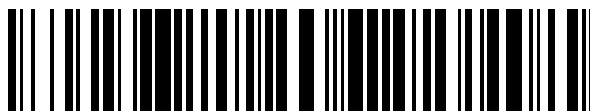


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 625**

51 Int. Cl.:

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/436 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.05.2010 PCT/GB2010/000932**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.11.2010 WO10130982**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.05.2010 E 10722743 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017 EP 2429497**

54 Título: **Procedimiento para preparar micropartículas**

30 Prioridad:

12.05.2009 GB 0908129
12.05.2009 US 216007 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.11.2017

73 Titular/es:

INNOVATA LIMITED (100.0%)
One Prospect West
ChippenhamWiltshire SN14 6FN, GB

72 Inventor/es:

WHITFIELD, NICOLA KIM;
MARTYN, GLEN;
DEY, FIONA y
CREW, PETER

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 642 625 T3

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

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para preparar micropartículas

La invención se refiere a micropartículas, preferiblemente en forma de un polvo seco, tal como un polvo secado por pulverización, que se puede usar en medicina, y a un procedimiento para formar las micropartículas.

5 Los inhaladores se usan ampliamente para suministrar agentes activos a pacientes. El agente activo puede estar en forma de un polvo. Los polvos para uso en inhaladores se pueden almacenar y cerrar herméticamente en, por ejemplo, blísters u otros receptáculos, o depósitos, para proporcionar cantidades definidas, así como para proteger a los polvos del medio ambiente, en particular humedad.

10 Es ventajoso si el blíster u otro receptáculo, tal como una cápsula, se puede llenar mediante una máquina en lugar de a mano. Sin embargo, no todos los polvos tienen propiedades másicas que los hacen convenientes para el llenado a máquina. Por ejemplo, los polvos pueden ser demasiado cohesivos o sensibles a la humedad. Como alternativa, los polvos pueden ser demasiado ligeros o finos para ser manipulados fácilmente.

15 También es un requisito el que los polvos para inhalación deben ser aerosolizados eficientemente desde el blíster u otro receptáculo. Esto puede proporcionar un régimen de dosificación más eficiente, y evitar gasto de agentes activos caros.

Los excipientes se han usado para formar mezclas con agentes activos para producir polvos que pueden ser adecuados para inhalación.

20 Sigue existiendo la necesidad de micropartículas que puedan ser adecuadas para el llenado a máquina y que se vacíen bien de los receptáculos, para proporcionar aerosoles adecuados para inhalación. También sigue existiendo la necesidad de micropartículas que no requieran excipientes ni formulación compleja a fin de ser adecuadas para el llenado y vaciado y aún suministrar propiedades aerodinámicas útiles.

25 El documento WO 99/32083 describe el uso del secado por pulverización para la producción de partículas ligeras grandes, y describe que las microcápsulas que tienen propiedades que son particularmente adecuadas para uso en procedimientos de diagnóstico de ultrasonidos y para el suministro de un agente terapéutico mediante inhalación se pueden preparar al incluir un agente de soplado en la formulación a secar por pulverización.

El documento WO 03/080028 describe un método y aparato para producir partículas secas que contienen componentes incompatibles. Se describe que el bicarbonato de amonio incrementa la porosidad de las partículas.

30 El documento WO 2007/086039 describe un método para preparar micropartículas porosas, que comprende las etapas de combinar uno o más compuestos orgánicos con un sistema volátil, y secar el sistema así formado para proporcionar micropartículas porosas sustancialmente puras de combinaciones de compuestos orgánicos.

El documento WO 2004/112702 describe un método para suministrar un agente al sistema pulmonar de un paciente comprometido, en una única etapa activada por la respiración.

El documento US 6.565.885 describe formulaciones y métodos para la producción de microestructuras perforadas que comprenden un agente activo.

35 El documento WO 2005/025540 describe composiciones farmacéuticas que son útiles en el tratamiento de enfermedades en las que el exceso de moco está presente en el aparato respiratorio, tales como fibrosis quística y enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

40 La bronquiolitis obliterante (BO) es un proceso fibrótico que da como resultado el estrechamiento progresivo de las luces bronquiales y la obstrucción del flujo de aire. La expresión *bronquiolitis obliterativa (OB)* es sinónima. Una vez que se desarrolla el síndrome de bronquiolitis obliterante (BOS), es típica una disminución en la función pulmonar. La mayoría de los pacientes muere de insuficiencia respiratoria en los 5 años de comienzo. El diagnóstico de BOS se realiza habitualmente mediante parámetros clínicos, fisiológicos, y radiográficos.

45 BOS es generalmente insensible, progresiva, irreversible, y mortal, con una supervivencia de la mediana de aproximadamente 3 años tras el diagnóstico. Por lo tanto, se necesita urgentemente para la población de trasplante de pulmón una intervención farmacológica para prevenir el desarrollo de BOS y mejorar la supervivencia.

Chougule et al (Int. J. Nanomedicine, 2007, 2(4); 675-88) describen un inhalador de polvo seco nanoliposómico de tacrolimus.

Siswata et al (European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Volumen 69, Edición 3, agosto de 2008, p. 1057-1066) describen la nebulización de tacrolimus amorfo o cristalino en forma de nanopartículas.

50 El documento EP 1632208 describe una preparación de aerosol que comprende un recipiente que encierra una composición de aerosol que contiene un compuesto macrólido.

El documento WO 2004/041278 describe una composición que comprende derivados específicos de FK506 y un β 2-agonista como una preparación combinada para tratar y prevenir asma aguda o crónica.

El documento WO 2005/063242 describe el uso de compuestos macrólidos específicos para tratar o prevenir una enfermedad pulmonar tal como obstrucción del caudal de aire.

- 5 El documento WO 97/10806 describe una composición de aerosol que comprende un compuesto tricíclico específico, un hidrofluoroalcano licuado, y un triglicérido de ácido graso de cadena media.

El documento WO 90/14826 describe el uso de macrólidos específicos para el tratamiento de enfermedades obstructivas reversibles del aparato respiratorios.

- 10 El documento IN 200600953 A describe formulaciones de polvo seco poroso aerodinámicamente ligero para la deposición pulmonar en un sitio diana.

El documento WO 2008/127746 describe el suministro mejorado de composiciones de fármacos inmunosupresores para el suministro pulmonar.

El documento US 6.395.300 describe matrices de fármacos porosas, y métodos de fabricación de las mismas.

El documento WO 2004/030659 describe micropartículas porosas de liberación lenta para inhalación.

- 15 La materia objeto de la invención se expone en las reivindicaciones anejas.

La expresión "derivado del mismo" se refiere preferiblemente a un compuesto que retiene el esqueleto y/o propiedades básicas de un inmunosupresor, pero incluye una o más sustituciones. Por ejemplo, los derivados pueden incluir ésteres, oximas, carbamatos, y sales farmacéuticamente aceptables.

- 20 Como se usa aquí, un "derivado" de tacrolimus significa preferiblemente un compuesto que retiene generalmente el esqueleto y/o propiedades básicas de tacrolimus, pero incluye una o más sustituciones.

Otros ejemplos derivados conocidos incluyen derivados de éster y de carbamato en C-32 y/o C-24. Otros ejemplos son derivados de oxima en C-22. En las patentes U.S. n^{os} 5.260.301, 5.196.437, y 5.665.727, cuya descripción se incorpora aquí como referencia, se describen otros ejemplos de derivados conocidos adecuados.

- 25 La Figura 1 muestra fotos de micrografías electrónicas de barrido de micropartículas producidas según la invención.

La Figura 2 muestra una gráfica del contenido de heparina frente al tamaño de partículas para micropartículas producidas según la invención y micropartículas comparativas.

La Figura 3 muestra una gráfica del contenido de heparina frente al tamaño de partículas para micropartículas producidas según la invención formadas usando bicarbonato amónico y carbonato amónico.

- 30 La Figura 4 muestra una fotografía de micropartículas de baja densidad, en forma de tapones, producidas según la invención.

La Figura 5 muestra una fotografía de una formulación estándar de heparina:leucina.

La Figura 6 muestra el efecto de incrementar o disminuir el nivel de carbonato en la masa de partículas finas (FPM) ($<5 \mu\text{m}$).

- 35 Las Figuras 7 y 8 muestran la estabilidad física y estabilidad química de formulaciones producidas según la invención.

Las Figuras 9 y 10 muestran imágenes de SEM de formulaciones de tacrolimus fabricadas con diferentes cantidades de bicarbonato de amonio.

- 40 La Figura 11 muestra una imagen de SEM de la formulación que contiene manitol como se describe en el Ejemplo 11.

- 45 En una realización, el agente comprende un agente terapéutico, tal como un agente profiláctico, o un agente de diagnóstico. El agente puede ser, por ejemplo, un fármaco tópico o un fármaco sistémico. Los fármacos adecuados incluyen aquellos para el tratamiento de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), bronquitis, fibrosis quística y otras enfermedades pulmonares. Un fármaco particularmente preferido comprende heparina o una sal fisiológicamente aceptable de la misma, tal como heparina sódica.

El agente es típicamente un sacárido o hidrato de carbono. Mediante la expresión "sacárido" o "hidrato de carbono", preferiblemente se quiere decir un agente terapéutico o bioactivo que comprende una o más unidades de sacárido o de hidrato de carbono. Las unidades de sacárido o de hidrato de carbono pueden ser de origen natural o sintéticas.

El sacárido puede comprender o no unidades que no son hidratos de carbono, además del hidrato de carbono. La expresión “agente terapéutico o bioactivo” no incluye típicamente componentes presentes como vehículos, excipientes o agentes de relleno.

5 En una realización, el agente terapéutico o bioactivo comprende dos o más unidades de sacárido o de hidrato de carbono, tal como de alrededor de 3 a 100, por ejemplo de 5 a 80, o 10 a 60 unidades. Las unidades pueden ser iguales o diferentes. En una realización de la invención, el agente terapéutico comprende un oligosacárido o un polisacárido.

10 En una realización, el agente, tal como un sacárido (por ejemplo heparina o ácido hialurónico), tiene un peso molecular promedio mayor que alrededor de 500 Da o 1.000 Da, tal como mayor que alrededor de 5.000 Da, o mayor que alrededor de 10.000 Da, por ejemplo de alrededor de 1.000 a 5.000.000 Da, de alrededor de 5.000 a 2.000.000 Da, de alrededor de 50.000 a 1.000.000 Da, o de alrededor de 100.000 a 500.000 Da.

Las micropartículas comprenden típicamente el agente, tal como un sacárido, en una cantidad de al menos alrededor de 50% en peso basado en el peso de las micropartículas, por ejemplo al menos alrededor de 60% en peso, tal como al menos alrededor de 70% en peso, u 80% en peso, o 90% en peso.

15 En una realización de la invención, las micropartículas comprenden el agente, o sacárido, en una cantidad de alrededor de 70 a 99% en peso, de alrededor de 80 a 95% en peso, de alrededor de 85 a 90% en peso, o de alrededor de 90% en peso a 95% en peso.

20 En una realización de la invención, las micropartículas consisten esencialmente en el agente, tal como un sacárido, y humedad, tal como agua, y cualesquiera otros componentes están presentes preferiblemente en cantidades en trazas, tales como menos de alrededor de 7% en peso, 2% en peso, 1% en peso, 0,1% en peso, o 0,01% en peso.

Las micropartículas que consisten esencialmente en un agente se pueden describir como micropartículas del agente, tales como, por ejemplo, micropartículas de heparina o sulfato de heparina o heparina sódica o sulfato de heparina.

25 Las micropartículas, en cualquiera de las realizaciones definidas aquí, pueden comprender uno o más de los agentes o sacáridos descritos aquí. Por ejemplo, las micropartículas de la invención pueden comprender mezclas de dos, tres, cuatro, cinco o más agentes diferentes.

30 En una realización, las micropartículas comprenden, consisten esencialmente en, o consisten en, uno o más sacáridos que son terapéuticamente activos y/o uno o más agentes terapéuticos adicionales como se definen aquí. Por ejemplo, las micropartículas pueden comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, un glicosaminoglicano terapéutico, tal como heparina o una sal fisiológicamente aceptable de la misma. Opcionalmente, las micropartículas también pueden comprender uno o más agentes adicionales como se definen aquí. Por ejemplo, la heparina se puede usar en combinación con un antibiótico, tal como capreomicina, y/o un antifúngico y/o un agente antiinflamatorio.

35 El sacárido terapéuticamente activo, opcionalmente en combinación con otro agente como se define aquí, se puede adaptar para que sea una formulación de liberación lenta o de liberación controlada.

40 En una realización, las micropartículas comprenden, comprenden, consisten esencialmente en, o consisten en, uno o más sacáridos que son sustancialmente no terapéuticamente activos, o son excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, las micropartículas de la invención pueden comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, un glicosaminoglicano no terapéutico, un polisacárido estructural, tal como quitina, o pululano, o monosacáridos tales como glucosa, galactosa, fructosa, xilosa y ribosa, disacáridos tales como trehalosa, maltosa, lactosa, celobiosa y sacarosa, trisacáridos tales como rafinosa, acarbosa, melezitosa, u oligosacáridos tales como oligosacáridos cíclicos o ciclodextrinas.

45 En una realización, las micropartículas en las que el sacárido es un excipiente o vehículo comprenden uno o más agentes terapéuticos como se definen aquí. El sacárido comprende preferiblemente un monosacárido, un disacárido, preferiblemente trehalosa, un trisacárido o mezclas de los mismos, y/o el agente terapéutico comprende un inmunosupresor. El inmunosupresor puede comprender un macrólido tal como tacrolimus, sirolimus, pimecrolimus, ciclosporina, everolimus, y similar, preferiblemente un inhibidor de calcineurina tal como tacrolimus. Por ejemplo, las micropartículas de la invención pueden comprender trehalosa y tacrolimus. Estas micropartículas pueden ser adecuadas para inhalación oral o nasal.

50 En una realización de la invención, el inmunosupresor comprende un compuesto seleccionado de un macrólido, un inhibidor de calcineurina, tacrolimus, sirolimus, pimecrolimus, ciclosporina, everolimus, y similares, y mezclas de los mismos, preferiblemente un inhibidor de calcineurina tal como tacrolimus. En una realización de la invención, el inmunosupresor no comprende un esteroide o un corticosteroide, tal como prednisona.

55 En una realización de la invención, el agente terapéutico, tal como un inmunosupresor, por ejemplo tacrolimus, no se encapsula liposómicamente, o no está encapsulado (por ejemplo, el inmunosupresor comprende al menos 70, 80, 90

o 95% en peso de inmunosupresor), aunque el inmunosupresor puede estar encapsulado en una realización de la invención.

5 Las micropartículas que comprenden un inmunosupresor, tal como tacrolimus, sirolimus, pimecrolimus, ciclosporina, everolimus, o similar, o un inhibidor de la calcineurina, tal como tacrolimus, se pueden usar en una terapia inhalada para inmunosupresión crónica tras el trasplante de pulmón, para retrasar o prevenir el comienzo de rechazo de trasplante de pulmón agudo y/o crónico, y/o el síndrome de bronquiolitis obliterante (BOS) y/o BO, e incrementar la supervivencia, es decir, profilaxis. Las micropartículas se pueden usar solas o en combinación con otros fármacos inmunosupresores, tales como, por ejemplo, esteroides, tales como, por ejemplo, metilprednisolona/prednisolona, y/o un antimetabolito, tal como, por ejemplo, azatioprina o micofenolato mofetilo.

10 Las micropartículas producidas según la invención que comprenden un inmunosupresor y un excipiente o vehículo se usan en el tratamiento, prevención, mitigación o tratamiento profiláctico de rechazo de trasplante de pulmón agudo y/o crónico, y/o BO, y/o BOS, mediante inhalación oral y/o nasal tras el trasplante de pulmón en un sujeto o mamífero, es decir, en un sujeto o mamífero que ha recibido un trasplante de pulmón. Las micropartículas pueden, por ejemplo, retrasar el comienzo de BO/BOS, y/o incrementar la supervivencia libre de BOS, y/o prevenir el rechazo de trasplante de pulmón agudo y/o crónico. Además, las micropartículas pueden retrasar el comienzo del rechazo agudo y/o crónico e incrementar la supervivencia.

15 En una realización de la invención, las micropartículas comprenden uno o más inmunosupresores, tales como, por ejemplo, tacrolimus, sirolimus, pimecrolimus, ciclosporina, everolimus, o similares, o derivados o mezclas de los mismos, y uno o más excipientes o vehículos cristalinos o no cristalinos, tal como un vehículo que está en forma amorfa o vítrea. Tal vehículo existirá preferiblemente en el estado cristalino, tal como después del secado por pulverización.

20 El excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable para uso con el inmunosupresor es un sacárido como se define aquí. Por ejemplo, el sacárido se puede seleccionar de, por ejemplo, monosacáridos tales como glucosa, galactosa, fructosa, xilosa y ribosa, disacáridos tales como trehalosa, maltosa, lactosa, celobiosa y sacarosa, trisacáridos tales como rafinosa, acarbosa, melezitosa, u oligosacáridos tales como oligosacáridos cíclicos o ciclodextrinas, o polisacáridos, tales como, por ejemplo, inulina y maltodextrina. En una realización, el sacárido es un disacárido o superior, es decir, un trisacárido, oligosacárido o polisacárido. Como alternativa, el sacárido es un disacárido, tal como trehalosa.

25 Los materiales excipientes o vehículos cristalinos adecuados incluyen, por ejemplo; monosacáridos tales como arabinosa, glucosa, galactosa, galactulosa, fructosa, manosa, sorbosa, xilosa, ribulosa, ribosa, ramnosa; y alcoholes de azúcares tales como sorbitol, xilitol, mio-inositol, scilo-inositol y manitol. Estos materiales excipientes o vehículos, es decir, monosacáridos tales como arabinosa, glucosa, galactosa, galactulosa, fructosa, manosa, sorbosa, xilosa, ribulosa, ribosa, ramnosa, y alcoholes de azúcares tales como sorbitol, xilitol, mio-inositol, scilo-inositol y manitol, también pueden estar en una forma amorfa o vítrea; estos representan realizaciones de la invención.

30 Otros excipientes útiles que pueden estar presentes en las micropartículas o composición y que pueden existir en el estado cristalino tras el secado por pulverización pero que existen preferiblemente en el estado no cristalino tal como un cristal, incluyen aminoácidos tales como glicina, alanina, serina, cisteína, treonina, valina, prolina, metionina, leucina, isoleucina, lisina y arginina, preferiblemente en una cantidad mayor que 50% p/p del peso de la micropartícula o polvo.

35 En una realización de la invención, el material excipiente o vehículo comprende al menos 50% en peso de las micropartículas, tal como igual o mayor que 60, 70, 80 o 90% en peso. Por ejemplo, las micropartículas pueden comprender de alrededor de 40 a alrededor de 95% en peso, o de alrededor de 50 a alrededor de 90% en peso, tal como de 55 a 85% en peso de excipiente o vehículo, tal como trehalosa o manitol.

40 En una realización de la invención, el excipiente o vehículo es un material hidrófilo. Por ejemplo, el excipiente o vehículo en una realización no es un material hidrófobo, tal como un tensioactivo o fosfolípido, o un material que proporciona liberación lenta, tal como a lo largo de 2 horas.

La superficie específica de las micropartículas que comprenden un inmunosupresor según la invención puede ser mayor que $1 \text{ m}^2/\text{g}$ y/o menor que $5 \text{ m}^2/\text{g}$, según se mide mediante BET en una realización de la invención.

45 En el procedimiento de preparación de las micropartículas que comprenden un inmunosupresor, la materia prima comprende además un material de soplado seleccionado de carbonato o bicarbonato de amonio.

Cuando un excipiente o vehículo, tal como trehalosa o manitol, se incluye en la disolución o dispersión, se prefiere que el material de soplado, tal como carbonato de amonio o bicarbonato de amonio, esté presente en una cantidad menor que 80% en peso o menor que 60% en peso basado en el peso combinado del inmunosupresor y excipiente o vehículo, tal como de 5 a 60% en peso, o de 10 a 30 o 40% en peso.

55 En una realización, las micropartículas comprenden un inmunosupresor, tal como tacrolimus, en una cantidad de al menos alrededor de 40% en peso basado en el peso de las micropartículas, por ejemplo al menos alrededor de 50 o

60% en peso, tal como al menos alrededor de 70% en peso u 80% en peso, 90% en peso, 95, 97, 98 o 99% en peso.

5 En una realización de la invención, las micropartículas comprenden el inmunosupresor, tal como tacrolimus, en una cantidad de de alrededor de 40 a 99% en peso, de alrededor de 60 a 95% en peso, de alrededor de 70 a 90% en peso, o de alrededor de 80% en peso o 90% en peso a 95% en peso. Como alternativa, las micropartículas pueden comprender el inmunosupresor en una cantidad menor que 40% en peso, tal como menor que 30 o 20% en peso, o de 20 a 50% en peso.

10 Las micropartículas o composiciones que comprenden un inmunosupresor, tal como tacrolimus, también pueden comprender un material que enmascara el sabor. Los materiales adecuados que enmascaran el sabor incluyen, por ejemplo, aspartamo y mentol. El material que enmascara el sabor está presente adecuadamente en una cantidad para enmascarar el sabor del inmunosupresor.

15 En una realización, las micropartículas comprenden, consisten esencialmente en, o consisten en, uno o más sacáridos que son terapéuticamente activos, y/o uno o más agentes terapéuticos adicionales como se definen aquí, opcionalmente en combinación con uno o más sacáridos que son sustancialmente activos de forma no terapéutica o son excipientes farmacéuticamente aceptables. Los sacáridos terapéuticamente activos y no terapéuticamente activos pueden ser como se definen anteriormente.

20 Los ejemplos de agentes que se pueden incorporar en las micropartículas incluyen cualesquiera sustancias bioactivas tales como sustancias farmacéuticamente eficaces, incluyendo, pero sin limitarse a, fármacos antiinflamatorios, analgésicos, fármacos antiartríticos, antiespasmódicos, antidepresivos, antipsicóticos, tranquilizantes, fármacos contra la ansiedad, antagonistas narcóticos, agentes contra el parkinsonismo, agonistas colinérgicos, fármacos quimioterapéuticos, agentes inmunosupresores, agentes antivíricos, agentes antimicrobianos, supresores del apetito, anticolinérgicos, antieméticos, antihistamínicos, agentes contra la migraña, vasodilatadores coronarios, cerebrales o periféricos, agentes hormonales, anticonceptivos, agentes antitrombóticos, diuréticos, agentes antihipertensivos, fármacos cardiovasculares, opioides, y similares.

25 En una realización de la invención, el agente o micropartículas pueden comprender uno o más agentes terapéuticos seleccionados de ácido 13-cis-retinoico, 2-pentenilpenicilina, L-alfaacetilmetadol, S-adenosilmetionina, acebutolol, aceclofenaco, acetaminofeno, acetafenazina, acetofenazina, aclidinio, ademetionina, adinazolam, adrafinilo, ahnotriptán, albuterol, albuterol, sulfato de albuterol, alfentanilo, alfentanilo HCl, alizaprida, alilprodina, alminoprofeno, almotriptán, alperoprida, alfaprodina, alpidem, alserroxlón, amantadina, ambrisentán, amesergida, amfenaco, aminopropilón, amiodarona HCl, amisulprida, amitriptilina, amixetrina, amlodipina, amoxapina, amoxicilina, amperozida, amfenidona, anfetamina, ampicilina, amilpenicilina, andropirinol, anileridina, apazona, apomorfina, hidrocloreuro de apomorfina, diacetato de apomorfina, atenolol, sulfato de atropina, azaciclona, azasetrón, azatadina, azidocilina, aztreonam, Bacilo de Calmette-Guerin, baclofeno, dipropionato de beclometasona, benactizina, benmoxina, benoxaprofeno, benperidol, benserazida, benzpiperilón, benzquinamida, benztropina, benzhidramina, bencilmorfina, bencilpenicilina, bezitramida, binedalina, biperideno, bitolterol, mesilato de bitolterol, brofaromina, bromfenaco, bromisovalum, bromocriptina, bromoprida, bromperidol, bromfeniramina, brucina, buclizina, budesonida, fumarato de formoterol, budipina, bufexamac, buprenorfina, bupropión, buramato, buspirona, butaclamol, butaperazina, butorfanol, butriptilina, cabergolina, cafeína, N-carbamoilaspartato de calcio, cannabinoides, captodiamina, capurida, carbamazepina, carbcloral, carbenicilina, carbidopa, carbifeno, carbromal, carfecilina, carindacilina, caroxazona, carfenazina, carpipramina, carprofeno, cefazolina, cefinetazol, cefmetazol, cefoxitina, ceftazidima, cefacetril, cefalexina, cefaloglicina, cefaloridina, cefalosporina C, cefalosporinas, cefalotina, cefamicina A, cefamicina B, cefamicina C, cefamicinas, cefarina, cefradina, cericlamina, cetripina, cloralbetaína, clordiazepóxido, clorbutinpenicilina, clorfeniramina, clorpromazina, clorprotixeno, colina, cialis, cilazaprol, cilostazol, cincofeno, cinmetacina, cinarizina, cipramadol, ciprofloxacina, citalopram, cleboprida, clemastina, clobenzepam, clozapamina, clomacrán, clometacina, clometocilina, clomipramina, clonidina, clonitazeno, clonixina, clopentinol, clopriac, cospirazina, clotiapina, clovoxamina, cloxacilina, clozapina, codeína, cotinina, cromolina sódica, ciamemazina, ciclacilina, etacualona, etambutol, etoheptazina, etodolaco, famotidina, fenfluramina, fentanilo, desipramina, fosfato sódico de dexametasona, dexfenfluramina, dexmedetomidina, dextroamfetamina, dextromoramida, dextropropoxifeno, diamorfina, diazepam, diclofenaco, dicloxacilina, dihidrocodeína, dihidroergocriptina, dihidroergotamina, diltiazem, difenhidramina, difenicilina, difenidol, difenoxilato, dipipanona, disulfiram, metanosulfonato de dolasetrón, domeridona, dornasa alfa, dosulepina, doxepina, doxorubicina, doxilamina, dronabinol, droperidol, droprenilamina HCl, duloxetina, eletriptán, eliprodilo, enalaprilol, enciprazina, enflurano, entacapona, entonox, efedrina, epinefrina, eptastigmina, ergolinapramipexol, ergotamina, tartrato de ergotamina, etamifilina, etacualona, etambutol, etoheptazina, etodolaco, famotidina, fenfluramina, fentanilo, fexofenadina, fibrinógeno, fientanilo, flesinoxán, fluconazol, flunisolido, fluoxetina, flupentixol, flufenazina, flupirtina, flurazepam, fluspirileno, propionato de fluticasona, fluvoxamina, fumarato de formoterol, frovatriptán, gabapentina, galantamina, gepirona, grelina, glutatona, glicopirronio, granisetrón, haloperidol, halotano, heliox, heparina, heparina sódica, sulfato de heparina, heptilpenicilina, hetacilina, hidromorfona, hidroxizina, hioscina, ibuprofeno, idazoxán, iloprost, imipramina, indacaterol, indoprofeno, insulina (humana recombinante), bromuro de ipratropio, iproniazid, ipsapiraona, isocarboxazida, hidrocloreuro de isoetarina, isoflurano, isometepteno, isoniazida, rifampina, pirazinamida, etambutol, icodextrina, isoproterenol, hidrocloreuro de isoproterenol, bitartrato de isoproterenol, dinitrato de isosorbida, itraconazol, ketamina, ketoprofeno, ketorolaco, ketotifeno, kitanserina, lazabemida, leptina, lesopitrón,

5 hidrocloreuro de levalbuterol, levodopa, levofloxacina, levorfanol, lidocaína, lisinopriilo, lisurida, lofentanilo, lofepramina, lomustina, loperazolam, loratidina, lorazepam, lorezepam, loxapina, maprotolina, mazindol, mazipredona, meclofenamato, mecloqualona, medetomidina, medifoxamina, melperona, memantina, mentol, meperidina, meperidina HCl, meptazinol, meropenem, mesoridazina, metampicilina, metaproterenol, sulfato de metaproterenol, cloruro de metacolina, metadona, metacualona, metilicina, metprilón, metsuximida, metifenidato, metiprilón, metisergida, metoclopramida, metofenazato, metomidato, metopimazina, metopón, metoprolol, metralindol, mianserina, midazolam, milnaciprán, minaprina, mirtazapina, moclobemida, mofegilina, molindrona, furoato de mometasona, morfina, nabilona, nadolol, nafcilina, nalbufina, nalmefero, nalorfina, naloxona, naltrexona, naratriptán, nedocromilo sódico, nefazodona, nefopam, nicergolina, nicotina, nicotina, nifedipina, nisoxetina, óxido nitroso, nitroglicerina, nomifensina, nortriptilina, obestatina, olanzapina, omoconazol, ondansetrón, orfenadrina, oxprenolol, oxycodona, palonosetrón, papaveretum, papaverina, paroxetina, pemolina, penfluridol, penicilina N, penicilina O, penicilina S, penicilina V, isetonato de pentamidina, pentazocina, pentetato cálcico trisódico, pentetato de cinc trisódico, pentobarbital, péptidos, pergolike, periciazina, perfenazina, petidina, fenazocina, fenelzina, fenobarbital, fentermina, fentolamina, fenihidrazina, fosfodiesterasa-5, pilocarpina, pimozida, pipamperona, piperacetazina, pipotiazina, acetato de pirbuterol, pirbuterolinaloxona, piroxicam, pirprofeno, pizotifeno, pizotilina, polipéptidos, polipéptido YY, pramipexol, prentoxapilina, procaína, procaterol HCl, proclorperazina, prociclidina, promazina, prometazina, propacetamol, propanolol, propentofilina, propofol, propoxifeno, propranolol, proteínas, protriptilina, quetiapina, quinina, rasagilina, reboxetina, remacemida, remifentanilo, remoxiprida, retinol, ribavirina, rimonabant, risperidona, ritanserina, ritodrina, rizatriptán, roxindol, salicilato, xinafoato de salmeterol, salmeterol, escopolamina, selegilina, sertindol, sertralina, sevoflurano, sibutramina, sildenafilo, esferamina, espiperona, sufentanilo, sulpirida, sumatriptán, tacrolimus, tandospirona, terbutalina, tergurida, testosterona, acetato de testosterona, enantato de testosterona, propionato de testosterona, tetrahidrocannabinol, tiordazina, tiotixeno, trombina, tiagabina, tianeptina, timolol, monohidrato de bromuro de tiotropio, tizanidina, tobramicina, tofenacina, tolcapona, tolfenamato, tolfenamicacida, topiramato, tramadol, tranilcipromina, trazadona, trehalosa, acetónido de triamcinolona, trietilperazina, trifluoperazina, trifluperidol, triflupromazina, trihexifenidilo, trimeprazina, trimetobenzamida, trimipramina, tropisetron, triptófano, antígenos de vacunas, ácido valproico, vardenafilo, venlafaxina, verapamilo, vigabatrina, viloxazina, yohimbina, zafirlukast, zalospirona, zanamivir, zileuton, ziprasidona, zolmitriptán, zolpidem, zopiclona, zotepina, zuclopentixol, y sales y combinaciones de los mismos.

30 Los agentes adecuados incluyen agentes terapéuticos y profilácticos tales como vacunas. Estos incluyen, pero no se limitan a, cualquier modificador biológico terapéuticamente eficaz. Tales sustancias incluyen, pero no se limitan a, composiciones subcelulares, células, bacterias, virus y moléculas que incluyen, pero no se limitan a, lípidos, orgánicos, proteínas y péptidos (sintéticos y naturales), miméticos peptídicos, hormonas (péptido, esteroide y corticosteroide), polímeros de D y L aminoácidos, oligosacáridos, polisacáridos, nucleótidos, oligonucleótidos y ácidos nucleicos, incluyendo ADN y ARN, híbridos de ácidos nucleicos de proteínas, moléculas pequeñas y análogos fisiológicamente activos de los mismos. Además, los modificadores pueden derivar de fuentes naturales, o se pueden obtener por medios recombinantes o sintéticos, e incluyen análogos, agonistas y homólogos.

40 Como se usa aquí, "proteína" se refiere también a péptidos y polipéptidos. Tales proteínas incluyen, pero no se limitan a, enzimas, sustancias biofarmacéuticas, hormonas del crecimiento, factores de crecimiento, insulina, anticuerpos, tanto monoclonales como policlonales y sus fragmentos, interferones, interleucinas y citocinas. Los orgánicos incluyen, pero no se limitan a, restos farmacéuticamente activos con grupos aromáticos, carbonílicos, amino, imino y guanidino. Las hormonas esteroideas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, estrógeno, progesterona, testosterona, y análogos fisiológicamente activos de los mismos. En la técnica se conocen numerosos análogos de hormonas esteroideas, e incluyen, pero no se limitan a, estradiol, SH-135 y tamoxifeno. Muchas hormonas esteroideas, tales como progesterona, testosterona y sus análogos, son particularmente adecuadas para uso en la presente invención. Como se usa aquí, "ácidos nucleicos" incluye cualesquiera ácidos nucleicos terapéuticamente eficaces conocidos en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, ADN, ARN y sus análogos fisiológicamente activos. Los nucleótidos pueden codificar genes, o pueden ser cualquier vector conocido en la técnica de ADN recombinante, incluyendo, pero sin limitarse a, plásmidos, retrovirus y virus adenoasociados.

50 Los agentes que son profilácticamente activos y sus vehículos también son adecuados para las micropartículas de la invención. En una realización, las micropartículas comprenden un inmunógeno tal como una vacuna. Las vacunas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, virus vivos y atenuados, vectores nucleotídicos que codifican antígenos, bacterias vivas y atenuadas, antígenos, antígenos más adyuvantes, y haptenos acoplados a vehículos.

En una realización de la invención, el agente o sacárido comprende una vacuna en forma de un polisacárido, o una vacuna de polisacárido.

55 Típicamente, las vacunas de polisacáridos inducen producción de anticuerpos, pero no inducen una respuesta de células T. Las vacunas de polisacáridos adecuadas incluyen, por ejemplo, vacunas frente a la enfermedad meningocócica causada por *Neisseria meningitidis* grupos A, C, W135 e Y, tal como la vacuna meningocócica del Grupo C y Menomune®- A/C/Y/W-135, que es una preparación liofilizada de los antígenos de polisacáridos específicos del grupo de *Neisseria meningitidis*, Grupo A, Grupo C, Grupo Y y Grupo W-135. La vacuna de polisacárido neumocócica (PPV), también conocida como Pneumovax, es también una vacuna adecuada. Ésta se usa para prevenir infecciones por *Streptococcus pneumoniae* (neumococos), tales como neumonía y septicemia. La vacuna puede ser una vacuna 23-valente (por ejemplo, Pneumovax II). La vacuna de polisacárido capsular Vi (o

ViCPS) es una de las dos vacunas recomendadas por la Organización Mundial de la Salud para la prevención de tifus (la otra es Ty21 a), y es otro ejemplo adecuado.

5 Otros ejemplos incluyen: Typhim Vi®, una vacuna de polisacárido del tifus Vi, producida por Sanofi Pasteur SA, para uso intramuscular, que es una disolución estéril que contiene el polisacárido Vi de la superficie celular extraído de la cepa de Salmonella enterica serovar Typhi, S typhi Ty2; y una vacuna del polisacárido de Haemophilus b (hem-OFF-fil-us BEE pol-i-SAK-ka-ryd), que es un agente inmunizante usado para prevenir infección por bacterias de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib).

10 En la presente invención se pueden usar sacáridos de cadena relativamente corta. En una realización, el sacárido comprende un pentasacárido, tal como aislado de una fracción que contiene oligosacárido que tiene actividad inmunoestimulante de leche de búfalo. Una mezcla de oligosacáridos procesada de leche de búfalo puede inducir estimulación significativa de anticuerpo, respuesta de hipersensibilidad de tipo retrasada a glóbulos rojos de ovejas en ratones BALB/c.

15 En una realización de la invención, el agente o sacárido comprende un polisacárido que es un polisacárido unido a una proteína, que tiene actividad antivírica, obtenido de un alga marina que pertenece a los géneros Nemaecystus, Kjellmaniella, Laminaria, Undaria, Hizikia, Porphyra, Gelidium, Gloiopeltis, Gracilaria, Hemineura, Ulva, Spirogyra, Codium y Acetabularia, tal como se describe en la patente US n° 5089481.

En otra realización, el agente o sacárido comprende un polisacárido que comprende un polisacárido de ginseng (GMP) soluble en agua.

20 Otros ejemplos de polisacáridos solubles incluyen polisacáridos sulfatados (SPS). Los SPS adecuados incluyen los encontrados en algas marinas, tales como Rhodophyta, Phaeophyta y Chlorophyta, y animales superiores. Los SPS encontrados, por ejemplo, en Rhodophyta son galactanos que consisten completamente en galactosa o unidades de galactosa modificadas. Son comercialmente conocidos como agar y carrageenano. Los SPS pueden tener actividad anticoagulante.

25 En una realización de la invención, el sacárido comprende un glicolípido. Los glicolípidos son lípidos unidos a hidratos de carbono. La cabeza del grupo de un glicolípido está compuesta de hidratos de carbono. Aparecen cuando una cadena de hidrato de carbono se asocia con fosfolípidos en la superficie exoplásmica de la membrana celular. Los ejemplos adecuados incluyen, por ejemplo, gliceroglicolípidos, galactolípidos, sulfolípidos (SQDG), glicoesfingolípidos, cerebrósidos, galactocerebrósidos, glicocerebrósidos, glicobicaranateoets, gangliósidos (los glicolípidos de animales más complejos; contienen oligosacáridos cargados negativamente con uno o más restos de ácido siálico; se han identificado más de 40 gangliósidos diferentes; son los más abundantes en las células), globósidos, sulfátidos, glicofosoesfingolípidos (glicofosfolípidos complejos procedentes de hongos, incluyendo levaduras, y en plantas, en las que se denominaron originalmente "fitoglicolípidos", y pueden comprender compuestos tan complicados como los gangliósidos cargados negativamente en animales).

35 En una realización, el sacárido es un agente terapéutico que comprende un oligosacárido o polisacárido que comprende al menos dos unidades de sacárido, preferiblemente diferentes. Tales agentes terapéuticos incluyen, por ejemplo, estreptomina, glicoproteínas y proteoglicanos.

40 Las glicoproteínas son proteínas que contienen cadenas de oligosacáridos (glicanos) unidas covalentemente a sus cadenas laterales polipeptídicas. Los ejemplos de glicoproteínas incluyen hormonas tales como, por ejemplo, hormona estimulante de folículos, hormona luteinizante, hormona estimulante de tiroides, gonadotropina coriónica humana, alfa-fetoproteína, y eritropoyetina (EPO).

Los proteoglicanos representan una clase especial de glicoproteínas que están muy glicosiladas. Consisten en una proteína central con una o más cadenas de glicosaminoglicanos (GAG) unidos covalentemente. Los proteoglicanos se pueden categorizar dependiendo de la naturaleza de sus cadenas de glicosaminoglicanos. Estas cadenas pueden ser: sulfato de condroitina y sulfato de dermatano; heparina y sulfato de heparano; o sulfato de queratano.

45 Los ejemplos de agentes activos que se pueden usar en la presente invención también incluyen factores de cotranscrosis, fibrinógeno, trombina, insulina, hormona del crecimiento, calcitonina, α -antitripsina, FSH, α -interferón, β -interferón, heparina, Factor VIII, Factor IX, interleucinas, y factores de coagulación de la sangre, y mezclas de los mismos.

50 En una realización de la invención, el agente o sacárido comprende un polisacárido. El polisacárido puede ser un polisacárido terapéutico. Por "polisacárido terapéutico" se pretende significar un polisacárido que se puede usar en medicina para la prevención, alivio y/o tratamiento de una o más enfermedades.

Como se usa aquí, el término "polisacárido" no incluye preferiblemente monosacáridos tales como glucosa, galactosa, fructosa, disacáridos tales como trehalosa, maltosa, lactosa y sacarosa, trisacáridos tales como rafinosa, acarbosa, melezitosa, u oligosacáridos tales como oligosacáridos cíclicos o ciclodextrinas e inulina y maltodextrina.

55 Sin embargo, en una realización de la invención, los monosacáridos tales como glucosa, galactosa, fructosa, los

disacáridos tales como trehalosa, maltosa, lactosa y sacarosa, los trisacáridos tales como rafinosa, acarbosa, melezitosa, o los oligosacáridos tales como oligosacáridos cíclicos o ciclodextrinas e inulina y maltodextrina, son los sacáridos preferidos para uso en la invención. En particular, en una realización de la invención, el polisacárido es inulina.

- 5 En una realización de la invención, el polisacárido tiene un peso molecular promedio de alrededor de 5.000 a 100.000 Da, de alrededor de 7.000 a 50.000 Da, o de alrededor de 10.000 a 30.000 Da.

Los polisacáridos tienen una fórmula general de $C_x(H_2O)_y$, en la que x es habitualmente un número grande entre 200 y 2500. Considerando que las unidades que se repiten en la cadena principal del polímero son a menudo monosacáridos de seis carbonos, la fórmula general también se puede representar como $(C_6H_{10}O_5)_n$, en la que n = {40...3000}.

Los ejemplos de polisacáridos adecuados incluyen polisacáridos de almacenamiento, tales como almidón y glucógeno, polisacáridos estructurales tales como celulosa y quitina, polisacáridos ácidos, polisacáridos bacterianos, polisacáridos capsulares, goma de xantana, dextrano, goma de gelano, pululano, alginato y alginato sódico, y glicano.

- 15 Los polisacáridos ácidos son polisacáridos que contienen grupos carboxilo, grupos fosfato y/o grupos éster sulfúrico.

Los polisacáridos bacterianos representan un intervalo diverso de macromoléculas que incluyen peptidoglicano, lipopolisacáridos, cápsulas y exopolisacáridos; compuestos cuyas funciones oscilan desde componentes estructurales de la pared celular (por ejemplo peptidoglicano), y factores de virulencia importantes (por ejemplo, Poli-N-acetilglucosamina en *S. aureus*), para permitir a la bacteria sobrevivir en entornos duros (por ejemplo *Pseudomonas aeruginosa* en el pulmón humano).

Las bacterias patógenas producen habitualmente una capa espesa, similar a moco, de polisacárido. Esta "cápsula" esconde proteínas antigénicas en la superficie bacteriana que de otro modo provocarían una respuesta inmune y de ese modo conduciría a la destrucción de la bacteria. Los polisacáridos capsulares son solubles en agua, habitualmente ácidos, y tienen pesos moleculares del orden de 100-1000 kDa. Son lineales, y consisten en subunidades que se repiten de forma regular de uno a seis monosacáridos. Existe una enorme diversidad estructural; casi doscientos polisacáridos diferentes son producidos por *E. coli* sola. Las mezclas de polisacáridos capsulares, ya sea conjugados o naturales, se usan como vacunas. Tales vacunas se pueden usar en la presente invención.

Las bacterias y muchos otros microbios, incluyendo hongos y algas, segregan a menudo polisacáridos como una adaptación evolutiva para ayudarles a adherirse a superficies y evitar que se sequen. Algunos de estos polisacáridos se han desarrollado en productos útiles, incluyendo goma de xantana, dextrano, goma de gelano, y pululano. Éstos pueden ser polisacáridos preferidos según la invención.

El término "glicano" se refiere a un polisacárido. El glicano también se puede usar para referirse a la porción de hidrato de carbono de un glicoconjugado, tal como una glicoproteína, glicolípido, o un proteoglicano. Los glicanos habitualmente consisten únicamente en enlaces O-glicosídicos de monosacáridos. Por ejemplo, la celulosa es un glicano compuesto de D-glucosa enlazada en beta-1,4, y la quitina es un glicano compuesto de N-acetil-D-glucosamina enlazada en beta-1,4. Los glicanos pueden ser homo- o heteropolímeros de restos de monosacáridos, y pueden ser lineales o ramificados.

En una realización de la invención, el agente o sacárido comprende un glicano, tal como una glicoproteína enlazada mediante O, preferiblemente un glicosaminoglicano o una sal fisiológicamente aceptable o derivado del mismo.

Los ejemplos de glicoproteínas enlazadas mediante O son: glicoforina, una proteína en membranas celulares de eritrocitos, mucina, una proteína en la saliva implicada en la formación de la placa dental, y notch, un receptor transmembránico implicado en el desarrollo y toma de decisiones sobre el destino de las células, trombospondina, Factor VII, Factor IX, y activador del plasminógeno de tipo urinario.

Los glicosaminoglicanos son otro tipo de glicano celular, y se refieren a un grupo de heteropolisacáridos que contienen una hexosamina N-acetilada en una unidad de disacárido que se repite característica. Incluyen polímeros tales como heparina, sulfato de heparina, condroitina, queratina y dermatano. Debido a su naturaleza polianiónica, los glicosaminoglicanos son moléculas "pegajosas", y se ha encontrado que forman fácilmente agregados cuando se proporcionan en forma de partículas. Tales agregados son demasiado grandes para alcanzar el pulmón profundo en la inhalación.

Los glicosaminoglicanos y sus sales o derivados pueden estar presentes en un intervalo de tamaños de pesos moleculares. Los glicosaminoglicanos y las sales de los mismos usados en la invención tienen adecuadamente un peso molecular promedio de alrededor de 8 a 40 kDa, de alrededor de 10 a 30 kDa, de alrededor de 12 a 20 kDa, tal como de alrededor de 12 a 18 kDa, 14 a 18 kDa, 15 a 17 kDa o 16 a 17 kDa. Los glicosaminoglicanos usados en la presente invención no comprenden preferiblemente una parte o núcleo proteico. El número de unidades de sacárido en las cadenas de polisacárido puede ser de alrededor de 5 a 100, preferiblemente de 10 a 90, más preferiblemente

de 20 a 60.

5 En una realización, los glicosaminoglicanos usados en la presente invención no se habrán fraccionado o fragmentado a fin de reducir su peso molecular, es decir, estarán sin fraccionar. Los glicosaminoglicanos sin fraccionar, tales como heparina, incluyen componentes de peso molecular tanto elevado como bajo en un único producto. Generalmente, los glicosaminoglicanos no se habrán sometido a despolimerización, tal como por medios químicos o enzimáticos.

10 Los derivados de glicosaminoglicanos incluyen aquellos glicosaminoglicanos sometidos a acetilación, desacetilación, oxidación y/o descarboxilación, tal como, por ejemplo, oxidación con peryodato. Además, la heparina se puede someter a O-desulfatación en, por ejemplo, las posiciones 2-O y 3-O para formar derivados adecuados. Los glicosaminoglicanos usados en la presente invención pueden ser glicosaminoglicanos muy sulfatados de origen natural o sintético, tales como, por ejemplo, compuestos de polisulfato de glicosaminoglicano o mucopolisacáridos sulfatados.

15 Los glicosaminoglicanos comprenden habitualmente un grado elevado de carga negativa a lo largo del polímero procedente de los grupos sulfato. Las sales fisiológicamente aceptables de, por ejemplo, glicosaminoglicanos incluyen sales con cationes metálicos, tales como por ejemplo cationes de metales alcalinos, metales alcalinotérreos o metales de transición, y cationes de amonio. Los ejemplos de sales adecuadas incluyen sales con uno o más cationes de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, cinc y amonio, y mezclas de los mismos. Se prefieren las sales de sodio.

20 Los glicosaminoglicanos se pueden aislar de fuentes naturales, tales como de un animal, o se pueden sintetizar. Los glicosaminoglicanos comercialmente disponibles, así como los descritos en los documentos WO 03/068254 y EP 1511466, se pueden usar en la presente invención.

25 En una realización de la invención, el glicosaminoglicano, preferiblemente sin fraccionar, se selecciona de uno o más de heparina, sulfato de heparina, sulfatos de heparitina, tales como proteoglicano de sulfato de heparano, heparinoides, dermatano, sulfato de dermatano, queratina, condroitina, sulfatos de condroitina A, B, C, D y E, heparano, sulfato de heparano, sulfato de queratano, ácido hialurónico, sales fisiológicamente aceptables de los mismos, derivados o fragmentos de los mismos, o mezclas de cualquiera de los mismos, preferiblemente la sal sódica de heparina (heparina sódica) o sulfato de heparano.

30 En una realización de la invención, el glicosaminoglicano se selecciona de uno o más de heparina, sulfato de heparina, sulfatos de condroitina A, C, D y E, heparano, sulfato de heparano, sulfato de queratano, sales fisiológicamente aceptables de los mismos, derivados o fragmentos de los mismos, o mezclas de cualquiera de los mismos.

En una realización de la invención, el glicosaminoglicano se selecciona de uno o más de heparina sódica, sulfato de heparina, heparano, sulfato de heparano, ácido hialurónico, sales fisiológicamente aceptables de los mismos, derivados o fragmentos de los mismos, o mezclas de cualquiera de los mismos.

35 En una realización, el ácido hialurónico está en forma de una sal sódica. Preferiblemente, la sal sódica tiene un peso molecular de alrededor de 30.000 a 3.000.000 Da.

En otra realización de la invención, el glicosaminoglicano se selecciona de la sal sódica de heparina o sulfato de heparina, preferiblemente heparina o sulfato de heparina sin fraccionar que comprende una mezcla de componentes de mayor y de menor peso molecular.

40 En una realización de la invención, el glicosaminoglicano comprende heparina sódica. La heparina y el ácido hialurónico son insolubles en disolventes orgánicos.

45 La heparina es un polisacárido de origen natural que comprende una mezcla de cadenas de polisacáridos variablemente sulfatados. La heparina inhibe la coagulación, proceso mediante el cual se produce la trombosis. La heparina natural consiste en cadenas moleculares de longitudes o pesos moleculares variables. La heparina completa o sin fraccionar (UFH) se puede fraccionar para dar fracciones de peso molecular bajo y alto.

La heparina natural tiene típicamente un peso molecular de 3 a 50 kDa, y se puede usar en la presente invención. Las cadenas de peso molecular de 5 kDa a alrededor de 40 kDa constituyen la heparina de grado farmacéutico polidispersa. La heparina comercialmente disponible también puede tener un peso molecular de 12 a 15 kDa. Estas dos se pueden usar en la presente invención.

50 En una realización, la heparina comprende UFH, es decir, heparina de peso molecular elevado. Como alternativa, la heparina usada puede ser una fracción de bajo peso molecular.

En medicina, la heparina de bajo peso molecular (LMWH) es una clase de medicación usada como un anticoagulante en enfermedades que caracterizan a la trombosis, así como para la profilaxis en situaciones que conducen a un riesgo elevado de trombosis.

La heparina derivada de fuentes naturales, principalmente intestino porcino o pulmón bovino, se puede administrar terapéuticamente para prevenir la trombosis. Sin embargo, los efectos de la heparina natural, o sin fraccionar, pueden ser difíciles de predecir.

5 En una realización, la heparina o una sal fisiológicamente aceptable de la misma es adecuada para inhalación, con lo que puede actuar, entre otros, como un mucolítico.

10 Por el contrario, las heparinas de peso molecular bajo (LMWHs) consisten solamente en cadenas cortas de polisacárido. Las LMWHs se definen preferiblemente como sales de heparina que tienen un peso molecular promedio de menos de 8000 Da, y para las que al menos 60% de todas las cadenas tienen un peso molecular menor que 8000 Da. Éstas se obtienen por diversos métodos de fraccionamiento o despolimerización de heparina polimérica. Preferiblemente tienen una potencia de más de 70 unidades/mg de actividad anti-factor Xa, y una relación de actividad anti-factor Xa a actividad anti-trombina de >1,5.

15 Las heparinas de bajo peso molecular (LMWHs) y fondaparinux se pueden usar como el sacárido en la presente invención. Las heparinas de bajo peso molecular y fondaparinux se pueden usar para seleccionar como diana la actividad anti-factor Xa en lugar de la actividad anti-trombina (IIa), con el objetivo de facilitar una regulación más sutil de la coagulación y un índice terapéutico mejorado. Fondaparinux es un pentasacárido sintético, cuya estructura química es casi idéntica a la secuencia del pentasacárido de unión a AT que se puede encontrar en heparina polimérica y sulfato de heparano.

Con LMWH y fondaparinux, hay un riesgo reducido de osteoporosis y trombocitopenia inducida por heparina (HIT).

20 Los análogos de heparina están comercialmente disponibles, y también se pueden usar en la presente invención. Tales análogos incluyen heparina sulfatada y heparina glicosilada. Los derivados de heparina se denominan normalmente heparinoides, y éstos también se pueden usar en la presente invención.

25 Los heparinoides son glicosaminoglicanos que son derivados de heparina. El término se ha usado para incluir polisacáridos muy sulfatados de origen natural y sintético de estructura similar. Las preparaciones de heparinoides se han usado para un amplio intervalo de aplicaciones, incluyendo como anticoagulantes y antiinflamatorios, y se ha reivindicado que tienen propiedades hipolipidémicas. Los heparinoides son preferiblemente mucopolisacáridos obtenidos de diferentes órganos de animales, especialmente del duodeno, a través de procedimientos de extracción suaves que garantizan la integridad de los elementos activos.

30 Los heparinoides incluyen heteropolisacáridos de cadenas lineales con diferentes grados de sulfatación. Los ejemplos de heparinoides incluyen danaparoid, danaparoid sódico, y una combinación de heparina, sulfato de dermatano y sulfato de condroitina.

35 Danaparoid (sóxico), una mezcla (de las sales sóxicas) de sulfato de heparano, sulfato de dermatano, y sulfato de condroitina, se puede usar como un anticoagulante en pacientes que han desarrollado HIT. Debido a que danaparoid no contiene heparina o fragmentos de heparina, se afirma que la reactividad cruzada de danaparoid con anticuerpos inducidos por heparina es menor que 10%. Otros derivados adecuados de heparina incluyen, por ejemplo, enoxaparina y dalteparina.

En una realización de la invención, la heparina comprende una heparina de bajo peso molecular o una sal fisiológicamente aceptable de la misma, tal como heparina sódica de bajo peso molecular.

40 En una realización de la invención, el glicosaminoglicano o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, tal como heparina sódica, se usa en combinación con ADNasa. La ADNasa puede ser cualquier ADNasa adecuada. La ADNasa puede ser una ADNasa I o una ADNasa II. Las ADNasas se producen en un número de especies, y se puede usar cualquier ADNasa capaz de escindir el ADN. La ADNasa puede ser de una fuente animal, tal como bovina o porcina. Generalmente, sin embargo, la ADNasa es de origen humano, y es preferiblemente una ADNasa recombinante. Se pueden usar preparaciones de ADNasa comercialmente disponibles, tales como Dornase™ y Pulmozyme™. El glicosaminoglicano o ADNasa se puede administrar al mismo tiempo, o se puede administrar uno primero, seguido del otro.

En una realización preferida de la invención, el polisacárido no es almidón, glicógeno, celulosa o derivados de celulosa tales como metilcelulosa, etilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa.

50 Por la expresión “sustancialmente libre”, se pretende decir que el excipiente o aditivo está presente en una cantidad menor que alrededor de 10% en peso basado en el peso de las micropartículas, tal como menor que alrededor de 5% en peso, menor que 2% en peso, o menor que 1% en peso, tal como menor que alrededor de 0,1% en peso o 0,01% en peso o alrededor de 0% en peso.

55 Las micropartículas pueden comprender líquido, tal como agua o humedad, y/o material excipiente o vehículo como se define aquí, y/o material que enmascara el sabor, y/o disolvente residual, por ejemplo del vehículo para la disolución o dispersión usada para atomización, y/o material de soplado, tal como sólido volátil o productos de la descomposición del mismo, en una cantidad menor que alrededor de 15% en peso basado en el peso de las

- micropartículas, preferiblemente menor que alrededor de 10% en peso, tal como menor que alrededor de 5% en peso, 1% en peso, 0,5% en peso o 0,1% en peso. Por ejemplo, las micropartículas pueden tener un contenido de líquido, tal como agua o humedad, y/o un material excipiente o vehículo como se define aquí, y/o material que enmascara el sabor, y/o disolvente residual, por ejemplo procedente del vehículo para la disolución o dispersión usada para atomización, y/o material de soplado, tal como sólido volátil o productos de la descomposición del mismo, de alrededor de 0,1 o 1 a 15% en peso, de alrededor de 0,5 o 5 a 13% en peso, de alrededor de 6 a 12% en peso, o de alrededor de 7, 8 o 9 a 10% en peso. Por ejemplo, las micropartículas pueden tener un contenido de los componentes anteriores de alrededor de 0,01 a 5% en peso, de alrededor de 0,1 a 4% en peso, de alrededor de 0,5 a 3% en peso, o de alrededor de 0,75 a 1, 2 o 2,5% en peso.
- 5
- 10 Para micropartículas de heparina, la cantidad de agua es típicamente de alrededor de 8 a 12% en peso.
- En una realización, las micropartículas comprenden un inmunosupresor como se define aquí, y el contenido de los componentes anteriores, tal como humedad, puede ser menor que alrededor de 5% en peso, 1% en peso, 0,5% en peso o 0,1% en peso. Por ejemplo, las micropartículas pueden tener un contenido de humedad o de otro componente de alrededor de 0,01 a 5% en peso, de alrededor de 0,1 a 4% en peso, de alrededor de 0,5 a 3% en peso, o de alrededor de 0,75 a 1, 2 o 2,5% en peso.
- 15
- La densidad aparente compactada, o densidad compactada o compacta, es la densidad de empaquetamiento máximo de un polvo (o mezcla de polvos) lograda bajo la influencia de fuerzas aplicadas externamente bien definidas. El volumen empaquetado mínimo así logrado depende de un número de factores, que incluyen la distribución de tamaños de partículas, la densidad real, la forma y cohesividad de las partículas debido a fuerzas de superficie, incluyendo la humedad.
- 20
- Las micropartículas producidas por la invención, que comprenden un sacárido que tiene una densidad compacta menor o igual a $0,3 \text{ g/cm}^3$, por ejemplo menor que alrededor de $0,23 \text{ g/cm}^3$, tal como menor que alrededor de $0,2 \text{ g/cm}^3$. Por ejemplo, en una realización, las micropartículas de la invención tienen una densidad compacta de alrededor de $0,02$ a $0,2 \text{ g/cm}^3$, de $0,05$ a $0,15 \text{ g/cm}^3$, o de $0,07$ a $0,12 \text{ g/cm}^3$, tal como de alrededor de $0,08$ a $0,10 \text{ g/cm}^3$.
- 25
- En una realización de la invención, las micropartículas que comprenden un inmunosupresor tienen una densidad compacta de alrededor de $0,05$ a $0,22 \text{ g/cm}^3$, tal como de alrededor de $0,1$ o $0,15$ a $0,2 \text{ g/cm}^3$, o de alrededor de $0,12$ a $0,18 \text{ g/cm}^3$.
- La densidad compacta se puede medir usando instrumentos conocidos por los expertos en la técnica, tales como, pero sin limitarse a, el Medidor de Densidad Compacta Controlado por Microprocesador de Plataforma Dual (Vankel Technology, Cary, NC) o un instrumento GeoPyc™ (Micrometrics Instrument Corp., Norcross, GA 30093). La densidad compacta se puede determinar usando el método de la USP Bulk Density y Tapped Density, United States Pharmacopoeia convention, Rockville, MD, 10º Suplemento, 4950-4951, 1999. Preferiblemente, la densidad compacta se mide usando un Volúmetro de Densidad Compacta, Copley.
- 30
- La densidad aparente de las micropartículas puede ser, en cualquiera de las realizaciones aquí, menor o igual a $0,25$ o $0,2 \text{ g/cm}^3$, tal como menor que alrededor de $0,15 \text{ g/cm}^3$. En una realización, la densidad aparente es de alrededor de $0,02$ a $0,15$, $0,2$ o $0,25 \text{ g/cm}^3$, o de alrededor de $0,05$ a $0,12 \text{ g/cm}^3$.
- 35
- En una realización de la invención, la diferencia entre la densidad compacta y la densidad de las partículas aparente de las micropartículas es menor que alrededor de $0,07 \text{ g/cm}^3$ o menor que alrededor de $0,05 \text{ g/cm}^3$, tal como menor que $0,03 \text{ g/cm}^3$, por ejemplo de alrededor de 0 a $0,05 \text{ g/cm}^3$ o de alrededor de $0,01$ a $0,03 \text{ g/cm}^3$.
- 40
- En los polvos que fluyen libremente, las densidades aparente y compacta iniciales serán más similares que en polvos que fluyen peor, que producen diferencias más grandes entre los dos valores. La expresión "polvo que fluye libremente" se puede referir, en una realización, a micropartículas en las que la diferencia entre la densidad compacta y la densidad aparente es como se define anteriormente.
- 45
- Las micropartículas que comprenden un inmunosupresor y un sacárido tienen un diámetro geométrico de la mediana (preferiblemente X50 o D50) menor o igual a alrededor de $10 \mu\text{m}$, tal como menor que alrededor de $10 \mu\text{m}$, o menor que alrededor de $5 \mu\text{m}$, y, opcionalmente, una densidad compacta menor o igual a $0,3 \text{ g/cm}^3$, tal como por ejemplo menor que alrededor de $0,23 \text{ g/cm}^3$, tal como menor que alrededor de $0,2 \text{ g/cm}^3$. En una realización de la invención, las micropartículas tienen un diámetro geométrico de la mediana (preferiblemente X50 o D50) de alrededor de 1 o 2 a $10 \mu\text{m}$, tal como de alrededor de 1 a $5 \mu\text{m}$, o de $1,5$ a $4,5$, $1,75$ a 4 o 2 a 3 o $3,5 \mu\text{m}$, o de $3,5$ a $9 \mu\text{m}$, o de alrededor de 4 a $8 \mu\text{m}$, tal como de alrededor de 4 a 5 , 6 o $7 \mu\text{m}$, y una densidad compacta de alrededor de $0,02$ a $0,2 \text{ g/cm}^3$, de $0,05$ a $0,15 \text{ g/cm}^3$, o de $0,07$ a $0,12 \text{ g/cm}^3$, tal como de alrededor de $0,08$ a $0,10 \text{ g/cm}^3$. El diámetro geométrico de la mediana se mide a una presión de dispersión de $1,0$ bares, excepto que se establezca de otro modo.
- 50
- El diámetro geométrico de la mediana de las micropartículas se puede medir usando un instrumento de difracción por láser (por ejemplo, Helos KF, fabricado por Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Alemania) como se describe en el Ejemplo 1, o usando técnicas ópticas (por ejemplo usando un analizador de imágenes de partículas Morphologi G3,
- 55

fabricado por by Malvern Instruments Limited, Malvern, UK) como se describe en el Ejemplo 7. Otros instrumentos para medir el diámetro geométrico de las partículas son bien conocidos en la técnica. El diámetro de las partículas en una muestra oscilará dependiendo de factores tales como la composición de las partículas y los métodos de síntesis. La distribución de tamaño de partículas en una muestra se puede seleccionar para permitir la deposición óptima en sitios seleccionados como diana en el aparato respiratorio.

Para sistemas que miden las partículas mediante difracción por láser, los términos "X50", como se usan aquí, se refieren al diámetro de la mediana (μm) según se mide en una base en volumen, es decir, 50% en volumen de las partículas son más pequeñas que este diámetro, y 50% son más grandes. El término "X90" se refiere al diámetro de la mediana (μm) medido en una base en volumen, en el que 90% de las partículas son más pequeñas que este diámetro, y 10% son más grandes. El término "X10" se refiere al diámetro de la mediana (μm) medido en una base en volumen, en el que 10% de las partículas son más pequeñas que este diámetro, y 90% son más grandes. Los sistemas de medición mediante difracción por láser incluyen, como ejemplo, el sistema Sympatec HELOS o Malvern Mastersizer 2000.

Para los sistemas ópticos que miden partículas, los términos "D50", como se usan aquí, se refieren al diámetro de la mediana (μm) según se mide en una base en número mediante un sistema de medición de partículas por difracción por láser, es decir, 50% en número de las partículas son más pequeñas que este diámetro, y 50% son más grandes. El término "D90" se refiere al diámetro de la mediana (μm) medido en una base en número, en el que 90% de las partículas son más pequeñas que este diámetro, y 10% son más grandes. El término "D10" se refiere al diámetro de la mediana (μm) medido en una base en número, en el que 10% de las partículas son más pequeñas que este diámetro, y 90% son más grandes. Los sistemas de medición ópticos incluyen, como ejemplo, el Analizador de Imágenes de Partículas Malvern Morphologi G3.

En una realización de la invención, una referencia a "diámetro de la mediana" o "diámetro geométrico de la mediana", en cualquier realización aquí, es una referencia al X50 o D50.

La expresión "diámetro aerodinámico de la mediana másico", o "MMAD" se define como la mediana de la distribución de la masa con respecto al diámetro aerodinámico. El diámetro aerodinámico de la mediana y la desviación estándar geométrica se usan para describir la distribución de tamaños de partículas de un aerosol, en base a la masa y el tamaño de las partículas. El tamaño de la mediana de las partículas (50%) se obtiene a partir de un análisis de regresión lineal de los datos de distribución acumulativos. Según tal descripción, cincuenta por ciento de las partículas en masa serán más pequeñas que el diámetro aerodinámico de la mediana, y cincuenta por ciento de las partículas serán más grandes que el diámetro aerodinámico de la mediana.

Una técnica o aparato habitual para medir el diámetro aerodinámico de la mediana de la masa (MMAD) de un polvo para inhalación es el Andersen Cascade Impactor (ACI). La distribución de tamaños de partículas aerodinámica y/o MMAD del polvo también se pueden determinar usando un Next Generation Impactor (NGI).

Las micropartículas según la invención, en cualquier realización, tienen típicamente un diámetro aerodinámico de la mediana de la masa (MMAD) igual o menor que alrededor de 10 μm , tal como de alrededor de 0,1 a 10 μm .

En una realización, el MMAD es de alrededor de 1 μm a alrededor de 5 o 6 μm . En otra realización de la invención, el MMAD es de alrededor de 1 μm a alrededor de 3 μm . En una realización adicional, el MMAD es de alrededor de 2, 3 o 4 μm a alrededor de 5 o 6 μm , tal como de 2 a 4 o 2 a 3 μm . Por ejemplo, las micropartículas pueden ser micropartículas que comprenden un inmunosupresor y, opcionalmente, un excipiente como se define aquí.

Las partículas pueden ser para el suministro localizado a regiones seleccionadas del aparato respiratorio, tal como el pulmón profundo o las vías respiratorias superiores o centrales. Para el suministro a las vías respiratorias central y superior, se prefieren partículas que tienen un MMAD que oscila de alrededor de 3 a alrededor de 5 μm . Para el suministro al pulmón profundo, se prefieren partículas que tienen un MMAD que oscila de alrededor de 1 a alrededor de 3 μm . En una realización, las micropartículas administradas al aparato respiratorio viajan a través de las vías respiratorias superiores (orofaringe y laringe), las vías respiratorias inferiores que incluyen la traquea, seguido de bifurcaciones a los bronquios y bronquiolos, y a través de los bronquiolos terminales, que a su vez se dividen en bronquiolos respiratorios que conducen entonces a la zona respiratoria final, los alvéolos o el pulmón profundo. Las partículas pueden impactar en cualquier etapa.

El Índice de Carr se basa en la disminución en el volumen del polvo durante la aplicación de golpecitos, y se puede usar para predecir la capacidad de fluidez (R.L. Carr, (1965), Chem Eng. 72, 163-168). Cuanto menor es el número, más libremente fluye el polvo. Un incremento en el valor es proporcional a las propiedades de adhesión y fricción de un polvo, incluyendo la carga triboeléctrica (atractiva).

El Índice de Carr (o Índice de Compresibilidad de Carr), C, se puede calcular usando las siguientes fórmulas:

$$C = 100 \times (V_o - V_f) / V_o \text{ o } 100 \times (D_o - D_f) / D_o$$

en la que "V" y "D" representan respectivamente el volumen y densidad del polvo, el subíndice "o" representa el

estado inicial o sin compactar, y "f" el estado final o compactado, o como se describe en el Ejemplo 2.

5 Las micropartículas o polvo según la invención tienen preferiblemente un Índice de Carr menor que alrededor de 30%, tal como menor que alrededor de 26%, 25% o 23%, o de alrededor de 5% a 30%, de alrededor de 10% a 23% o 26%, o de alrededor de 15 o 19 a 23 o 26%, o de alrededor de 20 a 26%, y opcionalmente las micropartículas tienen un diámetro geométrico de la mediana (preferiblemente X50 o D50) de alrededor de 1 o 2 a 10 μm , de alrededor de 2 o 3,5 a 9 μm , o de alrededor de 3 o 4 a 8 μm , tal como de alrededor de 1 a 5 μm , 1,5 a 4,5, 1,75 a 4 o 2 a 3 o 3,5 μm , 2 a 2,7 μm o de 4 a 5, 6, 7 o 8 μm .

10 En una realización de la invención, las micropartículas que comprenden un inmunosupresor tienen un Índice de Carr menor que alrededor de 30%, tal como menor que alrededor de 26%, 25% o 23%. Por ejemplo, las micropartículas pueden tener un Índice de Carr de alrededor de 20 o 21 a 29%, 22 o 23 a 27 o 24 o 25 a 26%.

15 En un aspecto de la invención, se proporcionan micropartículas o un polvo que tienen un Índice de Carr de alrededor de 5% a 30%, de alrededor de 10% a 25%, de alrededor de 20 a 26%, o de alrededor de 15 o 19 a 23%, y opcionalmente las micropartículas tienen un diámetro geométrico de la mediana (preferiblemente X50 o D50) de alrededor de 1 o 2 a 10 μm , de alrededor de 3,5 a 9 μm , o de alrededor de 4 a 7 μm , tal como de alrededor de 1 a 5 μm , 1,5 a 4,5, 1,75 a 4 o 2 a 3 o 3,5 μm , o alrededor de 4 a 5, 6, 7 o 8 μm .

20 En una realización de la invención, las micropartículas comprenden un sacárido como se define anteriormente, y tienen una densidad compacta menor o igual a alrededor de 0,2 g/cm^3 , y un diámetro geométrico de la mediana (preferiblemente X50 o D50) de alrededor de 3,5 a 10 μm , opcionalmente un Índice de Carr menor de 25%, tal como de alrededor de 18 a 24%, y opcionalmente un MMAD de alrededor de 0,1 a 10 μm .

25 En una realización preferida de la invención, las micropartículas comprenden un sacárido como se define anteriormente, y tienen una densidad compacta menor o igual que alrededor de 0,15 a 0,2 g/cm^3 , y un diámetro geométrico de la mediana (preferiblemente X50 o D50) es menor que alrededor de 10 μm , opcionalmente un Índice de Carr menor de 25%, tal como de alrededor de 18 a 24%, y opcionalmente un MMAD de alrededor de 0,1 a 10 μm .

30 En una realización de la invención, las micropartículas comprenden un inmunosupresor como se define anteriormente, y tienen una densidad compacta de alrededor de 0,8 a 0,21 o 0,1 a 0,2 g/cm^3 , y un diámetro geométrico de la mediana (preferiblemente X50 o D50) menor que alrededor de 10 μm , tal como de alrededor de 1 a 5 μm o de 1,5 a 4,5, o 1,75 a 4 μm o 2 a 3 o 3,5 μm , o 2 a 2,5 o 2,7 μm , opcionalmente un Índice de Carr menor que alrededor de 30%, tal como de alrededor de 20 a 28%, y opcionalmente un MMAD de alrededor de 0,1 a 5 μm o 10 μm , tal como de 2 a 4 o 2 a 3 μm .

35 Las micropartículas pueden ser adecuadas para administración *ex vivo* o *in vivo* a un mamífero. El término mamífero puede incluir un ser humano, así como animales, tales como gatos, perros y caballos, preferiblemente un ser humano. La administración puede ser mediante cualquier vía, incluyendo parenteral, tal como mediante inyección. Se prefiere que las micropartículas de la invención sean adecuadas para inhalación oral o nasal.

40 En una realización, las micropartículas son farmacéuticamente aceptables. Las micropartículas pueden ser estériles y opcionalmente libres de pirógenos. Esto puede ser necesario, por ejemplo, en inyección.

45 En una realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende las micropartículas producidas según la invención. La composición puede comprender opcionalmente uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, tal como se definen aquí. La composición puede estar, por ejemplo, en forma de un sólido, tal como un polvo, un líquido o una suspensión de las micropartículas en un no disolvente.

En la invención, las micropartículas son obtenibles mediante secado por pulverización en presencia de un material de soplado como se define aquí.

Los procedimientos para preparar micropartículas mediante secado por pulverización se describen completamente en, entre otros, los documentos WO 92/18164 y WO 96/15814. Según la presente invención, estos procedimientos se modifican para producir las micropartículas de la invención.

Las micropartículas son porosas. Las paredes de las micropartículas de la invención pueden comprender poros, tales como, por ejemplo, grietas, oquedades, espacios, o fisuras. En una realización de la invención, los poros pueden oscilar en tamaño de alrededor de 20 a alrededor de 1000 nm, tal como de 400 a 800 nm.

50 En una realización, las micropartículas comprenden una o más paredes. La pared o paredes de las micropartículas pueden ser porosas. Por ejemplo, la pared o paredes de las micropartículas pueden ser porosas como se describe en el documento WO 98/17257. Las micropartículas según la invención pueden tener un grosor de pared de no más de 500 nm, tal como de alrededor de 10 a 250 nm, o de alrededor de 100 a 150 nm.

Las micropartículas de la invención, como se describen en cualquiera de las realizaciones aquí, están preferiblemente en forma de un sólido, tal como un polvo, preferiblemente un polvo secado por pulverización. El

- 5 polvo puede ser seco. Por el término “seco” se quiere decir que el contenido de líquido, tal como agua o humedad, del polvo es menor que alrededor de 15% en peso basado en el peso del polvo, o menor que alrededor de 10% en peso, tal como menor que alrededor de 5% en peso, por ejemplo el polvo puede tener un contenido de humedad de alrededor de 1 a 15% en peso, o de 5 a 10% en peso. Por ejemplo, el polvo puede tener un contenido de humedad de alrededor de 1 a 15% en peso, de alrededor de 5 a 13% en peso, de alrededor de 6 a 12% en peso, o de alrededor de 7, 8 o 9 a 10% en peso.
- 10 En una realización, el contenido de humedad del polvo puede ser menor que alrededor de 5% en peso, 1% en peso, 0,5% en peso o 0,1% en peso. Por ejemplo, el polvo puede tener un contenido de humedad de alrededor de 0,01 a 5% en peso, de alrededor de 0,1 a 4% en peso, de alrededor de 0,5 a 3% en peso, o de alrededor de 0,75 a 1, 2 o 2,5% en peso.
- 15 En una realización, el contenido volátil de las micropartículas o polvo (que pueden incluir, por ejemplo, disolventes tales como agua y/o sólidos volátiles) puede ser de alrededor de 0,01 a 10,0% en peso, tal como de alrededor de 0,1 a 8% en peso, de alrededor de 0,5 a 7% en peso, de alrededor de 1 a 6% en peso, o de alrededor de 3 o 4 a 5% en peso. El contenido volátil se puede medir usando, por ejemplo, análisis termogravimétrico (TGA).
- 20 En una realización, las micropartículas o polvo, como se describen en cualquiera de las realizaciones aquí, proporciona una fracción de partículas finas (menores que 6,5 μm o 5,8 μm) tras la aerosolización de más de alrededor de 25%, de más de alrededor de 35%, o de más de alrededor de 40% o 50% de la dosis suministrada. Se puede usar el Andersen Cascade Impactor o NGI, los resultados se pueden analizar usando el software de Copley CITDAS para determinar la fracción de partículas finas y la masa de partículas finas en los diferentes diámetros de corte, por ejemplo <6,5 micrómetros, <5,8 micrómetros, <5 micrómetros, <3,3 micrómetros y <3 micrómetros. La fracción de partículas finas se mide típicamente alrededor de una caída de presión de 4 kPa.
- 25 En una realización de la invención, la fracción de partículas finas (menores que 6,5 μm o 5,8 μm) es de alrededor de 20 a 90%, de alrededor de 30 a 70%, o de alrededor de 40 a 60%, tal como de 70 o 80 a 90% de la dosis suministrada, y/o la fracción de partículas finas (menores que 5 μm) puede ser de alrededor de 30 a 60%, o de alrededor de 40 a 50%, y/o la fracción de partículas finas (menores que 3,3 o 3 μm) puede ser de alrededor de 10 a 90%, de alrededor de 15 a 40 o 50%, o de alrededor de 20 a 30% de la dosis suministrada.
- 30 En una realización de la invención, las micropartículas que comprenden un inmunosupresor, con un excipiente, proporcionan una fracción media de partículas finas (menores que 5,8 μm) de más de 75%, 80% u 85%, tal como de 75% a 90% o de 79 a 88% tras la aerosolización desde un inhalador de polvo seco, tal como un monohaler.
- 35 En una realización de la invención, las micropartículas son adecuadas para llenarlas en un blíster u otro receptáculo o depósito mediante el llenado por máquina o automatizado. Las micropartículas de la invención se pueden adaptar para el llenado por máquina o el llenado automatizado. Las partículas también pueden tener un comportamiento de vaciado mejorado desde un blíster, depósito u otro receptáculo, en comparación con las micropartículas no producidas según la invención.
- 40 Las micropartículas de la invención pueden ser huecas, es decir, pueden comprender uno o más espacios vacíos, rellenos con gas o aire, con un material formador de pared que los rodean. El material formador de pared puede comprender el sacárido como se describe aquí. En una realización preferida, las microcápsulas huecas no son panales de abejas como en maltesers.
- 45 El término “micropartículas” significa, en una realización, partículas huecas que encierran un espacio, espacio el cual está lleno de un gas o vapor pero con ningún material sólido. No se forman partículas con forma de panal de abejas que se asemejan a las golosinas vendidas en el Reino Unido como “Maltesers” (marca registrada). No es necesario que el espacio esté totalmente cerrado (aunque se prefiera esto), y no es necesario que las micropartículas sean precisamente esféricas, aunque generalmente son esféricas. Si las micropartículas no son esféricas, entonces los diámetros citados anteriormente se refieren al diámetro de una micropartícula esférica correspondiente que tiene la misma masa y que encierra el mismo volumen de espacio hueco que la micropartícula no esférica.
- Las micropartículas de la invención son preferiblemente partículas huecas que comprenden al menos una pared que encierra uno o más espacios, más preferiblemente una pared que encierra un espacio.
- 50 En una realización, las micropartículas de la invención son solubles en agua, es decir, tienen una solubilidad de al menos alrededor de 0,1 mg/cm^3 en agua a una temperatura de 20°C, al menos alrededor de 0,5 mg/cm^3 , o al menos alrededor de 1,0 mg/cm^3 .
- Las micropartículas de la invención se pueden usar en medicina. Por ejemplo, las micropartículas pueden ser adecuadas para uso terapéutico o de diagnóstico. El uso de diagnóstico puede incluir el uso de las micropartículas en formación ultrasónica de imágenes, por ejemplo como agentes de contraste ecogénicos.
- 55 En un aspecto de la invención, las micropartículas o polvo se pueden usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un mamífero que lo necesite, tal como un ser humano. El término “mamífero” también incluye animales veterinarios tales como, por ejemplo, caballos, vacas, ovejas y cerdos, así como mascotas tales como, por

ejemplo, perros, gatos y hámsters. La afección a tratar puede ser una o más de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), bronquitis, fibrosis cística y otras enfermedades pulmonares, así como rechazo agudo y/o crónico de trasplante de pulmón y/o BO y/o BOS.

5 Las micropartículas de la invención que comprenden un sacárido tal como heparina sódica se pueden usar en el tratamiento de una o más de las siguientes afecciones:

10 síndrome disneico del adulto; encefalomiелitis alérgica; rinitis alérgica; artritis; asma; cáncer; reacciones de hipersensibilidad de tipo retrasado; enfermedad inflamatoria del intestino; cistitis intersticial; trastorno o enfermedad respiratoria que comprende niveles y/o viscosidad incrementados de moco u otras secreciones pulmonares, tales como CAL, neumonía, sinusitis, congestión de los senos nasales, fibrosis cística y asma, en la que el sujeto a tratar puede tener una infección del aparato respiratorio, tal como una infección bacteriana o vírica, por ejemplo gripe o un resfriado; limitación crónica del flujo de aire (CAL) con hipersecreción de moco; un trastorno caracterizado por la presencia de ADN extracelular endógeno, tal como fibrosis cística, CAL, neumonía, o lupus eritematoso sistémico (SLE); y rechazo de trasplante.

15 Las micropartículas se pueden usar para facilitar el aclaramiento de moco desde las vías respiratorias central y periférica de un sujeto humano con limitación crónica del flujo de aire (CAL) que tiene hipersecreción de moco.

Las micropartículas también se pueden usar para el tratamiento de una enfermedad pulmonar, tal como, por ejemplo, una enfermedad pulmonar que implica hipersecreción de moco o viscoelasticidad anormal de moco.

En una realización, la enfermedad pulmonar se selecciona de una o más de bronquitis crónica, asma agudo, fibrosis cística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), o bronquiectasia.

20 Las micropartículas se pueden usar para el tratamiento de las siguientes afecciones: como un anticoagulante, que previene la formación de coágulos y la extensión de coágulos existentes en la sangre; para anticoagulación para las siguientes afecciones: síndrome coronario agudo, por ejemplo fibrilación auricular con NSTEMI, trombosis de venas profundas y embolia pulmonar, circulación extracorpórea para cirugía del corazón.

25 Las micropartículas que comprenden heparina y sus derivados (enoxaparina, dalteparina, así sucesivamente) pueden ser eficaces previniendo las trombosis de venas profundas y las embolias pulmonares en pacientes con riesgo.

También se describe un polvo que comprende micropartículas según cualquiera de las realizaciones expuestas anteriormente. El polvo está preferiblemente libre de excipientes y aditivos como se describen anteriormente, o lubricantes, tales como tensioactivos, y/o está preferiblemente seco, como se define anteriormente.

30 En una realización, el polvo fluye libremente. Por "fluye libremente", se quiere decir preferiblemente que la diferencia entre la densidad compacta y la densidad de partículas aparente de las micropartículas es menor que alrededor de $0,07 \text{ g/cm}^3$, menor que alrededor de $0,05 \text{ g/cm}^3$, tal como menor que alrededor de $0,03 \text{ g/cm}^3$, por ejemplo de alrededor de 0 a $0,05 \text{ g/cm}^3$ o de alrededor de $0,01$ a $0,03 \text{ g/cm}^3$, o que el polvo tiene un Índice de Compresibilidad de Carr (CCI) menor que 30%, tal como menor que 25% o 20% o un Índice de Carr de alrededor de 5% a 30%, de
35 alrededor de 10% a 25%, o de alrededor de 15 o 19 a 23% o de 20 o 21 a 29%, 22 o 23 a 27 o 24 o 25 a 26%.

40 En una realización, se proporciona un recipiente que comprende el polvo o micropartículas según la invención. El recipiente puede ser una cápsula, blíster, depósito, u otro receptáculo para alojar el polvo. El polvo o las micropartículas están preferiblemente en forma de un tapón en el recipiente. El tapón es típicamente desmenuzable, y puede tener un CCI como se define anteriormente, o producir una fracción de partículas finas como se define anteriormente.

La evacuación del polvo según la invención desde un recipiente, tal como un blíster, que comprende el polvo, puede ser mayor que alrededor de 70% en peso basado en el peso de llenado, tal como mayor que alrededor de 80% en peso, o mayor que alrededor de 95% en peso, por ejemplo de alrededor de 80 a 99% en peso, de alrededor de 85 a 98% en peso, o de alrededor de 90 a 95% en peso.

45 La densidad baja de las micropartículas puede proporcionar menos peso para el mismo volumen, y por lo tanto permite que se proporcione una dosis baja en un recipiente sin un vehículo.

50 Las micropartículas pueden ser adecuadas para la formulación en un inhalador. Si comprenden un agente terapéutico, proporcionan una liberación rápida y una captación subsiguiente del fármaco en el pulmón. Además, las micropartículas y polvos pueden no requerir un vehículo para la administración eficaz al pulmón. Por lo tanto, un inhalador que incluye micropartículas puede contener las micropartículas como el componente único o predominante de la formulación inhalable, por ejemplo mayor que alrededor de 80, 90% en peso o 95% en peso, tal como de alrededor de 80 a 100% en peso, o de alrededor de 85 a 95% en peso.

Para administración mediante inhalación, preferiblemente se usan las micropartículas solubles en agua obtenidas mediante secado por pulverización. Se puede usar estabilización, si se requiere otra vía de administración y/o para

finde de diagnóstico. La cantidad de micropartículas a administrar se puede determinar fácilmente por el experto.

Los polvos pueden ser adecuados para el suministro sistémico o tópico vía rutas pulmonar o nasal. Las partículas se pueden usar junto con un dispositivo de inhalación, tal como un inhalador de dosis medida, un inhalador de polvo seco o un nebulizador. Por ejemplo, un inhalador puede comprender micropartículas o un polvo según la invención.

5 El inhalador puede ser un inhalador de dosis medida, un inhalador de polvo seco o un nebulizador. En una realización, el inhalador es un inhalador de polvo seco, tal como se define aquí.

Las micropartículas que incluyen un medicamento, por ejemplo uno o más de los agentes descritos anteriormente, se pueden administrar al aparato respiratorio de un mamífero que necesite tratamiento, profilaxis o diagnóstico. La administración de partículas al sistema respiratorio puede ser por medios conocidos en la técnica. Por ejemplo, las partículas se pueden suministrar desde un dispositivo de inhalación. En una realización preferida, las partículas se administran vía un inhalador de polvo seco (DPI). También se pueden emplear inhaladores de dosis medida (MDI), o técnicas de instilación.

10

En la técnica se conocen diversos dispositivos y métodos de inhalación adecuados que se pueden usar para administrar partículas a un aparato respiratorio de un mamífero. Los inhaladores adecuados incluyen el Monohaler y Dinkihaler.

15

Un ejemplo de un dispositivo de inhalación, o inhalador, es un inhalador de dosis medida a presión, un dispositivo que produce las nubes de aerosol para inhalación de disoluciones y/o suspensiones de fármacos respiratorios en disoluciones de clorofluorocarbono (CFC) y/o hidrofluoroalcano (HFA). El inhalador de dosis medida puede ser un inhalador de niebla suave (SMI), en el que la nube de aerosol que contiene un fármaco respiratorio se puede generar haciendo pasar una disolución que contiene el fármaco respiratorio a través de una boquilla o serie de boquillas. La generación del aerosol se puede lograr en SMI, por ejemplo, mediante un proceso mecánico, electromecánico o termomecánico. Los ejemplos de inhaladores de niebla suave adecuados incluyen el inhalador Respimat® (Boeinger Ingelheim GmbH), el inhalador AERx® (Aradigm Corp.), el inhalador Mystic™ (Ventaira Pharmaceuticals, Inc) y el inhalador Aira™ (Chrysalis Technologies Incorporated).

20

Como alternativa, se pueden emplear otros inhaladores de polvo seco pasivos o activos. En una versión, se prefiere un inhalador de polvo seco pasivo, debido a su facilidad de uso y a la aerosolización reproducible. Los inhaladores de polvo seco pasivos adecuados incluyen tanto inhaladores a base de cápsulas como inhaladores a base de blísters. Los inhaladores pasivos a base de cápsulas son particularmente preferidos debido a su mayor volumen de dosis unitaria (en comparación con los dispositivos de blíster actuales), que facilita mayores dosis al pulmón por ráfaga.

25

También pueden ser adecuados los dispositivos vendidos o comercializados con los siguientes nombres comerciales y/o marcas registradas: Handihaler (Boeinger Ingelheim), Eclipse (Aventis), inhalador AIR (Alkermes), Ciclohaler (Plastiap), Concept 1 (Novartis), Flowcaps (Hovione), Turbospin (PH&T), Monohaler (Pfizer), Spinhaler (Aventis), Rotahaler (GSK). Los inhaladores a base de blíster adecuados incluyen: el Diskus and Gemini (GSK), el dispositivo de Nektar Therapeutics descrito en la Solicitud PCT n° US2007/022830, Gyrohaler (Vectura), E-Flex, Microdrug, Diskhaler (GSK). También dentro del alcance de la presente invención están los inhaladores de polvo secos activos, que incluyen: el dispositivo de inhalación Exubera®, que se describe en la patente U.S. n° 6.257.233, Aspirair (Vectura), y el inhalador Microdose (Microdose).

30

Con respecto a las dosis para inhaladores de polvo seco de múltiples dosis, los inhaladores se pueden configurar para proporcionar cualquier número adecuado de dosis, típicamente entre alrededor de 30-120 dosis, y más típicamente entre alrededor de 30-60 dosis. Los inhaladores pueden suministrar un fármaco o una combinación de fármacos. En algunas realizaciones, los inhaladores pueden proporcionar entre alrededor de 30-60 dosis de dos fármacos diferentes (en las mismas cantidades unitarias o diferentes), para un total de entre alrededor de 60-120 dosis unitarias individuales, respectivamente. El inhalador puede proporcionar un suministro de medicina entre 30 días a 60 días (o incluso más). En algunas realizaciones, los inhaladores se pueden configurar para mantener alrededor de 60 dosis del mismo fármaco o combinación de fármacos, en las mismas cantidades unitarias o diferentes, que puede ser un suministro durante 30 días (para una dosificación de dos veces al día) o un suministro durante 60 días para tratamientos diarios individuales.

40

Otros inhaladores adecuados incluyen, por ejemplo, los inhaladores de polvo seco de dosis unitaria precargados/recargables y de múltiples dosis.

50

El inhalador puede comprender el dispositivo descrito en el documento PCT/EP2010/050790.

Las micropartículas y/o polvos que incluyen aquellas que comprenden un sacárido y un inmunosupresor pueden comprender además y/o se pueden coprocesar con un agente de control de la fuerza (FCA), que incluye un aminoácido tal como, por ejemplo, leucina, o un material tensioactivo tal como, por ejemplo, lecitina y estearato de magnesio. Los agentes de control de la fuerza muestran preferiblemente propiedades antiadherentes y/o antifriccionales, tal como para reducir la fuerza atractiva entre partículas de sacárido o inmunosupresor y partículas de excipiente. Se puede usar uno o más agentes de control de la fuerza.

55

El agente de control de la fuerza está preferiblemente en forma de partículas. Ventajosamente, al menos 95% en peso de las partículas tienen un diámetro aerodinámico de la mediana de la masa menor que 150 μm , más ventajosamente menor que 100 μm , preferiblemente menor que 50 μm . En una realización, el diámetro aerodinámico de la mediana de la masa de las partículas de aditivo no es mayor que alrededor de 10 μm .

- 5 En una realización, el agente de control de la fuerza se selecciona de leucina, lecitina y estearato de magnesio en forma de partículas.

El agente de control de la fuerza puede estar presente en una cantidad menor que 10% en peso basado en el peso de las micropartículas o polvo, más ventajosamente no mayor que 5% en peso, tal como no mayor que 4% en peso, o no mayor que 2% en peso, o menor que 1,5% en peso, o menor que 1,4% en peso, tal como menor que 1% en peso, o de alrededor de 0,1 a 1,3% en peso.

10 El agente de control de la fuerza puede incluir uno o más compuestos seleccionados de aminoácidos y derivados de los mismos, y péptidos y polipéptidos que tienen peso molecular de 0,25 a 1000 kDa, y derivados de los mismos.

En una realización, el agente de control de la fuerza comprende un aminoácido. El agente puede comprender, por ejemplo, uno o más de cualquiera de los siguientes aminoácidos: leucina, isoleucina, lisina, valina, metionina, fenilalanina. El agente puede ser una sal o un derivado de un aminoácido, por ejemplo aspartamo o acesulfamo K. Preferiblemente, el agente se selecciona de partículas que consisten sustancialmente en leucina, ventajosamente L-leucina. Se pueden usar las formas L y las formas D y DL.

15 Como alternativa, el agente de control de la fuerza puede comprender partículas de un fosfolípido o un derivado del mismo. Se ha encontrado que la lecitina es un buen material para el agente.

20 El agente de control de la fuerza puede incluir o consistir en uno o más materiales tensioactivos, en particular materiales que son tensioactivos en el estado sólido, que pueden ser solubles en agua, por ejemplo lecitina, en particular lecitina de soja, o sustancialmente insolubles en agua, por ejemplo ácidos grasos en estado sólido tales como ácido láurico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido erúxico, ácido behénico, o derivados (tales como ésteres y sales) de los mismos. Los ejemplos específicos de tales materiales son: estearato de magnesio; estearil fumarato de sodio; estearil lactilato de sodio; fosfatidilcolinas, fosfatidilgliceroles y otros ejemplos de tensioactivos pulmonares naturales y sintéticos; formulaciones liposómicas; ácido láurico y sus sales, por ejemplo laurilsulfato de sodio, laurilsulfato de magnesio; triglicéridos tales como Dynsan 118 y Cutina HR; y en general, ésteres de azúcares.

25 El coprocesamiento de las micropartículas o polvo de la invención con uno o más agentes se puede realizar usando mecanofusión - un procedimiento de fusión mecánica en seco tal como se describe en el Journal of Pharmaceutical Sciences 2009, vol. 98, n° 8, p. 2770-2783.

30 La mecanofusión es un procedimiento en seco diseñado para fundir mecánicamente un primer material sobre un segundo material. Se debería observar que el uso de los términos "mecanofusión" y "mecanofusionado" se supone que se interpretará como una referencia a un tipo particular de procedimiento de molienda, pero no un procedimiento de molienda realizado en un aparato particular. Los procedimientos de molienda compresivos trabajan según un principio diferente a otras técnicas de molienda (técnicas de trituración), que se basan en una interacción particular entre un elemento interno y una pared de la vasija, y se basan en proporcionar energía mediante una fuerza compresiva sustancial y controlada.

35 En el procedimiento de la invención, el agente, sacárido o inmunosupresor puede ser como se define en cualquiera de las realizaciones anteriores. Las micropartículas producidas también pueden ser como se definen en cualquiera de las realizaciones anteriores.

40 La expresión "material de soplado", como se usa aquí, se refiere a carbonato de amonio o bicarbonato de amonio.

A título de ejemplo, el material de soplado usado en la producción de micropartículas de heparina es carbonato de amonio o bicarbonato de amonio que libera amoníaco, dióxido de carbono y vapor de agua. Durante el secado por pulverización, estos tres gases se expanden en las gotitas atomizadas, provocando que la gotita aumente de tamaño, para producir micropartículas más grandes.

45 En una realización de la invención, el material de soplado no es retenido en las micropartículas. Por ejemplo, el material de soplado, o cualquier residuo del mismo, está presente preferiblemente en las micropartículas en una cantidad menor que alrededor de 2% en peso, tal como menor que alrededor de 1% en peso, por ejemplo menor que alrededor de 0,1% en peso, 0,01% en peso, o 0,001% en peso, o alrededor de 0% en peso.

50 El material de soplado se selecciona de carbonato de amonio y bicarbonato de amonio, o mezclas de los mismos.

La disolución o dispersión usada en el procedimiento está preferiblemente libre de manera sustancial de excipientes o aditivos. Sin embargo, puede haber excipientes o vehículos a incluir en las micropartículas (es decir, no el vehículo para la disolución o dispersión), por ejemplo cuando se usa un inmunosupresor como materia prima. En este caso, los excipientes y vehículos pueden ser como se definen aquí. Los aditivos y excipientes incluyen preferiblemente

- cualquier material adicional, distinto del sacárido como se define aquí y del vehículo, e incluye, por ejemplo, aminoácidos tales como leucina, amortiguadores o sales, por ejemplo fosfato o citrato, tensioactivos tales como tensioactivos no iónicos, polímeros y/o fosfolípidos tales como DPPC. Mediante la expresión "libre de manera sustancial", se quiere decir que el excipiente o aditivo está presente en una cantidad menor que alrededor de 10% p/p basado en el peso del vehículo, tal como menor que alrededor de 5% p/p, menor que alrededor de 2% p/p, o menor que alrededor de 1% p/p, tal como menor que alrededor de 0,1% p/p o 0,01% p/p, o alrededor de 0% p/p.
- 5 En una realización de la invención, en la que está presente un inmunosupresor, entonces la disolución o dispersión no comprende un agente humectante, tal como por ejemplo polietilenglicoles (PEGs), y/o un tensioactivo, tal como TWEEN, y/o un disolvente clorado, tal como cloruro de metileno.
- 10 El pH de la disolución o dispersión puede ser de alrededor de 1 a 12, tal como de alrededor de 2 a 10, por ejemplo de alrededor de 3 a 9, o alrededor de 4 a 8. En una realización, el pH de la disolución o dispersión es menor que alrededor de 7, por ejemplo de alrededor de 2 a 6. En otra realización de la invención, el pH de la disolución o dispersión es mayor que alrededor de 7, por ejemplo de alrededor de 9 a 12.
- 15 En una realización del procedimiento, el vehículo para la disolución o dispersión es un vehículo acuoso o un vehículo acuoso orgánico, es decir, que comprende un disolvente orgánico, tal como un alcohol u otro disolvente que contiene carbono, que puede incluir disolventes orgánicos clorados. El vehículo acuoso o el vehículo acuoso orgánico comprende preferiblemente agua en una cantidad de al menos alrededor de 50% v/v basado en el volumen total del vehículo, tal como mayor que alrededor de 60% v/v, 70% v/v, 80% v/v o 90% v/v, por ejemplo, de alrededor de 50 a 99% v/v, de alrededor de 60 a 95% v/v, o de 70 a 90% v/v, o de alrededor de 80 a 90% v/v.
- 20 En una realización del procedimiento, en la que se usa un inmunosupresor, el vehículo para la disolución o dispersión no está clorado, o no comprende un disolvente clorado tal como cloruro de metileno.
- El vehículo, tal como un vehículo acuoso, no comprende un líquido de mayor volatilidad que el agua, por ejemplo un líquido volátil que tiene un punto de ebullición que se encuentra entre 20°C y 100°C, tal como un alcohol, por ejemplo etanol o metanol, o una cetona tal como acetona, o comprende el líquido, tal como un alcohol, en una
- 25 cantidad menor que alrededor de 20% v/v, tal como menor que alrededor de 10% v/v.
- La disolución o dispersión comprende preferiblemente el sacárido como se define aquí, en una concentración menor que o alrededor de 40%, 30% o 20% p/v, o menor que o alrededor de 10% p/v, basado en el volumen del vehículo, tal como de alrededor de 1 a 15% p/v, de alrededor de 2 a 10% p/v, o de alrededor de 3 a 8% p/v.
- 30 La disolución o dispersión comprende preferiblemente el material de soplado, como se define aquí, en una concentración menor que o alrededor de 40%, 30 o 20% p/v, o menor que o alrededor de 10% p/v, basado en el peso del vehículo, tal como de alrededor de 1 a 15% p/v, de alrededor de 2 a 10% p/v, o de alrededor de 3 a 8% p/v.
- En una realización, la cantidad total de la materia prima para el vehículo para la disolución o dispersión (que comprende el sacárido y el material de soplado, junto con cualesquiera componentes opcionales tales como excipientes) es de alrededor de 1 a 30% p/v basado en el volumen del vehículo, tal como de 2 a 20 o 3 a 10% p/v.
- 35 La relación en peso de sacárido a material de soplado es preferiblemente de alrededor de 5:1 a alrededor de 1:5, 4:1 a alrededor de 1:4, o 3:1 a alrededor de 1:3, más preferiblemente de alrededor de 2:1 a alrededor de 1:2, tal como de alrededor de 2:1 a alrededor de 1:1,5 o alrededor de 1:1.
- En una realización, la disolución o dispersión comprende el sacárido y el material de soplado cada uno en una concentración de alrededor de 1 a alrededor de menos de 10% p/p, y con una relación en peso de sacárido a
- 40 material de soplado de alrededor de 3:1 a alrededor de 1:1.
- En una realización, la disolución o dispersión comprende el sacárido o material de soplado cada uno en una concentración menor que alrededor de 10% p/p, y con una relación en peso de sacárido a material de soplado de alrededor de 3:1 a alrededor de 1,1:1.
- 45 El procedimiento de la invención se puede llevar a cabo en cualquier aparato de secado por pulverización adecuado. Un aparato adecuado es, por ejemplo, el secador por pulverización estándar Niro Mobile Minor.
- La atomización se puede llevar a cabo usando una boquilla adecuada, tal como una boquilla de dos fluidos. La presión de atomización del aparato es preferiblemente mayor que 2 bares manométricos, tal como de alrededor de 2 a 10 bares manométricos, de alrededor de 3 a 6, 7 o 8 bares manométricos, tal como de alrededor de 4, 5 o 6 a 7 bares manométricos.
- 50 La temperatura de entrada del aparato puede ser de alrededor de 100 a 250°C, o de alrededor de 140 a 220°C, tal como de alrededor de 150 a 210°C. La temperatura de salida del aparato es generalmente menor que la temperatura de entrada. Preferiblemente, la temperatura de salida es de alrededor de 30 a 110°C, tal como de alrededor de 50 a 100°C, por ejemplo de alrededor de 70 a 90°C.
- En una realización de la invención, en la que está presente un inmunosupresor en la disolución o dispersión, tal

como tacrolimus, con un excipiente, tal como trehalosa, la presión de atomización es de alrededor de 3 a 6 bares, y/o la temperatura de entrada es de alrededor de 100 a 150°C, y/o la temperatura de salida es mayor que alrededor de 75°C.

En el procedimiento de la invención, los parámetros anteriores se pueden usar en cualquier combinación.

- 5 En una realización de la invención, el material de soplado se puede eliminar, por ejemplo de la disolución o dispersión atomizada, mediante evaporación o vaporización. Como alternativa, el material de soplado se puede descomponer durante o después de la atomización, y la liberación de un gas o gases conduce a la formación de las micropartículas. La eliminación y/o descomposición del material de soplado puede ser o no sustancialmente simultánea con la evaporación del vehículo.
- 10 En un aspecto, la invención proporciona el uso de un material de soplado, que es carbonato de amonio o bicarbonato de amonio, en la formulación de micropartículas mediante secado por pulverización para ayudar al llenado automatizado y/o mediante máquina de micropartículas o polvos terapéuticos tales como según la invención en un receptáculo, y/o para el vaciado de las micropartículas o polvos terapéuticos tales como según la invención desde un receptáculo.
- 15 Las micropartículas o polvos terapéuticos pueden comprender uno o más sacáridos como se definen aquí. Por ejemplo, las micropartículas o polvo terapéutico pueden comprender un glicosaminoglicano, preferiblemente no fraccionado, seleccionado de uno o más de heparina, sulfato de heparina, sulfatos de heparitina, tales como proteoglicano de sulfato de heparano, heparinoides, dermatano, sulfato de dermatano, queratina, condroitina, sulfatos de condroitina A, B, C, D y E, heparano, sulfato de heparano, sulfato de queratano, ácido hialurónico, sales fisiológicamente aceptables de los mismos, derivados o fragmentos de los mismos, o mezclas de cualquiera de los mismos, preferiblemente la sal sódica de heparina (heparina sódica) o sulfato de heparina.

Por ejemplo, un material de soplado se puede usar para incrementar la dosis suministrada de un polvo, preferiblemente en comparación con el mismo polvo que no se ha preparado usando el material de soplado.

- 25 Las micropartículas o polvo comprenden preferiblemente un polisacárido, tal como, por ejemplo, heparina sódica o sulfato de heparina, o un inmunosupresor, tal como tacrolimus, sirolimus, pimecrolimus o un derivado de los mismos, y opcionalmente un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un sacárido, aminoácido, un alcohol de azúcar, o una mezcla de los mismos. Las micropartículas o polvo se "soplan", es decir, se preparan usando un material de soplado como se define aquí.

- 30 En una realización, el uso de un material de soplado, en una disolución o dispersión a atomizar, produce micropartículas como se definen aquí, preferiblemente en forma de un polvo, para las cuales está mejorado el llenado en y/o el vaciado de un receptáculo, tal como un blíster o cápsula, en comparación con micropartículas o polvos que no se han preparado usando el material de soplado en la disolución o dispersión a atomizar. Esto puede superar problemas observados cuando se intenta llenar y aerosolizar polvos de otro modo cohesivos.

- 35 Todas las combinaciones de los parámetros expuestos anteriormente, incluyendo el diámetro geométrico de la mediana, el diámetro aerodinámico de la mediana de la masa, la densidad compacta, la densidad aparente y el Índice de Carr, así como los agentes, inmunosupresores y sacáridos mencionados, se contemplan y están englobados por la presente invención.

- 40 La lista o explicación de un documento publicado aparentemente anterior en esta memoria descriptiva no se debería aceptar necesariamente como un reconocimiento de que el documento es parte del estado de la técnica o es conocimiento general común.

- 45 Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran la invención, y no limitan su alcance de ningún modo. En los ejemplos y a lo largo de esta memoria descriptiva, todos los porcentajes, partes y relaciones están en peso excepto que se indique de otro modo. Los pesos moleculares promedio se basan en peso excepto que se especifique de otro modo. Se apreciará que las diversas cantidades en porcentaje de los diferentes componentes que están presentes en los productos de la invención, incluyendo cualesquiera componentes opcionales, sumarán hasta 100%.

EJEMPLOS:

- 50 Se añadió carbonato de amonio a disoluciones de heparina en agua en relaciones de 1:0,75, 1:1 y 1:2 p/p (heparina:carbonato de amonio). Cada lote se secó por pulverización usando el secador por pulverización Niro Mobile Minor. Se determinó el tamaño de partículas, el Índice de Carr y el comportamiento del aerosol del inhalador Monohaler usando análisis de Andersen Cascade Impactor.

Ejemplo 1:

Una disolución 1:1 de 5% de heparina:5% de carbonato de amonio (p/p) se secó por pulverización en el secador por pulverización Niro Mobile Minor. Se usó una presión de atomización de 6 bares y un caudal de atomización de 10 l/s.

Equipo/reactivos:

- agua hyclone WFI
- carbonato de amonio
- heparina sódica

Método:

- 5 Se pesaron aproximadamente 5 g de heparina y se transfirieron a una vasija de vidrio de 500 ml. Se añadieron 100 ml de agua, y la disolución se mezcló hasta que se produjo la disolución total. A esta disolución, se añadieron 5 g de carbonato de amonio. Esta disolución se secó entonces por pulverización como se describe a continuación.

Condiciones de secado por pulverización:

Material de alimentación

Material / Tipo	Concentración (% p/p)	Volumen (ml)	Masa secada por pulverización (g)	Adiciones	Caudal (g/min)
Heparina	5	100	5	5% de carbonato de amonio (5 g)	20

10

Condiciones de secado

Temperatura de entrada (°C)	Temperatura de salida (°C)		Tipo de atomización	Presión de atomización (bares manométricos)	Caudal de aire de atomización (l/s)
	COMIENZO	FINAL			
200	78	78	2FN	6	10

Análisis del tamaño de partículas

- 15 La distribución de tamaños de partículas de la heparina secada por pulverización con carbonato de amonio (1:1) 5% - (RHP081201AKSA) se analizó usando un Analizador de Tamaño de Partículas mediante Difracción por Láser (Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Alemania). Se usó una lente R2 con una presión de dispersión de 1,0 bares.

Resultados:

Tabla 1

	X ₁₀ (µm)	X ₅₀ (µm)	X ₉₀ (µm)	X ₉₉ (µm)
Media	1,29	3,59	7,80	17,11
SD	0,04	0,04	0,08	0,23
% RSD	3,14	1,16	1,03	1,36

20 **Ejemplo 2:**

En la Tabla 2 se muestra una comparación de los datos generados cuando la carga de heparina y las condiciones de secado por pulverización se mantienen constantes, pero se incrementa la carga de carbonato de amonio.

Tabla 2

Caracterización de lotes de heparina									
Lote número	Carga de heparina (%)	Carga de carbonato de amonio (%)	Comportamiento del aerosol (% de fracción de partículas finas)		Densidad aparente g/cm ³	Densidad compactada (g/cm ³)	Índice de Compresibilidad de Carr (%)	Tamaño de partículas (X50, μm)	
			<6,5 μm	<3 μm					
RHP081021AKSA	10	7,5	38,2	18,5	0,11	0,14	21	4,8	
RHP081020AKSB	10	10	29,7	12,3	0,05	0,05	18	9,0	
RHP081110ANHB	5	3,75	44,2	23,1	0,12	0,19	35	2,6	
RHP081112ANHA	5	5	44,8	20,3	0,08	0,11	29	4,2	

Los datos en la Tabla 2 muestran sorprendentemente que cuando las condiciones de reacción se mantienen constantes, en particular cuando la cantidad del agente, tal como heparina, es menor que 10% p/p, entonces la cantidad de material de soplado, tal como carbonato de amonio, se puede realmente reducir o incrementar (de manera que la relación en peso de agente a material de soplado aumenta de 1:1 a 2:1, o disminuye de 2:1 a 1:1) sin afectar sustancialmente a la fracción de partículas finas y a pesar del cambio en el tamaño de partículas. De este modo, se ha encontrado posible obtener partículas más grandes (4,2 μm) que se comportan como si fueran mucho más pequeñas en términos de su comportamiento de aerosolización, y producir así una fracción elevada de partículas finas, incluso aunque aumente el tamaño de las partículas.

La Figura 6 muestra que el incremento o disminución del nivel de bicarbonato no afecta significativamente al FPM (<5 μm).

Ejemplo 3:

Llenado de la formulación de baja densidad y de la formulación estándar de heparina:leucina

El llenado mediante tambor automatizado (Omnidose) de polvos secados por pulverización puede ser difícil debido al nivel de compactación del polvo requerido para lograr un peso de llenado consistente. Como resultado, a menudo se observa un comportamiento pobre del aerosol cuando los tapones compactados son aerosolizados en un inhalador.

Se han llevado a cabo estudios para evaluar si la formación de baja densidad (esponjosa) según la invención (carbonato de amonio, relación 1:1) permanece más desmenuzable tras el llenado en tambor en comparación con la formulación estándar de heparina/leucina.

Se puede observar que los tapones formados tras el llenado del polvo de baja densidad según la invención da lugar a tapones con una friabilidad muchísimo mayor que las obtenidas con los tapones friables de la formulación estándar. Esto se confirma mediante la mejor evacuación del blíster observada con las formulaciones de baja densidad en la Tabla 3.

Tabla 3

Procedimiento de llenado / Mezcla	Tamaño del tambor (mm^3)	Peso medio de llenado (mg) \pm desv. est.	Peso medio del disparo (mg) \pm desv. est.	Evacuación del blíster % \pm desv. est.
Llenado con tambor de la formulación sin agente de soplado	16,2	14,0 \pm 1,2	7,8 \pm 4,2	56 \pm 29,6
Llenado con tambor de heparina con agente de soplado	65,2	4,4 \pm 0,9	3,4 \pm 0,3	76 \pm 7,1

Ejemplo 4:

Evaluación de bicarbonato de amonio (peso de llenado de 33 mg).

Se usó bicarbonato en lugar de carbonato en el procedimiento descrito en el Ejemplo 1.

Se ha encontrado inesperadamente en la presente invención que el uso de carbonato de amonio, en las mismas condiciones de secado por pulverización, puede dar como resultado una mejora en la dosis suministrada y en la fracción de partículas finas con respecto al carbonato de amonio (véase la Tabla 4 a continuación).

Tabla 4

Parámetro	Heparina sin agente de soplado	Agente de soplado de carbonato	Agente de soplado de bicarbonato
Tamaño de partículas (X50, μm)	2,1	3,9	4,2
Contenido de humedad (%)	~9	9,2	8,9
Dosis medida	25,7	24,7	27 mg
Dosis suministrada (mg)	22,8	20,7	25 mg

Parámetro	Heparina sin agente de soplado	Agente de soplado de carbonato	Agente de soplado de bicarbonato
FPM* < 6,5 (mg)	10,9 mg (48)	11,1 mg (54)	14,0 mg (58)
FPM* <5 (mg)	9,3 mg (41)	8,8 mg (43)	11,3 mg (46)
FPM* < 3 (mg)	5,6 mg (25)	5,1 mg (25)	6,5 mg (26)
MMAD (μm)	3,7	4,8	4,7
Densidad aparente (g/cm ³)	0,6	0,11	0,08
Densidad compactada (g/cm ³)	0,9	0,14	0,10
CCI (%)	32	25	21
*Valores de fracción de partículas finas (%) mostrados entre paréntesis			

Ejemplo 5:

En la Tabla 5 se proporciona un resumen que compara un lote de heparina secada por pulverización fabricado usando los mismos parámetros del procedimiento que los usados para micropartículas según el Ejemplo 1.

- 5 Para el lote de heparina secada por pulverización (que se ha preparado sin el uso de un material de soplado, es decir, no está manipulado mediante ingeniería), el comportamiento del aerosol es muy pobre, con masas de partículas finas (FPM) significativamente menores. Esto es debido al hecho de que la mayoría del polvo es retenido en el dispositivo – esto está apoyado por el hecho de que la dosis suministrada es mucho menor que la dosis medida.
- 10 Las partículas según la invención son más ligeras y más grandes que las partículas comparativas de heparina/leucina, pero todavía producen fracciones elevadas de partículas finas.

Ejemplo 6 Comparativo:

- 15 Se repitió el Ejemplo 1 en el documento WO 99/32083 usando la misma cantidad de heparina sódica en lugar de HSA. Los resultados del experimento se proporcionan en la Tabla 6. Como se muestra en la Tabla 6, se encuentra un gran diámetro geométrico (15 μm) y una densidad aparente baja (0,01 g/cm³).

El comportamiento de aerosol de esta formulación comparativa es menor que el de la formulación según la presente invención. De este modo, las fracciones de partículas finas para la formulación comparativa son casi la mitad, para <6,5 μm y <5 μm , como se muestra en la Tabla 6, en comparación con las micropartículas según la invención.

Tabla 5

Lote N°	Datos de ACI (mg)										Datos de tamaños de partículas			Densidad		Índice de Carr (%)
	FPM ≤ 6,5 µm (%)	FPM ≤ 5 µm (%)	FPM ≤ 3 µm (%)	FPF (%)	Dosis medida (%)	Dosis suministrada (%)	MMAD µm	Balance de masas (%)	D10	D50	D90	Aparente (g/ml)	Compactada (g/ml)			
Heparina solamente RHP090203ANHA	5,16	4,87	4,07	68,2	56,9	27,62	7,15	2,3	94,6	0,67	1,35	2,49	0,4197	0,5644	25,6	
	7,15	6,94	5,48	66,2	52,4	25,58	10,47	2,4	87,4	0,70	1,38	2,53				
	7,32	7,02	5,67	69,0	55,7	27,09	10,18	2,3	91,6	0,69	1,37	2,51				
Heparina Leucina	10,29	86,57	5,16	38,3	22,8	25,76	22,61	3,8	93,0	0,70	2,17	4,99	0,6169	0,9130	32,4	
	11,15	94,60	5,80	41,7	25,6	26,98	22,68	3,6	97,4	0,69	2,29	5,06				
	11,28	95,66	5,90	41,4	25,5	24,47	23,13	3,7	88,4	0,70	2,33	5,11				
	10,91	47,8	92,28	40,5	24,6	25,74	22,81	3,7	92,9	0,70	2,26	5,05				
Heparina Bicarbonato RHP090116OMB	14,34	57,0	11,49	45,6	6,32	25,1	26,78	4,6	99,1	1,53	4,09	10,02	0,0866	0,1082	20,0	
	13,63	53,9	11,14	44,0	6,65	27,55	25,31	4,8	101,8	1,65	4,25	10,37	0,0765	0,0994	23,0	
										1,66	4,27	10,35	0,0850	0,1063	20,0	
	13,99	55,4	11,32	44,8	6,49	25,7	27,17	4,7	100,5	1,61	4,20	10,25	0,0827	0,1046	21,0	

Tabla 6

Lote N°	Datos de ACI (mg)										Datos de tamaños de partículas			Índice de Carr (%)		
	FPM ≤ 6,5 μm (%)		FPM ≤ 5 μm (%)		FPM ≤ 3 μm (%)		Dosis medida	Dosis suministrada	MMAD μm	Balance de masas (%)	D10	D50	D90			
	FPM (%)	FPF (%)	FPM μm	FPF (%)	FPM μm	FPF (%)									Dosis (%)	Aparente (g/ml)
Heparina:carbonato de amonio	6,17	27,47	4,03	17,94	2,06	9,17	23,24	22,47	7,9	84,8	4,70	16,28	43,30	0,0114	0,0158	27,8
	7,51	28,67	4,85	18,51	2,41	9,20	27,04	26,19	7,9	101,2	4,41	15,58	41,21	0,0126	0,0166	24,1
	7,22	29,54	4,39	17,96	1,88	7,71	25,43	24,44	7,9	94,9	4,32	15,63	41,29	0,0120	0,0162	25,9
	6,97	28,56	4,42	18,14	2,12	8,69	25,24	24,37	7,9	93,6	4,48	15,83	41,93	0,0120	0,0162	25,9

Ejemplo 7:

Se han fabricado formulaciones de tacrolimus usando diferentes niveles de trehalosa (0, 50 y 80%), como excipiente, y bicarbonato de amonio (0 y 20%). El porcentaje de bicarbonato de amonio añadido se basa en la masa de tacrolimus y trehalosa en la disolución de la materia prima.

- 5 Se disolvió tacrolimus en etanol. Se disolvieron trehalosa y bicarbonato de amonio en agua, y las disoluciones resultantes se mezclaron en una relación 1:1. Cada lote se secó por pulverización usando un secador por pulverización bespoke mini.

Materia prima	
Concentración de materia prima	2,5 % p/v
Caudal de alimentación	5 g/min
Condiciones de secado	
Presión de atomización	5 bares
Caudal de atomización	25 l/min
Presión de secado	1 bar
Caudal de secado	5 l/s
Temperatura de entrada	120 °C
Temperatura de salida	>75 °C

Ensayo del dispositivo y análisis del tamaño de partículas aerodinámico

- 10 Las formulaciones se ensayaron usando un dispositivo inhalador de polvo seco (DPI) de dosis unitaria, y se llenó con formulación para suministrar una dosis de ~1 mg.

El dispositivo se ensayó a un caudal Q (~60 l/min.)

- Dispositivo de dosis unitaria individual reutilizable
- Dosis contenida en un blíster de Al reemplazable. Los blísters de dosis unitaria se cerraron herméticamente usando una máquina de sellado operada manualmente
- Condiciones: 160°C/<0,5 s. El tamaño de partículas se determinó mediante Next Generation Impactor (NGI)
- Recogida de copas revestidas con Brij 30 (5% en hexano)
- Recuperación en 85% de metanol/15% de agua

Análisis del tamaño de partículas

- 20 La distribución de tamaños de partículas de las formulaciones se analizó usando un analizador de imágenes de partículas Morphologi G3

Tabla 7

	100% Tacrolimus 0% Trehalosa Bicarbonato de amonio (20%)		50% Tacrolimus 50% Trehalosa	50% Tacrolimus 50% Trehalosa Bicarbonato de amonio (20%)		20% Tacrolimus 80% Trehalosa	
	RTA090 224PWA	RTA090 414YLA	RTA090 416YLA	RTA090 224YLA	RTA090 415YLA	RTA090 212PWA	RTA090 420YLA
Dosis media de suministrada	833	769	790	956	790	888	864

	100% Tacrolimus 0% Trehalosa Bicarbonato de amonio (20%)		50% Tacrolimus 50% Trehalosa	50% Tacrolimus 50% Trehalosa Bicarbonato de amonio (20%)		20% Tacrolimus 80% Trehalosa	
	RTA090 224PWA	RTA090 414YLA	RTA090 416YLA	RTA090 224YLA	RTA090 415YLA	RTA090 212PWA	RTA090 420YLA
Referencia del lote							
tacrolimus (μg) ¹							
FPM media <5,8 μm (μg)	706	675	624	692	673	507	626
FPF media <5,8 μm (%)	85	88	79	72	85	57	73
MMAD (μm)	2,3	2,1	2,4	2,8	2,1	3,9	2,8
Tamaño de partículas:							
D10 (μm)	1,23 1,20 ²	1,43	1,59	0,76	1,40	1,14	1,28
D50 (μm)	3,17 3,01 ²	2,22	2,63	2,04	2,38	3,20	2,18
D90 (μm)	7,66 7,48 ²	3,51	4,26	5,89	3,90	6,59	3,77
Densidad sin compactar (g/cm^3)	-	0,13	0,16	-	0,10		0,17
Densidad compactada (g/cm^3)	-	0,17	0,23	-	0,13	-	0,25
Índice de Carr (%)	-	25	33	-	21	-	32
¹ del dispositivo calculado a partir de los datos de NGI							
² Medidas tomadas por duplicado							

Ejemplo 8:

Sumario de la caracterización física para formulaciones de tacrolimus

Análisis de TGA

- 5 Las muestras se mantuvieron a 25°C durante 1 min., después se calentaron desde: 25-135°C a 50°C min⁻¹ para 100% de tacrolimus y formulaciones de tacrolimus sopladas; 25-150°C a 50°C min⁻¹ para formulaciones que contienen trehalosa.

- 10 No se observaron efectos de pérdida de masa como resultado del bicarbonato de amonio residual; ambas formulaciones fabricadas con y sin bicarbonato de amonio demostraron una pérdida de masa total similar a la formulación secada por pulverización del 100% (~0,6%).

Se observó una pérdida de masa incrementada en la formulación que contiene 50% de trehalosa (~2,8%), con un incremento adicional en la formulación que contiene 80% de trehalosa (~6,2%).

Análisis de DSC

Las muestras se enfriaron hasta 0°C antes de calentarlas hasta 140°C a una velocidad de 50°C min⁻¹.

- 15 Durante el análisis se realizaron dos observaciones de interés. La primera fue la presencia de una endotermia en el

material de tacrolimus secado por pulverización (~85°C). Esto fue inesperado en un material amorfo. Esta endotermia estaba presente en todas las formulaciones.

5 La segunda observación fue la de una transición vítrea asociada con trehalosa a ~50°C. Esta apareció a una temperatura menor que la que sería de esperar de trehalosa amorfa (~115°C). Las formulaciones que contienen la trehalosa también demostraron la endotermia observada para tacrolimus, originalmente con una temperatura de comienzo de ~85°C, pero a una menor temperatura de comienzo de ~70°C.

Ejemplo 9

Datos de estabilidad del producto

Se examinaron las formulaciones secadas por pulverización siguientes:

- 10 (1) 100% de tacrolimus (preparada con 20% de bicarbonato de amonio)
 (2) 50% de tacrolimus/50% de trehalosa (preparada con 20% de bicarbonato de amonio)

Preparación de los lotes y almacenamiento:

Se llenaron blísters de papel metálico y se termosellaron, con pesos de llenado dirigidos a una dosis suministrada de 1,0 mg:

- 15 • 100% de tacrolimus: 1 mg
 • 50% de tacrolimus/50% de trehalosa: 2 mg

Los blísters se almacenaron “abiertos” y “envueltos en un saquito de hoja metálica”, respectivamente en condiciones medioambientales de 25°C/60% RH (estándar) y 40°C/75% RH (acelerada).

20 El tamaño de partículas aerodinámico se midió mediante impacto inercial (NGI) y ensayo de disoluciones mediante HPLC.

Resultados

La estabilidad física (%FPF) fue aceptable hasta 4 semanas para ambas formulaciones en todas las condiciones, y fue aceptable hasta 6 meses para condiciones estándar. Los resultados se muestran en la Figura 7.

25 La estabilidad química (% de impurezas totales mediante HPLC) fue aceptable hasta 4 semanas para ambas formulaciones en todas las condiciones, y aceptable hasta 6 meses para las condiciones ambientales. Los resultados se muestran en la Figura 8.

Los datos apoyan un período de caducidad de hasta 6 meses en condiciones estándar.

Ejemplo 10

30 Se prepararon formulaciones con relaciones constantes de niveles de tacrolimus y trehalosa, en las que se varió la carga de bicarbonato de amonio. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8

	50% Tacrolimus + 50% Trehalosa				
Bicarbonato de amonio	0%	20%	60%	80%	150%
Dosis media suministrada de tacrolimus (µg) ¹	753	853	939	983	976
FPF media <5,8µm (µg)	573	718	755	772	816
FPF media <5,8µm (%)	76	85	80	79	84
MMAD (µm)	76 2,5	2,1	2,6	2,8	2,2
Tamaño de partículas ² :					
D10 (µm)	1,42	1,37	1,19	ND	1,49
D50 (µm)	2,30	2,24	2,18	ND	2,61

D90 (μm)	3,76	3,62	3,75	ND	4,26
Densidad sin compactar (g/cm^3)	0,16	0,07	0,05	0,04	0,08
Densidad compactada (g/cm^3)	0,23	0,09	0,08	0,07	0,10
Índice de Carr (%)	33	24	31	36	21
100% Tacrolimus					
Bicarbonato de amonio	0%	20%	60%	100%	150%
Dosis media suministrada de tacrolimus (μg) ¹	672	769	1016	1820	883
FPM media <5,8 μm (μg)	610	675	802	1481	734
FPF media <5,8 μm (%)	91	88	81	82	83
MMAD (μm)	2,2	2,1	2,1	1,8	2,1
Tamaño de partículas:					
D10 (μm)	1,62	1,45	1,24	ND	1,09
D50 (μm)	2,70	2,35	1,97	ND	1,80
D90 (μm)	4,11	3,94	3,36	ND	2,89
Densidad sin compactar (g/cm^3)	0,15	0,15	0,24	ND	ND
Densidad compactada (g/cm^3)	0,22	0,19	0,30	ND	ND
Índice de Carr (%)	32	22	20	ND	ND
¹ del dispositivo calculado a partir de los datos de NGI					
ND: No determinado					

5 A partir de los datos, se puede observar que la presencia de bicarbonato de amonio reduce el índice de Carr, y de ese modo mejora las propiedades de flujo del polvo. Sorprendentemente, a medida que se incrementa el nivel de bicarbonato de amonio, el índice de Carr aumenta, o no es medible debido a la naturaleza muy cohesiva de las formulaciones.

En las Figuras 9 y 10 se muestran imágenes de SEM de las formulaciones fabricadas con diferentes cantidades de bicarbonato de amonio.

Ejemplo 11

10 Se ha comparado una formulación preparada a partir de una disolución en etanol/agua secada por pulverización que contiene tacrolimus (50%), manitol (50%) y bicarbonato de amonio (60%) con una formulación preparada a partir de una disolución en etanol/agua secada por pulverización que contiene tacrolimus (50%), trehalosa (50%) y bicarbonato de amonio (60%). Esta comparación se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9

	Manitol	Trehalosa
Dosis media suministrada de tacrolimus (μg) ¹	769	939
FPM media <5,8 μm (μg)	564	755
FPF media <5,8 μm (%)	73	80
MMAD (μm)	1,9	2,6
Densidad sin compactar (g/cm^3)	0,21	0,05

	Manitol	Trehalosa
Densidad compactada (g/cm ³)	0,30	0,08
Índice de Carr (%)	29	31

En la Figura 11 se muestra una imagen de SEM de la formulación que contiene manitol.

El análisis mediante DSC de la formulación que contiene manitol indica que el manitol es predominantemente cristalino.

5 Ejemplo 12

Se secaron por pulverización lotes de placebo de trehalosa con diferentes niveles de bicarbonato de amonio. En la Tabla 10 se presentan los datos de caracterización física.

Tabla 10

		100% Trehalosa				
Bicarbonato de amonio	% p/p ¹	0%	5%	5%	18%	18%
	% p/v ²	0%	1%	1%	1%	4%
Tamaño de partículas ³ :						
X10 (µm)		0,72	0,93	0,92	0,57	1,84
X50 (µm)		1,69	3,18	2,92	1,68	5,53
X90 (µm)		3,57	7,34	6,48	4,11	12,70
Superficie específica (m ² /g) ⁴		2,605	1,752	1,822	3,488	6,744
Densidad sin compactar (g/cm ³)		0,35	0,30	0,32	0,26	ND
Densidad compactada (g/cm ³)		0,48	0,44	0,46	0,37	ND
Índice de Carr (%)		27	32	30	31	ND
¹ Basado en la masa de trehalosa en la disolución de materia prima ² Basado en el volumen de la disolución de materia prima ³ tamaño geométrico de partículas de la mediana mediante difracción por láser ⁴ Superficie específica mediante BET ND No determinado						

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento para preparar micropartículas, que comprende la etapa de atomizar una disolución o dispersión, que comprende un sacárido y un material de soplado en un vehículo, en un gas, a fin de obtener micropartículas mediante evaporación del vehículo y eliminación, o descomposición y eliminación, del material de soplado, en el que el vehículo para la disolución o dispersión es un vehículo acuoso que no comprende un líquido de una volatilidad mayor que el agua, en el que las micropartículas tienen una densidad compacta igual a o menor que $0,3 \text{ g/cm}^3$ y un diámetro geométrico de la mediana menor que, o igual a, $10 \mu\text{m}$, y en el que el material de soplado se selecciona de carbonato de amonio y bicarbonato de amonio, o mezclas de los mismos.
- 10 2. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que las micropartículas tienen un diámetro aerodinámico de la mediana másico igual a o menor que $10 \mu\text{m}$.
3. El procedimiento según la reivindicación 2, en el que las micropartículas tienen un diámetro aerodinámico de la mediana másico de 1 a $5 \mu\text{m}$, y preferiblemente un diámetro geométrico de la mediana menor que $5 \mu\text{m}$.
4. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el sacárido es un monosacárido, disacárido, trisacárido, o mezcla de los mismos.
- 15 5. El procedimiento según la reivindicación 4, en el que el sacárido es trehalosa.
6. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que las micropartículas comprenden el sacárido en una cantidad de al menos 50% en peso, preferiblemente 60, 70, 80 o 90% en peso.
- 20 7. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la disolución o dispersión comprende un agente terapéutico, que es una enzima, hormona del crecimiento, factor de crecimiento, insulina, anticuerpos, tanto monoclonales, policlonales como fragmentos de los mismos, interferones, interleucinas y citocinas.
8. El procedimiento según la reivindicación 7, en el que el agente terapéutico es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo.
- 25 9. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la disolución o dispersión comprende un agente de control de la fuerza.
10. El procedimiento según la reivindicación 9, en el que el agente de control de la fuerza es leucina.
11. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que las micropartículas tienen una densidad aparente menor o igual a $0,2 \text{ g/cm}^3$.

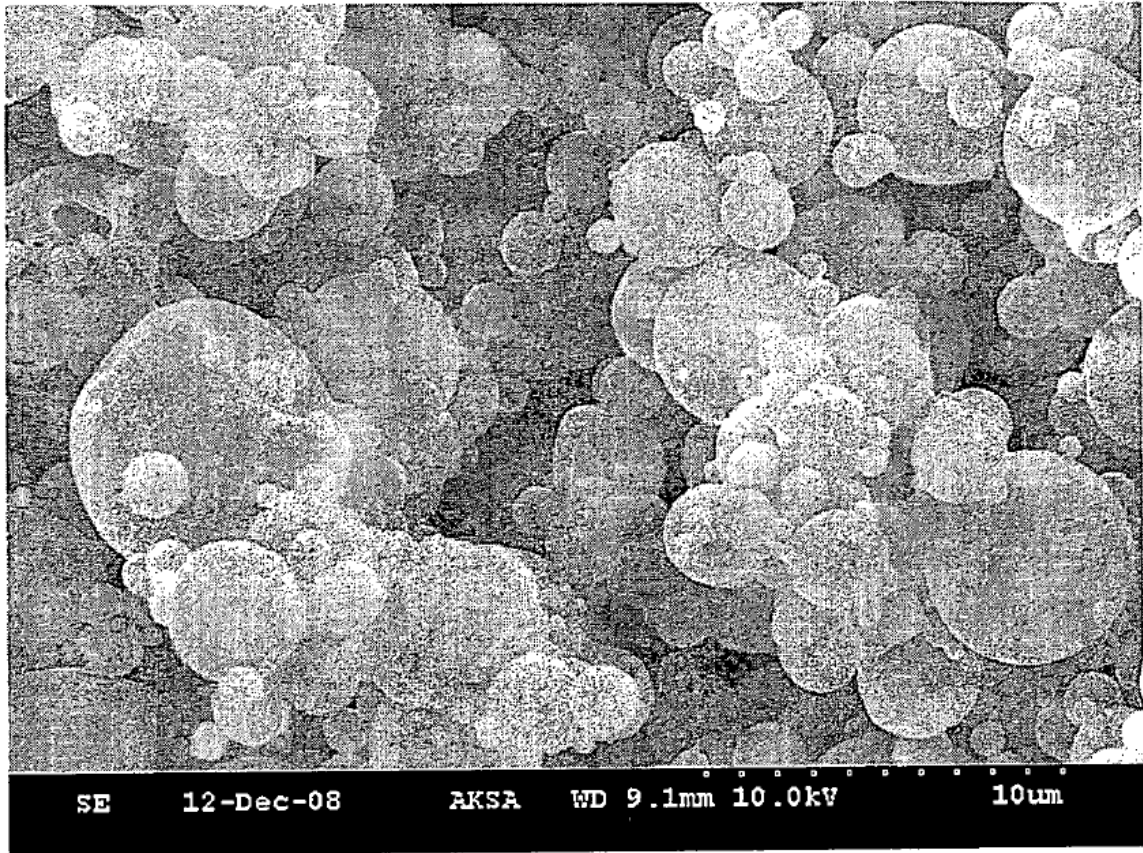


Figura 1

Comparación de la deposición de la etapa de ACI de heparina: leucina secada por pulverización y heparina secada por pulverización con agente de soplado (bicarbonato de amonio)

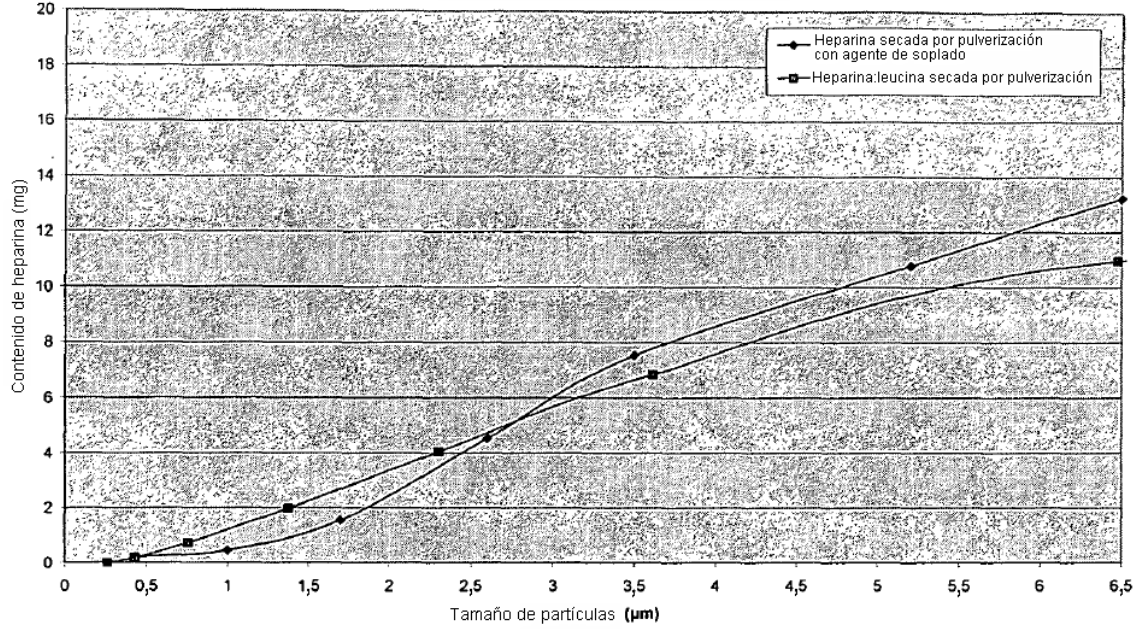


Figura 2

Comparación de la deposición de la etapa de ACI de diferentes heparinas secadas por pulverización con diferentes agentes de soplado (carbonato de amonio y bicarbonato de amonio)

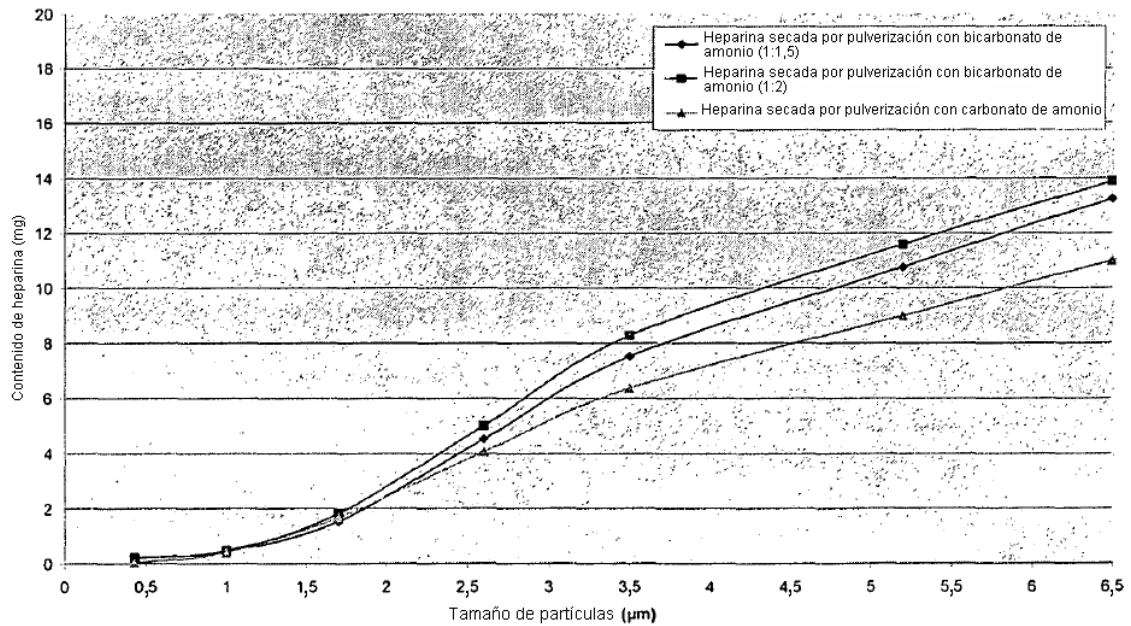


Figura 3

Baja densidad

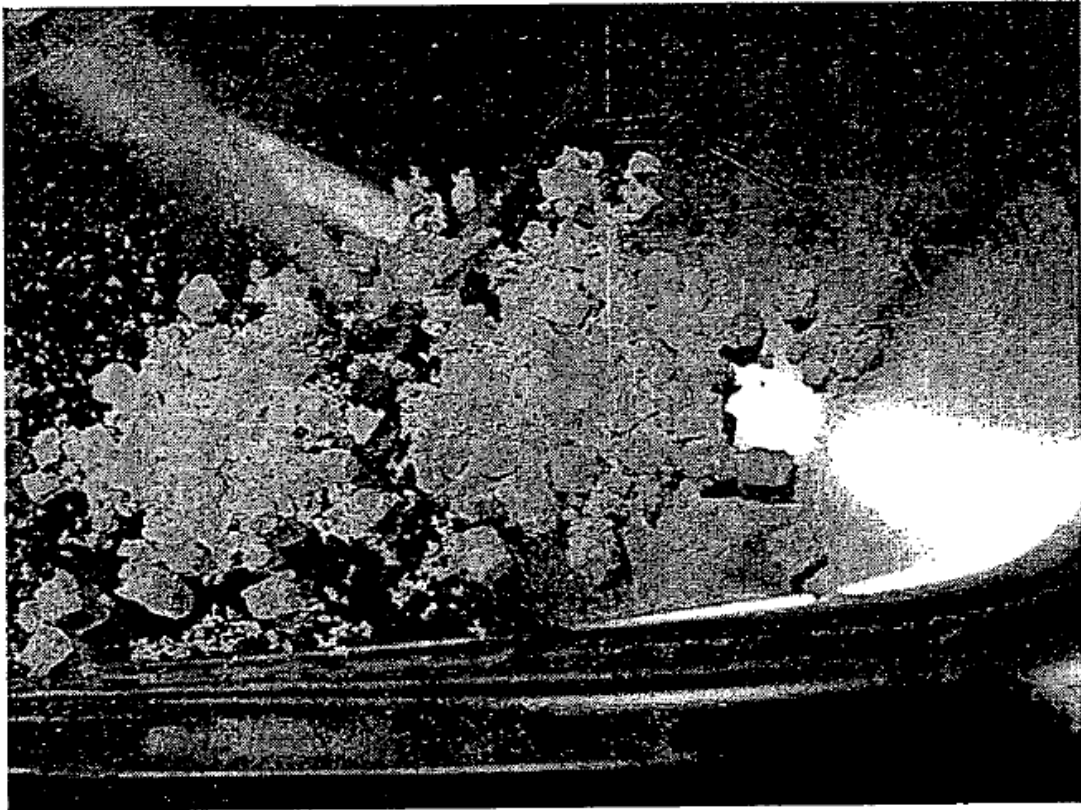


Figura 4

Formulación estándar de heparina:leucina

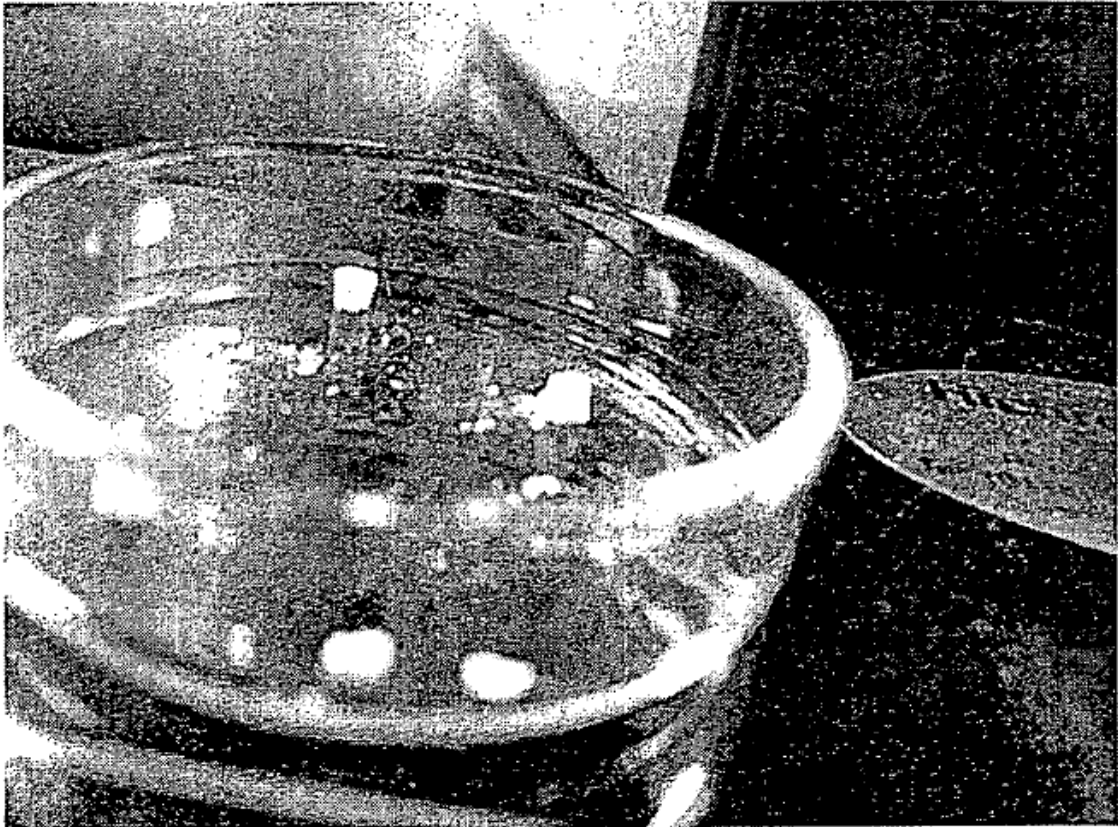


Figura 5

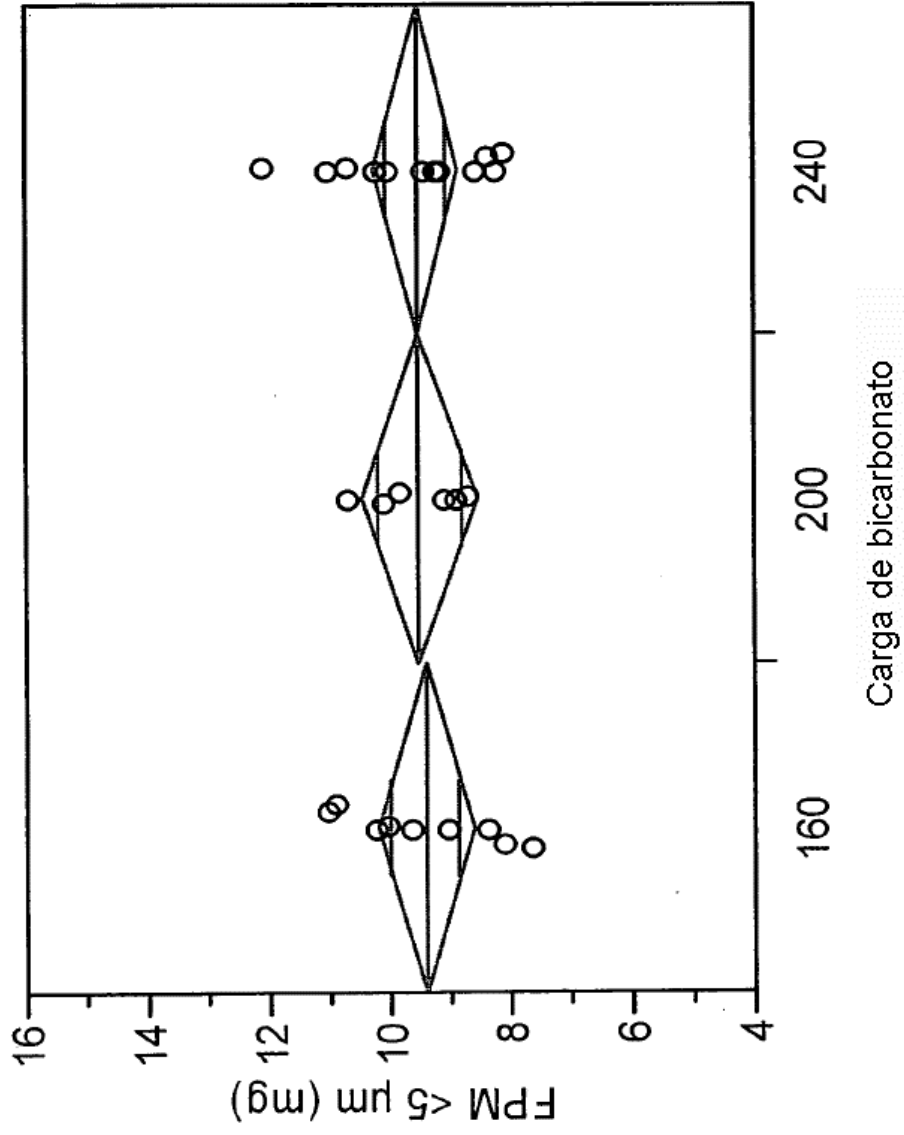


Figura 6

Datos de estabilidad de la fracción de partículas finas (%<5,8 µm) para formulación de 100% de Tracrolimus

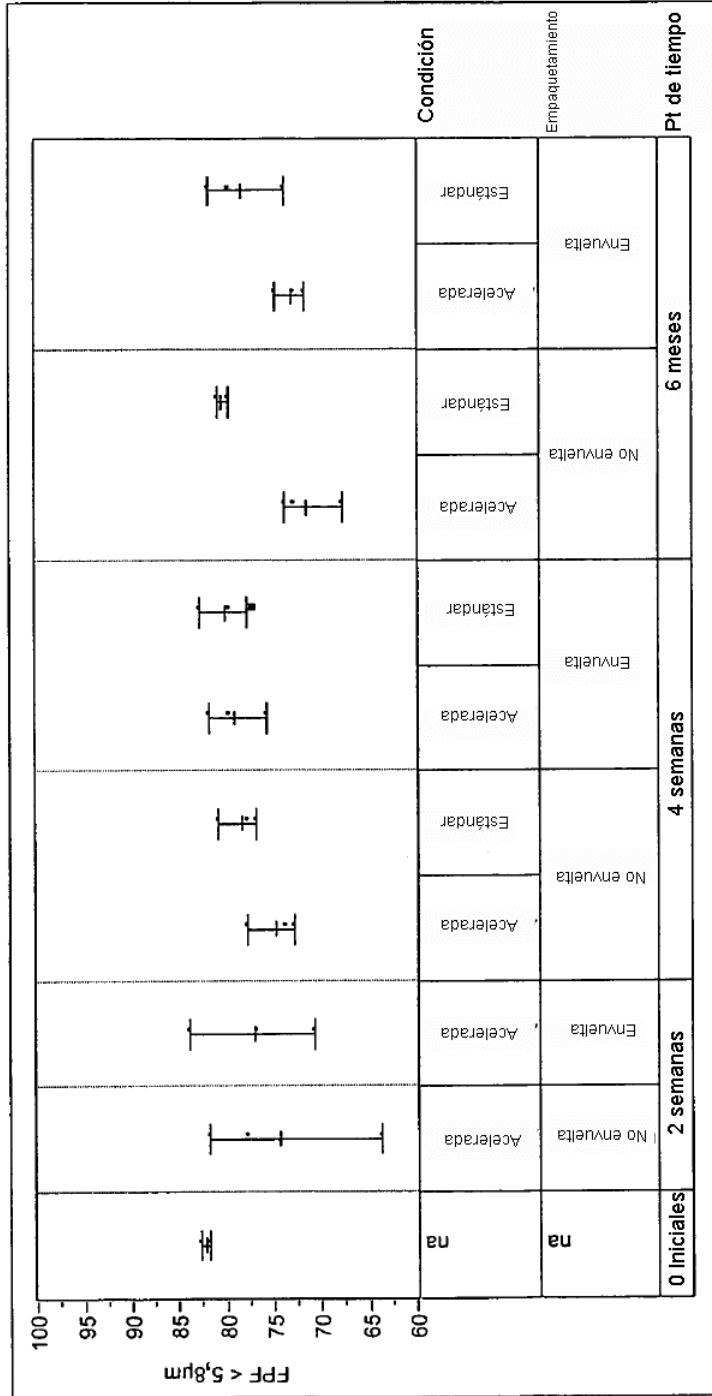


Figura 7a

Datos de estabilidad de la fracción de partículas finas (<math>\%<5,8 \mu\text{m}</math>) para formulación de 50% de Tracrolimus / 50% de Trehalosa

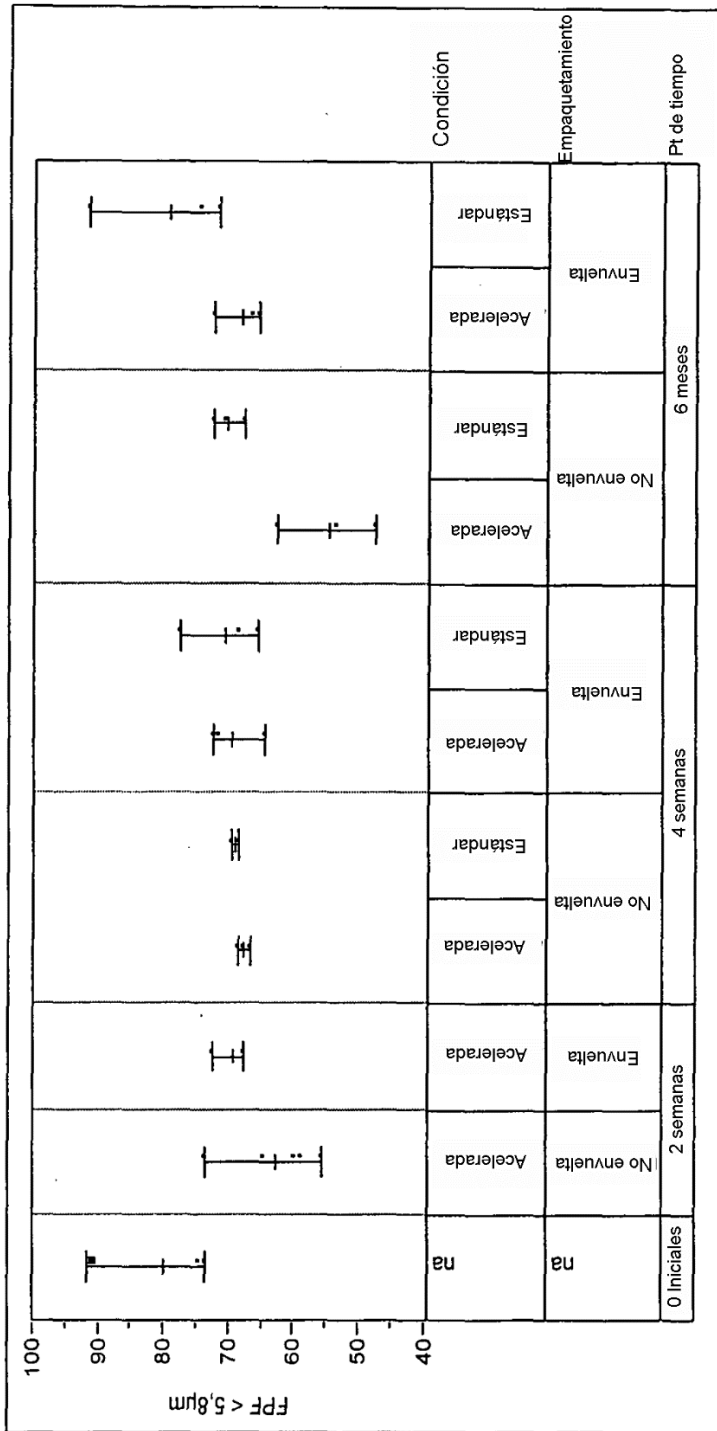


Figura 7b

Datos de estabilidad de impurezas totales (%) para formulación de 100% de Tacrolimus

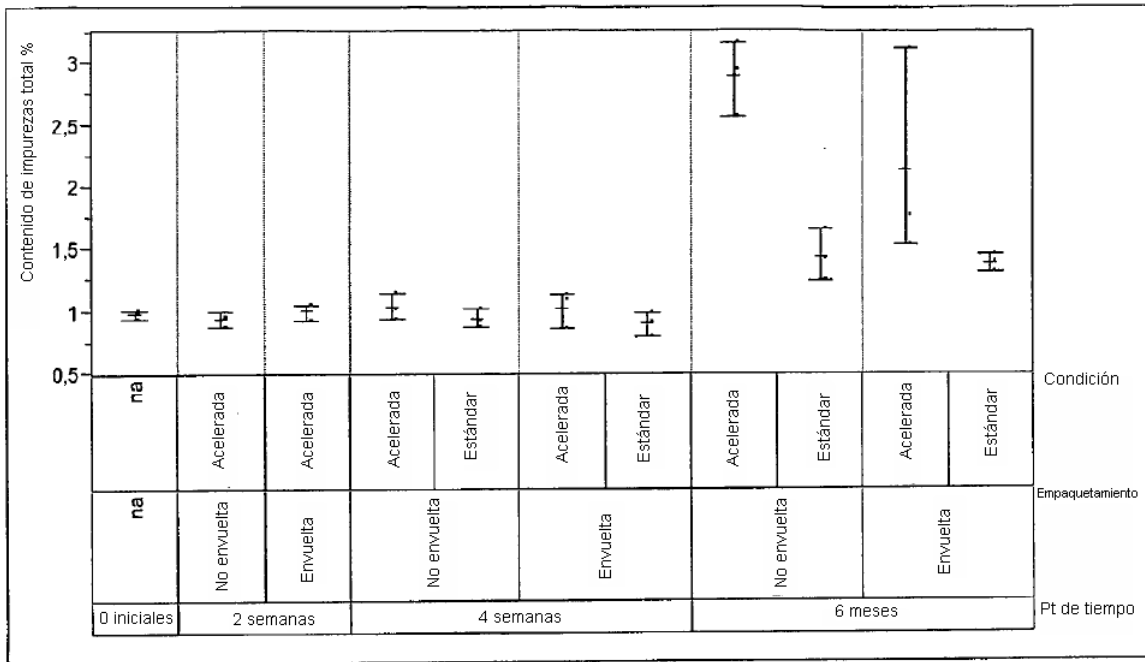


Figura 8a

Datos de estabilidad de impurezas totales (%) para formulación de 50% de Tacrolimus / 50% de Trehalosa

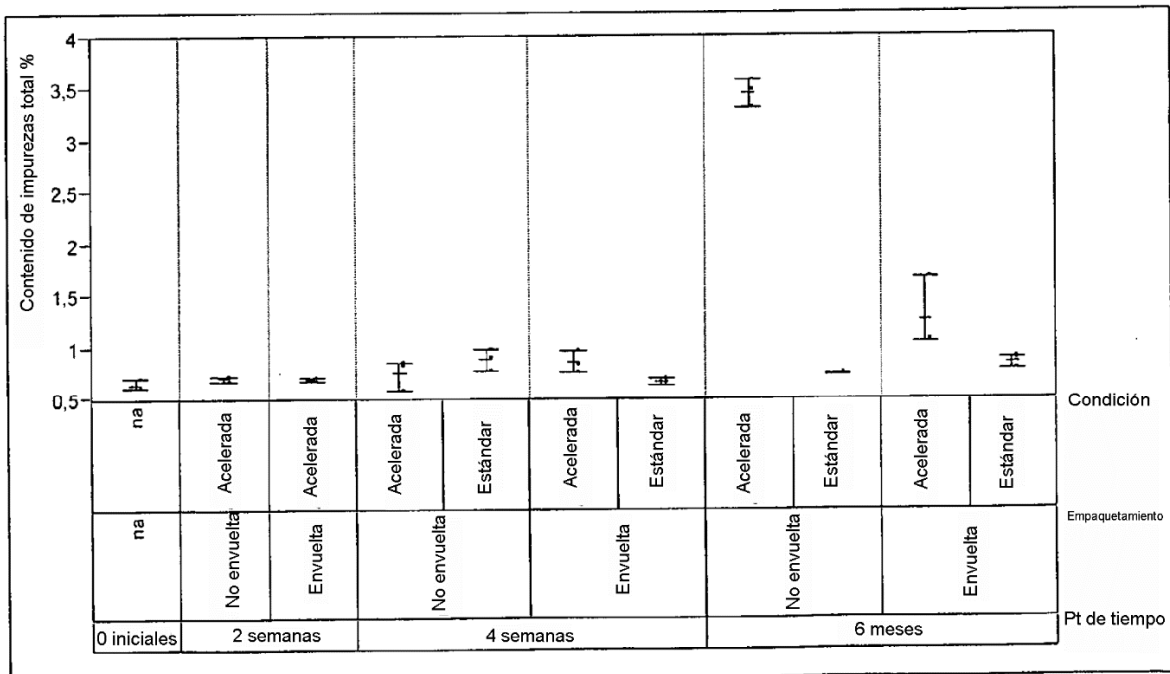
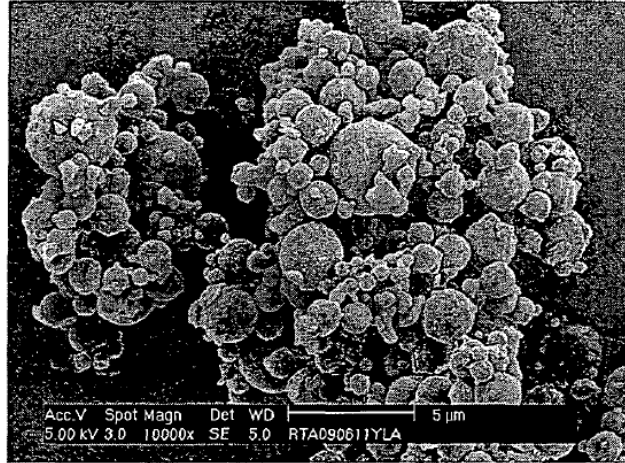


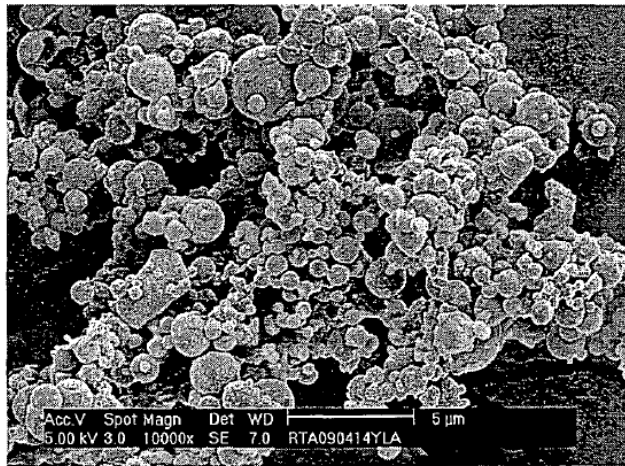
Figura 8b

Formulaciones de 100% de tacrolimus

0% de Bicarbonato de amonio



20% de Bicarbonato de amonio



60% de Bicarbonato de amonio

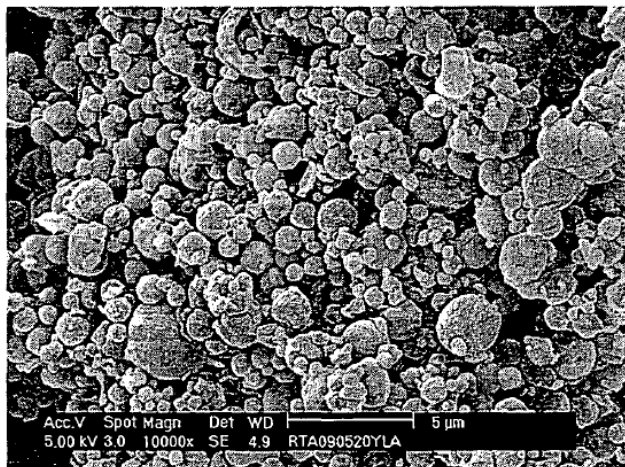
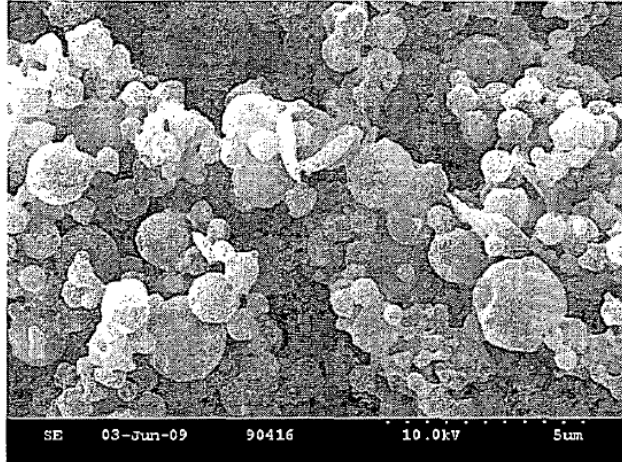


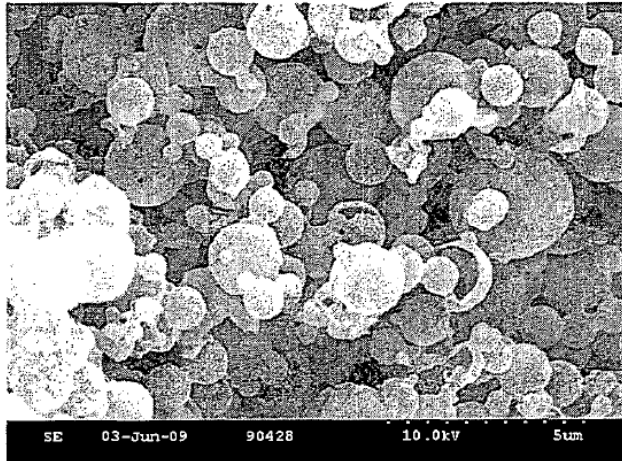
Figura 9

Formulaciones de 50% de tacrolimus / 50% de trehalosa

0% de Bicarbonato de amonio



20% de Bicarbonato de amonio



150% de Bicarbonato de amonio

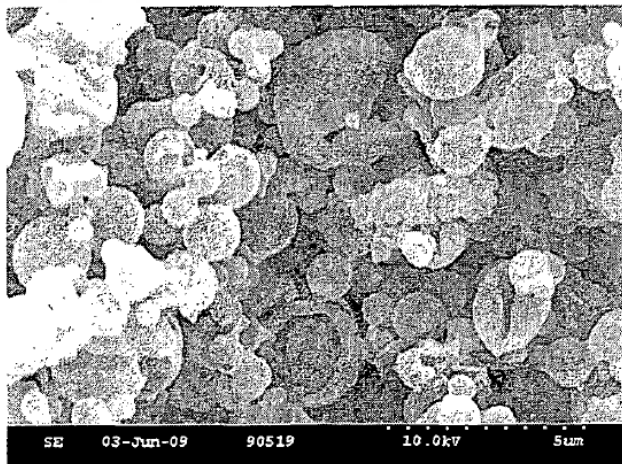


Figura 10

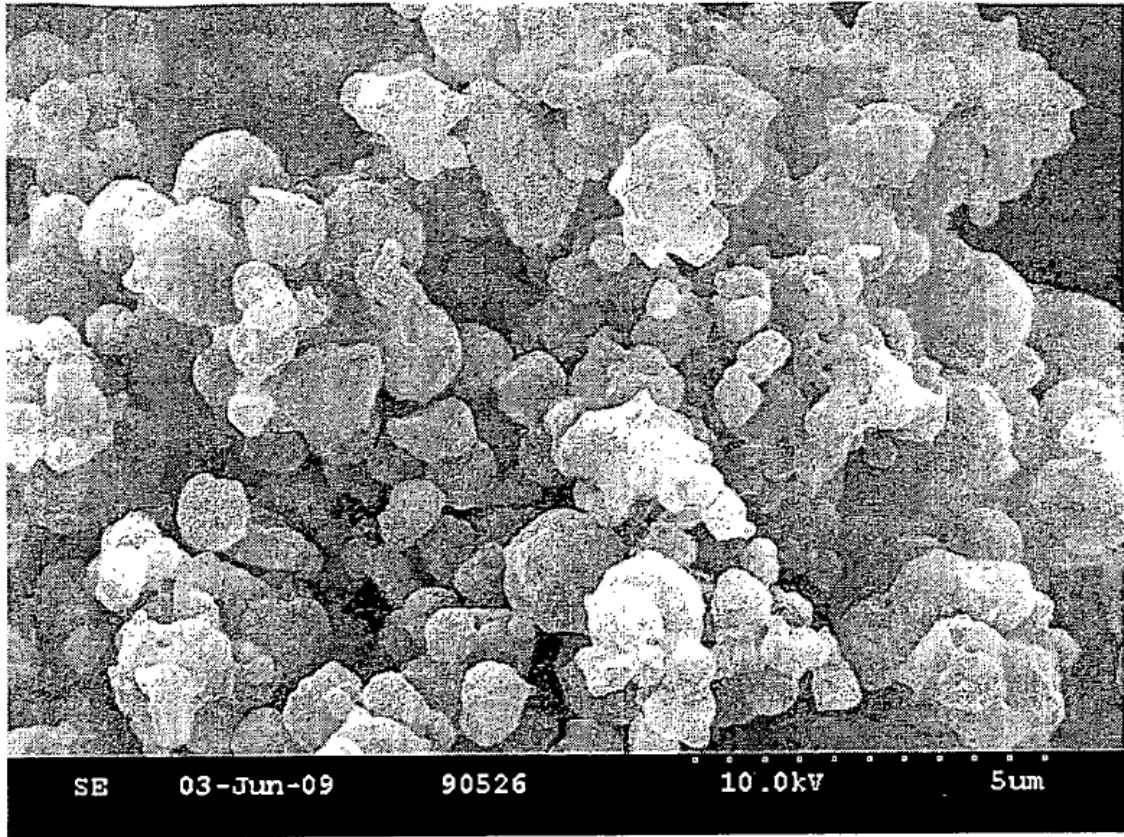


Figura 11