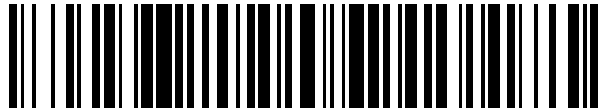


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 873**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/16** (2006.01)  
**A61K 38/09** (2006.01)  
**A61K 47/24** (2006.01)  
**A61K 47/34** (2007.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.07.2009 PCT/US2009/004273**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2010 WO10014176**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.07.2009 E 09803242 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2017 EP 2303237**

54 Título: **Método de preparación de micropartículas biodegradables que contienen fármacos**

30 Prioridad:

**31.07.2008 US 221096**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.07.2017**

73 Titular/es:

**BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF  
ARKANSAS (100.0%)  
2404 North University Avenue  
Little Rock, AR 72207, US**

72 Inventor/es:

**KIM, CHERNG-JU**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 625 873 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 preparación de micropartículas biodegradables que contienen fármacos

5 **Antecedentes**

Se ha utilizado una diversidad de formas de dosificación para fármacos que requieren una administración a largo plazo. Para reducir el número de dosis que es necesario proporcionar, y para proporcionar un nivel estable del fármaco en el cuerpo, estos fármacos se proporcionan preferentemente en una formulación de liberación sostenida.

10 Un tipo de formulación de fármaco de liberación sostenida que se ha utilizado son microesferas biodegradables que contienen fármaco retenido dentro de la microesfera. Un producto de este tipo es LUPRON Depot, que son microesferas biodegradables que contienen hormona liberadora de hormona luteinizante (leuprolida o LHRH). La leuprolida se usa para el tratamiento de cánceres dependientes de hormonas, en particular el cáncer de próstata, y la pubertad precoz.

15 Las micropartículas son partículas con un diámetro de aproximadamente 1 a 1000 micrómetros. Con fines de inyección, se prefieren micropartículas de menos de 125 micrómetros. Pueden inyectarse micropartículas de este tamaño con una aguja hipodérmica convencional, en lugar de implantarse quirúrgicamente. Un tipo de micropartícula se compone de una red de un polímero biodegradable que inmoviliza un fármaco. A medida que el polímero se biodegrada en el cuerpo, el fármaco se libera. Los polímeros biodegradables utilizados más habitualmente son el ácido poliláctico y un copolímero de ácido láctico y ácido glicólico.

20 Los métodos utilizados más ampliamente para preparar micropartículas biodegradables son la separación de fases, el secado por pulverización y la evaporación del disolvente. La separación de fases, también conocida como coacervación, usa una disminución de la solubilidad del polímero mediante la adición de un no disolvente. En un procedimiento clásico, el polímero biodegradable se disuelve en un disolvente orgánico (por ejemplo, diclorometano). Se disuelven fármacos lipófilos en la solución de polímero. Se disuelven fármacos hidrófilos en agua y después se dispersan en la solución de polímero (emulsión agua en aceite (w/o)) o se dispersan en forma de un polvo sólido. Se añade gradualmente un no disolvente (normalmente aceite de silicio). Se forman dos fases: una fase de aceite de silicio rico en polímero y una fase de disolvente orgánico líquido reducido en polímero. A medida que el disolvente orgánico se extrae o se evapora, las micropartículas de polímero con fármaco inmovilizado se solidifican en la fase de aceite de silicio. El coacervado (aceite de silicio) se adsorbe a las micropartículas de polímero.

35 En el secado por pulverización, el polímero biodegradable se disuelve en un disolvente orgánico volátil, tal como diclorometano. El fármaco se disuelve o se dispersa en la solución de polímero. La solución o dispersión se pulveriza en aire caliente. El disolvente se evapora, dando como resultado la formación de micropartículas sólidas.

40 La evaporación del disolvente es el método utilizado más habitualmente para la preparación de micropartículas. En este método, una solución de polímero orgánico que contiene fármaco se emulsiona en un medio de dispersión que normalmente es acuoso, pero puede ser aceite. Los métodos pueden clasificarse adicionalmente en métodos de emulsión de aceite en agua (o/w), agua en aceite en agua (w/o/w) y aceite en aceite (o/o).

45 En un método o/w, se disuelven fármaco y polímero en un disolvente orgánico, tal como diclorometano o una mezcla de metanol/diclorometano. La solución de fármaco-polímero-disolvente orgánico se dispersa en una fase acuosa. Se incluye un emulsionante, normalmente poli(alcohol vinílico), en la fase acuosa para ayudar a formar gotitas pequeñas de disolvente orgánico en la fase acuosa. El disolvente orgánico se evapora con agitación y, con la evaporación, las gotitas se solidifican en micropartículas de polímero con fármaco inmovilizado.

50 En una doble emulsión w/o/w, una solución acuosa de fármaco se prepara y se dispersa en una solución del polímero en un disolvente orgánico para formar una emulsión agua-en-aceite que contiene el fármaco y el polímero. Después, la emulsión de polímero-fármaco w/o se emulsiona en una fase acuosa para formar una emulsión w/o/w. Con agitación, el disolvente orgánico se evapora, permitiendo que las gotitas de polímero-fármaco en la emulsión se solidifiquen en micropartículas.

55 En un método de emulsión o/o, se disuelven fármaco y polímero en un disolvente miscible con agua (por ejemplo, acetonitrilo). Esta solución se emulsiona en una fase oleosa en presencia de un emulsionante tal como SPAN 80 para formar una emulsión de aceite-en-aceite. El disolvente orgánico se extrae por el aceite y las micropartículas pueden recogerse por filtración.

60 Los métodos de la técnica anterior de formación de micropartículas de polímero biodegradable que contienen fármaco tienen algunas desventajas. Puede adherirse emulsionante o aceite a las micropartículas y contaminarlas. Algunos métodos son difíciles de aumentar a escala.

65 Se necesitan nuevos métodos de formación de micropartículas biodegradables que contienen fármaco. El documento 2004/0105878 A1 se refiere a métodos para la estabilización de agentes biológicamente activos

encapsulados en polímeros biodegradables de liberación controlada.

### Sumario

- 5 La presente invención proporciona un método de preparación de micropartículas que contienen fármaco de acuerdo con la reivindicación 1.

10 El inventor ha descubierto nuevos métodos de formación de micropartículas. En un método, se disuelve leuprolida en metanol y se disuelve PLGA en diclorometano. Las soluciones de leuprolida y de PLGA se mezclan para formar una solución de disolvente orgánico de fármaco-polímero. La solución de fármaco-polímero se añade a una fase acuosa más grande que contiene gel de hidroxiapatita formado in situ ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). El gel de hidroxiapatita parece recubrir las gotitas orgánicas para mantener el tamaño pequeño de las gotitas e impedir la coalescencia de las gotitas. El disolvente orgánico se evapora, al igual que con un método de emulsión aceite-en-agua convencional usando un emulsionante orgánico, dejando atrás micropartículas de polímero solidificadas con leuprolida  
15 inmovilizada. Después, se añade HCl a la suspensión, que disuelve la hidroxiapatita. Las micropartículas pueden recuperarse por centrifugación o filtración de la solución por lo demás transparente.

20 Una realización de la invención proporciona un método de preparación de micropartículas que contienen fármaco que comprende: (a) disolver un polímero biodegradable en disolvente orgánico para formar una solución de polímero; (b) disolver o dispersar un fármaco en la solución de polímero para formar una fase polímero-fármaco-disolvente; (c) mezclar la fase polímero-fármaco-disolvente con una suspensión acuosa que comprende un gel inorgánico para formar una dispersión que comprende gotitas de polímero-fármaco dispersadas en la suspensión acuosa; (d) evaporar el disolvente orgánico de la dispersión para convertir las gotitas de polímero-fármaco en micropartículas que contienen fármaco; y (e) recuperar las micropartículas que contienen fármaco de la dispersión.

25 Preferentemente, el gel inorgánico puede disolverse mediante ácido, y la etapa de recuperación de las micropartículas que contienen fármaco a partir de la dispersión comprende la adición de ácido a la dispersión para disolver el gel inorgánico.

- 30 Otras realizaciones de la invención proporcionan micropartículas que contienen fármaco preparadas mediante los métodos que se describen en el presente documento.

### Breve descripción de los dibujos

35 La FIG. 1 es un gráfico de la liberación fraccionada de acetato de leuprolida desde microesferas de PLGA preparadas como se describe en el Ejemplo 1 frente al tiempo.

40 La FIG. 2 es un gráfico que muestra una comparación del perfil cinético de la liberación de fármaco del acetato de leuprolida de la FIG. 1 usando microesferas de PLGA al 10 % como se preparan en el Ejemplo 1 (◊) y para la comparación del perfil publicado de la liberación temporalizada del acetato de leuprolida a partir de microesferas preparadas convencionalmente (•) (D'Souza SS et al., *AAPS PharmSci. Tech.* 6 (4), E553-564, 2005).

### Descripción detallada

45 La presente divulgación proporciona un método de preparación de micropartículas que contienen fármaco que comprende: (a) disolver un polímero biodegradable en disolvente orgánico para formar una solución de polímero; (b) disolver o dispersar un fármaco en la solución de polímero para formar una fase polímero-fármaco-disolvente; (c) mezclar la fase polímero-fármaco-disolvente con una suspensión acuosa que comprende un gel inorgánico para formar una dispersión que comprende gotitas de polímero-fármaco dispersadas en la suspensión acuosa; (d) evaporar el disolvente orgánico de la dispersión para convertir las gotitas de polímero-fármaco en micropartículas que contienen fármaco; y (e) recuperar las micropartículas que contienen fármaco de la dispersión.

50 La etapa de disolución de un polímero biodegradable en disolvente orgánico para formar una solución de polímero puede producirse simultáneamente con la etapa de disolución o dispersión de un fármaco en la solución de polímero para formar una fase polímero-fármaco-disolvente. Por ejemplo, un fármaco hidrófobo podría disolverse en diclorometano y después podría añadirse polímero sólido a la solución de fármaco-diclorometano. A medida que se disuelve el polímero, el fármaco por supuesto se dispersa en la solución de polímero.

55 Esto es análogo a un método de emulsión aceite-en-agua para la formación de micropartículas, pero sin la necesidad de un emulsionante orgánico. En un método de evaporación tradicional usando una emulsión aceite-en-agua, un polímero biodegradable se disuelve en disolvente orgánico y se disuelve fármaco ya sea en el mismo disolvente en la solución de polímero o se dispersa en la solución de polímero. El fármaco puede disolverse en una solución acuosa y la solución acuosa puede dispersarse en la solución de disolvente orgánico de polímero o el fármaco puede dispersarse en forma de un polvo seco en la solución de polímero.

65 En un método de emulsión aceite-en-agua convencional, la fase oleosa fármaco-polímero se dispersa en una solución acuosa con la ayuda de un tensioactivo o emulsionante. El tensioactivo o emulsionante es necesario para

mantener el tamaño de las gotitas, y de este modo el tamaño de las micropartículas, pequeño.

El inventor ha descubierto que el gel de hidroxiapatita también puede proteger las gotitas de fase fármaco-polímero de la coalescencia, proporcionando micropartículas uniformes y pequeñas. Las micropartículas que contienen fármaco se producen con un buen rendimiento, con una alta eficiencia de encapsulación del fármaco. El tamaño de partícula es uniforme. Puesto que no es necesario utilizar ningún poli(alcohol vinílico) u otro emulsionante, las micropartículas pueden prepararse de manera que no se contaminen con poli(alcohol vinílico) adherente. El método usa materiales económicos y puede aumentarse a escala fácilmente. Las micropartículas solidificadas pueden recuperarse simplemente mediante la disolución de la hidroxiapatita con ácido y después la recuperación de las micropartículas por centrifugación o filtración de la solución acuosa transparente.

El método puede utilizarse para inmovilizar fármacos peptídicos, fármacos proteínicos y fármacos de moléculas pequeñas. Se han inmovilizado satisfactoriamente, en micropartículas, fármacos de molécula pequeña tanto catiónicos como aniónicos utilizando el método.

La hidroxiapatita es un gel inorgánico preferido para su uso en el método. Pero también pueden usarse otros geles inorgánicos.

Preferentemente, el gel inorgánico puede disolverse mediante ácido. Preferentemente, la etapa de recuperación de las micropartículas que contienen fármaco de la dispersión comprende la adición de ácido a la dispersión para disolver el gel inorgánico.

También pueden utilizarse como gel inorgánico otras apatitas distintas de la hidroxiapatita. En realizaciones particulares, el gel inorgánico es fluorapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ ), clorapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ ), yodapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{I}$ ) o carboxapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$ ).

También se han sometido a ensayo  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  y  $\text{Al}(\text{OH})_3$  y han funcionado bien como gel inorgánico. En otras realizaciones específicas, el gel inorgánico es aminoacetato de dihidroxialuminio [una sal básica de aluminio y glicina,  $(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO})\text{Al}(\text{OH})_2$ ] o fosfato de aluminio ( $\text{AlPO}_4$ ).

El fosfato de aluminio se forma mediante la adición de ácido fosfórico a una solución de hidróxido de aluminio. Forma un gel a un pH más bajo que la hidroxiapatita, específicamente a un pH aproximadamente de 6 a 7. También se disuelve a un pH bajo de aproximadamente pH 1 o 2. Por tanto, es adecuado para la encapsulación de fármacos aniónicos a valores de pH bajos donde los grupos carboxilo de los fármacos están parcial o completamente protonados.

En realizaciones específicas, la dispersión no comprende un tensioactivo orgánico o emulsionante orgánico que ayude a la dispersión de gotitas de polímero-fármaco en la suspensión acuosa. Un tensioactivo o emulsionante no es necesario porque el gel inorgánico desempeña la misma función. Además, el gel inorgánico se disuelve completamente con ácido y es fácil de separar de las micropartículas. Por el contrario, los tensioactivos orgánicos y emulsionantes se encuentran unidos a las micropartículas.

Por tanto, en realizaciones particulares, la dispersión no comprende poli(alcohol vinílico).

En algunas realizaciones, se añade un agente antiestático a la dispersión antes de la adición de ácido para disolver el gel inorgánico. Son ejemplos de agentes antiestáticos adecuados el poli(alcohol vinílico) y el poli(vinilpirrolidona-co-acetato de vinilo). El agente antiestático se añade para evitar la agregación de las micropartículas. Sin el agente antiestático, las micropartículas pueden agregarse y con frecuencia se recuperan de manera más práctica por filtración. Con el agente antiestático, las micropartículas no se agregan tanto, lo que significa que las micropartículas son más pequeñas. En ese caso, las micropartículas por lo general se recuperan de manera más práctica por centrifugación. La agregación no cambia el tamaño de las micropartículas y las micropartículas agregadas pueden desagregarse por cizallamiento físico, tal como pasando a través de una aguja hipodérmica en suspensión acuosa varias veces. También pueden desagregarse resuspendiendo las micropartículas en una solución acuosa que contenga un agente tensioactivo. Normalmente, se incluyen un Tween 20, Tween 40 o Tween 80 en la solución en la que las micropartículas se resuspenden para la inyección. Las micropartículas también se desagregan por liofilización y, normalmente, las micropartículas recogidas se liofilizan para su almacenamiento.

El poli(alcohol vinílico) y otros polímeros pueden servir ya sea como agentes antiestáticos o como emulsionantes. Pero se añade un emulsionante a la suspensión acuosa antes de la adición de la fase polímero-fármaco-disolvente en las emulsiones aceite-en-agua convencionales de la técnica anterior. Debe estar presente para emulsionar las gotitas de disolvente orgánico de polímero-fármaco antes de que se solidifiquen en micropartículas. Por el contrario, puede añadirse un agente antiestático después de que se formen las micropartículas, inmediatamente antes de recoger las micropartículas.

Por tanto, en realizaciones específicas, la dispersión no comprende un tensioactivo orgánico o emulsionante orgánico antes de que se formen las micropartículas que contienen fármaco (es decir, antes de que las gotitas de

polímero-fármaco se solidifiquen en micropartículas con evaporación del disolvente orgánico).

La cantidad de poli(alcohol vinílico) utilizado como agente antiestático es mucho menor que como emulsionante. En emulsiones aceite-en-agua convencionales de la técnica anterior, el poli(alcohol vinílico) está en una concentración del 0,25 %-0,5 % (p/v) en la suspensión acuosa para su uso como emulsionante. El inventor ha añadido 0,025 volúmenes de solución de poli(alcohol vinílico) al 0,5 % (v/w) a la dispersión inmediatamente antes de la adición de HCl para disolver el gel inorgánico, cuando se usa poli(alcohol vinílico) como agente antiestático. Por tanto, la concentración final de poli(alcohol vinílico) en la dispersión en este caso es del 0,125 %, mucho menor que cuando se usa como emulsionante.

Por tanto, en realizaciones específicas, la dispersión comprende no más del 0,05 % en peso o no más del 0,02 % en peso de tensioactivo orgánico, emulsionante orgánico o agente antiestático orgánico.

Dos polímeros biodegradables preferidos para su uso en los métodos de la invención son el ácido poliláctico (PLA) y poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA). En otras realizaciones, el polímero biodegradable es el ácido poliglicólico. En realizaciones específicas, el polímero biodegradable es un polianhídrido o un poliortoéster.

El método es eficaz con fármacos tanto hidrófobos como hidrófilos. Los fármacos hidrófobos pueden codisolverse con el polímero en el disolvente orgánico. Los fármacos hidrófilos pueden disolverse primero en un disolvente orgánico más polar, tal como metanol, y después pueden mezclarse con el polímero disuelto en un disolvente menos polar, tal como diclorometano. Como alternativa, pueden disolverse fármacos hidrófilos en una solución acuosa y la solución de fármaco acuosa puede dispersarse en una solución de disolvente orgánico que contiene el polímero. Esto forma una dispersión agua-en-aceite para la fase fármaco-polímero. Los fármacos hidrófilos también pueden dispersarse directamente en forma de un polvo sólido en una solución de polímero en un disolvente orgánico.

Puede usarse cualquier disolvente orgánico adecuado para la fase polímero-fármaco. Estos incluyen diclorometano, acetato de etilo, acetonitrilo y metanol y mezclas de los mismos. El disolvente orgánico debería incluir al menos un disolvente orgánico que sea inmiscible con agua, tal como diclorometano o acetato de etilo. Pueden mezclarse disolventes miscibles en agua tales como metanol o acetonitrilo con el disolvente inmiscible con agua. Puede usarse un disolvente miscible en agua para ayudar a disolver fármacos hidrófilos para obtener el fármaco en la fase oleosa en la dispersión.

El inventor ha descubierto que la mejor eficiencia de encapsulación y el mejor rendimiento de micropartículas con fármacos básicos que contienen amina, incluyendo leuprolida y HCl de verapamilo, HCl de nicardipino, se consiguieron a un pH de aproximadamente 9,0 a 10,0. Por encima de pH 10, los polímeros de PLA y PLGA comienzan a hidrolizarse y solubilizarse. Esto disminuye el rendimiento de micropartículas. Los fármacos básicos están en un estado menos ionizado a un pH de 9 a 10 de lo que lo están a valores de pH más bajos y se cree que esto provoca que permanezcan asociados mejor a los polímeros. Pero incluso a pH 7,0, la eficiencia de encapsulación de la leuprolida fue del 90 %. De manera que puede utilizarse una diversidad de valores de pH de la suspensión acuosa.

Con fármacos ácidos que contienen carboxilos, incluyendo piroxicam, ácido de naproxeno y ácido salicílico el inventor ha descubierto que la mejor eficiencia de encapsulación se obtiene aproximadamente a pH 5,0. Se cree que esto se debe a que a valores de pH más ácidos los fármacos ácidos están menos ionizados y en el estado no ionizado que asocian mejor a los polímeros y no tienden a repartirse tanto en la fase acuosa.

Por debajo de aproximadamente pH 5, la hidroxiapatita se cristaliza y en la forma cristalina pierde la capacidad de impedir la coalescencia de las gotitas de la fase polímero-fármaco. Por tanto, con hidroxiapatita al menos, la suspensión acuosa está preferentemente a un pH de aproximadamente 5 o superior.

En el Ejemplo a continuación, se mezclaron 2 o 3 ml de solución de fármaco-polímero que contenía PLGA al 20 % y acetato de leuprolida al 10 % con 400 ml de suspensión acuosa que contenía hidroxiapatita preparada con 6 g de CaO. Pueden mezclarse cantidades mayores de solución de fármaco-polímero con la suspensión acuosa de gel inorgánico, pero también deben usarse concentraciones mayores de gel inorgánico. El inventor ha usado tanto como 100 ml de solución de fármaco-polímero mezclados con 400 ml de suspensión acuosa que contenía cantidades mayores de hidroxiapatita.

En la mezcla de la fase fármaco-polímero con la suspensión acuosa, se usa una velocidad de mezcla alta inicialmente para formar gotitas pequeñas. En el Ejemplo a continuación se usaron 5000 rpm o más durante 5 minutos. Después de este corto período de mezcla rápida para formar una dispersión con gotitas pequeñas de fármaco-polímero, la velocidad de agitación se reduce, por ejemplo, a 600 rpm. La agitación continúa durante un período de tiempo más largo, normalmente una hora o más, para permitir la evaporación del disolvente orgánico. Durante este tiempo, se forman micropartículas solidificadas a medida que se evapora el disolvente.

El tamaño de las micropartículas puede variarse mediante métodos conocidos en la técnica. Una velocidad de agitación mayor durante la fase de mezcla de la mezcla de la fase fármaco-polímero con la suspensión acuosa

- produce gotitas más pequeñas y, por tanto, micropartículas más pequeñas. Una concentración de polímero menor en la fase fármaco-polímero produce partículas más pequeñas debido a que la concentración de polímero menor produce una solución menos viscosa que tiende a formar gotitas más pequeñas. Los polímeros más largos producirán una solución más viscosa que los polímeros más cortos en la misma concentración y, por tanto, los polímeros más largos tenderán a producir micropartículas más grandes. El disolvente orgánico también afecta al tamaño de la micropartícula. Si el polímero es altamente soluble en el disolvente, la fase fármaco-polímero será menos viscosa y se formarán micropartículas más pequeños. Si el polímero es menos soluble en el disolvente orgánico, se formarán micropartículas más grandes.
- 10 Puede formularse cualquier fármaco adecuado en estas micropartículas que contienen fármaco. En una realización, el fármaco es una proteína. En otra realización, el fármaco es un péptido (por ejemplo, un péptido de 2 a 50 aminoácidos de longitud). En otra realización, el fármaco es una molécula pequeña, por ejemplo, una molécula con un peso molecular de menos de 1000 o menos de 500. En algunas realizaciones, la molécula pequeña no es peptídico.
- 15 En una realización, el fármaco es un análogo peptídico de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH). Son ejemplos de análogos peptídicos de LHRH adecuados leuprolida, triptorelina y goserelina y sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.
- 20 En realizaciones específicas, el fármaco es risperidona, octreótido, somatostatina, hormona del crecimiento humana, deslorelina, buserelina, felipresina, gondorelina, oxitocina, vasopresina, fertirelina, histrelina, nafarelina, sincalida, acetato de timopentina, naltrexona o una sal farmacéuticamente aceptable sal de los mismos.
- 25 En otras realizaciones, el fármaco es verapamilo, nicardipino, piroxicam, ácido de naproxeno, ácido salicílico o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

### Ejemplo

#### Materiales y Métodos:

- 30 Se disolvieron acetato de leuprolida y poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) RG502H o PLA R202H en una mezcla 24/76 (v/v) de metanol/diclorometano a una concentración de polímero al 20 % y leuprolida al 10 % (p/v) para preparar la solución de polímero-fármaco. Se preparó una suspensión acuosa de hidroxiapatita por disolución de 6 g de CaO en 400 ml de agua. Después, se añadió ácido fosfórico para ajustar el pH de la suspensión acuosa a entre 9,0 y 10,0. Se formó gel de hidroxiapatita in situ en la suspensión acuosa en estas condiciones mediante la reacción  $10 \text{ CaO} + 6 \text{ H}_3\text{PO}_4 = \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 8 \text{ H}_2\text{O}$ . La solución de fármaco/polímero (2 o 3 ml) se dispersó en el medio de suspensión acuoso. La dispersión se homogeneizó inicialmente mediante un mezclador de alta cizalla a 5000 o más rpm durante 5 minutos. Después, los disolventes se evaporaron mediante agitación a 600 rpm durante 1 hora o más. Después se añadió HCl concentrado lentamente hasta que se disolvió la hidroxiapatita y la suspensión se aclaró. La hidroxiapatita se disuelve mediante la reacción  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20 \text{ HCl} = 10 \text{ CaCl}_2 + 6 \text{ H}_3\text{PO}_4 + 2 \text{ H}_2\text{O}$ . Las micropartículas solidificadas se recuperaron por centrifugación y filtración.

#### Resultados y Discusión:

- 45 Se examinaron y fotografiaron microscópicamente micropartículas de PLA y PLGA (datos no mostrados). Se descubrió que la mayor parte de las micropartículas estaban en el intervalo de tamaños de 10-20 micrómetros, que es un tamaño adecuado para la inyección.
- 50 La eficiencia de encapsulación del acetato de leuprolida fue del 95 % o superior cuando el pH del medio de suspensión era de pH 9,0 a pH 10,0. La eficiencia de encapsulación se refiere a la masa de fármaco recuperada en micropartículas dividida por la masa de partida de fármaco en la fase polímero-fármaco. Para cuantificar el fármaco en micropartículas, las micropartículas se disolvieron primero en una mezcla de etanol/dicloroetano (28/72 v/v). Después, el contenido de fármaco de la solución se midió por absorción ultravioleta.
- 55 En otros experimentos, el pH del medio de suspensión se varió. La eficiencia de encapsulación del acetato de leuprolida se redujo al 90 % a pH 7,0 y se redujo adicionalmente a valores de pH más bajos. También se sometieron a ensayo fármacos de molécula pequeña aniónicos y catiónicos pequeños. La encapsulación de fármacos catiónicos que contenían amina fue máxima aproximadamente a pH de 9,0 a 10,0. Se cree que esto se debe a que los grupos amina están en gran parte sin protonar a pH elevado. A valores de pH más bajos donde los grupos amina de los fármacos están protonados, los fármacos son más solubles en agua y por tanto se reparten más lejos de las gotitas de polímero-fármaco. Con los fármacos aniónicos que contienen grupos carboxilo, la relación de pH se invierte. Los grupos carboxilo están no ionizados a valores de pH más bajos y por tanto estos fármacos son menos solubles en agua a valores de pH más bajos. Por tanto, se ha descubierto que los fármacos aniónicos tienen una mejor eficacia de encapsulación a valores de pH menores, por ejemplo, aproximadamente a pH 5,0. El HCl de verapamilo y el HCl de nicardipino fueron los fármacos de molécula pequeña que contenían amina que se sometieron a ensayo. El piroxicam, la lidocaína y el ácido salicílico fueron los fármacos de molécula pequeña aniónicos que se sometieron a

ensayo.

5 Por encima de pH 10 los polímeros de PLA y PLGA se hidrolizan en cierto grado y esto disminuye el rendimiento de micropartículas. El rendimiento se define en el presente documento como la masa recuperada de micropartículas dividida por la masa de partida de (polímero más fármaco). A valores de pH inferiores de aproximadamente 5, la hidroxapatita se cristaliza, en lugar de formar un gel. Sin el gel de hidroxapatita, las gotitas de polímero-fármaco coalescen y las partículas sólidas que se forman son demasiado grandes.

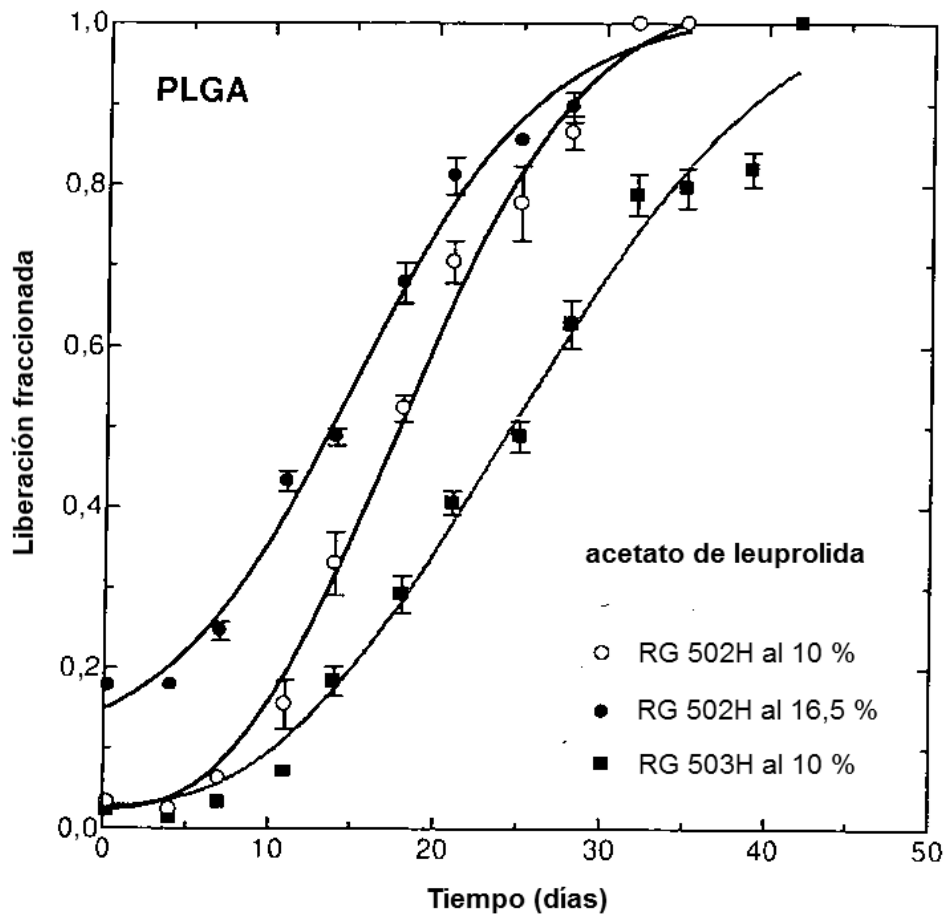
10 Se determinó la cinética de liberación del acetato de leuprolida desde las micropartículas de PLGA preparadas como se describe en el presente documento y los resultados se muestran en la FIG. 1. La concentración de fármaco en el sobrenadante se midió mediante absorción ultravioleta. La liberación del acetato de leuprolida desde las micropartículas de PLGA muestra una trifase clásica. La liberación rápida inicial ocurre debido a la disolución rápida del péptido ubicado en la superficie de la micropartícula seguida de un desfase de tiempo de 4-5 días. Después de 15 4-5 días las micropartículas se han hidratado significativamente y después se erosionan debido a la degradación del polímero. Durante la parte media de la curva, la liberación del péptido se produce a una velocidad casi constante.

20 La FIG. 2 compara la curva de liberación de la FIG. 1 para RG 502H al 10 % con una curva publicada de liberación para el acetato de leuprolida desde micropartículas formadas mediante emulsión aceite-en-agua convencional con poli(alcohol vinílico) como emulsionante (D'Souza et al., 2005, *AAPS PHARM. Sci. Tech.* 6 (4), E553). Las curvas de liberación son casi idénticas.

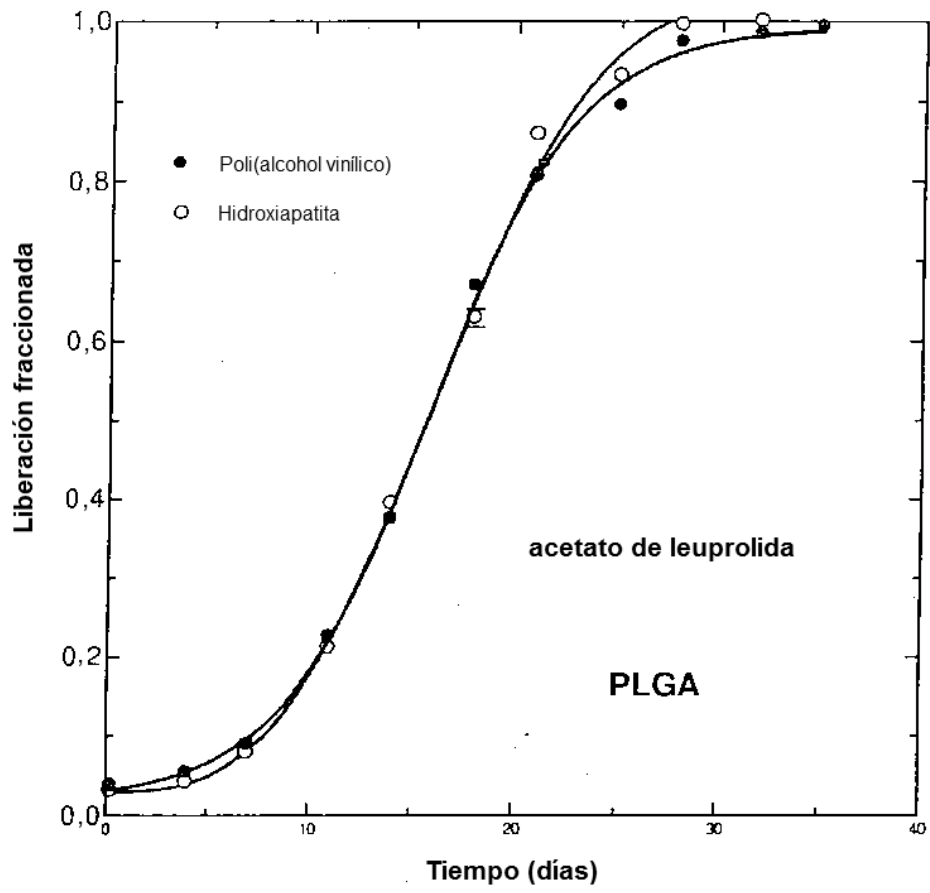
## REIVINDICACIONES

1. Un método de preparación de micropartículas que contienen fármaco que comprende:
  - 5        disolver un polímero biodegradable en un disolvente orgánico para formar una solución de polímero; disolver o dispersar un fármaco en la solución de polímero para formar una fase polímero-fármaco-disolvente; mezclar la fase polímero-fármaco-disolvente con una suspensión acuosa que comprende un gel inorgánico para formar una dispersión que comprende gotitas de polímero-fármaco dispersas en la suspensión acuosa, donde el gel inorgánico puede disolverse mediante ácido;
  - 10        evaporar el disolvente orgánico de la dispersión para convertir las gotitas de polímero-fármaco en micropartículas que contienen fármaco; y recuperar las micropartículas que contienen fármaco de la dispersión, donde la etapa de recuperación de las micropartículas que contienen fármaco de la dispersión comprende añadir ácido a la dispersión para disolver el gel inorgánico.
  - 15
2. El método de la reivindicación 1 donde el disolvente orgánico es una mezcla de disolventes orgánicos.
3. El método de la reivindicación 2 donde el disolvente orgánico comprende metanol y diclorometano.
- 20 4. El método de la reivindicación 1 donde el fármaco es hidrófobo.
5. El método de la reivindicación 1 donde el fármaco es hidrófilo.
6. El método de la reivindicación 1 donde el fármaco es un péptido o polipéptido.
- 25 7. El método de la reivindicación 6 donde el fármaco es leuprolida.
8. El método de la reivindicación 5 donde el fármaco se disuelve en una solución acuosa y la solución acuosa que contiene el fármaco se dispersa en la solución de polímero para formar la fase polímero-fármaco-disolvente.
- 30 9. El método de la reivindicación 1 donde el gel inorgánico es una apatita.
10. El método de la reivindicación 9 donde la apatita es hidroxiapatita.
- 35 11. El método de la reivindicación 9 donde la apatita es carbapatita, fluorapatita o clorapatita.
12. El método de la reivindicación 1 donde el gel inorgánico es aminoacetato de dihidroxialuminio,  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ,  $\text{AlPO}_4$  o  $\text{Mg}(\text{OH})_3$ .
- 40 13. El método de la reivindicación 1 donde la dispersión no comprende un tensioactivo orgánico o emulsionante orgánico que ayude a la dispersión de gotitas de polímero-fármaco en la suspensión acuosa.
14. El método de la reivindicación 1 donde la dispersión no comprende poli(alcohol vinílico).
- 45 15. El método de la reivindicación 1 donde la dispersión comprende no más del 0,05 % en peso de tensioactivo orgánico, emulsionante orgánico o agente antiestático orgánico.
16. El método de la reivindicación 1 donde el polímero biodegradable es ácido poliláctico o ácido poliglicólico o poli(ácido láctico-co-ácido glicólico).
- 50





**FIG. 1**



**FIG. 2**