiores a 5.000 rpm, sin crear un problema de espumación.

20 Notablemente, dependiendo del agente activo, polímero, disolventes, fase continua, el volumen de cada uno, y numerosos otros factores, algunos sistemas simplemente no se solidificarán rápidamente, incluso cuando la intensidad de mezcla sea sustancial. En tales sistemas, las ventajas más significativas del procedimiento inventivo, por ejemplo, aumento a escala, eliminación del problema de espumación y posibilidad asociada de obtener partículas pequeñas con buena carga de fármaco, uniformidad del producto y similares, no se pierden.

25 Una vez que se forma la emulsión de la fase dispersa y la fase continua, la emulsión es transferida continuamente desde el recipiente 10 de reacción a un tanque 22 de retirada de disolvente. Como se emplea en la presente memoria, la "emulsión" puede ser una emulsión real, pero el producto del método reivindicado será una suspensión de partículas solidificadas de la fase dispersa suspendidas en la fase continua. Si la solidificación no es especialmente rápida, la emulsión que es transferida puede consistir en una suspensión de gotitas de fase dispersa en proceso de solidificación.

30 En el caso de un recipiente de reacción abierto, la transferencia se hace con una o más bombas. En el caso del recipiente de reacción cerrado preferido, la transferencia se puede hacer usando el propio mezclador como bomba, o, dado que el tanque de evaporación del disolvente puede extraer un vacío, se puede hacer por vacío. La retirada del disolvente es importante en la preparación de microesferas, especialmente cuando las microesferas resultantes están destinadas a aplicaciones clínicas.

35 De manera interesante, se observa que, en el sistema preferido, si bien la solidificación de microesferas es virtualmente instantánea, las microesferas formadas son susceptibles no obstante a ceder disolvente residual adicional a la fase continua. Por consiguiente, se cree que es necesaria alguna forma de proceso de evaporación del disolvente para obtener los deseablemente bajos contenidos de disolvente residual necesarios para muchas aplicaciones clínicas.

40 En el tanque de evaporación del disolvente, la composición es agitada. Cualquier recipiente en el que la atmósfera pueda ser controlada podría ser suficiente. Típicamente, la composición será agitada en el tanque de evaporación del disolvente durante 3 a 8 horas, y en la realización preferida aproximadamente 4. Se prefiere que el espacio en cabeza sea aproximadamente 1/3 de la capacidad del tanque. Cambiar el aire en el espacio en cabeza del recipiente, p.ej., reemplazando el aire por aire nuevo, nitrógeno u otro gas, ha demostrado ser un medio altamente eficaz de maximizar la retirada de disolvente. En la realización preferida, el caudal es aproximadamente 30 l/min, con un espacio en cabeza de 25 litros. En esta realización, el aire en el espacio en cabeza es cambiado aproximadamente una vez por minuto. Otras etapas de retirada del disolvente adecuadas para el uso en conexión con la presente invención serían evidentes para los expertos habituales en la técnica a la vista de la presente

descripción. Por tanto, se puede usar dilución aumentada o infinita con fase continua, o reemplazar la fase continua saturada de disolvente con fase continua nueva, el uso de un dispositivo de barrido con aire y/o vacío y similares, para extraer disolvente adicional en el tanque de retirada de disolvente después de la formación de las microesferas. La dilución infinita no es típicamente conveniente para la fabricación a nivel de producción. Sin embargo, para algunos productos, tales como aquellos sensibles a la temperatura, puede ser útil.

Se cree que en la realización preferida, en la que el agente activo es LH-RH y el polímero es una d,l-poli(lactida-co-glicolida) hidrófila, la retirada del disolvente por evaporación, que incluye preferiblemente un dispositivo de barrido con aire, es necesaria para obtener el grado deseado de retirada del disolvente.

La carga de fármaco, en el caso de las microesferas de LH-RH preferidas, se establece como objetivo a 20,5%, en base al sólido total. En la práctica, se pueden obtener cargas de fármaco del orden de 15 a 19%. Por supuesto, la naturaleza del fármaco, el perfil de liberación deseado, la naturaleza del polímero y, por supuesto, el procesamiento pueden afectar todos a la carga de fármaco deseada y la real. En el caso típico, se desean y son alcanzables con el procedimiento de la invención cargas de fármaco del orden de 5% a 20% en base al peso combinado de fármaco y polímero.

Ventajosamente, una vez que se obtiene la carga de fármaco deseada y se determinan los parámetros de velocidad de alimentación, temperatura, etc., el aumento a escala a lotes más grandes, incluyendo lotes a nivel de producción, llega a ser una simple cuestión de ejecutar el procedimiento durante más tiempo. No son necesarios tubos de alimentación adicionales, emulsionantes, impulsores o similares para producir un mayor número de microesferas que tengan las características deseadas. Además, las microesferas producidas durante el procedimiento continuo de la invención son excepcionalmente uniformes en términos de tamaño, carga de agente y similares, independientemente de cuándo se produjeron durante el proceso.

Estos y otros aspectos de la invención serán mejor entendidos a partir de los siguientes ejemplos.

A menos que se indique de otro modo, se usó el siguiente aparato en los ejemplos. El mezclador en línea Silverson fue modificado con la entrada adicional para la fase dispersa que se describió anteriormente en la presente memoria, y se conectó a un agitador Silverson modelo 4LR. El tubo de salida fue conectado a un bio-reactor con camisa de 7 litros de Applikon. Uno de los orificios de la placa superior del Applikon se conectó a la bomba de vacío, otro a un filtro seco de 0,2  $\mu\text{m}$  para servir como entrada de aire, otro sirvió como entrada desde el Silverson, y el cuarto sirvió como tubería de recogida.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

Este es un ejemplo de un procedimiento típico usado para preparar microesferas de poli(lactida-co-glicolida) y Leuprolida (LH-RH).

El polímero hidrófilo RG503H es un copolímero 50:50 de poli(lactida-co-glicolida) de Boehringer Ingelheim que tiene una viscosidad inherente de 0,42 dl/g. Este polímero tiene un peso molecular medio ponderal ( $M_w$ ) del orden de 30.000. Se preparó una solución de este polímero disolviendo 7,0 gramos de RG503H en 36 g de diclorometano. La solución del fármaco se preparó por separado disolviendo 1,00 g de acetato de leuprolida en 8,56 g de metanol. La fase dispersa (FD) se preparó combinando la solución de leuprolida y la solución del polímero, con mezcla. La FD así formada es una solución homogénea amarilla clara, relativamente transparente. Después, la FD se transfirió a un embudo de adición de presión de 124 ml y se conectó a la entrada de FD de la unidad Silverson a través de una válvula de aguja micrométrica de teflón. Se aplicó presión de cabeza al embudo de adición (478,8 Pa, 10 psi) por encima de la fase continua (FC). La llave de paso del embudo de adición fue mantenida cerrada hasta que se inició la adición de la FD.

La fase continua (FC) fue una solución de poli(alcohol vinílico) (PVA) al 0,35% (p/v) preparada en un vaso de precipitados de 7 litros disolviendo 14,0 g de PVA (soluble en agua fría, PM 30.000-70.000) en 4.000 ml de agua. El tubo de adición de la FC a la unidad Silverson desde el tanque de FC usó una bomba peristáltica para el control del flujo. El tubo de salida de la unidad Silverson fue conectado al tanque de evaporación del disolvente, que es un reactor Applikton de 7 litros con un recipiente con camisa y un montaje de sello de reborde.

La unidad Silverson fue cebada con FC, y el aire atrapado en la celda fue retirado abriendo la válvula de purga. El motor del agitador del Silverson fue encendido a 7.000 rpm, y la FC y la FD fueron introducidas en el reactor simultáneamente. El caudal requerido de FC y FD fue alcanzado y mantenido constante usando la bomba peristáltica (para la FC) y la válvula de aguja (para la FD). El tiempo de adición fue 2 minutos, durante el cual fueron introducidos 52,6 gramos de FD y 4.000 ml de FC al mezclador a una velocidad de flujo constante.

Las microesferas fueron formadas en la unidad Silverson y entregadas como una suspensión hacia el tanque de evaporación del disolvente. El aire del espacio en cabeza fue reemplazado constantemente usando la bomba de vacío. El flujo de aire a través del espacio en cabeza fue aproximadamente 29 litros estándar por minuto. La temperatura del tanque de evaporación fue aumentada de 25°C a 42°C y mantenida durante 3 horas. La temperatura

más alta y el dispositivo de barrido con aire ayudaron al sistema a conseguir menor disolvente residual en las microesferas.

5 Después de la evaporación del disolvente, la temperatura del sistema fue disminuida a 25°C y las microesferas se recogieron por filtración a presión (239,4-957,6 Pa, 5-20 psi) sobre un filtro de 5 µm usando un montaje de celda agitada de 2.000 ml (M-2000, de Amicon). Las microesferas se lavaron con 2.000 ml de agua estéril para inyección (WFI, por sus siglas en inglés) y fueron liofilizadas en masa como una suspensión concentrada en WFI (aprox. 0,3 g/ml). Por supuesto, este procedimiento cambiará con el aumento a escala para producción comercial.

10 Las microesferas preparadas según este ejemplo tuvieron una carga de fármaco de 9,88%, mostrando una eficacia de incorporación de fármaco de 79%. El análisis microscópico mostró que las microesferas eran esféricas y las partículas oscilaron de no porosas a parcialmente porosas. Las partículas pequeñas eran no porosas, mientras que las partículas más grandes mostraron algo de porosidad. La densidad aparente de las microesferas fue 0,588 g/cm<sup>3</sup>. El análisis de la distribución de tamaños de partícula mostró que el 50% de las partículas estaban por debajo de 18 µm (distribución de volumen), y el 80% de las partículas estaban entre 7 y 36 µm. El disolvente residual (cloruro de metileno o metanol) fue indetectable (es decir, menos que aproximadamente 20 ppm).

15 Ejemplo 2 de referencia

Como se ilustra mediante este ejemplo, una ventaja significativa del procedimiento de flujo continuo preferido acorde con la invención es la consistencia del producto durante el procesamiento. Los procedimientos anteriores son incapaces de producir microesferas que tengan características virtualmente idénticas al final del proceso de producción a las producidas al principio y a la mitad del proceso. Esta es una ventaja comercial significativa.

20 Las microesferas se prepararon de la misma manera que en el Ejemplo 1, usando 25% de exceso de FD y FC. La FD contenía 8,75 g de RG503H, 1,25 g de acetato de Leuprolida, 45 g de cloruro de metileno y 10,7 g de metanol. La FC fue 5.000 ml de PVA al 0,35%. En este ejemplo, la suspensión de microesferas producida en el reactor Silverson no fue transferida al tanque de retirada del disolvente. En lugar de eso, cada fracción de 1.000 ml (siendo el tiempo de recogida para cada fracción aprox. 24 segundos) fue recogida en un vaso de precipitados de 2.000 ml.  
25 Así, se recogieron cinco fracciones de igual volumen. Las microesferas de cada fracción fueron separadas por filtración, liofilizadas en masa y comparadas.

30 El análisis microscópico mostró que la morfología de las microesferas obtenidas en todas las cinco fracciones fue idéntica. Las partículas más grandes mostraron algo de porosidad, mientras que las partículas más pequeñas fueron no porosas. La siguiente Tabla I muestra que cada fracción (Frnx) de microesferas producidas en todo el proceso tienen una excelente consistencia.

Tabla I

	<u>Frnx 1</u>	<u>Frnx 2</u>	<u>Frnx 3</u>	<u>Frnx 4</u>	<u>Frnx 5</u>
Carga	11,17	11,31	10,96	11,05	10,99
Tamaño (µm)					
10% por debajo de	9,6	8,9	8,9	9,3	8,9
50% por debajo de	18,1	17,4	17,8	17,8	17,4
90% por debajo de	33,3	32,6	35,5	34,4	32,6
Dens. aparente	0,40	0,48	0,48	0,47	0,48

Los valores de cloruro de metileno residual fueron más altos en todas las fracciones (aprox. 8.000 ppm) porque no se realizó la evaporación del disolvente en las microesferas.

35 Ejemplo 3

40 En este ejemplo, se usó un polímero hidrófobo. El RG502, de Boehringer Ingelheim, es un copolímero 50:50 de PLGA con una viscosidad inherente de 0,2 dl/g. El procedimiento de preparación fue similar al Ejemplo 1, excepto por la composición de la FD. Aquí, se preparó una solución del polímero disolviendo 8,77 g de RG502 en 20 g de diclorometano. La solución del fármaco se preparó por separado disolviendo 1,25 g de leuprolida en 4 g de metanol. Las soluciones de polímero y fármaco se mezclaron para formar la FD. Después de eso, se añadieron 5.000 ml de FC ajustando la configuración de la válvula de aguja micrométrica para la adición de FD de tal modo que el tiempo para la adición tanto de FD como de FC fue aproximadamente el mismo (2 minutos). La agitación del Silverson, la evaporación del disolvente y la recogida de microesferas se realizaron todas como en el Ejemplo 1.

5 La eficacia de incorporación de fármaco de las microesferas resultantes fue 65%, y las microesferas tenían una carga de fármaco de 8,17%. El análisis microscópico mostró que las microesferas tenían geometría esférica y eran porosas. La densidad aparente de las microesferas fue 0,23. El análisis de la distribución de tamaños de partícula mostró que el 50% de las partículas estaban por debajo de 25,6  $\mu\text{m}$  (distribución de volumen), y el 80% de las partículas estaban entre 12,2 y 44,0  $\mu\text{m}$ . El cloruro de metileno y metanol residuales en las microesferas fue indetectable (menos que 20 ppm).

#### Ejemplo 4

10 En este ejemplo, se usó un homopolímero de poli(ácido láctico). Se disolvieron 8,75 g de poli(ácido láctico) (R202H, de Boehringer Ingelheim) que tenía una viscosidad inherente de 0,18 dl/g en 20 g de diclorometano. La solución del fármaco se preparó disolviendo 1,25 g de leuprolida en 4 g de metanol. Las soluciones de polímero y fármaco se mezclaron para formar la FD, que apareció como una solución homogénea, casi incolora. Las microesferas se prepararon y recogieron como se describe en el Ejemplo 1 usando 5.000 ml de fase continua.

15 Estas microesferas tuvieron una eficacia de incorporación de fármaco de 85% y una carga de fármaco de 10,58%. El análisis microscópico mostró que las microesferas tenían geometría esférica perfecta, apareciendo la mayoría de las microesferas no porosas. Unas pocas de las partículas más grandes aparecieron con poros en el centro del núcleo. La densidad aparente de las microesferas fue 0,615 g/ml. El análisis de los tamaños de partícula mostró que el 50% de las partículas estaban por debajo de 16,0  $\mu\text{m}$  (distribución de volumen), y el 80% de las partículas estaban entre 5,8 y 30,2  $\mu\text{m}$ . Las microesferas contenían 79 ppm de cloruro de metileno y una cantidad indetectable (menos que 10 ppm) de metanol.

#### 20 Ejemplo 5

25 En este ejemplo, las microesferas se prepararon como en el Ejemplo 1 usando 8,75 g de RG503H, 1,25 g de leuprolida, 45 g de cloruro de metileno y 10,7 g de metanol para la FD. La velocidad de agitación fue aumentada a 9.000 rpm, usando 5.000 ml de FC de una solución de PVA al 0,35%. La eficacia de incorporación de fármaco de las microesferas resultantes fue 70,7%, y la carga de fármaco fue 8,84% en las microesferas. El análisis microscópico mostró que las microesferas eran más pequeñas, tenían una geometría esférica, y eran predominantemente no porosas. La densidad aparente de las microesferas fue 0,510 g/ml. El análisis de la distribución de tamaños de partícula mostró que el 50% de las partículas caen por debajo de 15,5  $\mu\text{m}$  (distribución de volumen), y el 80% de las partículas estaban entre 8,1 y 24,8  $\mu\text{m}$ . Las microesferas contenían 47 ppm de cloruro de metileno residual y una cantidad indetectable de metanol (menos que 10 ppm).

#### 30 Ejemplo 6

35 En este ejemplo, se prepararon microesferas que contenían un agente proteínico. El agente activo fue la proteína Albúmina de Suero Humano. Las microesferas se prepararon formando una emulsión agua/aceite/agua usando el polímero RG503H. El procedimiento de preparación fue el mismo que en el Ejemplo 1, excepto que la fase dispersa se formó preparando una solución de polímero de 8,75 g de polímero en 45 g de cloruro de metileno. Se añadieron lentamente en la solución del polímero 5 ml de una solución al 25% p/v de albúmina de suero humano, a la vez que se agitaba usando un agitador magnético. La fase dispersa así obtenida se agitó vigorosamente durante aproximadamente 5 minutos para formar una fina suspensión blanca lechosa. Las microesferas se prepararon como en el Ejemplo 1, excepto que la velocidad de agitación de la unidad Silverson fue 6.000 rpm. Las microesferas se recogieron y liofilizaron como en el Ejemplo 1.

40 El análisis microscópico mostró que las microesferas tenían geometría perfectamente esférica y eran altamente porosas. La densidad aparente de las microesferas fue 0,03 g/ml. El análisis de la distribución de tamaños de partícula mostró que el 50% de las partículas estaban por debajo de 48,4  $\mu\text{m}$ , y el 80% estaban entre 23,0 y 69,7  $\mu\text{m}$ . Las microesferas no tenían nada de cloruro de metileno residual detectable.

#### Ejemplo 7

45 En este ejemplo, se prepararon microesferas a partir de RG503H y un fármaco no peptídico. La solución del polímero se preparó disolviendo 8,74 g de RG503H en 45 g de diclorometano. Se añadieron lentamente 1,25 g de dipiridamol a la solución del polímero y se añadieron 2,53 g de metanol para hacer la solución homogénea, que apareció amarilla brillante. Se usaron 5.000 ml de solución de PVA al 0,35% como fase continua. Las microesferas se prepararon, recogieron y liofilizaron como en el Ejemplo 1.

50 Estas microesferas tuvieron una eficacia de incorporación de fármaco de 88%, con una carga de fármaco de 11,0%. El análisis microscópico mostró que las microesferas eran esféricas, en general más pequeñas y predominantemente no porosas. La densidad aparente de las microesferas fue 0,45 g/ml. El análisis de la distribución de tamaños de partícula mostró que el 50% de las partículas estaban por debajo de 13,5  $\mu\text{m}$  (distribución de volumen), y el 80% de las partículas estaban entre 5,8 y 20,0  $\mu\text{m}$ . Las microesferas tenían 107 ppm de cloruro de metileno residual y metanol indetectable.

55

## REIVINDICACIONES

1. Un método continuo para preparar microesferas poliméricas que contienen agente activo, que comprende:
  - a) formar una fase dispersa que contiene agente activo y polímero;
  - b) proporcionar una fase continua;
  - 5 c) introducir continuamente dicha fase dispersa en un recipiente reactor a una velocidad de alimentación de la fase dispersa de 4 ml/minuto a 400 ml/minuto, y dicha fase continua en dicho recipiente reactor a una velocidad de alimentación de la fase continua de 1.000 ml/minuto a 20.000 ml/minuto, en donde dicha fase continua y dicha fase dispersa se introducen en dicho recipiente reactor a proporciones en una relación de 40:1 a 200:1, incluyendo el recipiente medios para formar una emulsión, y formar una emulsión de la fase dispersa en la fase continua;
  - 10 d) introducir dicha fase dispersa en dicha fase continua en una zona de mezcla donde una fuerza de cizallamiento o turbulencia es causada por un mezclador no estático en dicho recipiente reactor, y hacer girar un impulsor de dicho mezclador no estático a una intensidad de mezcla mayor que 5.000 revoluciones por minuto, de tal modo que dicho polímero de la fase dispersa se solidifica en dicha fase continua en menos que 5 segundos después de ser introducido en dicha zona de mezcla, formando una suspensión de microesferas; y
  - 15 e) transportar continuamente dicha suspensión de microesferas desde dicho recipiente reactor a un recipiente de retirada de disolvente para retirar el disolvente de dicha fase continua.
- 20 2. El método según la reivindicación 1, en donde dicha fase dispersa incluye un agente activo peptídico hidrófilo y un copolímero de lactida y glicolida, y que comprende emulsionar dichas fases dispersa y continua de una manera eficaz para proporcionar un tamaño medio de partícula de 5  $\mu\text{m}$  a 40  $\mu\text{m}$ , y una carga de agente activo de al menos 9%.
3. El método según la reivindicación 2, en donde dicha carga de agente activo es al menos 15%.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dichas fase continua y fase dispersa se introducen en dicho recipiente reactor a proporciones en una relación de 40:1 a 200:1.
- 25 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho impulsor tiene un diámetro que define un diámetro de una zona de mezcla cilíndrica, extendiéndose dicha zona de mezcla cilíndrica axialmente desde dicho impulsor, y en donde dicha fase dispersa se introduce en dicha zona de mezcla que se extiende axialmente.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha fase dispersa es una solución homogénea.
- 30 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha fase dispersa es una emulsión.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el tiempo de residencia medio de dicha fase dispersa en dicho recipiente reactor es menos que 5 segundos.
9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha intensidad de mezcla comprende hacer girar dicho impulsor en un intervalo de 6.000 a 10.000 revoluciones por minuto.
- 35 10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dichas etapas del método se llevan a cabo durante un periodo suficiente para producir una población deseada de microesferas, y en donde las microesferas producidas al principio de dicho periodo tienen la misma distribución de tamaños y carga de agente que las microesferas producidas al final de dicho periodo.
- 40 11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende proporcionar una fase continua acuosa que comprende agua y, opcionalmente, tensioactivos, estabilizantes, sales, u otros aditivos que modifican o afectan al proceso de emulsificación.
12. El método de la reivindicación 11, que comprende proporcionar una fase continua acuosa, y formar dicha fase dispersa para que incluya un polímero y un agente activo, en donde el agente activo es un agonista o antagonista de LH-RH y el polímero es un homopolímero de ácido láctico o un copolímero de lactida y glicolida.
- 45 13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde dichas velocidades de alimentación de la fase continua y la fase dispersa son controladas independientemente de dicha intensidad de mezcla de dicho mezclador no estático.
- 50 14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde dicho mezclador no estático comprende un mezclador en línea, y dicha intensidad de mezcla de dicho mezclador no estático es controlada independientemente de dichas velocidades de alimentación de la fase continua y la fase dispersa.

