

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 890**

51 Int. Cl.:

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.12.2009 PCT/US2009/066212**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.06.2010 WO10065513**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.12.2009 E 09830961 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2017 EP 2379055**

54 Título: **Procedimiento de fabricación de micropartículas de liberación sostenida**

30 Prioridad:

04.12.2008 US 328136

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

22.02.2018

73 Titular/es:

**OAKWOOD LABORATORIES, LLC (100.0%)
7670 First Place Suite A
Oakwood Village, OH 44146, US**

72 Inventor/es:

**THANOO, BAGAVATHIKANUN, CHITHAMBARA;
JOHNS, GONTO, III y
WOO, BYUNG, HO**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

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

ES 2 655 890 T3

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

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de fabricación de micropartículas de liberación sostenida

Antecedentes

5 Las micropartículas y microesferas formadas a partir de diversos polímeros y resinas naturales y sintéticas se han convertido en vehículos de administración populares para diversos agentes activos tales como fármacos, reactivos de diagnóstico y similares. Las micropartículas de liberación sostenida degradables son de particular interés para su uso en las llamadas formulaciones de "depósito", en las que se desea la administración del agente activo durante un período de tiempo prolongado.

10 Las composiciones óptimas de formulaciones de micropartículas de liberación sostenida deben liberar una cantidad eficaz de agente biológicamente activo en una cantidad terapéutica eficaz para tratar una afección específica en una cantidad específica de tiempo. En general, las composiciones de liberación sostenida incluyen un perfil de liberación, que incluye la velocidad a la que se libera el agente activo desde la micropartícula al sistema del paciente. Puede ser beneficioso modificar los perfiles de liberación de las micropartículas de liberación sostenida de una manera que incluye cambiar la morfología de las microesferas alterando la relación de las fases dispersa y externa o continua (Luan X, Skupin M, Siepmann J, Bodmeier R, Key parameters affecting the initial release (burst) and encapsulation efficiency of peptide-containing poly(lactide-co-glycolide) microparticles. International J. of Pharmaceutics. 2006; 324: 168-175). Como alternativa, los perfiles de velocidad de liberación también pueden verse afectados por la velocidad de adición continua en fase acuosa (Yang YY, Chung TS, Bai XL, Chan WK, Effect of preparation conditions on morphology and release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double emulsion method. Chemical Engineering Science. 2000; 55: 2223-2236) que afectaría a la morfología de las microesferas y además permitiría controlar las velocidades de liberación para los agentes activos específicos encapsulados dentro de la micropartícula. Pero el empleo de los procedimientos anteriores lleva más tiempo para la formación de microesferas sólidas.

Sumario

25 Una realización incluye un procedimiento para formar micropartículas de liberación sostenida que incluye las etapas de formar una fase dispersa con un agente activo disuelto con un polímero; mezclar la fase dispersa con una fase acuosa continua para formar una dispersión de micropartículas que tiene micropartículas suspendidas en la fase continua; y añadir una cantidad medida de una composición de dilución a la dispersión de micropartículas después de que se hayan formado las micropartículas; en el que las micropartículas formadas son suficientemente sólidas para ser filtrables usando un filtro de fibra hueca y en las que la cantidad de la composición de dilución es suficiente para alterar la velocidad de liberación del agente activo.

30 Otra realización de la invención incluye un procedimiento para formar micropartículas de liberación sostenida que incluye las etapas de formar una fase dispersa con un agente activo y un polímero; mezclar la fase dispersa y una fase continua acuosa para formar una dispersión de micropartículas que tiene micropartículas que son suficientemente sólidas para ser filtrables usando un filtro de fibra hueca suspendido en la fase continua; y añadir una composición de dilución a la dispersión de micropartículas para producir una micropartícula de liberación sostenida que tiene una velocidad de liberación diferente a la velocidad de liberación de una micropartícula de liberación sostenida no tratada; en el que el volumen de la composición de dilución es al menos el 50 % del volumen de la fase continua.

40 Otra realización más incluye un procedimiento para controlar la velocidad de liberación de una micropartícula de liberación sostenida que incluye las etapas de formar una fase dispersa con leuprolida y un polímero, en la que la leuprolida se disuelve en el polímero. El procedimiento además incluye mezclar la fase dispersa con una fase continua en un mezclador para formar una dispersión de micropartículas y añadir una cantidad medida de una composición de dilución a la dispersión de micropartículas después de que se hayan formado micropartículas, en las que las micropartículas formadas son suficientemente sólidas para ser filtrables usando un filtro de fibra hueca. La cantidad de una composición de dilución también es suficiente para alterar la velocidad de liberación de la leuprolida.

45 También se describe en la presente una composición de liberación sostenida con una velocidad de liberación alterada que tiene una fase dispersa con un agente activo y un polímero específicos, la fase dispersa combinada con una fase continua para formar una dispersión de micropartículas y la dispersión de micropartículas expuesta a una cantidad medida de una composición de dilución después de que se formen micropartículas; en la que la composición de dilución es suficiente para diluir la fase continua para alterar la velocidad de liberación del agente específico.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una representación esquemática de una realización del procedimiento de la presente invención;

55 La Figura 2 es una representación gráfica de las propiedades de liberación de micropartículas en un estudio de ratas in vivo preparado y descrito en las Tablas 3 y 4, de acuerdo con una realización de la presente invención;

La Figura 3 es una representación gráfica de las propiedades de liberación de micropartículas en un estudio de ratas in vivo con micropartículas de leuprolida preparadas y descritas en las Tablas 3 y 4, de acuerdo con una realización de la presente invención;

5 La Figura 4 es una representación gráfica de las propiedades de liberación de micropartículas preparadas y descritas en las Tablas 5 y 6; de acuerdo con una realización de la presente invención;

La Figura 5 es una representación gráfica de las propiedades de liberación de micropartículas preparadas y descritas en las Tablas 7 y 8; de acuerdo con una realización de la presente invención;

10 La Figura 6 es una representación gráfica de la liberación de acetato de leuprolida a partir de micropartículas en condiciones de liberación in vitro aceleradas tal como se prepara y se describe en las Tablas 5 y 6; de acuerdo con una realización de la presente invención;

La Figura 7 es una representación gráfica de la velocidad de liberación de acetato de leuprolida a partir de micropartículas bajo condiciones de liberación in vitro aceleradas preparadas y descritas en las Tablas 7 y 8; de acuerdo con una realización de la presente invención;

15 La Figura 8 es una representación gráfica de los niveles de concentración de leuprolida en suero en ratas que recibieron dos preparados y descritos en las Tablas 9 y 10; de acuerdo con una realización de la presente invención;

La Figura 9 es una representación gráfica de los niveles de concentración de leuprolida en suero en seres humanos tal como se prepara y se describe en las Tablas 9 y 10, de acuerdo con una realización de la presente invención; y

20 La Figura 10 es una representación gráfica de las propiedades de liberación de micropartículas en un estudio in vivo de ocreótido en ratas tal como se prepara y se describe en la Tabla 11; de acuerdo con una realización de la presente invención.

Descripción detallada

25 En este documento se describen procedimientos para optimizar los perfiles de liberación de agentes biológicamente activos encapsulados en micropartículas de liberación sostenida en mamíferos de sangre caliente, que incluyen seres humanos. También se describen procedimientos para cambiar la velocidad de liberación del agente biológicamente activo de las micropartículas tratando las micropartículas después de la formación con una composición de dilución añadida como parte de un procedimiento aséptico continuo.

30 Como se muestra en la Figura 1, una realización incluye un procedimiento 10 para optimizar la velocidad de liberación inicial de un agente activo a partir de una micropartícula de liberación sostenida. En esta realización, el perfil de liberación de acetato de leuprolida en una micropartícula puede modificarse ajustando la concentración de disolventes a los que están expuestas las micropartículas recién formadas. Los perfiles de liberación de las micropartículas pueden modificarse mientras las micropartículas permanecen en fase acuosa a temperatura ambiente sin etapas asociadas que puedan introducir impurezas de disolventes residuales o problemas de agregación durante las etapas de secado, calentamiento o reconstitución con agua.

35 En un producto de liberación sostenida, la cantidad de fármaco inicialmente liberado de la composición puede ser importante. La cantidad de fármaco, o agente activo, liberado tras la administración inicial a menudo se denomina explosión o liberación inicial. Es importante tener en cuenta la cantidad de explosión o liberación inicial y optimizarla para medicamentos específicos y su uso previsto.

40 Por ejemplo, el acetato de leuprolida, "leuprolida", es un agente biológicamente activo que es un análogo agonista conocido de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). La GnRH estimula la producción de hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante del folículo (FSH). Cuando se liberan en el torrente sanguíneo, estas hormonas provocan la producción de testosterona en los hombres y de estrógeno en las mujeres. Por lo tanto, en enfermedades como el cáncer de próstata, en las que se ha demostrado que el control del nivel de testosterona producido es un tratamiento efectivo, sería beneficioso un agente activo que inhibiera la producción de GnRH, LH y FSH. En efecto, controlar el nivel de testosterona producida puede limitar la necesidad de castración quirúrgica.

45 En aplicaciones terapéuticas, la leuprolida inicialmente libera LH y FSH de la pituitaria anterior. Sin embargo, con el uso continuado, la leuprolida provoca una desensibilización hipofisaria y una regulación a la baja de las hormonas productoras de testosterona. Cuando se usa en tratamiento, la leuprolida suprime los niveles circulantes de hormonas sexuales en 2 a 4 semanas, después del aumento inicial. Por lo tanto, para que la leuprolida sea eficaz, puede ser deseable una velocidad de liberación inicial muy alta del fármaco desde la micropartícula de administración. De acuerdo con la Administración de Alimentos y Medicamentos, para la leuprolida, puede ser necesaria una alta liberación inicial para lograr una castración más rápida. La castración química con leuprolida se define como el 95 % de los pacientes con niveles de testosterona iguales o inferiores a 50 ng/dl (0,5 ng/ml) a los 28 días o antes.

55

Por el contrario, el octreótido, otro agente activo, es un análogo de somatostatina utilizado para la terapia de tratamiento a largo plazo en pacientes acromegálicos, así como para pacientes con tumores carcinoides malignos, tumores peptídicos intestinales vasoactivos, sofocos y diarrea. El octreótido en suero controla la hormona de crecimiento (GH) y el factor de crecimiento insulínico-1 (IGF-1). Una desventaja común del uso de octreótido en formulaciones de liberación sostenida de depósito a largo plazo es que niveles pico altos de octreótido pueden ser tóxicos a ciertas concentraciones en plasma. En esta situación sería preferible una velocidad de explosión o liberación inicial más lenta.

Como se muestra en la Figura 1, se puede usar un procedimiento continuo 10 para producir micropartículas que contienen leuprolida para producir las micropartículas. El procedimiento continuo 10 puede incluir en general combinar una fase dispersa 12 y una fase continua 14. La fase dispersa 12 puede incluir el agente activo, un polímero y disolventes adecuados. La fase continua 14 puede incluir en general una solución acuosa. La fase dispersa 12 y la fase continua 14 se pueden combinar en un mezclador en línea 16 para formar una dispersión de micropartículas. La dispersión de micropartículas puede estar compuesta en general de micropartículas recién formadas dispersas en una solución acuosa.

Para los fines de esta solicitud, la formulación de leuprolida en una micropartícula de liberación sostenida para el tratamiento del cáncer de próstata se usará como ejemplo de agente activo que se libera de una micropartícula de liberación sostenida polimérica. Resultará evidente para los expertos en la técnica, a la vista de la descripción, que el agente activo puede ser cualquier agente para el que se desee la encapsulación o interdispersión dentro de un cuerpo de polímero pequeño. Otros ejemplos de agentes activos cuya velocidad de liberación puede optimizarse para mejorar la eficacia clínica incluyen péptidos, ketotifeno, tioridazina, olanzapina, risperidona, oxibutinina, octreótido, naltrexona, orntida, o Woc4D, betaqmetasona, dexametasona, clonidina, verapamilo, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. De particular interés son los agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (agonistas LH-RH) tales como leuprolida, triptorelina, goserelina, nafarelina, historelina y buserelina. También son de particular interés los análogos de somatostatina tales como octreótido, calcitonina humana, de salmón y de anguila, hormonas de crecimiento, hormona liberadora de hormona de crecimiento, péptido liberador de hormona de crecimiento, hormonas paratiroides y péptidos relacionados, interferón, eritropoyetina, GM-SSF, G-CSF, timosina, antitripsina y quimioterapia, antibióticos y analgésicos para administración regional y otros agentes en los que el ajuste de la velocidad de liberación puede aumentar la efectividad de la formulación de liberación sostenida.

Con el fin de incorporar el agente activo en la fase dispersa 12, habitualmente es necesario disolver el agente activo en al menos un disolvente. Los disolventes para el agente activo, naturalmente, variarán dependiendo de la naturaleza del agente. Los disolventes típicos que se pueden usar en la fase dispersa para disolver el agente activo incluyen, pero no se limitan a, agua, metanol, etanol, dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida, dimetilacetamida, dioxano, tetrahidrofurano (THF), diclorometano (DCM), cloruro de etileno, tetracloruro de carbono, cloroformo, éteres de alquilo inferior tales como dietil éter y metil etil éter, hexano, ciclohexano, benceno, acetona, acetato de etilo, metil etil cetona, ácido acético o mezclas de los mismos. Además, se puede usar un ácido tal como ácido acético glacial, ácido láctico, o ácidos grasos o ácido acrílico en el procedimiento para ayudar a mejorar la solubilidad y la encapsulación del agente activo en el polímero. La selección de disolventes adecuados para un sistema dado estará dentro de la experiencia en la técnica a la vista de la presente descripción.

El agente activo a continuación se combina con un polímero para formar la fase dispersa 12. Ejemplos de polímeros conocidos por los expertos en la técnica, y útiles en una realización, se pueden encontrar, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos n.º 4,818,542, 4,767,628, 3,773,919, 3,755,558 y 5,407,609. Al seleccionar un polímero particularmente deseable para un sistema dado, se pueden considerar numerosos factores con el fin de producir un producto que tenga las características clínicas deseadas tales como biodegradabilidad (por ejemplo, perfil de liberación) y biocompatibilidad. Una vez que un experto en la materia haya seleccionado un grupo de polímeros que proporcionarán las características clínicas deseadas, entonces los polímeros pueden evaluarse para características deseables que optimicen el procedimiento de fabricación. Por ejemplo, en algunos casos, puede ser posible seleccionar un polímero que interactúe con el agente activo de una manera que facilite el procesamiento de las micropartículas, aumente la carga del fármaco, mejore la eliminación del disolvente de la fase dispersa o impida la migración del fármaco desde la fase dispersa a la fase continua.

Ejemplos de polímeros adecuados son homopolímeros de ácido láctico o copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico, o polímeros de poli (láctido-co-glicólido) "PLGA". La relación de restos de ácido láctico a restos de ácido glicólico puede variar, y normalmente variará de 25:75 a 85:15, aunque incluso podría encontrar uso un 10 % de glicólido ya que el alto contenido de láctido da como resultado una menor viscosidad y una mayor solubilidad. Los copolímeros preferidos comprenden al menos aproximadamente el 50 % de restos de ácido láctico, tales como polímeros 50:50, 75:25 o 85:15. Los copolímeros de poli (láctido-co-glicólido) están disponibles en el mercado a partir de varias fuentes y se pueden preparar fácilmente por rutas sintéticas convencionales. Boeringer Ingelheim produce polímeros adecuados bajo las designaciones R202H, RG 502, RG 502H, RG 503, RG 503H, RG 752, RG 752H, RG 756 y otros. Se pueden usar micropartículas de LH-RH con R202H, RG752H, o RG503H en la fase dispersa de una realización. La selección de un polímero adecuado para un sistema dado sería evidente para los expertos en la técnica a la vista de esta descripción.

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

Al seleccionar un polímero particular, también se debe considerar el efecto de la hidrofobicidad/hidrofiliidad del polímero sobre el disolvente residual en el sistema. Se puede esperar que un polímero hidrófilo produzca un disolvente residual bajo con un fármaco hidrófilo, tal como un péptido hidrófilo. En el caso de las micropartículas de leuprolida, el fármaco tiene una tendencia a ayudar a eliminar el disolvente hidrófobo de las gotitas de fase dispersa de forma rápida y eficiente. Además, se ha observado que una mayor carga de fármaco tiende a correlacionarse con menores concentraciones de disolvente residual. Por lo tanto, en algunos sistemas, existe un beneficio indirecto con un disolvente residual inferior cuando se incorporan fármacos hidrófilos en polímeros hidrófilos. Sin embargo, dado que hay otros factores que influyen en el disolvente residual además de la hidrofiliidad, este efecto puede no aplicarse uniformemente a fármacos no peptídicos. Sin embargo, se desprende que los agentes activos que mejoran la eliminación del disolvente de la gota de fase dispersa, sin pérdida concomitante de fármacos, producen productos superiores.

Otra consideración es el peso molecular del polímero. Si bien el peso molecular de los polímeros obviamente impactará en las características del producto tales como la velocidad de liberación, el perfil de liberación y similares, también puede afectar al procedimiento de producción de las micropartículas. Los polímeros de mayor peso molecular normalmente se asocian con una fase dispersa más viscosa, dando como resultado partículas más grandes o mayores dificultades para obtener partículas pequeñas y, en algunos casos, disolvente residual incrementado. Por el contrario, los polímeros de peso molecular más bajo normalmente están asociados con una solidificación más lenta porque el polímero tiende a ser más soluble. En el sistema preferido, se ha encontrado que un mayor disolvente residual, una mayor carga de fármaco y una mayor eficacia de incorporación resultan del uso de polímeros de mayor peso molecular. Una ventaja del procedimiento de la invención es su capacidad para formar micropartículas de disolvente residual buenas, pequeñas y bajas con polímeros de alto peso molecular y, por lo tanto, fases dispersas viscosas. Naturalmente, la selección particular también dependerá de las características deseadas del producto. Por ejemplo, cuanto mayor es el peso molecular, mayor es el tiempo de degradación en el cuerpo y mayor es la duración de la liberación del fármaco.

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

Los disolventes para el polímero se seleccionarán apropiadamente dependiendo de una serie de factores, que incluyen la naturaleza del polímero, el agente activo, la toxicidad, la compatibilidad con otros disolventes en el sistema e incluso el uso que se dará a la micropartícula. Por lo tanto, además de disolver el polímero, el disolvente debe ser inmiscible con la fase continua para formar gotas, altamente volátiles para una eficacia de evaporación óptima, y deseablemente no inflamable por razones de seguridad. Los disolventes adecuados para los polímeros poli (lácticos) o poli (láctido-co-glicólidos) preferidos incluyen cloruro de metileno, cloroformo, acetato de etilo, pirrolidona sustituida y similares. En algunos casos, el disolvente para el agente activo será el mismo que el disolvente para el polímero. Algunos fármacos, normalmente agentes de diagnóstico tales como sales inorgánicas radioactivas usadas en el análisis de imágenes, no son solubles o solo son ligeramente solubles en disolventes orgánicos. En estos casos, se puede suspender directamente un polvo fino de tamaño submicrométrico en la solución de polímero para formar micropartículas. Aunque recurrir a esto será raro en la administración de fármacos, puede resultar útil con los agentes de diagnóstico. La selección de otros disolventes útiles de acuerdo con el procedimiento de la invención estará dentro de la experiencia en la técnica a la vista de la presente descripción.

En esta realización, las micropartículas de poli (láctido) o poli (láctido-co-glicólido) que contienen leuprolida se pueden preparar disolviendo el agente activo de leuprolida en el polímero R202H con cloruro de metileno, metanol y ácido acético glacial para formar la fase dispersa 12. La fase dispersa puede ser una solución verdadera y homogénea. Como alternativa, se pueden preparar soluciones separadas de polímero y agente activo, cada una en su propio disolvente, y posteriormente mezclarse para formar la fase dispersa 12. En algunos casos, debido a la naturaleza del agente activo y/o polímero, la fase dispersa 12 debe formarse como una emulsión. Por ejemplo, cuando un fármaco proteico dado se disuelve en un disolvente de agente activo adecuado, la solución resultante puede ser completamente inmiscible con una solución del polímero en un disolvente polimérico particular. Con el fin

de proporcionar una fase dispersa 12 relativamente homogénea en la que el fármaco y el polímero están intercalados de forma relativamente uniforme, el fármaco y el disolvente del fármaco se pueden emulsionar con el polímero y el disolvente del polímero para formar una emulsión de fase dispersa. Tras la introducción de la fase dispersa 12 en la fase continua 14, se puede formar una emulsión de agua-aceite-agua, o w/o/w. En otros sistemas más, la fase dispersa 12 se puede preparar formando una suspensión directa del agente activo en una solución de polímero.

De acuerdo con el procedimiento de la invención descrito a continuación, la fase dispersa 12 puede mezclarse con la fase continua 14 para formar una dispersión de micropartículas que tiene gotitas o inclusiones de la fase dispersa 12 dispersas dentro de la fase continua 14. Como se usa en el presente documento, el término disperso se entiende en su sentido más amplio como regiones discretas de fase dispersa intercaladas dentro de la fase continua. Las inclusiones notadas normalmente aparecerán como gotitas en general esféricas, pero en algunos casos pueden ser inclusiones irregulares debido a condiciones particulares de emulsificación. Se puede usar cualquier medio adecuado en el que la fase dispersa 12 forme gotitas o inclusiones como fase continua 14, siendo especialmente deseables aquellos que proporcionen un sumidero de disolvente máximo para el disolvente de la fase dispersa 12.

Con frecuencia, la fase continua 14 también contendrá tensioactivo, estabilizantes, sales u otros aditivos que modifiquen o efectúen el procedimiento de emulsificación. Los tensioactivos típicos incluyen dodecilsulfato sódico, diocilsulfato succinato sódico, span, polisorbato 80, tween 80, plurónicos y similares. Los estabilizantes particulares incluyen talco, PVA e hidróxido de magnesio coloidal. Los potenciadores de la viscosidad incluyen poliacrilamida, carboximetilcelulosa, hidroximetilcelulosa, metilcelulosa y similares. Las sales tamponantes se pueden usar como estabilizantes de fármacos e incluso se puede usar sal común para ayudar a prevenir la migración del agente activo a la fase continua 14. Un problema asociado con la saturación de sal de la fase continua 14 es que el PVA y otros estabilizantes pueden tener tendencia a precipitar como sólidos de la fase continua. En tales casos, se puede usar un estabilizante de partículas. Las sales adecuadas, tales como cloruro de sodio, sulfato de sodio y similares, y otros aditivos serán evidentes para los expertos en la técnica a la vista de la presente descripción.

En una realización, la fase continua 14 incluye desde el 100 hasta el 50 % de agua. La fase continua acuosa 14 puede incluir un estabilizante. Un estabilizante preferido es poli (alcohol vinílico) (PVA) en una cantidad de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 5,0 %. Más específicamente, el PVA puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 0,35 %. Otros estabilizantes adecuados para usar en la fase continua 14 serán evidentes para los expertos en la técnica a la vista de la presente descripción.

La selección de polímeros, disolventes y fases continuas particulares variará, naturalmente, dependiendo del agente activo y las características deseadas del producto. Una vez que se establecen las características deseadas del producto, tales como la aplicación clínica, el perfil de liberación y similares, puede haber cierta flexibilidad en la selección de polímeros, disolventes y fases continuas para facilitar el procedimiento de producción.

Una vez que la fase dispersa 12 y la fase continua 14 se combinan, las micropartículas recién formadas pueden transferirse continuamente desde el mezclador 16 a un primer recipiente 20. Las micropartículas en general son suficientemente sólidas y filtrables, de forma que son adecuadas para el procesamiento continuo de micropartículas utilizando un filtro de fibra hueca, como se describe en las Patentes de los Estados Unidos 6,270,802 y 6,361,798. Este procedimiento se distingue de un procedimiento general de formación de micropartículas en el que la mezcla de la fase dispersa y la fase continua no forma micropartículas discretas rápidamente. Por ejemplo, la combinación de la fase dispersa y la fase continua puede dar como resultado únicamente la formación de una emulsión que contiene microesferas blandas. Se pueden requerir etapas de procesamiento adicionales para endurecerlos lo suficiente. (Jeyanthi R, Thanoo BC, Metha RC, DeLuca PP, Effect of solvent removal technique on the matrix characteristics of polylactide/glycolide microspheres for peptide delivery. J of Controlled Release. 1996; 38: 235-244).

A diferencia de un procedimiento en el que las micropartículas requieren procedimientos de formación adicionales, las micropartículas formadas en esta realización se solidifican en aproximadamente 20 segundos, más preferentemente en menos de aproximadamente 10 segundos, y aún más preferentemente en menos de aproximadamente 5 segundos. En una realización de polímero de leuprolida, las micropartículas se solidifican en menos de aproximadamente 3 segundos. Se observa que en la presente realización, incluso aunque la solidificación de micropartículas sea virtualmente instantánea tras la adición a la fase continua, las micropartículas formadas son, sin embargo, susceptibles de ceder disolvente residual adicional a la fase continua.

La carga de fármaco, en el caso de las micropartículas de leuprolida/polímero preferidas, está dirigida alrededor del 12 % en el intervalo del 10 al 21 % basado en el sólido total. En la práctica, se pueden obtener cargas de fármacos del orden de aproximadamente el 9 al 17 % aproximadamente. Naturalmente, la naturaleza del fármaco, el perfil de liberación deseado, la naturaleza del polímero y, por supuesto, el procesamiento pueden afectar a la carga deseada y real del fármaco. En el caso típico, se desean cargas de fármaco del orden del 5 % al 20 % basado en el peso combinado de fármaco y polímero y pueden conseguirse con el procedimiento de la invención. La eficiencia de encapsulación típica es de aproximadamente el 75 %.

Ventajosamente, una vez que se obtiene la carga de fármaco deseada, y se determinan los parámetros de velocidad de alimentación, temperatura, etc., el aumento de escala a lotes más grandes, incluidos lotes de nivel de producción,

se convierte en una simple cuestión de realizar el procedimiento durante más tiempo. No se necesitan tubos de alimentación, emulsionantes, impulsores adicionales o similares para producir un mayor número de micropartículas que tengan las características deseadas. Además, las micropartículas producidas durante el procedimiento continuo de la invención son excepcionalmente uniformes en términos de distribución de tamaño, carga de agente y similares, independientemente de cuándo se produjeron durante el procedimiento.

En una realización, se ha encontrado que el procedimiento general de formación de micropartículas, como se ha descrito anteriormente, puede alterarse para cambiar las propiedades o los perfiles de liberación de los lotes de micropartículas variando la exposición del disolvente de las micropartículas. Se pueden conseguir niveles más bajos de exposición al disolvente después de la formación mediante la adición de una composición de dilución 18 a las micropartículas recién formadas. La composición de dilución 18 puede ser agua o una solución de poli (alcohol vinílico). Sorprendentemente se ha encontrado que la adición de una cantidad medida de la composición de dilución 18 después de que se formen las micropartículas altera la velocidad de liberación de las micropartículas recién formadas.

Como se muestra en la Figura 1, después de que las micropartículas se formen y se dispersen dentro de la fase continua, se puede añadir una composición de dilución 18. La composición de dilución, como se muestra en la Figura 1 en 18a, se puede añadir a la dispersión de micropartículas cuando se transfiere a un primer recipiente 20. La adición de la composición de dilución a la dispersión de micropartículas cuando se transfiere a un primer recipiente 20 puede permitir que la dispersión de micropartículas y la composición de dilución se mezclen a fondo antes de que llegue al recipiente 20 y se filtra usando un filtro de fibra hueca 22.

Como alternativa, como se muestra en 18b, la composición de dilución 18 puede transferirse al recipiente 20 antes de la dispersión de micropartículas o al mismo tiempo que la dispersión. Una vez en el primer recipiente, la mezcla de micropartículas y la composición de dilución se puede agitar continuamente.

La cantidad de composición de dilución 18 añadida a la dispersión de micropartículas debería ser suficiente para ajustar el perfil de liberación de la formulación final para inyección en mamíferos. La composición de dilución 18 no debería cambiar adversa o drásticamente la solubilidad del agente activo encapsulado en las micropartículas, el tamaño de partícula de las micropartículas o la eficacia de encapsulación del agente activo en cada uno de los lotes. Se calcula un nivel de exposición de disolvente predeterminado, que se correlaciona con una cantidad predeterminada de composición de dilución 18 a añadir, para una velocidad de liberación deseada. La velocidad de liberación específica se obtiene a continuación mediante la adición de la composición de dilución 18.

En una realización, para obtener micropartículas de leuprolida con el perfil de liberación deseado, se añade la composición de dilución 18 hasta que la concentración establecida de disolvente en la fase continua es inferior a 5000 ppm. Al añadir una composición de dilución 18 en una cantidad y tiempo definidos, el perfil de liberación se puede ajustar como parte de un procedimiento continuo de una manera predecible y controlable.

La cantidad de composición de dilución añadida a las micropartículas formadas puede ser al menos aproximadamente el 50 % del volumen original de la fase continua 14. En una realización, la menor exposición al disolvente en la solución acuosa puede aumentar la velocidad de liberación de las micropartículas formadas de leuprolida. Sin embargo, controlar la velocidad de liberación para diferentes agentes activos puede requerir diferentes etapas para lograr el perfil de liberación deseado. El procedimiento es fácilmente adaptable para acomodar el uso de diferentes agentes activos con diferentes perfiles de liberación.

Como la dispersión de micropartículas del mezclador 16 y la composición de dilución 18 se combinan en el primer recipiente 20, la mezcla de micropartículas/composición de dilución se filtra a través de un filtro de fibra hueca 22. Las micropartículas se devuelven al primer recipiente 20 mientras el material de desecho se desecha en un recipiente separado a través de la línea 22a. A medida que las micropartículas se devuelven al recipiente 20, se mezclan continuamente con una nueva mezcla de micropartículas/composición de dilución y se recirculan a través del filtro.

Las micropartículas después de haber sido procesadas con la composición y el tiempo necesarios para alcanzar la velocidad de liberación deseada a continuación pueden filtrarse para eliminar cualquier solución acuosa remanente y lavarse con agua para eliminar los subproductos del procedimiento. Una vez que se han formado las micropartículas, será fácilmente evidente para un experto en la técnica que hay muchos ajustes finales que pueden realizarse para preparar las micropartículas para un recipiente de llenado para prepararlas para la administración del paciente.

El procedimiento de acuerdo con la invención se ejemplificará ahora mediante los siguientes ejemplos no limitantes, con referencia a los dibujos adjuntos.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a los expertos en la técnica una descripción detallada de cómo se llevan a cabo y evalúan los procedimientos reivindicados en la presente memoria, y no están destinados a limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención. A menos que se indique lo contrario, las

partes son en peso y la temperatura está en °C.

Los pesos moleculares se presentan como peso molecular promedio en peso (Mw) o peso molecular promedio en número (Mn) y se determinaron mediante cromatografía de permeación en gel usando (GPC) usando patrones de pesos moleculares de poliestireno (PS). El Ejemplo 1 proporciona una ilustración general de una realización del procedimiento. Poli (d,l-láctido), R202H está disponible en el mercado en Beohringer Ingelheim.

Ejemplo 1

Las micropartículas de acetato de leuprolida se prepararon como se describe en la Tabla 1 a continuación. Las micropartículas se formaron mezclando una fase dispersa y una fase continua para formar aproximadamente 7 l de una dispersión de micropartículas. En general, la fase dispersa puede ser una solución de acetato de leuprolida (LA), poli (d,l-láctido) (R202H) y disolventes cloruro de metileno (DCM), metanol (MeOH) y ácido acético glacial (Ácido A.), de acuerdo con los parámetros descritos en la Tabla 1. R202H proporcionará una liberación sostenida de leuprolida durante 3 a 4 meses en base a estudios in vivo en animales de sangre caliente y seres humanos. La fase continua se puede preparar usando una solución de alcohol polivinílico de 0,0035 g/g.

La fase continua y la fase dispersa se añadieron simultáneamente a un mezclador Silverson en línea a un caudal de 2 l/min y 38 g/minuto, respectivamente. La velocidad de mezcla en el mezclador fue de 7000 rpm y la duración de la formación de micropartículas fue de 3,5 minutos. Esta dispersión de micropartículas se suministró continuamente en un recipiente que contenía aproximadamente 40 l de una fase de dilución.

La fase de dilución también puede contener una solución acuosa de alcohol polivinílico de 0,0035 g/g, sin embargo la fase de dilución se enriquece con disolventes como se muestra en la Tabla 1. La cantidad de cloruro de metileno en la fase de dilución se varió en cada lote, específicamente de aproximadamente 5000 ppm para el lote de micropartículas GG090303 a aproximadamente 8500 ppm para el lote de micropartículas GG091003. La duración correspondiente para la exposición del disolvente en el recipiente del reactor con la fase de dilución enriquecida con disolvente fue constante a los 100 minutos para los cuatro lotes de micropartículas.

Después de la exposición del disolvente, las micropartículas suspendidas en la fase de dilución se transfirieron a un recipiente de eliminación de disolvente (SRV). Todos los lotes de micropartículas se lavaron usando lavado con agua a temperatura ambiente, con dos cambios de volumen, durante 40 minutos y un barrido de aire de 80 SLPM; un lavado con agua caliente (39 °C), con 5 cambios de volumen, durante 100 minutos con un barrido de aire de 80 SLPM; y se enfriaron, con un intercambio de volumen de 1,5, durante 30 minutos con un barrido de aire a 80 SLPM. El barrido de aire se introdujo para ayudar a la eliminación del disolvente del espacio superior durante el procedimiento de lavado. Las micropartículas se filtraron en una membrana filtrante y se liofilizaron bajo vacío.

La Tabla 1 incluye tanto la concentración del agente activo, el polímero y los disolventes utilizados para preparar la fase dispersa, como la concentración y las cantidades reales de cada disolvente utilizado para la preparación de la fase de dilución.

Tabla 1

Lote	GG090303	GC040104	GC040504	GG091003
LA _{DP} , conc., g/g	0,0542	0,0548	0,0546	0,0542
LA _B , peso, g	8,5636	8,66	8,6277	8,56
R202H _{DP} , conc., g/g	0,2483	0,2482	0,2488	0,2484
R202H _{DP} , peso, g	39,2	39,26	39,31	39,20
DCM _{DP} , conc., g/g	0,5277	0,5282	0,5274	0,5278
DCM _{DP} , peso, g	83,3	83,54	83,35	83,30
MeOH _{DP} , conc., g/g	0,1656	0,1651	0,1653	0,1655
MeOH _{DP} , peso, g	26,1484	26,11	26,1282	26,12
Ácido A. _{DP} conc., g/g	0,0041	0,0037	0,0039	0,0040
Ácido A. _{DP} , peso, g	0,6467	0,59	0,6153	0,63
PVA _{CP} , conc., g/g	0,0035	0,0035	0,0035	0,0035
PVA _{Dil.P} , conc., g/g	0,0035	0,0035	0,0035	0,0035
PVA _{Dil.P} , peso, g	140	140	140	140
DCM _{Dil.P} conc., ppm	5000	6038	7008	8495
DCM _{Dil.P} , peso, g	200	241,5	280,3	340
MeOH _{Dil.P} conc., ppm	1575	1928	2200	2675
MeOH _{Dil.P} , peso, g	63	77,1	88,0	107

(continuación)

Lote	GG090303	GC040104	GC040504	GG091003
Ácido A. Dil.P conc. ppm	38	47	55	67
Ácido A. Dil.P, peso, g	1,5	1,88	2,20	2,60

5 La Tabla 2 detalla las propiedades de las micropartículas, incluido el tamaño de partícula, la liberación del fármaco en condiciones de liberación acelerada y la liberación del fármaco bajo condiciones fisiológicas formadas siguiendo los parámetros de preparación en la Tabla 1. La carga de fármaco en la micropartícula se delinea como un porcentaje del fármaco activo en la micropartícula. Esto se determinó disolviendo la micropartícula en disolvente (por ejemplo, dimetilsulfóxido) y añadiendo tampón de fosfato a la solución de micropartículas. La solución filtrada se analiza luego por HPLC frente a patrones de calibración.

10 La distribución del tamaño de partícula (Dist. tam. part.) se determinó para la suspensión de micropartículas en agua que contiene tensioactivo o diluyentes. Esto se determinó por dispersión de luz láser. La distribución del tamaño de partícula se informa por distribución de volumen (CVF).

15 Los cálculos de la velocidad de liberación del fármaco se realizaron en una solución tampón de fosfato (PBS) para determinar la velocidad de liberación de leuprolida en condiciones fisiológicas (D. R. (Phys.)). Las micropartículas formuladas como en la Tabla 1 se suspendieron en PBS en un tubo de vidrio con tapón de rosca a una temperatura de 37 °C. Al menos el 80 % de los medios de liberación se reemplazaron por medios frescos en los puntos de muestra. Los medios liberados se analizaron por HPLC para la concentración del fármaco y se calcularon para la liberación porcentual.

20 La condición de liberación puede manipularse apropiadamente para acelerar la velocidad de liberación que se logró in vivo o mediante la liberación en PBS. Para micropartículas de leuprolida, el medio de liberación utilizado fue tampón de fosfato de citrato 0,1 M y la temperatura fue de 55 °C. La liberación se realizó en un lote de agua en agitación, agitando a 170 revoluciones por minuto. La muestra se analizó en cada punto de tiempo para el fármaco liberado para encontrar la velocidad de liberación en condiciones aceleradas (D.R. (Acc.)).

Tabla 2

Lote	GG090303	GC040104	GC040504	GG091003
Carga de fármaco, %	13,71 ± 0,18	13,93 ± 0,14	13,17 ± 0,18	10,37 ± 0,26
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	4,4	3,06	3,16	5,9
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	14,1	9,93	10,7	16,1
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	26,3	26,9	26,2	28,1
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	38,2	40,4	40,3	39,2
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	48,2	51,6	51,1	48,7
D. R. (Phys.), 1 día	0,90 ± 0,03	0,63 ± 0,01	0,25 ± 0,00	0,48 ± 0,01
D. R. (Phys.), 7 días	1,79 ± 0,18	0,88 ± 0,04	0,32 ± 0,01	0,70 ± 0,04
D. R. (Phys.), 14 días	4,30 ± 0,17	2,26 ± 0,12	0,95 ± 0,01	1,13 ± 0,06
D. R. (Phys.), 21 días	9,01 ± 0,27	5,09 ± 0,23	2,64 ± 0,04	1,98 ± 0,08
D. R. (Phys.), 28 días	24,98 ± 0,47	15,79 ± 0,59	13,13 ± 0,38	10,08 ± 1,42
D. R. (Phys.), 35 días	41,47 ± 0,26	30,57 ± 0,89	30,50 ± 0,60	20,40 ± 2,60
D. R. (Phys.), 42 días	50,76 ± 2,29	44,01 ± 0,82	43,60 ± 0,71	29,52 ± 2,57
D. R. (Phys.), 49 días	55,61 ± 3,68	51,14 ± 1,19	49,50 ± 1,12	35,37 ± 2,03
D. R. (Phys.), 56 días	57,24 ± 5,14	55,16 ± 1,17	52,38 ± 1,72	39,08 ± 1,84
D. R. (Phys.), 63 días	59,43 ± 5,54	57,90 ± 1,30	54,66 ± 1,97	42,00 ± 1,76
D. R. (Acc.), 1 hora	20,4 ± 0,3	18,3 ± 0,9	12,6 ± 1,4	1,3 ± 0,2
D. R. (Acc.), 5 horas	39,7 ± 0,4	37,3 ± 0,2	30,8 ± 0,5	8,7 ± 0,7
D. R. (Acc.), 25 horas	60,0 ± 0,6	59,6 ± 0,4	54,1 ± 0,2	33,6 ± 0,8

(continuación)

Lote	GG090303	GC040104	GC040504	GG091003
D. R. (Acc.), 48 horas	73,2 ± 0,5	74,6 ± 0,3	70,4 ± 0,5	55,9 ± 0,6
D. R. (Acc.), 72 horas	81,9 ± 0,6	83,6 ± 0,6	80,9 ± 0,7	72,6 ± 1,0
D. R. (Acc.), 96 horas	88,2 ± 0,7	90,4 ± 0,7	88,1 ± 0,0	83,2 ± 0,7

5 Se observaron una distribución del tamaño de partícula y una carga de fármaco similares en las micropartículas formadas de acuerdo con las etapas de preparación descritas anteriormente y en la Tabla 1. Sin embargo, el lote de micropartículas expuesto al nivel de exposición más alto de disolvente de cloruro de metileno mostró una carga de fármaco ligeramente reducida.

10 Los lotes de micropartículas preparados con acetato de leuprolida expuestos a concentraciones más altas de disolvente mostraron velocidades de liberación reducidas. Por lo tanto, para aumentar la velocidad de liberación de micropartículas que contienen leuprolida, es deseable disminuir la exposición del disolvente a las micropartículas una vez formadas.

Ejemplo 2

15 Se prepararon micropartículas de acetato de leuprolida como se describe en la Tabla 3 a continuación. La fase dispersa de los lotes de micropartículas se preparó usando una composición consistente de acetato de leuprolida (LA), cloruro de metileno, metanol y ácido acético glacial. Se prepararon dos lotes de micropartículas, 0C3542 y 0H8340, que tenían de 0,7 kg a 0,4 kg, respectivamente, de micropartículas sólidas en la suspensión utilizando un lote de polímero de R202H con un peso molecular de 14 kDa. Se prepararon tres lotes de micropartículas, 0D4022, 0E5103 y 0S1723, que tenían 0,1 kg, 0,4 kg y 0,4 kg, respectivamente, de micropartículas sólidas en la suspensión usando un lote de polímero de R202H con un peso molecular de 18 kDa. Cada lote se preparó usando formulaciones similares de fase continua y parámetros de preparación similares. Sin embargo, los tiempos de formación de micropartículas se variaron modificando el tamaño del lote, es decir, 0,7 kg frente a 0,4 kg de micropartículas en suspensión, y el tiempo en que los respectivos lotes de suspensión se expusieron al disolvente que contenía la fase continua variando la velocidad de flujo del fase dispersa en el recipiente del reactor.

25 Específicamente, las micropartículas se formaron mediante un procedimiento de aceite en agua añadiendo las fases dispersas respectivas a una fase continua de una solución de alcohol polivinílico al 0,35 % en agua. La velocidad de mezcla del mezclador Silverson en línea fue de 7000 rpm. Tras la formación de micropartículas, la concentración de disolventes en la fase continua de la dispersión fue de aproximadamente 7200 ppm de cloruro de metileno y 1600 ppm de metanol.

30 Después de formarse en el mezclador en línea, los lotes de micropartículas se transfirieron continuamente a un recipiente de eliminación de disolvente. El tiempo de formación de micropartículas fue de aproximadamente 40 minutos para los lotes de 0,4 kg mientras que el tiempo de formación de micropartículas fue de aproximadamente 70 minutos para lotes de 0,7 kg. Después de 20 minutos de formación de micropartículas, combinando la fase dispersa a la fase continua a velocidades de flujo establecidas, el recipiente de eliminación de disolvente alcanzó el volumen de suspensión de 40 l. La suspensión en el recipiente de eliminación de disolvente se recirculó entonces a través de un filtro de membrana de fibra hueca (sistema cerrado) y el permeado se eliminó a la misma velocidad de alimentación de suspensión (2 l/min) al recipiente de eliminación de disolvente. Por lo tanto, el nivel de disolvente en la fase continua permaneció constante durante 40 minutos para un lote de 0,4 kg y 70 minutos para un lote de 0,7 kg.

40 Los lotes de micropartículas se lavaron usando lavado con agua a temperatura ambiente con dos cambios de volumen durante 40 minutos y un barrido de aire de 80 SLPM, un lavado con agua caliente (39 °C) con 5 cambios de volumen durante 100 minutos con un barrido de aire de 80 SLPM y se enfriaron a un intercambio de volumen de 1,5 de 30 minutos con un barrido de aire a 80 SLPM. El barrido de aire se introdujo para ayudar a la eliminación del disolvente del espacio superior durante el procedimiento de lavado.

Tabla 3

Lote	0C3542	0H8340	0D4022	0E5103
Viscosidad intrínseca del polímero (IV), dl/g	0,18		0,21	
R202H Mw, kDa	14	14	18	18
Tamaño del lote, Kg	0,7	0,4	0,7	0,4
LA _{DP} , conc., g/g	0,051	0,51	0,052	0,051
LA _{DP} , peso, g	121,4	81,57	122,5	71,5

(continuación)

Lote	0C3542	0H8340	0D4022	0E5103
R202H _{DP} , conc., g/g	0,249	0,249	0,249	0,250
R202H _{DP} , peso, g	588,1	400,9	588,1	352,8
DCM _{DP} , conc., g/g	0,529	0,530	0,530	0,532
DCM _{DP} , peso, g	1250	851,9	1250,5	749,7
MeOH _{DP} , conc., g/g	0,249	0,249	0,165	0,167
MeOH _{DP} , peso, g	392,7	267,73	390,4	235,8
Ácido A. _{DP} , conc., g/g	0,004	0,004	0,004	0,004
Ácido A. _{DP} , peso, g	9,90	6,7	10,0	5,98
Caudal DP, g/min	34 ± 4	34 ± 4	34 ± 4	34 ±

Las propiedades de micropartículas de los lotes formados en la Tabla 3 se muestran a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4

Lote	0C3542	0H8340	0D4022	0E5103	0S1723
R202 Mw, kDa	14	14	18	18	18
Duración de la exposición al disolvente, min	70	40	70	40	40
Carga de fármaco, %	11,0	13,4	12,0	13,9	14,5
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	4	3	3	3	3
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	10	12	11	11	12
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	23	25	25	26	28
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	34	36	36	39	41
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	42	45	45	50	51
D. R. (Phys.), 1 día	0,4	0,2	0,3	0,3	0,3
D. R. (Phys.), 7 días	0,6	1,8	0,5	0,7	0,9
D. R. (Phys.), 14 días	2,1	4,9	0,9	2,5	3,0
D. R. (Phys.), 21 días	6,2	19,2	1,6	4,2	4,8
D. R. (Phys.), 28 días	14,7	32,4	9,3	17,2	14,6
D. R. (Acc.), 1 hora	3,0 ± 0,3	14,9 ± 0,6	7,7 ± 0,5	15,6 ± 0,8	18,4 ± 0,9
D. R. (Acc.), 5 horas	20,6 ± 0,1	36,0 ± 0,3	24,3 ± 0,2	36,2 ± 0,5	38,8 ± 0,7
D. R. (Acc.), 25 horas	52,2 ± 1,1	61,2 ± 0,8	48,1 ± 0,0	58,6 ± 0,6	59,2 ± 0,3
D. R. (Acc.), 48 horas	71,4 ± 1,2	75,1 ± 0,5	66,2 ± 0,0	72,5 ± 0,7	72,2 ± 0,2
D. R. (Acc.), 72 horas	82,3 ± 1,5	83,3 ± 0,9	78,3 ± 0,2	81,0 ± 0,6	80,0 ± 0,7
D. R. (Acc.), 96 horas	87,9 ± 1,8	88,6 ± 1,1	85,3 ± 0,3	86,4 ± 0,6	85,2 ± 0,7

5

El tamaño de partícula es comparable para los lotes. Las propiedades de liberación del fármaco se probaron en condiciones fisiológicas y aceleradas, como se ha descrito anteriormente con respecto al Ejemplo 1. Los resultados mostraron una liberación inicial reducida para las micropartículas OC3542 y OD4022 que tenían una mayor duración de exposición al disolvente, es decir, aumentaban la exposición del disolvente. Las micropartículas producidas a partir del lote OC3542, producidas a partir de un polímero de bajo peso molecular ($M_w = 14$ kDa), tuvieron la velocidad de liberación más baja en la mayoría de los intervalos de tiempo en condiciones de prueba tanto fisiológicas como aceleradas. Por lo tanto, con una alta exposición al disolvente, cuanto menor es el peso molecular del polímero, menor es la velocidad de liberación inicial de leuprolida.

10

Las micropartículas preparadas como en las Tablas 3 y 4 se inyectaron como una suspensión a 9 mg de acetato de leuprolida por kg de peso de ratas. La Figura 2 compara la leuprolida sérica en ratas que recibieron dosis similares

15

- de Lote 0H8340 (40 minutos de exposición al disolvente, 14 kDa) y Lote 0C3542 (70 minutos de exposición al disolvente, 14 kDa). Aunque ambos materiales se prepararon con polímero que tenía un peso molecular de 14 kDa, se preparó 0C3542 en un tamaño de lote de 0,7 kg con 70 minutos de exposición al disolvente, mientras que el 0H8340 se preparó a partir de un tamaño de lote de 0,4 kg y 40 minutos de exposición al disolvente. Este estudio muestra que 0C3542 produjo un menor nivel de fármaco en suero inicialmente debido a una liberación temprana más lenta del fármaco a partir de las micropartículas. La segunda fase de la liberación después de aproximadamente tres semanas produjo niveles de fármaco comparables. Esto confirma la menor liberación inicial de las micropartículas del lote 0C3542 que se sometió a una exposición más prolongada al disolvente, con un tamaño de lote mayor.
- La Figura 3 compara la leuprolida sérica en ratas que recibieron dosis similares del lote 0D4022 (70 minutos de exposición al disolvente, 18 kDa) y 0E5103 (40 minutos de exposición al disolvente, 18 kDa). Aunque ambos materiales se prepararon con polímero que tenía un peso molecular de 18 kDa, se preparó 0D4022 en un tamaño de lote de 0,7 kg con 70 minutos de exposición al disolvente, mientras que 0E5103 se preparó a partir de un tamaño de lote de 0,4 kg y 40 minutos de exposición al disolvente. De nuevo, el lote con la mayor duración de exposición al disolvente, 0D4022, produjo niveles de fármaco inicialmente inferiores en suero, lo que confirma la liberación más lenta durante la etapa temprana de exposición.

Ejemplo 3

Las micropartículas de leuprolida se prepararon con un polímero que tenía una viscosidad intrínseca de 0,206 dl/g y un peso molecular de 18 kDa. Los lotes de micropartículas se prepararon usando un procedimiento de procesamiento continuo a una escala de 10 g. Los parámetros de preparación tales como composición de la fase dispersa, composición de la fase continua, velocidad de flujo de la fase dispersa, velocidad de flujo de la fase continua, y las rotaciones por minuto del mezclador se mantuvieron iguales para todos los lotes.

Específicamente, las micropartículas se formaron mediante un procedimiento de aceite en agua mezclando la fase dispersa y la fase continua respectivas. La fase continua estaba compuesta por una solución de alcohol polivinílico al 0,35 % en agua. La velocidad de mezcla del mezclador Silverson en línea fue de 7000 rpm.

La dispersión de micropartículas del mezclador se transfiere a un recipiente de eliminación de disolvente. En cada lote, se añadió una cantidad de una composición de dilución al recipiente de eliminación del disolvente. La composición de dilución en cada lote era agua. La composición de dilución se añadió al recipiente de eliminación de disolvente simultáneamente, mientras que la dispersión del mezclador en línea se suministró en el recipiente de eliminación de disolvente. Específicamente, se preparó el lote GC071304 sin una composición de dilución incrementada, se preparó el lote GC060404 con una composición de dilución equivalente al 50 % del volumen de la fase continua. El lote GC060404 se suministró desde el mezclador Silverson a una velocidad de aproximadamente 2 kg/min, la suspensión se diluyó con agua a temperatura ambiente (22 a 25 °C) con flujo simultáneo a aproximadamente 1 kg/min.

Para el lote GC060304, la composición de dilución añadida era equivalente a aproximadamente el 100 % del volumen de la fase continua, en la que el lote se suministraba desde el mezclador a una velocidad de 2 kg/min y la composición de dilución se añadía simultáneamente a razón de 2 kg/min. Para el lote GC061104, la composición de dilución se añadió a una velocidad de 4 kg/min, mientras que se usó el flujo de suspensión de 2 kg/min, dando como resultado un aumento de aproximadamente el 200 % en el volumen de la fase continua de la suspensión. La velocidad de mezclado fue constante a 7000 rpm para todos los ensayos.

Finalmente, los lotes de micropartículas se lavaron usando lavado con agua ambiental con dos cambios de volumen durante 40 minutos y un barrido de aire de 80 SLPM, un lavado con agua caliente (39 °C) con 5 cambios de volumen durante 100 minutos con un barrido de aire de 80 SLPM, y se enfriaron a un intercambio de volumen de 1,5 de 30 minutos con un barrido de aire a 80 SLPM. El barrido de aire se introdujo para ayudar a la eliminación del disolvente del espacio superior durante el procedimiento de lavado. Las micropartículas se filtraron en una membrana filtrante y se liofilizaron bajo vacío.

Tabla 5

Lote	GC071304	GC06404	GC060304	GC061104
Composición de dilución, % de volumen de fase continua	0	50	100	200
LA _{DP} , conc., g/g	0,0483	0,0485	0,0484	0,0485
LA _{DP} , peso, g	1,585	1,593	1,593	1,597
LA libre de DP, conc., g/g	0,0457	0,0459	0,0458	0,0459
R202H _{DP} , conc., g/g	0,170	0,170	0,170	0,170
R202H _{DP} , peso, g	7,06	7,09	7,05	7,05

(continuación)

Lote	GC071304	GC06404	GC060304	GC061104
DCM _{DP} , conc., g/g	0,245	0,246	0,244	0,244
DCM _{DP} , peso, g	15,01	15,0	15,07	15,10
MeOH _{DP} , conc., g/g	0,521	0,520	0,522	0,523
MeOH _{DP} , peso, g	4,904	4,899	4,904	4,909
Ácido A. _{DP} , conc., g/g	0,0086	0,0084	0,0086	0,0083
Ácido A. _{DP} , peso, g	0,248	0,242	0,249	
Caudal CP, g/min	2000	2000	2000	2000
Caudal DP, g/min	35,41	36,88	37,45	34,55
Mezclador, rpm	7000	7000	7000	7000

Las propiedades de la micropartícula preparada en la Tabla 5 se muestran en la Tabla 6 a continuación.

Tabla 6

Lote	GC071304	GC06404	GC060304	GC061104
Composición de dilución, % de volumen de fase continua	0	50	100	200
Carga de fármaco, %	14,04 ± 0,11	14,17 ± 0,35	13,92 ± 0,10	14,25 ± 0,12
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	3,58	3,44	3,51	4,55
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	12,3	11,6	10,9	14,2
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	27,0	26,4	24,6	29,2
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	38,8	38,2	37,2	40,7
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	47,6	46,8	48,8	49,9
D. R. (Phys.), 0,2 Día	0,66 ± 0,01		1,41 ± 0,03	1,69 ± 0,03
D. R. (Phys.), 1 días	1,09 ± 0,02		1,95 ± 0,04	2,80 ± 0,04
D. R. (Phys.), 3 días	1,48 ± 0,03		2,30 ± 0,04	3,48 ± 0,02
D. R. (Phys.), 7 días	3,41 ± 0,12		2,98 ± 0,05	5,62 ± 0,04
D. R. (Phys.), 10 horas	4,80 ± 0,12		3,63 ± 0,04	7,02 ± 0,11
D. R. (Phys.), 14 horas	7,79 ± 0,17		6,12 ± 0,15	11,66 ± 0,06
D. R. (Phys.), 17 horas	9,294 ± 0,16		7,80 ± 0,17	13,43 ± 0,04
D. R. (Phys.), 21 horas	12,64 ± 0,13		10,53 ± 0,23	16,93 ± 0,04
D. R. (Phys.), 24 horas	18,02 ± 0,26		15,29 ± 0,33	21,40 ± 0,19
D. R. (Phys.), 28 horas	24,12 ± 0,26		23,97 ± 0,94	28,56 ± 0,47
D. R. (Acc.), 1 hora	22,08 ± 1,94		23,10 ± 1,26	27,57 ± 0,78
D. R. (Acc.), 5 horas	41,56 ± 0,51		40,89 ± 0,36	43,28 ± 0,78
D. R. (Acc.), 24 horas	61,56 ± 0,04		61,65 ± 0,42	62,11 ± 1,30
D. R. (Acc.), 48 horas	74,96 ± 1,07		74,60 ± 0,61	74,86 ± 1,60
D. R. (Acc.), 72 horas	83,82 ± 1,24		83,36 ± 1,11	83,51 ± 1,75
D. R. (Acc.), 96 horas	89,83 ± 1,23		89,56 ± 1,27	89,61 ± 2,09

5

Las propiedades de liberación del fármaco se probaron en condiciones fisiológicas y aceleradas, como se ha descrito anteriormente con respecto al Ejemplo 1. La encapsulación del fármaco y las propiedades del tamaño de partícula de las micropartículas producidas a partir de las diferentes composiciones fueron comparables. La eficacia de encapsulación de la base libre de leuprolida varió del 80 al 82 %. Los resultados muestran que la encapsulación del fármaco es comparable para todos los lotes con composiciones de dilución que varían del 0 al 200 % de

10

adiciones de volumen incrementado a la porción de fase continua. El tamaño medio de partícula (50 % de distribución de volumen por debajo) varió de 25 a 29 μm y el 90 % de la distribución de volumen varió de 47 a 50 μm . En general, la encapsulación del fármaco y la distribución del tamaño de partícula son similares entre los lotes.

- 5 La velocidad de liberación del fármaco medida en condiciones fisiológicas se midió como indicador de la velocidad de liberación del fármaco en tiempo real (a largo plazo). Los resultados mostraron velocidades de liberación más rápidas a medida que las composiciones de dilución aumentaban, y la fase continua se diluía adicionalmente. Las condiciones de la prueba de velocidad de liberación acelerada también mostraron velocidades de liberación iniciales ligeramente más altas a medida que las composiciones de dilución en la fase continua aumentaban. Por ejemplo, el lote GC061104, con la mayor cantidad de composición de dilución y la menor concentración de disolvente en la porción de fase continua, mostró la liberación más rápida en ambas condiciones de liberación en todos los intervalos de tiempo. El lote GC071304 no tuvo un aumento en la composición de dilución. Como muestra con la concentración de disolvente más alta, esta muestra tuvo las velocidades de liberación más bajas en condiciones fisiológicas para intervalos de tiempo de 3 días o menos. Por lo tanto, la disminución de la exposición del disolvente después de que se formen las micropartículas aumenta la velocidad de liberación de leuprolida a partir de las micropartículas.
- 10
- 15 La Figura 4 es una representación gráfica de las propiedades de liberación de micropartículas de leuprolida en una solución tampón de fosfato a 37 °C, que incluye los lotes GC071304, GC060304 y GC061104 tal como se preparan y se describen en las Tablas 5 y 6. La Figura 4 muestra tres curvas en forma de S que representan el porcentaje de leuprolida liberado a 37 °C en PBS cuando los lotes se preparan con diferentes niveles de composición de dilución. Aunque hay una separación estrecha entre las tres curvas, la Figura 4 muestra que el lote de micropartículas GC061104, que corresponde a la adición de la composición de dilución más alta del 200 %, tenía la velocidad de liberación de leuprolida más alta, particularmente en los primeros puntos de tiempo.
- 20

La Figura 6 es una representación gráfica de las propiedades de liberación de micropartículas de acetato de leuprolida en condiciones de liberación acelerada en una solución tampón de fosfato y citrato a 55 °C, incluidos los lotes GC071304, GC060304 y GC061104, preparados y descritos en las Tablas 5 y 6. Los lotes de micropartículas se representan para mostrar la velocidad de liberación de leuprolida de acuerdo con las condiciones de la prueba de liberación acelerada y registrada contra los intervalos de tiempo por hora. Para los primeros puntos de datos (1 hora y 5 horas), se observó que el lote de micropartículas GC061104 tenía una liberación ligeramente superior.

25

Ejemplo 4

30 Se prepararon lotes de micropartículas usando leuprolida y R202H con una viscosidad intrínseca de 0,157 dl/g y un peso molecular de 11,5 kDa. Los lotes se prepararon a una escala de aproximadamente 10 g.

La Tabla 7 compara los parámetros de preparación de los lotes. Los parámetros de preparación son similares para todos los lotes excepto por la cantidad de la composición de dilución añadida.

Tabla 7

Lote	GC071404	GC071504	GC090304
Composición de dilución, % de volumen de fase continua	0	100	200
LA _{DP} , conc., g/g	0,0485	0,0483	0,0482
LA _{DP} , peso, g	1,5923	1,5886	1,583
LA libre de DP, conc., g/g	0,0459	0,0457	0,456
LA libre de DP, peso, g			
R202H _{DP} , conc., g/g	0,2451	0,2442	0,2454
R202H _{DP} , peso, g	7,06	7,05	7,07
DCM _{DP} , conc., g/g	0,5211	0,5224	0,5210
DCM _{DP} , peso, g	15,01	15,08	15,01
MeOH _{DP} , conc., g/g	0,1700	0,1698	0,1701
MeOH _{DP} , peso, g	4,8967	4,9013	4,8994
Ácido A. _{DP} , conc., g/g	0,0086	0,0085	0,0085
Ácido A. _{DP} , peso, g	0,2471	0,2463	0,2455
Peso de la fase dispersa, g	28,8061	28,8362	28,8079
Duración de la exposición al disolvente, post formación, min	30	30	30
Caudal CP, g/min	2000	2000	2000
Caudal DP, g/min	35,84	36,1	34,41
Mezclador, rpm	7000	7000	7000

La Tabla 8 compara las propiedades de los lotes de micropartículas preparados como en la Tabla 7 con cantidades variables de composiciones de dilución usando el polímero de IV 0,157.

Tabla 8

Lote	GC071404	GC071504	GC090304
Composición de dilución, % de volumen de fase continua	0	100	200
Carga de fármaco, %	11,85 ± 0,41	13,49 ± 0,13	13,26 ± 0,21
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	4,42	3,37	3,49
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	14,3	11,6	15,3
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	24,0	22,7	25,7
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	32,4	32,5	34,6
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	39,3	40,3	42,1
D. R. (Phys.), 0,2 Día	1,34 ± 0,04	16,62 ± 0,54	10,83 ± 0,08
D. R. (Phys.), 1 días	3,16 ± 0,01	15,63 ± 0,11	15,84 ± 0,21
D. R. (Phys.), 3 días	5,76 ± 0,10	25,17 ± 0,06	23,49 ± 0,52
D. R. (Phys.), 7 días	16,87 ± 0,50	35,73 ± 0,15	33,65 ± 0,50
D. R. (Phys.), 10 días	30,17 ± 0,54	41,18 ± 0,29	38,90 ± 0,50
D. R. (Phys.), 14 días	41,28 ± 0,36	45,55 ± 0,34	43,20 ± 0,55
D. R. (Phys.), 17 días	49,14 ± 0,55	48,60 ± 0,67	46,51 ± 0,63
D. R. (Phys.), 21 días	55,80 ± 0,74	51,82 ± 0,94	50,51 ± 0,82
D. R. (Phys.), 24 días	62,12 ± 0,98	54,49 ± 1,30	53,86 ± 0,98
D. R. (Phys.), 28 días	69,75 ± 0,38	58,34 ± 1,11	58,21 ± 1,25
D. R. (Phys.), 31 días		61,38 ± 1,2	61,98 ± 1,11
D. R. (Acc.), 1 hora	16,94 ± 0,54	28,16 ± 0,72	27,31 ± 0,86
D. R. (Acc.), 5 horas	44,83 ± 1,54	52,84 ± 1,55	52,82 ± 1,39
D. R. (Acc.), 24 horas	81,23 ± 0,44	81,49 ± 3,89	83,41 ± 0,45
D. R. (Acc.), 48 horas	94,31 ± 0,27	93,99 ± 0,18	94,55 ± 0,35
D. R. (Acc.), 72 horas	98,40 ± 0,22	97,53 ± 1,30	97,73 ± 0,04
D. R. (Acc.), 96 horas	98,03 ± 0,36	97,64 ± 1,55	97,6 ± 0,16

- 5 Las micropartículas preparadas sin la adición de la composición de dilución a la fase continua tenían velocidades de liberación comparativamente más bajas. El polímero de menor peso molecular es más sensible a la exposición al disolvente y al contenido de fármaco en la micropartícula que las micropartículas preparadas con el polímero de mayor peso molecular. La distribución del tamaño de partícula es comparable para los tres lotes y la variación es pequeña con un tamaño de partícula promedio (50 % de distribución de volumen por debajo) que varía de 23 a 26 μm . El lote GC071404 producido sin composición de dilución mostró una liberación inicial más lenta que los otros dos lotes. Esta diferencia en la liberación temprana se refleja también en la liberación acelerada in vitro.

- 10 La Figura 5 compara las velocidades de liberación del fármaco en una solución tampón de fosfato para las micropartículas formadas con el polímero que tiene una viscosidad intrínseca de 0,157. Las micropartículas formadas con el polímero de IV 0,157 mostraron una liberación temprana mucho más lenta en el lote de composición de dilución cero. Para los lotes con adiciones de composición de dilución del 100 y el 200 %, las micropartículas de polímero de IV 0,157 mostraron velocidades de liberación más altas. La adición de la composición de dilución minimiza el nivel de exposición del disolvente a la micropartícula recién formada y aumenta la velocidad de liberación para los polímeros de IV bajas.

- 15 La Figura 7 es una representación gráfica de tres muestras que tienen cantidades variables de composiciones de dilución como se expone en la Tabla 7, con el porcentaje de acetato de leuprolida liberado frente al tiempo en horas en condiciones aceleradas in vitro. Los lotes con composiciones de dilución incrementadas tienen mayores velocidades de liberación en las primeras dos semanas bajo condiciones fisiológicas y en las primeras cinco horas bajo condiciones de prueba de liberación acelerada.

Ejemplo 5

- 25 El Ejemplo 5 detalla lotes de micropartículas a gran escala con y sin composiciones de dilución añadidas a la fase continua. Se prepararon datos de farmacocinética (PK) y de eficacia y para tres lotes de micropartículas de leuprolida (0E5103, 0B6315 y 0A0307) usando polímero R202H que tiene una viscosidad intrínseca de

5 aproximadamente 0,21 dl/g. Los lotes 0E5103 y 0A0307 se probaron en seres humanos con dosis de 22,5 mg con fines farmacocinéticos y de eficacia. Los grupos farmacocinéticos (PK) de los pacientes se controlaron para determinar el nivel de leuprolida en sangre (suero) y la supresión de testosterona, y los pacientes restantes se controlaron solo por su eficacia (supresión de testosterona). Para mostrar la castración química con leuprolida, el 95 % de los pacientes deben mostrar niveles de testosterona iguales o inferiores a 50 ng/dl (0,5 ng/ml) a los 28 días o antes.

10 El lote de micropartículas 0E5103 se preparó con R202H que tenía una IV de 0,206 y un peso molecular de 18 kDa sin ninguna adición de composición de dilución o dilución. La exposición al cloruro de metileno para este lote fue de aproximadamente 7200 ppm y la duración de la exposición fue de aproximadamente 40 minutos. El lote de micropartículas 0B6315 se preparó con poli (D,L-láctido) que tenía una IV de 0,206 y un peso molecular de aproximadamente 18 kDa. La composición de dilución se preparó añadiendo el 150 % de agua al flujo de fase continua mientras que la fase continua estaba en el recipiente de eliminación de disolvente.

15 El lote de micropartículas 0A0307 se preparó usando poli (d,l-láctido) que tenía una IV y un peso molecular similares al lote 0B6315. La composición de dilución se preparó añadiendo el 200 % de agua al flujo de fase continua mientras que la fase continua y la emulsión de fase dispersa se introducen a través del mezclador en línea en el recipiente de eliminación de disolvente. El nivel de disolvente de cloruro de metileno era de aproximadamente 1500 ppm en la fase continua como se determina por cromatografía de gases (GC). La Tabla 9 compara los parámetros de preparación y la Tabla 10 compara las propiedades de las micropartículas preparadas en la Tabla 9.

20 De forma notable, el tamaño del lote para 0A0307 es de aproximadamente 1 kg y el tiempo de formación de micropartículas fue de 100 minutos en el recipiente del reactor. El lote 0E5103 tiene un tamaño de lote de 0,4 kg y el tiempo de formación de micropartículas fue de 40 minutos. La formulación para la fase dispersa fue similar para los tres lotes, con el lote 0E5103 que tiene una concentración de agente activo y de polímero ligeramente incrementada y una concentración disminuida de un disolvente (metanol) y ácido acético.

Tabla 9

Lote	0E5103	0B6315	0A0307
Composición de dilución, % de fase continua	0	150	200
Polímero, Mw, kDa	18	18	19
Tamaño del lote, Kg	0,4	0,4	1,0
LA _{DP} , peso, g	72	77	202
LA libre de DP, conc., g/g	0,048	0,0434	0,044
R202H _{DP} , conc., g/g	0,25	0,21	0,21
R202H _{DP} , peso, g	353	353	820
DCM _{DP} , conc., g/g	0,53	0,53	0,53
DCM _{DP} , peso, g	750	900	2100
MeOH _{DP} , conc., g/g	0,18	0,19	0,19
MeOH _{DP} , peso, g	236	324	755
Ácido A. _{DP} , conc., g/g	0,004	0,0165	0,0165
Ácido A. _{DP} , peso, g	6	27	sesenta y cinco
Duración de la exposición al disolvente, después de la formación	7200 ppm de DCM durante hasta 40 minutos	3000 ppm de DCM durante hasta 40 minutos	1500 ppm de DCM por hasta 100 minutos
Caudal CP, l/min	2	2	2
Caudal DP, g/min	37	35	35
Mezclador, rpm	7000	7000	7000
Composición de dilución Velocidad de adición, l/min	0	3	4

25

Tabla 10

Lote	0E5103	0B6315	0A0307
Composición de dilución, % de volumen de fase continua	0	150	200
Carga de fármaco, %	13,9	14,6	14,7
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	3	4	3
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	11	12	11
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	26	24	24
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	39	33	35
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	50	40	46
D. R. (Acc.), 1 hora (%)	16	28	37
D. R. (Acc.), 5 horas (%)	36	46	52
D. R. (Acc.), 24 horas (%)	59	67	67
D. R. (Acc.), 48 horas (%)	73	80	77
D. R. (Acc.), 72 horas (%)	81	87	83
DCM residual en producto, ppm	< 100	< 100	< 100
MeOH residual en el producto, en ppm	< 100	< 100	< 100

- 5 Las velocidades de liberación in vitro aceleradas mostraron que 0B6315 y 0A0307 con una composición de dilución incrementada y, por lo tanto, una exposición reducida al disolvente, produjeron micropartículas con una mayor liberación inicial en comparación con 0E5103 que no tiene la composición de dilución añadida. La Figura 8 compara las concentraciones séricas de leuprolida en ratas a las que se les administró una dosis de 22,5 mg de leuprolida por kg para los lotes 0E5103 y 0A0307 durante un período de dos semanas. El lote 0A0307/0A0307, con la menor exposición a disolventes, tuvo una liberación temprana más alta en comparación con 0E5103, produciendo mayores concentraciones de leuprolida en el suero.
- 10 La Figura 9 es una representación gráfica de los niveles de concentración de leuprolida en suero (ng/ml) en seres humanos administrados con micropartículas de leuprolida preparadas de acuerdo con la Tabla 9. Se prepararon y se describen lotes de micropartículas 0E5103 y 0A0307 en la Tabla 9. La Tabla 10 muestra datos clínicos humanos de la concentración de leuprolida en sangre (suero). Los resultados de este ejemplo muestran que la formulación con la composición de dilución (0A0307) y la baja exposición a DCM tenían un nivel de leuprolida más alto en sangre
- 15 durante el período inicial de un mes debido a una liberación más rápida. Este lote funcionó de manera más efectiva como agonista de la GnRH en el sistema humano para lograr una reducción a largo plazo en los niveles de testosterona. Los pacientes que recibieron 0A0307 con la misma dosis tuvieron un nivel de leuprolida más bajo en sangre y el fármaco se liberó a un ritmo más rápido durante la última parte (después de un mes) del estudio.
- 20 Se realizó un ensayo clínico que comparó los lotes 0E5103 y 0A0307 para comparar los niveles de testosterona en pacientes después de recibir micropartículas de leuprolida con niveles variables de composiciones de dilución añadidas después de la formación de micropartículas. Idealmente, el 95 % de los pacientes debe alcanzar y mantener un nivel de testosterona por debajo de 50 ng/dl en 28 días. La Tabla 11 detalla los resultados de los ensayos clínicos de los dos lotes de micropartículas de leuprolida.

Tabla 11

Conjunto de datos	% de pacientes que alcanzan un nivel de testosterona inferior a 50 ng/dl después de 28 días
Requisito clínico	95
0E5103	79
0A0307	98

- 25 Debido a la lenta liberación inicial del lote 0E5103, solo el 79 % de los pacientes alcanzaron el nivel deseado el día 28. Sin embargo, los pacientes que recibieron el lote 0A0307, el lote con la composición de dilución al 200 %,

alcanzaron el nivel deseado en el 98 % de la población para el día 28. Como resultado, los pacientes con malestar y dolor debido a niveles más altos de testosterona en enfermedades como el cáncer de próstata pueden tratarse más eficazmente y reducir su dolor más rápidamente administrando un fármaco de liberación sostenida con una velocidad de liberación inicial más alta de leuprolida.

5 **Ejemplo 6**

Los lotes del ejemplo 6 se prepararon a una escala de aproximadamente 10 g usando un R202H con una viscosidad inherente IV de 0,183. La Tabla 12 compara los parámetros de preparación para los lotes. La composición de fase dispersa y la composición de fase continua fueron iguales para todos los lotes y la carga objetivo fue del 16,5 % de LA para todos los lotes. El caudal para la fase continua y la fase dispersa era el mismo o comparable.

10

Tabla 12

Lote	GC061404	GC061504	GC061604	GC061704
Composición de dilución, % del volumen de la fase continua	0	50	100	200
LA _{DP} , conc., g/g	0,0484	0,0483	0,0485	0,0483
LA _{DP} , peso, g	1,586	1,588	1,594	1,587
LA libre de DP, conc., g/g	1,3165	1,3180	1,3228	1,3175
LA libre de DP, peso, g	0,0457	0,0457	0,0459	0,0457
R202H _{DP} , conc., g/g	7,06	7,11	7,09	7,07
R202H _{DP} , peso, g	0,245	0,246	0,246	0,245
DCM _{DP} , conc., g/g	15,0	15,0	15,01	15,00
DCM _{DP} , peso, g	0,521	0,520	0,521	0,521
MeOH _{DP} , conc., g/g	4,895	4,909	4,906	4,907
MeOH _{DP} , peso, g	0,170	0,170	0,170	0,170
PVA conc., En CP, g/g	0,0035	0,0035	0,0035	0,0035
Caudal CP, g/min	2000	2000	2000	2000
Caudal DP, g/min	34,25	34,25	34,27	34,29
Silverson rpm	7000	7000	7000	7000

La Tabla 13 compara las propiedades de los lotes de micropartículas.

Tabla 13

Lote	GC061404	GC061504	GC061604	GC061704
Composición de dilución, % de volumen de fase continua	0	50	100	200
Carga de fármaco, %	13,25 ± 0,17	13,85 ± 0,09	13,91 ± 0,17	13,51 ± 0,07
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	2,88	2,99	3,52	3,94
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	9,73	9,13	11,7	12,4
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	22,5	22,4	27,8	24,9
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	33,6	32,6	38,0	35,1
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	41,9	40,1	45,8	42,9
D. R. (Phys.), 0,2 Día	0,44 ± 0,0	0,95 ± 0,07	1,03 ± 0,02	1,14 ± 0,02
D. R. (Phys.), 1 día	0,57 ± 0,01	1,19 ± 0,06	1,36 ± 0,03	1,39 ± 0,04
D. R. (Phys.), 3 días	0,95 ± 0,03	2,11 ± 0,03	2,34 ± 0,09	2,34 ± 0,06
D. R. (Phys.), 7 días	5,65 ± 0,28	6,64 ± 0,37	5,94 ± 0,18	5,39 ± 0,20
D. R. (Phys.), 10 días	8,45 ± 0,34	11,48 ± 0,25	10,62 ± 0,73	9,87 ± 0,59

(continuación)

Lote	GC061404	GC061504	GC061604	GC061704
D. R. (Phys.), 14 días	14,28 ± 0,58	21,54 ± 0,61	19,86 ± 0,61	17,69 ± 1,62
D. R. (Phys.), 17 días	21,77 ± 0,92	28,99 ± 0,87	27,61 ± 0,61	24,37 ± 2,15
D. R. (Phys.), 21 días	30,21 ± 0,73	34,94 ± 0,73	34,43 ± 0,36	31,72 ± 1,83
D. R. (Phys.), 24 días	35,93 ± 0,29	39,00 ± 0,60	39,00 ± 0,22	37,06 ± 1,23
D. R. (Phys.), 28 días	40,59 ± 0,23	42,82 ± 0,54	43,15 ± 0,29	41,53 ± 0,99
D. R. (Phys.), 31 días	44,20 ± 0,30	45,90 ± 0,67	46,30 ± 0,43	44,67 ± 0,87
D. R. (Acc.), liberación en 1 hora	15,32 ± 0,11	21,26 ± 0,22	23,75 ± 0,51	21,14 ± 0,66
D. R. (Acc.), liberación en 5 horas	38,35 ± 0,21	42,80 ± 0,40	44,71 ± 0,42	43,06 ± 0,34
D. R. (Acc.), liberación en 24 horas	68,75 ± 0,32	70,95 ± 0,26	71,84 ± 0,67	71,75 ± 0,27
D. R. (Acc.), liberación en 48 horas	83,14 ± 0,78	84,68 ± 0,22	84,68 ± 0,31	85,12 ± 1,08
D. R. (Acc.), liberación en 72 h	91,30 ± 0,29	91,93 ± 0,25	91,55 ± 0,30	92,94 ± 0,83
D. R. (Acc.), liberación en 96 h	95,70 ± 0,88	95,96 ± 0,60	94,99 ± 0,35	97,18 ± 0,75

La carga de fármaco en las micropartículas fue comparable para los lotes. El tamaño de partícula mostró una pequeña variación típica entre los lotes. El tamaño medio de partícula (50 % de distribución de volumen por debajo) varió de 22 a 28 µm, y el 90 % de la distribución de volumen varió de 40 a 46 µm. En general, el tamaño de partícula no mostró mucha diferencia entre los lotes, y no hay una tendencia definida.

5

Se espera que la liberación del fármaco a 37 °C en PBS libere el fármaco durante más de tres meses. La versión inicial durante un período mínimo de un mes se siguió en PBS. El lote sin composición de dilución (GC061404) mostró una liberación inicial menor en comparación con los lotes preparados con la composición de dilución. Los lotes con una composición de dilución del 50, 100 y 200 % mostraron velocidades de liberación más rápidas y comparables.

10

El procedimiento de liberación acelerada también mostró una liberación inicial ligeramente mayor (1 y 5 horas) para los lotes preparados con una composición de dilución. No hay diferencia en la liberación entre los lotes preparados con diluciones variables. El aumento en la liberación temprana (1 y 5 horas) por dilución se logró con una dilución del 50 %. La dilución adicional no mejoró la liberación inicial a una magnitud notable.

15 Ejemplo 7

Se prepararon tres lotes de micropartículas con una composición de dilución del 100, 200 y 300 % utilizando R202H con una viscosidad inherente IV de 0,206. Los parámetros de preparación se muestran en la Tabla 14 para GC071204, GC090904 y GC091004. Los parámetros de preparación fueron comparables para estos lotes excepto la variable prevista, la composición de dilución.

20

Tabla 14

Lote	GC071204	GC090904	GC091004
Composición de dilución, % de volumen de fase continua	100	200	300
LA _{DP} , conc., g/g	0,0488	0,0477	0,0487
LA _{DP} , peso, g	1,6614	1,6475	1,6662
LA libre de DP, peso, g	1,5717	1,5585	1,5762
R202H _{DP} , conc., g/g	0,2084	0,2040	0,2082
R202H _{DP} , peso, g	7,09	7,05	7,12
DCM _{DP} , conc., g/g	0,5293	0,5382	0,5301
DCM _{DP} , peso, g	18,01	18,6	18,13
Metanol _{DP} , conc., g/g	0,1906	0,1873	0,1902
MeOH _{DP} , peso, g	6,4851	6,4741	6,5035
Ácido A. _{DP} , conc., g/g	0,0160	0,0162	0,0160
Ácido A. _{DP} , peso, g	0,5454	0,5585	0,5475
PVA _{CP} , conc., g/g	0,0035	0,0035	0,0035
Caudal CP, g/min	2000	2000	2000
Caudal DP, g/min	33,90	35,14	35,18
Silverson, rpm	7000	7000	7000

5 Las propiedades de los lotes preparados en la Tabla 14 se muestran a continuación en la Tabla 15. La micropartícula final tenía una eficacia de encapsulación del 71 % al 75 % y la carga de fármaco era comparable para los lotes. Los lotes con una dilución de 100 y 200 % mostraron un tamaño de partícula comparable. Se observaron velocidades de liberación ligeramente más rápidas (o velocidades de liberación comparables) en PBS durante los puntos temporales anteriores para los lotes preparados con diluciones más altas. La liberación acelerada mostró una liberación temprana comparable.

Tabla 15

Lote	GC071204	GC090904	GC091004
Composición de dilución, % de fase continua	100	200	300
LA Carga en MS final, %	15,04 ± 0,34	14,91 ± 0,01	14,21 ± 0,15
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	3,91	4,19	5,88
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	11,4	12,0	18,7
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	23,2	23,9	29,3
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	33,0	33,2	38,0
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	41,7	41,1	46,2
D. R. (Phys.), 0,2 Día	5,28 ± 0,08	8,53 ± 0,26	10,12 ± 0,34
D. R. (Phys.), 1 día	12,41 ± 0,25	17,13 ± 0,99	19,46 ± 0,60
D. R. (Phys.), 3 días	14,80 ± 1,40	20,35 ± 1,62	24,85 ± 1,04
D. R. (Phys.), 7 días	23,62 ± 1,83	25,69 ± 2,64	28,90 ± 1,05
D. R. (Phys.), 10 días	28,16 ± 1,73	29,56 ± 3,41	31,93 ± 1,02
D. R. (Phys.), 14 días	33,03 ± 1,51	33,59 ± 2,79	35,06 ± 1,05
D. R. (Phys.), 17 días	38,67 ± 1,41	36,99 ± 2,41	37,37 ± 1,03
D. R. (Phys.), 21 días	42,73 ± 1,24	41,09 ± 2,08	40,13 ± 1,09
D. R. (Phys.), 24 días	46,24 ± 1,24	44,45 ± 1,75	42,52 ± 1,18
D. R. (Phys.), 28 días	49,84 ± 1,05	47,82 ± 1,34	44,88 ± 1,30
D. R. (Acc.), liberación en 1 hora	33,56 ± 0,96	32,55 ± 0,62	30,24 ± 0,09
D. R. (Acc.), liberación en 5 horas	49,53 ± 0,17	48,84 ± 0,47	46,20 ± 0,38
D. R. (Acc.), liberación en 24 horas	67,35 ± 0,28	68,65 ± 0,64	66,84 ± 0,54
D. R. (Acc.), liberación en 48 horas	78,52 ± 0,33	78,39 ± 0,53	77,21 ± 0,41
D. R. (Acc.), liberación en 72 horas	85,58 ± 0,52	86,37 ± 0,34	85,44 ± 0,61
D. R. (Acc.), liberación en 96 horas	91,26 ± 0,31	92,21 ± 0,30	91,35 ± 0,81

Ejemplo 8

10 Se prepararon tres lotes de micropartículas con una composición de dilución del 100, 200 y 300 %, usando R202H con una viscosidad inherente IV de 0,157 y una carga objetivo de LA del 19 %. Los parámetros de preparación se muestran en la Tabla 16. Los parámetros de preparación fueron comparables para los lotes excepto la variable prevista, la composición de dilución.

Tabla 16

Lote	GC071604	GC090204	GC090704
Dilución, Composición, %	100	200	300
LA _{DP} , conc., g/g	0,0488	0,0488	0,0488
LA _{DP} , peso, g	1,6613	1,6590	1,6587
L-FB _{DP} , peso, g	1,5715	1,5694	1,5691

(continuación)

Lote	GC071604	GC090204	GC090704
R202H _{DP} , conc., g/g	7,08	7,10	7,05
R202H _{DP} , peso, g	0,208	0,2086	0,2074
DCM _{DP} , conc., g/g	18,04	18,0	18,0
DCM _{DP} , peso, g	0,5299	0,5289	0,5296
Metanol _{DP} , conc., g/g	6,4753	6,4920	6,487
MeOH _{DP} , peso, g	0,1902	0,1908	0,1908
Ácido A. _{DP} , conc., g/g	0,5542	0,5475	0,5628
Ácido A. _{DP} , peso, g	0,0163	0,0161	0,0166
PVA _{CP} , peso, g/g	0,0035	0,0035	0,0035
Silverson, rpm	7000	7000	7000

5 La Tabla 17 muestra las propiedades de los lotes de micropartículas preparados anteriormente. Los lotes finales tenían micropartículas con una eficacia de encapsulación del 69 al 73 %. La carga de fármacos fue comparable para los lotes, alrededor del 14 %. El tamaño de partícula es comparable para los lotes. Las velocidades de liberación del fármaco fueron comparables para todos los lotes en PBS y la liberación acelerada mostró una liberación inicial ligeramente mayor.

Tabla 17

Lote	GC071604	GC090204	GC090704
Composición de dilución, %	100	200	300
LA, carga, %	13,97 ± 0,00	13,99 ± 0,05	13,90 ± 0,17
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	3,91	3,63	4,91
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	11,7	8,59	13,8
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	21,1	19,4	23,6
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	28,2	28,3	31,4
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	34,7	35,3	38,3
D. R. (Phys.), 0,2 Día	22,12 ± 1,23	16,93 ± 0,08	20,66 ± 1,22
D. R. (Phys.), 1 día	19,47 ± 0,21	22,28 ± 0,08	24,74 ± 1,19
D. R. (Phys.), 3 días	28,74 ± 0,25	28,50 ± 0,50	28,45 ± 3,00
D. R. (Phys.), 7 días	39,89 ± 0,13	38,33 ± 0,41	39,14 ± 2,55
D. R. (Phys.), 10 días	45,61 ± 0,07	43,86 ± 0,51	44,83 ± 2,54
D. R. (Phys.), 14 días	50,15 ± 0,14	48,80 ± 0,58	49,72 ± 2,52
D. R. (Phys.), 17 días	53,34 ± 0,27	52,59 ± 0,65	53,35 ± 2,52
D. R. (Phys.), 21 días	56,58 ± 0,46	56,78 ± 0,85	57,34 ± 2,50
D. R. (Phys.), 24 días	59,30 ± 0,61	60,11 ± 0,94	60,56 ± 2,49
D. R. (Phys.), 28 días	62,84 ± 0,51	63,89 ± 1,04	64,42 ± 2,58
D. R. (Acc.), 1 hora	32,64 ± 1,44	33,46 ± 0,43	36,55 ± 0,24
D. R. (Acc.), 5 horas	56,64 ± 2,69	58,98 ± 1,12	61,58 ± 0,13
D. R. (Acc.), 24 horas	83,60 ± 4,54	86,31 ± 0,34	88,01 ± 0,48
D. R. (Acc.), 48 horas	93,67 ± 2,10	97,08 ± 0,44	97,12 ± 0,38
D. R. (Acc.), 72 horas	95,55 ± 1,66	98,61 ± 0,88	98,41 ± 0,32
D. R. (Acc.), 96 horas	95,42 ± 1,54	98,66 ± 1,05	98,02 ± 0,19

Ejemplo 9

10 El Ejemplo 9 compara micropartículas de octreótido con exposición variable al disolvente. Las micropartículas de poli (d,l-láctido-co-glicólido) que contienen octreótido se prepararon con técnicas similares al procedimiento de preparación de la micropartícula de leuprolida. Se administró una fase dispersa que contenía PLGA (85:15 PLGA de Alkermes), octreótido, cloruro de metileno, metanol y ácido acético glacial a través del tubo de entrada de fase dispersa del mezclador en línea Silverson modificado, como se explica en la Patente de Estados Unidos 5.945.126, a aproximadamente 18 ml por minuto. La carga objetivo para el octreótido en dispersión fue del 10 %. Se suministró
15 una fase continua de alcohol polivinílico al 0,35 % en agua a 2 l/min a través del puerto de entrada de fase continua

del Silverson en línea. La velocidad de mezcla de Silverson era de 5500 rpm. Los parámetros de preparación detallados se pueden ver en la Tabla 18, a continuación. Aproximadamente 2 l de la suspensión producida se expuso luego a 15 l de la fase continua, mientras se agitaba constantemente. Esta fase continua de 15 l incluía la fase continua a 2000, 4000 o 6000 ppm, respectivamente, de cloruro de metileno. Las micropartículas recién formadas se expusieron durante 100 minutos antes del lavado. El lote de control no pasó por la exposición al disolvente y se sometió a lavado directo.

Tabla 18

Lote	GJ030804	GJ030204	GJ030404	GJ030904
Octreótido _{DP} , peso, g	0,72	0,72	0,72	0,72
PLGA _{DP} , peso, g	6,48	6,48	6,48	6,48
DCM _{DP} , peso, g	10,14	10,14	10,14	10,14
MeOH _{DP} , peso, g	1,02	1,02	1,02	1,02
Ácido A. _{DP} , peso, g	0,78	0,78	0,78	0,78
DCM _{CP} , conc., ppm	0	2000	4000	6000
MeOH _{CP} , conc., ppm	0	200	400	600
Ácido A. _{CP} , conc., ppm	0	150	300	450

Se realizó una prueba acelerada in vivo, comparando los respectivos lotes de micropartículas. Las pruebas se llevaron a cabo en una solución tampón de acetato con un pH de 4,0 a 60 °C. Las velocidades de liberación también se calcularon para los lotes en condiciones fisiológicas a 37 °C durante un día.

Tabla 19

Lote	GJ030804	GJ030204	GJ030404	GJ030904
Carga de fármaco, % de composición en fase continua	7,7	7,0	7,6	7,5
Eficiencia de encapsulación, %	77	70	76	75
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	7,13	4,74	3,91	7,73
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	13,5	17,5	12,5	18,8
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	28,0	30,5	26,7	32,7
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	38,6	42,0	39,0	46,3
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	47,4	51,8	48,8	56,6
D. R. (Acc.), 1,5 horas	35,6 ± 1,4	41,5 ± 1,1	42,0 ± 1,1	47,2 ± 7,0
D. R. (Acc.), 3 horas	42,9 ± 2,8	48,1 ± 0,8	48,5 ± 1,4	55,4 ± 4,1
D. R. (Acc.), 18 horas	62,9 ± 2,5	68,1 ± 1,1	66,9 ± 0,6	69,8 ± 3,5
D. R. (Acc.), 24 horas	71,0 ± 2,9	76,8 ± 2,8	77,1 ± 1,3	75,6 ± 1,5
D. R. (Acc.), 48 horas	83,6 ± 2,5	89,6 ± 0,9	85,5 ± 1,8	76,7 ± 0,2
D. R. (Acc.), 66 horas	97,9 ± 0,2	99,0 ± 0,4	97,1 ± 0,8	97,5 ± 0,3
D. R. (Phys.), 1 día	9,5	11,6	12,4	14,6

Como se muestra en la Tabla 19, las micropartículas expuestas a mayores cantidades de disolvente mostraron una liberación inicial más alta en el medio de liberación en los primeros puntos de tiempo. Una explosión inicial más alta podría suponer un problema de seguridad ya que el factor de crecimiento insulínico-1 (IGF-1) podría disminuir demasiado rápido en respuesta a la velocidad de liberación más rápida. La velocidad de liberación inicial más baja para octreótido en una formulación de liberación sostenida de micropartículas sería óptima. A diferencia de la leuprolida, al usar una formulación con exposición reducida al disolvente para las micropartículas de octreótido, la velocidad de liberación se reduce.

La Figura 10 es una representación gráfica de las propiedades de liberación de las micropartículas preparadas de acuerdo con la Tabla 18 en un estudio in vivo de octreótido en ratas. Las ratas recibieron una dosis de 5 mg de los lotes de micropartículas de octreótido. GJ030804 no se expuso a mayor cantidad de disolvente en la fase continua y mostró una liberación de explosión inicial más baja, en comparación con los lotes preparados con concentraciones más altas de cloruro de metileno. Debido a que la mayor exposición al disolvente causó mayores velocidades de liberación de explosiones, se supone que las micropartículas con una explosión aún más baja podrían prepararse por dilución con agua, dependiendo de la velocidad preferida.

Ejemplo 10

El Ejemplo 10 compara el efecto sobre la velocidad de liberación de fármaco de leuprolida en micropartículas cuando los tamaños de lote de las micropartículas se varían con y sin adición de una composición de dilución. Primero, los lotes GC071304, 0E5103 y 0D4022 se prepararon con un tamaño de lote variado sin añadir una composición de dilución a la fase continua. Como se muestra en la Tabla 20 a continuación, se preparó un lote de 8 g, GC071304, usando 29 g de fase dispersa, que incluye R202H con un peso molecular de 18 kDa, acetato de leuprolida, cloruro de metileno y metanol. La fase continua de GC071304 incluía 1,5 l de alcohol polivinílico al 0,35 % en agua. La formación de micropartículas se completó en 50 segundos a un caudal de 30-35 g/min para la fase dispersa y 2 l/min para la fase continua. El lote se agitó constantemente a 7000 rpm en un mezclador en línea y luego se lavó a temperatura ambiente y a 39 °C con aproximadamente 10 cambios de volumen.

El lote 0E5103 se preparó usando los mismos parámetros de preparación que antes, pero el tamaño del lote se aumentó a 400 g. El tiempo de formación de micropartículas fue de 40 minutos. Aumentando el tamaño del lote a 700 g, se preparó el lote 0D4022 usando los mismos parámetros de preparación que antes. El tiempo de formación de micropartículas fue de 70 minutos. Las cantidades de la fase dispersa y la fase continua usadas en los dos últimos lotes se ajustaron proporcionalmente para producir el tamaño de lote considerado.

Como se muestra en la Tabla 20 a continuación, se prepararon tres lotes usando un polímero de IV 0,206. La Tabla 21 compara las propiedades de los lotes.

Tabla 20

Lote	GC071304	0E5103	0D4022
Tamaño del lote, g	8	400	700
Polímero, Mw, kDa	18	18	18
LA _{DP} , conc., g/g	0,05	0,05	0,05
R202H _{DP} , conc., g/g	0,25	0,25	0,25
DCM _{DP} , conc., g/g	0,52	0,53	0,53
MeOH _{DP} , conc., g/g	0,17	0,17	0,17
PVA _{CP} , conc., g/g	0,0035	0,0035	0,0035
Composición de dilución	0	0	0
Tiempo de formación de micropartículas	50 segundos	40 minutos	70 min

Las propiedades de las micropartículas formadas en la Tabla 20 se muestran en la Tabla 21.

20

Tabla 21

Lote	GC071304	0E5103	0D4022
Tamaño del lote, g	8	400	700
Duración de la formación de micropartículas	50 segundos	40 minutos	70 min
Carga de fármaco, %	14,0	13,9	12,0
Dist. tam. part.,	4	3	3
10 % de CVF por debajo, micrómetros			
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	12	11	11
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	27	26	25
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	39	39	36
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	48	50	45
D. R. (Acc.), 1 hora	22,1 ± 1,9	15,6 ± 0,8	7,7 ± 0,5
D. R. (Acc.), 5 horas	41,6 ± 0,5	36,2 ± 0,5	24,3 ± 0,2
D. R. (Acc.), 25 horas	61,6 ± 0,0	58,6 ± 0,6	48,1 ± 0,0
D. R. (Acc.), 48 horas	75,0 ± 1,1	72,5 ± 0,7	66,2 ± 0,0
D. R. (Acc.), 72 horas	83,8 ± 1,2	81,0 ± 0,6	78,3 ± 0,2
D. R. (Acc.), 96 horas	89,8 ± 1,2	86,4 ± 0,6	85,3 ± 0,3
D. R. (Phys.), 1 día	0,7	0,3	0,3
D. R. (Phys.), 7 días	3,4	0,7	0,5
D. R. (Phys.), 14 días	7,8	2,5	0,9

(continuación)

Lote	GC071304	0E5103	0D4022
D. R. (Phys.), 21 días	12,6	4,2	1,6
D. R. (Phys.), 28 días	24,1	17,2	9,3

5 La velocidad de liberación, tal como se probó en condiciones fisiológicas, se expuso a PBS con un pH de 7,4 a 37 °C. El lote de 8 g preparado con el tiempo de formación de micropartículas más corto de 50 segundos y el menor tiempo de exposición al disolvente correspondiente tuvo la liberación inicial más rápida, en comparación con el lote de 400 g y el lote de 700 g. El lote más grande, 700 g, con el tiempo de exposición al disolvente más largo (tiempo de formación de micropartículas de 70 minutos) tuvo la liberación inicial más lenta. Por lo tanto, bajo condiciones fisiológicas y aceleradas, se ha encontrado que aumentar el tamaño del lote, o aumentar el lote, tiene un efecto inverso en las velocidades de liberación del medicamento, siendo todos los demás factores aproximadamente iguales.

10 A continuación en la Tabla 22 detallada, las micropartículas se preparan en lotes a escala de 10, 100 y 1000 g. A una escala de 100 g, se produjeron tres lotes para mostrar la reproducibilidad de los ejemplos. Los lotes se prepararon usando un polímero R202H de IV 0,183 con un peso molecular de 14 kDa, leuprolida, DCM, MeOH, y ácido acético glacial para la fase dispersa y agua y alcohol polivinílico para la fase continua. Además, se añadieron aproximadamente 1500 ± 500 ml de composición de dilución a la fase continua. Específicamente, se añadió composición de dilución, o agua, al recipiente de eliminación del disolvente de 2 a 4 l/min continuamente durante la preparación de micropartículas. Los parámetros de preparación son los mismos para los lotes y la duración de la preparación de micropartículas fue de 1 min para el lote de 10 g, 10 min para el lote de 100 g y 100 min para el lote de 1000 g. A una escala de 100 g, se prepararon tres lotes para mostrar la reproducibilidad

20

Tabla 22

LA _{DP} , conc., g/g	0,0435
R202H _{DP} , conc., g/g	0,2087
DCM _{DP} , conc., g/g	0,53
MeOH _{DP} , conc., g/g	0,1920
Ácido A. _{DP} , conc., g/g	0,0165
PVA _{CP} , conc., g/g	0,0035
Caudal CP, g/min	2000 ± 200
Flujo DP, ml/min	30 ± 3
Composición de dilución añadida, m	1500 ± 500
Silverson, rpm	7000 ± 200
Temperatura de lavado	Ambiente y 39 °C
Cantidad de reemplazos de volumen	12 ± 2

Tabla 23

Lote	TV042706	GC050306	GC050406	TV051706	OL061206
Tamaño del lote, g	10	100	100	100	1000
Carga de fármaco, %	12,8	13,4	13,2	13,1	13,7
Eficiencia de Encapsulación de Fármacos, %	75	77	77	75	79
Dist. tam. part., 10 % de CVF por debajo, micrómetros	3,72	3,63	3,29	3,50	3,43
Dist. tam. part., 25 % de CVF por debajo, micrómetros	11,4	11,5	10,5	11,3	10,3
Dist. tam. part., 50 % de CVF por debajo, micrómetros	22,2	22,5	22,0	23,6	23,4
Dist. tam. part., 75 % de CVF por debajo, micrómetros	30,7	31,0	30,5	32,8	33,1
Dist. tam. part., 90 % de CVF por debajo, micrómetros	38,1	38,0	37,7	40,5	42,4
D. R. (Acc.), 1 hora	27	34	32	30	28

(continuación)

Lote	TV042706	GC050306	GC050406	TV051706	OL061206
D. R. (Acc.), 5 horas	48	53	52	51	50
D. R. (Acc.), 24 horas	75	76	76	74	72
D. R. (Acc.), 48 horas	87	87	86	86	83
D. R. (Acc.), 72 horas	92	91	90	91	88
DCM residual, ppm	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
MeOH residual, ppm	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100

La eficacia de encapsulación del fármaco es comparable entre los lotes de 10, 100 y 1000 g con valores que varían del 75 al 79 %. La carga de fármacos está entre el 12,8 y el 13,7 %, una variación normal. El resultado del tamaño de partícula muestra datos de distribución de tamaño comparables. La velocidad de liberación del medicamento es similar para lotes de 10, 100 y 1000 g. Los lotes preparados a 10, 100 y 1000 g mostraron todos un disolvente residual muy bajo. Por lo tanto, al añadir una composición de dilución a la fase continua, el tamaño del lote se convierte menos en un factor, con respecto a los perfiles de liberación medidos anteriormente. Una vez que el nivel de disolvente en la fase continua se reduce por debajo de un nivel umbral, las propiedades de liberación de las micropartículas no son tan dependientes del tamaño del lote como lo fueron los lotes preparados sin la composición de dilución añadida.

Ejemplo 11

El Ejemplo 11 detalla los perfiles de liberación de micropartículas de risperidona preparadas con una composición de dilución. Primero, se prepararon micropartículas usando 27,5 g de poli (D,L-láctido-co-glicólido), PLGA con una relación de láctido:glicólido de 85:15 y una viscosidad inherente de 0,61 g/dl, como el polímero biocompatible y biodegradable. Los lotes se hicieron usando 27,5 g de risperidona. La risperidona y el polímero se disolvieron en 220 g de diclorometano. Esta solución orgánica combinada de polímero, agente biológicamente activo y disolvente formaba la fase dispersa. Por separado, se disolvieron 87,5 g de poli (alcohol vinílico) y 69 g de heptahidrato dibásico de fosfato sódico en 25 kg de agua purificada para proporcionar la fase continua. La fase dispersa y la fase continua se bombearon simultáneamente a 38,5 ml/min y 4000 ml/min respectivamente, en el mezclador en línea de Silverson, que se mezcló a 4000 rpm durante aproximadamente 5 minutos.

A medida que la fase dispersa se mezcló con la fase continua, la mezcla resultante se solidificó en micropartículas de PLGA cargadas con risperidona en el mezclador Silverson. La suspensión de micropartículas de risperidona se descargó en el recipiente de eliminación de disolvente (SRV) en el que se añadió una composición de dilución a la dispersión de micropartículas a temperatura ambiente. La composición de dilución se añadió a una velocidad de 2000 ml/min durante aproximadamente 5 minutos. Las micropartículas se lavaron y los disolventes orgánicos se eliminaron en el SRV usando temperatura ambiente y agua a 33-37 °C. Después del lavado y la eliminación del disolvente, las micropartículas se recogieron por filtración y se liofilizaron. Se determinó que las micropartículas tenían una carga de fármaco de 0,39 g de risperidona por g de micropartículas. La eficacia de carga de risperidona en las micropartículas de PLGA fue del 77,5 %. Se evaluaron las propiedades de liberación de las micropartículas. Se encontró que menos del 1 % de la liberación inicial del fármaco se detectó en el tampón de pH 7 dentro de las 24 horas.

Ejemplo 12

El Ejemplo 12 detalla los perfiles de liberación de risperidona encapsulada en micropartículas sin dilución con agua. Las micropartículas se prepararon usando 27,5 g de poli (D,L-láctido-co-glicólido), PLGA con una relación de láctido:glicólido de 85:15 y una viscosidad inherente de 0,61 g/dl. Se disolvieron 27,5 g de risperidona en 220 g de diclorometano como parte de una solución orgánica que sirvió como fase dispersa. Por separado, la fase continua se preparó con 87,5 g de poli (alcohol vinílico) y 69 g de heptahidrato dibásico de fosfato sódico disueltos en 25 kg de agua purificada. La fase dispersa y la fase continua se bombearon simultáneamente en un mezclador en línea Silverson a 38,5 ml/min y 4000 ml/min, respectivamente. La suspensión combinada se mezcló a 4000 rpm. La fase dispersa se mezcló con la fase continua y la mezcla resultante se solidificó instantáneamente en micropartículas de PLGA cargadas con risperidona en el mezclador Silverson. La suspensión de micropartículas de risperidona se descargó en el recipiente de eliminación de disolvente (SRV). No se utilizó ninguna composición de dilución en este ejemplo. Las micropartículas se lavaron y los disolventes orgánicos se eliminaron en el SRV usando temperatura ambiente y agua a 33-37 °C. Después de las etapas de lavado y eliminación del disolvente, las micropartículas se recogieron por filtración y se liofilizaron. Se determinó que las micropartículas tenían un contenido de 0,33 g de risperidona por g de micropartículas. La eficacia de carga de risperidona en las micropartículas de PLGA fue del 66,2 %.

Tabla 24

Ejemplo	Ejemplo 8	Ejemplo 9
Polímero	85:15 PLGA	85:15 PLGA
Risperidona objetivo, %	10	10
Risperidona DP, g	27,5	27,5
PLGA DP, g	27,5	27,5
DCM DP, g	220	220
MeOH DP, g	1,02	1,02
Ácido A. DP, g	0,78	0,78
PVA CP, conc., %	0,35	0,35
Heptahidrato dibásico de fosfato de sodio CP, %	0,27	0,27
Silverson, rpm	4000	4000
Caudal CP, ml/min	4000	4000
Caudal DP, ml/min	38,5	38,5
Composición de dilución, Caudal, ml/min	2000	N/D
Carga de fármacos	0,39	0,33
Eficiencia de encapsulación de fármacos, %	77,5	66,2
Liberación inicial, %	< 1	80-82

Para el lote preparado sin una composición de dilución añadida, la velocidad de liberación fue del 80-82 % de risperidona de la micropartícula. El lote que se diluyó con la composición de dilución a 2000 ml/min tuvo una

5

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de formación de una composición de liberación sostenida con una velocidad de liberación alterada que comprende las etapas de:
- 5 formar una fase dispersa que comprende un agente activo específico disuelto con un polímero;
mezclar la fase dispersa con una fase continua acuosa para formar una dispersión de micropartículas que comprende micropartículas suspendidas en la fase continua; y
añadir una cantidad medida de una composición de dilución a la dispersión de micropartículas después de que se hayan formado las micropartículas, en la que las micropartículas formadas son suficientemente sólidas para ser filtrables usando un filtro de fibra hueca;
- 10 en el que la cantidad de la composición de dilución añadida es suficiente para alterar la velocidad de liberación para el agente activo específico.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición de dilución es suficiente para diluir la fase continua para anular los efectos adversos de aumentar el tamaño de un lote de la composición de liberación sostenida.
- 15 3. El procedimiento de la reivindicación 1,
- en el que (a) la composición de dilución se añade a una micropartícula recién formada y se transfiere a un primer recipiente, o
en el que (b) la composición de dilución se añade a la dispersión de micropartículas después de que se transfiera a un primer recipiente.
- 20 4. El procedimiento de la reivindicación 1,
- en el que (a) el procedimiento comprende además transferir la dispersión de micropartículas desde un mezclador a un primer recipiente al tiempo que se añade simultáneamente la composición de dilución al primer recipiente, o
en el que (b) la composición de dilución es agua, y en el que el agua se añade a la dispersión de micropartículas en una cantidad de al menos el 50 % a aproximadamente el 300 % de la fase continua, o
- 25 en el que (c) la composición de dilución y la dispersión de micropartículas se transfieren simultáneamente a un primer recipiente.
5. Un procedimiento de formación de una composición de liberación sostenida con una velocidad de liberación alterada que comprende las etapas de:
- 30 formar una fase dispersa que comprende un agente activo específico y un polímero;
mezclar la fase dispersa y una fase acuosa continua para formar una dispersión de micropartículas que comprende micropartículas que son suficientemente sólidas para ser filtrables usando un filtro de fibra hueca suspendido en la fase continua; y
añadir una composición de dilución a la dispersión de micropartículas que comprende micropartículas que son suficientemente sólidas para ser filtrables usando un filtro de fibra hueca para producir una micropartícula de liberación sostenida que tiene una velocidad de liberación diferente a la velocidad de liberación de una micropartícula de liberación sostenida no tratada;
- 35 en el que el volumen de la composición de dilución es al menos el 50 % del volumen de la fase continua.
6. El procedimiento de la reivindicación 5, en el que el agente activo específico es leuprolida, la leuprolida se disuelve en el polímero y, en el que el volumen de la composición de dilución es al menos el 200 % del volumen de la fase continua, preferentemente en el que la fase continua comprende un disolvente, y en el que la composición de dilución se añade a la porción de fase continua hasta que el disolvente tiene una concentración de menos de aproximadamente 5000 ppm del disolvente.
- 40 7. El procedimiento de la reivindicación 5,
- en el que (a) el agente activo específico es octreótido, y en el que el volumen de la composición de dilución es al menos el 100 % del volumen de la fase continua, o
- 45 en el que (b) el agente activo específico es risperidona.
8. El procedimiento de la reivindicación 5, en el que el procedimiento se realiza de forma continua.
9. El procedimiento de la reivindicación 5, en el que las micropartículas que son suficientemente sólidas para ser filtrables usando un filtro de fibra hueca, se forman en aproximadamente 2 a aproximadamente 30 segundos después de que la fase dispersa se mezcle con la fase continua, y en el que las micropartículas están expuestas a la composición de dilución durante un período de tiempo medido.
- 50 10. El procedimiento de la reivindicación 5, en el que la composición de dilución es suficiente para diluir la fase continua y anular los efectos adversos del aumento del tamaño de un lote de la composición de liberación sostenida.

11. Un procedimiento de control de una velocidad de liberación de una composición de liberación sostenida que comprende las etapas de:

- 5 formar la fase dispersa que comprende el agente activo específico y el polímero, en el que el agente activo específico es leuprolida y la leuprolida se disuelve en el polímero,
mezclar la fase dispersa con la fase continua en un mezclador para formar la dispersión de micropartículas;
añadir una cantidad medida de la composición de dilución a la dispersión de micropartículas después de que se
10 hayan formado las micropartículas, en el que las micropartículas formadas son suficientemente sólidas para ser filtrables usando un filtro de fibra hueca;
en el que la cantidad de la composición de dilución es suficiente para alterar la velocidad de liberación de la leuprolida;
y en el que el volumen de la composición de dilución es al menos el 50 % del volumen de la fase continua.

12. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que la fase continua comprende un disolvente y la cantidad de la composición de dilución añadida es suficiente para diluir el disolvente en la fase continua a menos de aproximadamente 5000 ppm.

- 15 13. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que la dispersión de micropartículas se mantiene en un mezclador durante un período de tiempo definido antes de transferirse a un primer recipiente.

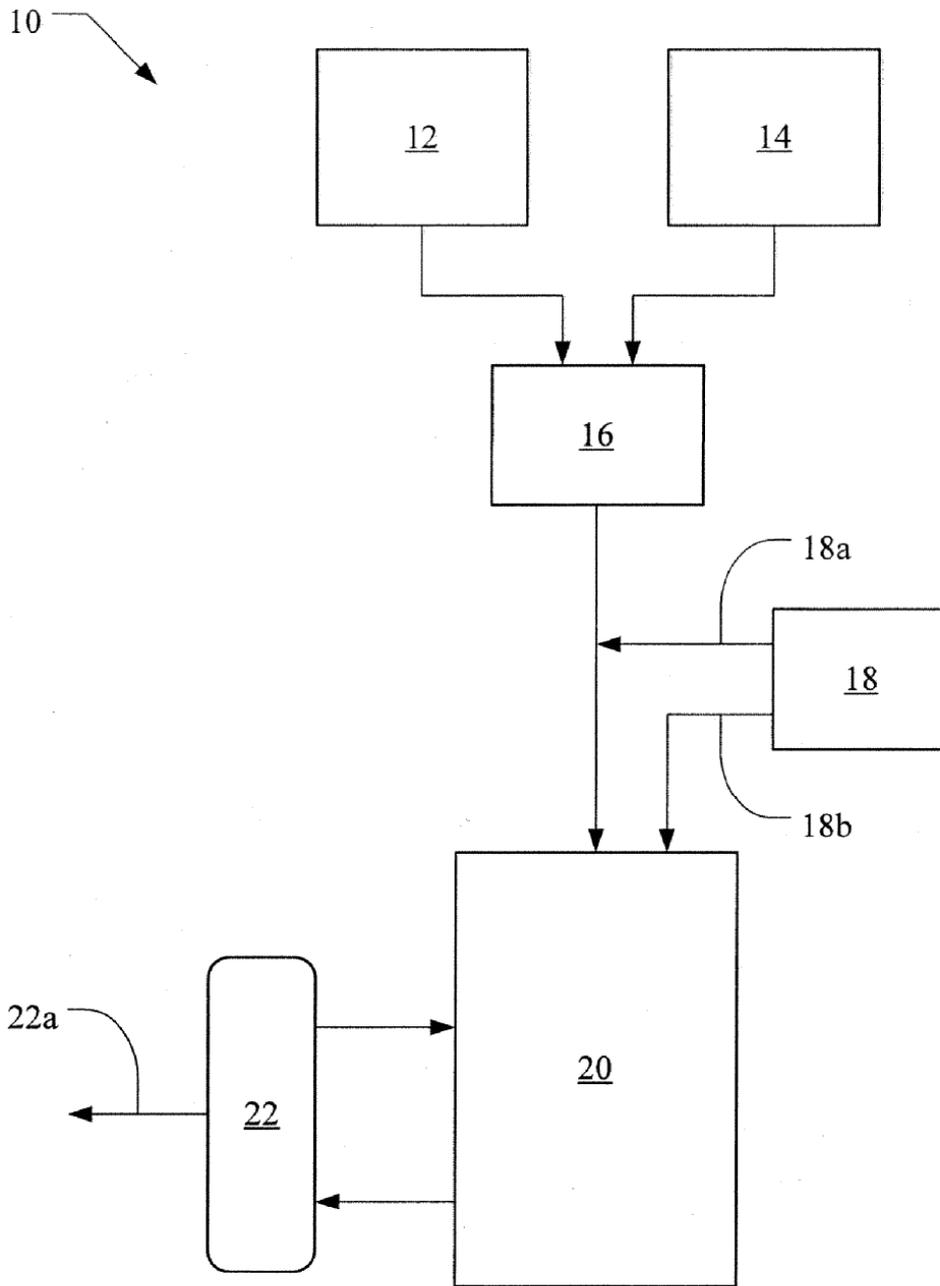


FIG. 1

NIVEL DE LEUPROLIDA EN SUERO DE RATAS QUE RECIBIERON 0H8340 Y 0C3542 A UNA DOSIS DE 22,5 mg/kg (DATOS INICIALES DE 2 SEMANAS)

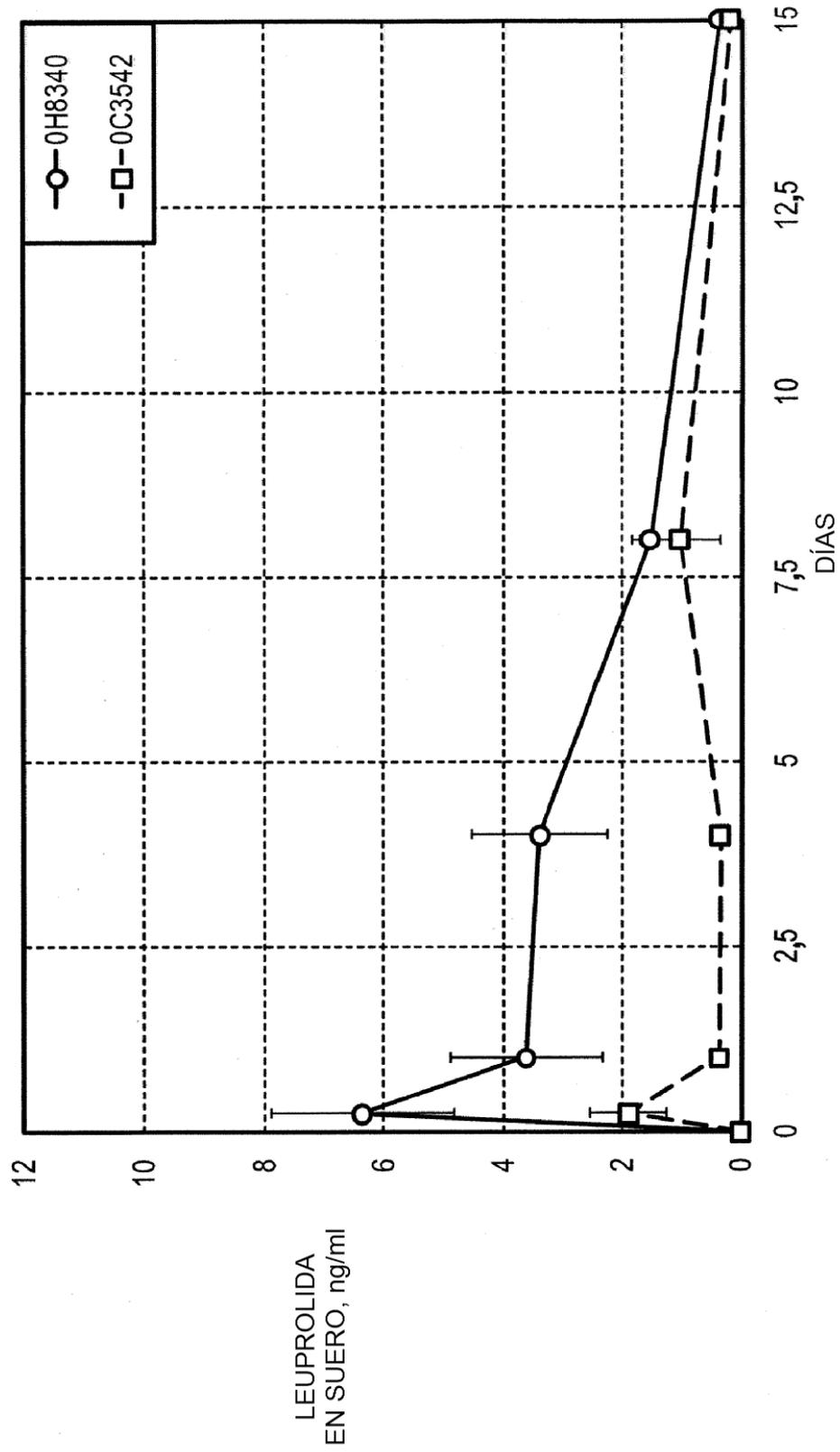


FIG. 2

NIVEL DE LEUPROLIDA EN SUERO DE RATAS QUE RECIBIERON 0E5103
Y 0D4022 A DOSIS DE 22,5 mg/kg (DATOS INICIALES DE 2 SEMANAS)

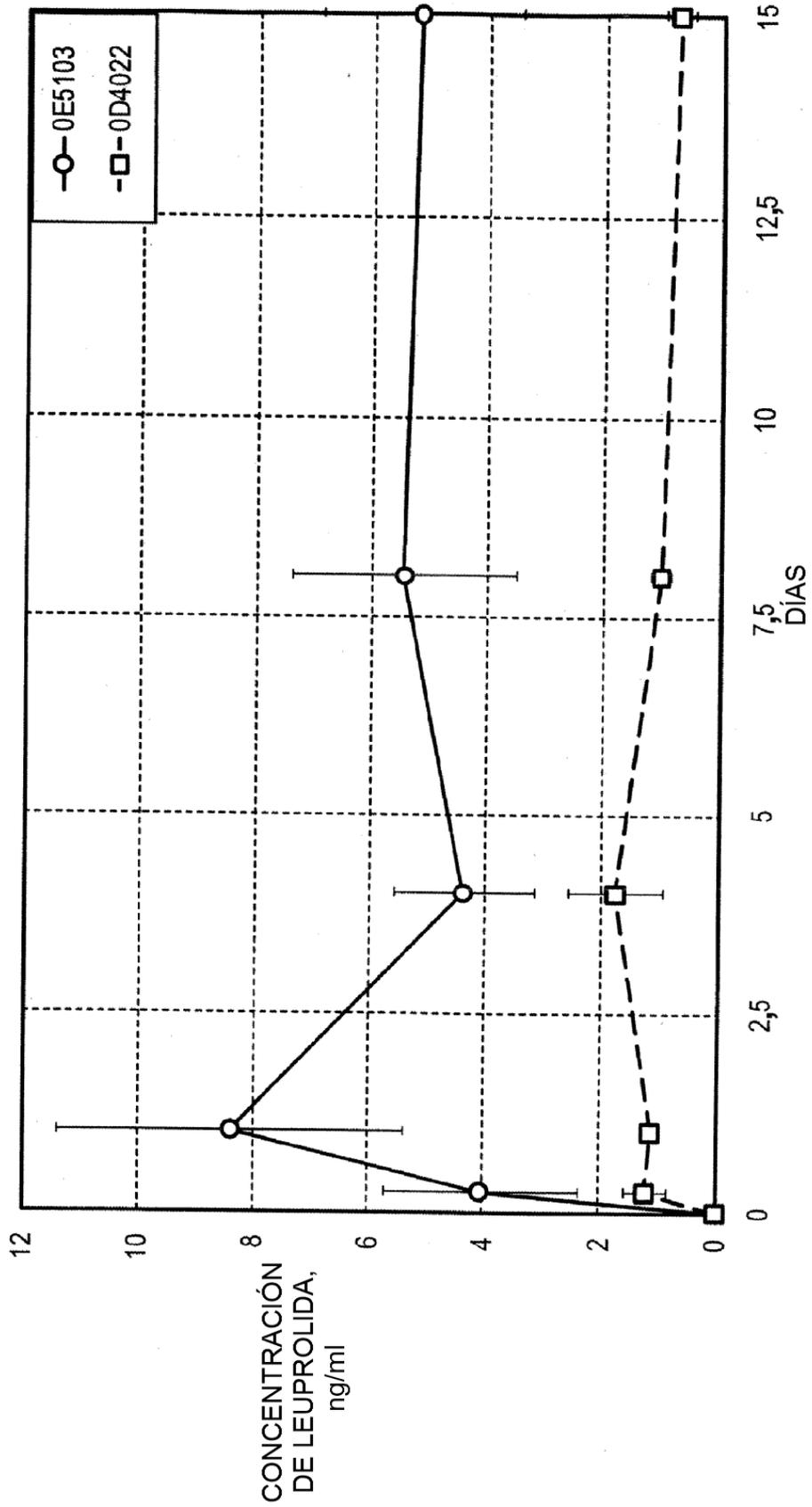


FIG. 3

LIBERACIÓN DE LEUPROLIDA EN PBS A 37 °C A PARTIR DE LOTES DE MICROESFERAS
DE GC071304, GC060304, Y GC061104

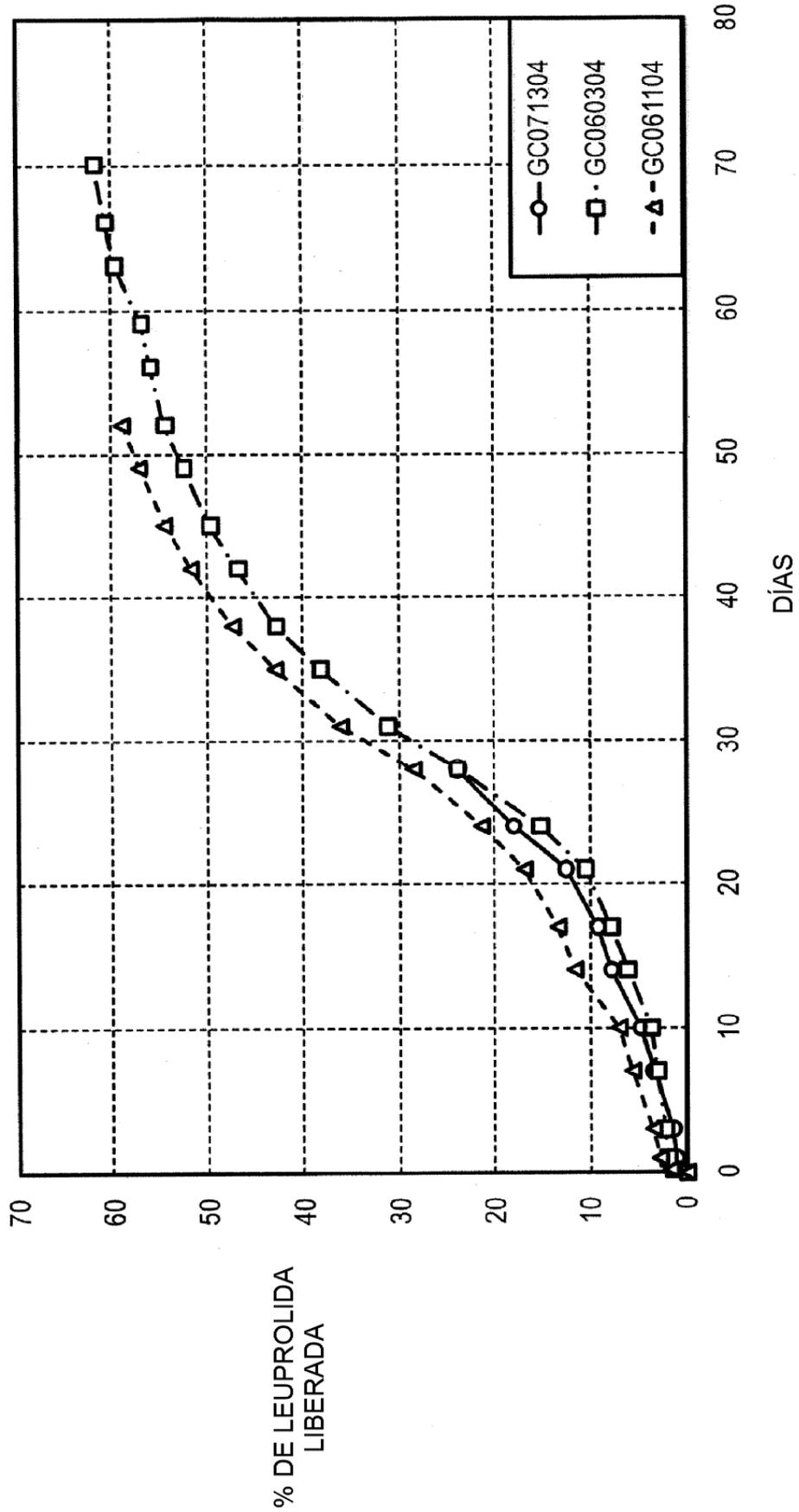


FIG. 4

LIBERACIÓN DE LEUPROLIDA EN PBS A 37 °C A PARTIR
DE GC071404 Y GC090304

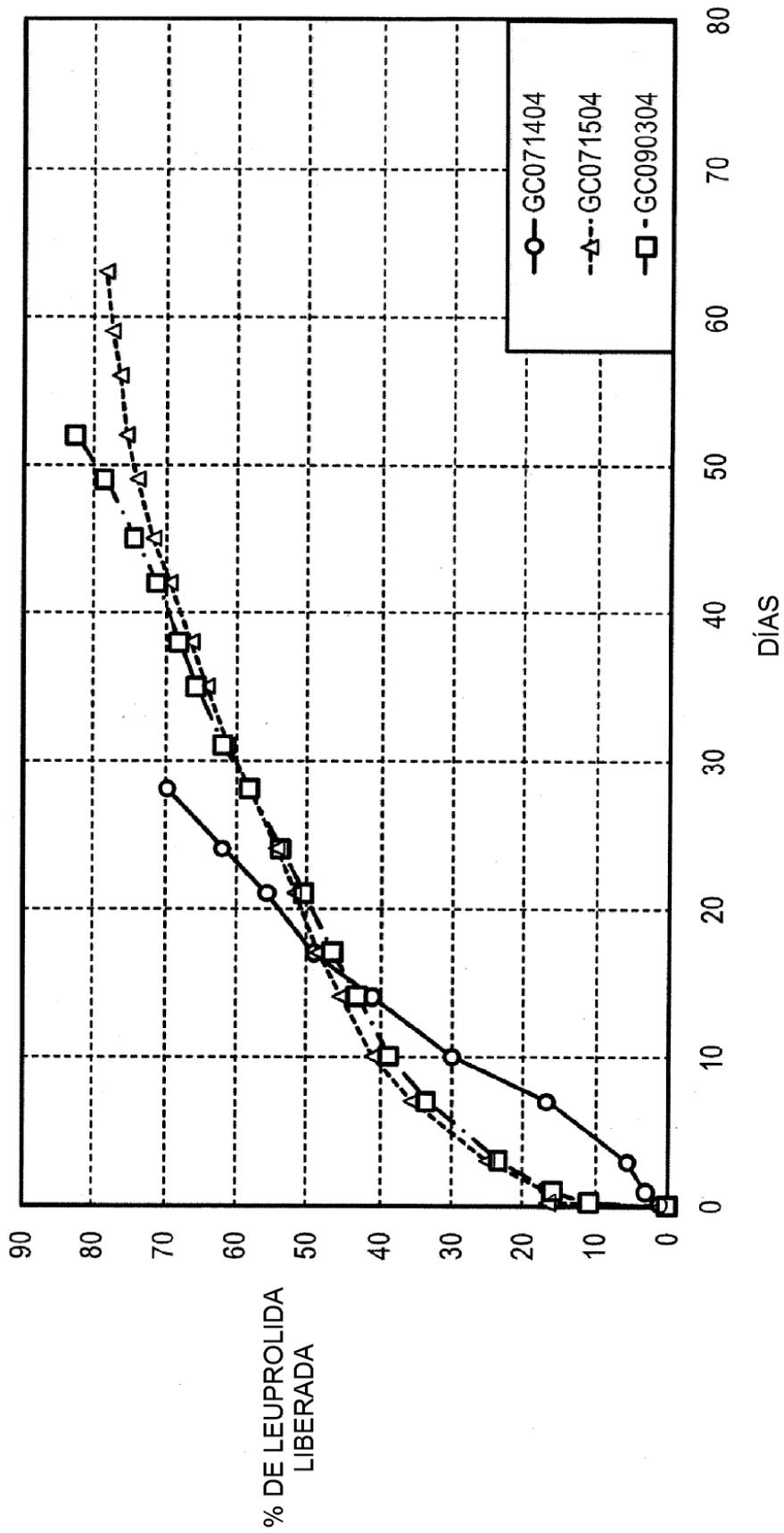


FIG. 5

LIBERACIÓN DE LEUPROLIDA BAJO CONDICIONES DE LIBERACIÓN DEL FÁRMACO
ACELERADAS (55 °C EN TAMPÓN DE FOSFATO Y CITRATO)
A PARTIR DE GC071304, GC060304 Y GC061104

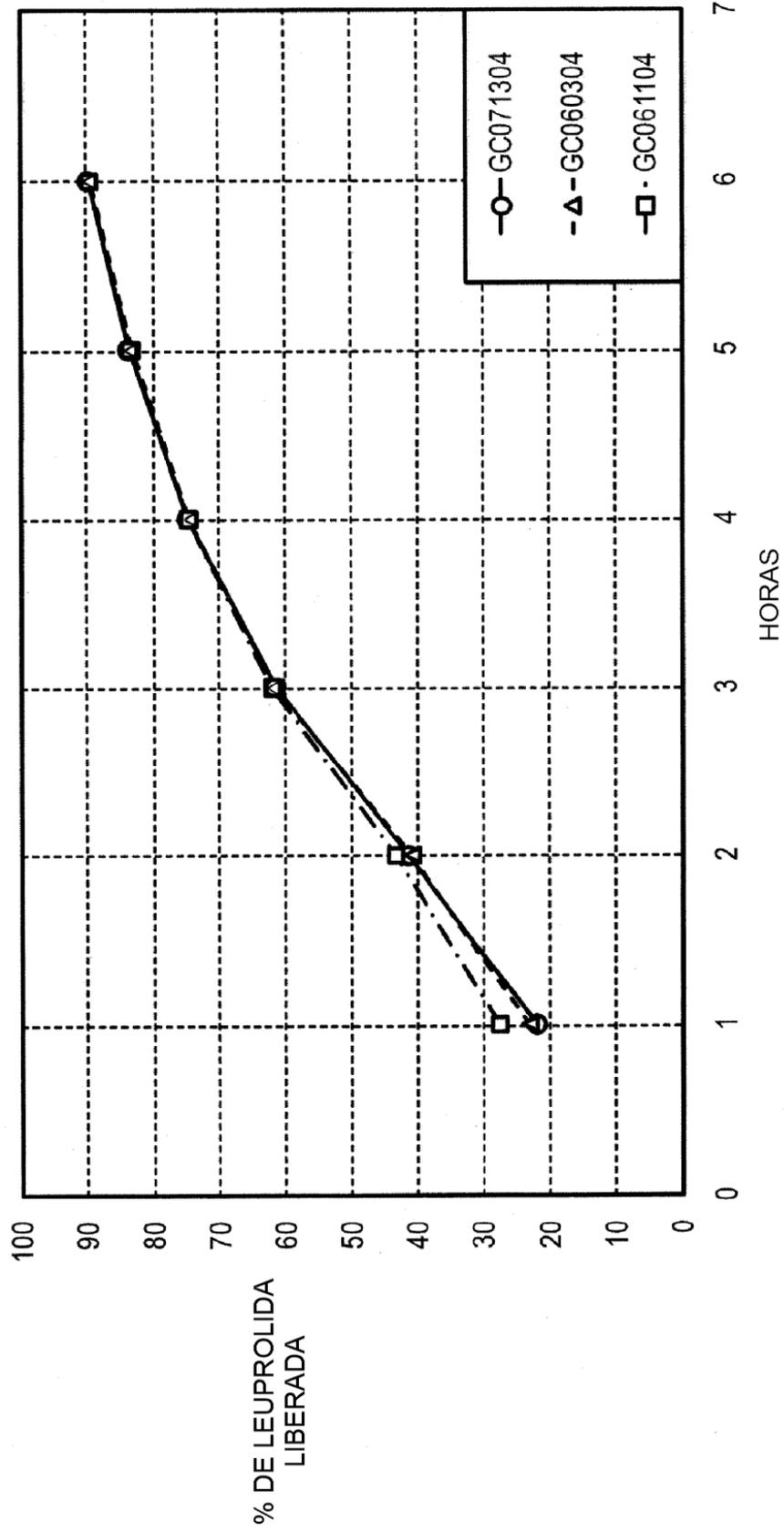


FIG. 6

LIBERACIÓN DE LEUPROLIDA EN CONDICIONES DE LIBERACIÓN ACELERADA
(55 °C EN TAMPÓN DE FOSFATO Y CITRATO) A PARTIR DE GC071404, GC071504 Y GC090304

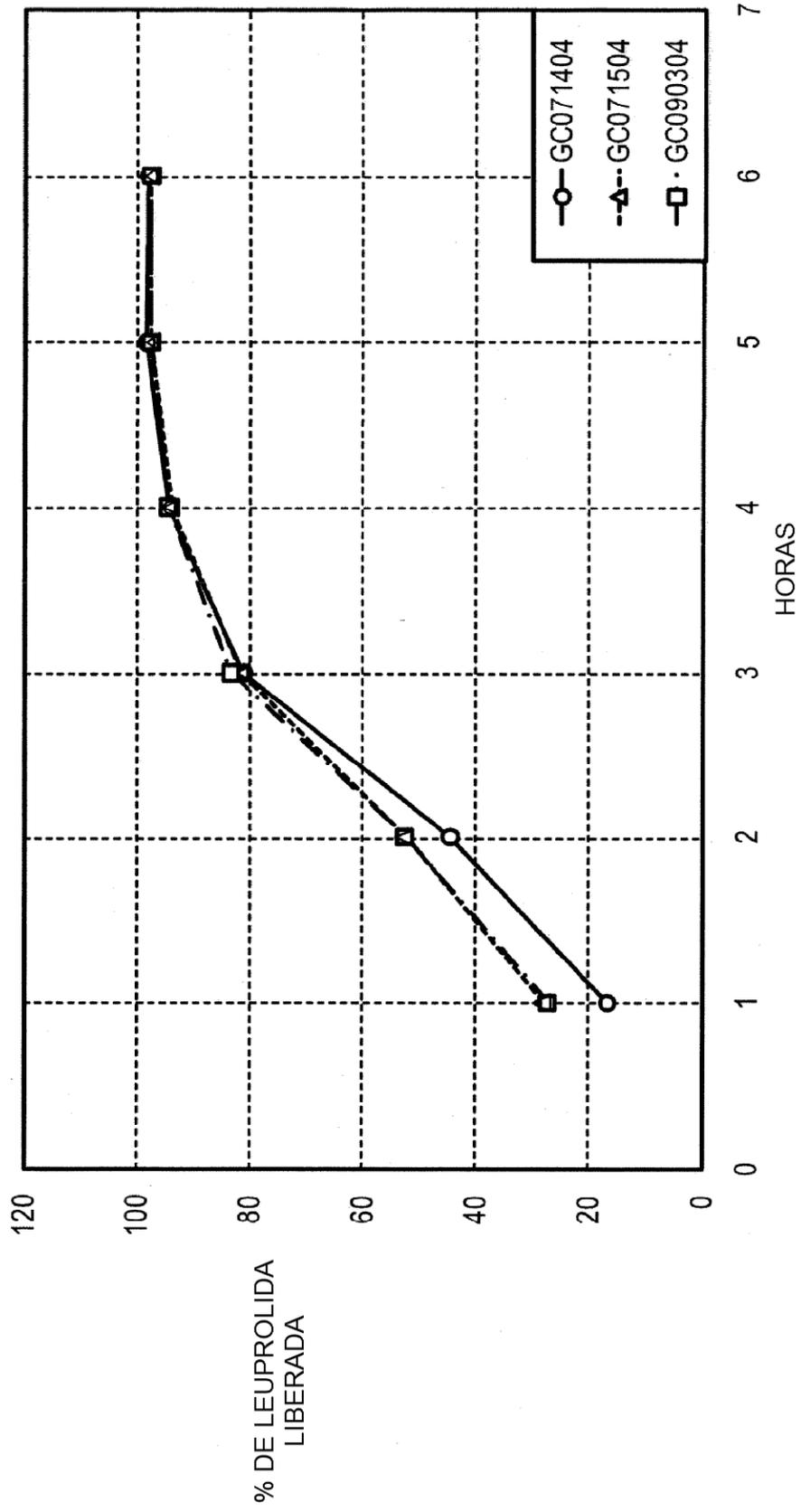


FIG. 7

NIVEL DE LEUPROLIDA EN SUERO PARA LAS PRIMERAS DOS SEMANAS EN RATAS QUE RECIBIERON 0A0307 Y 0E5103 A DOSIS DE 22,5 mg/kg

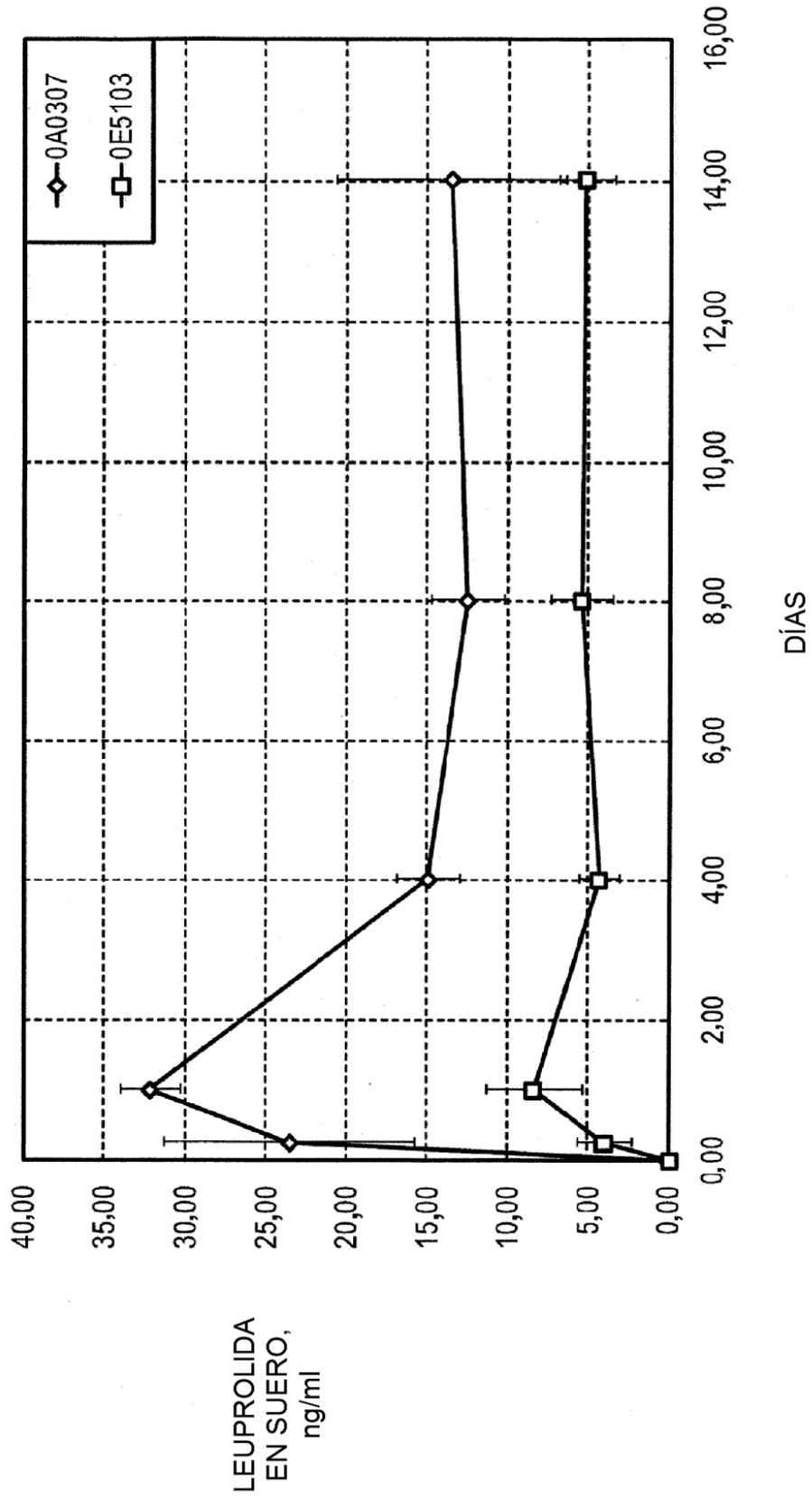


FIG. 8

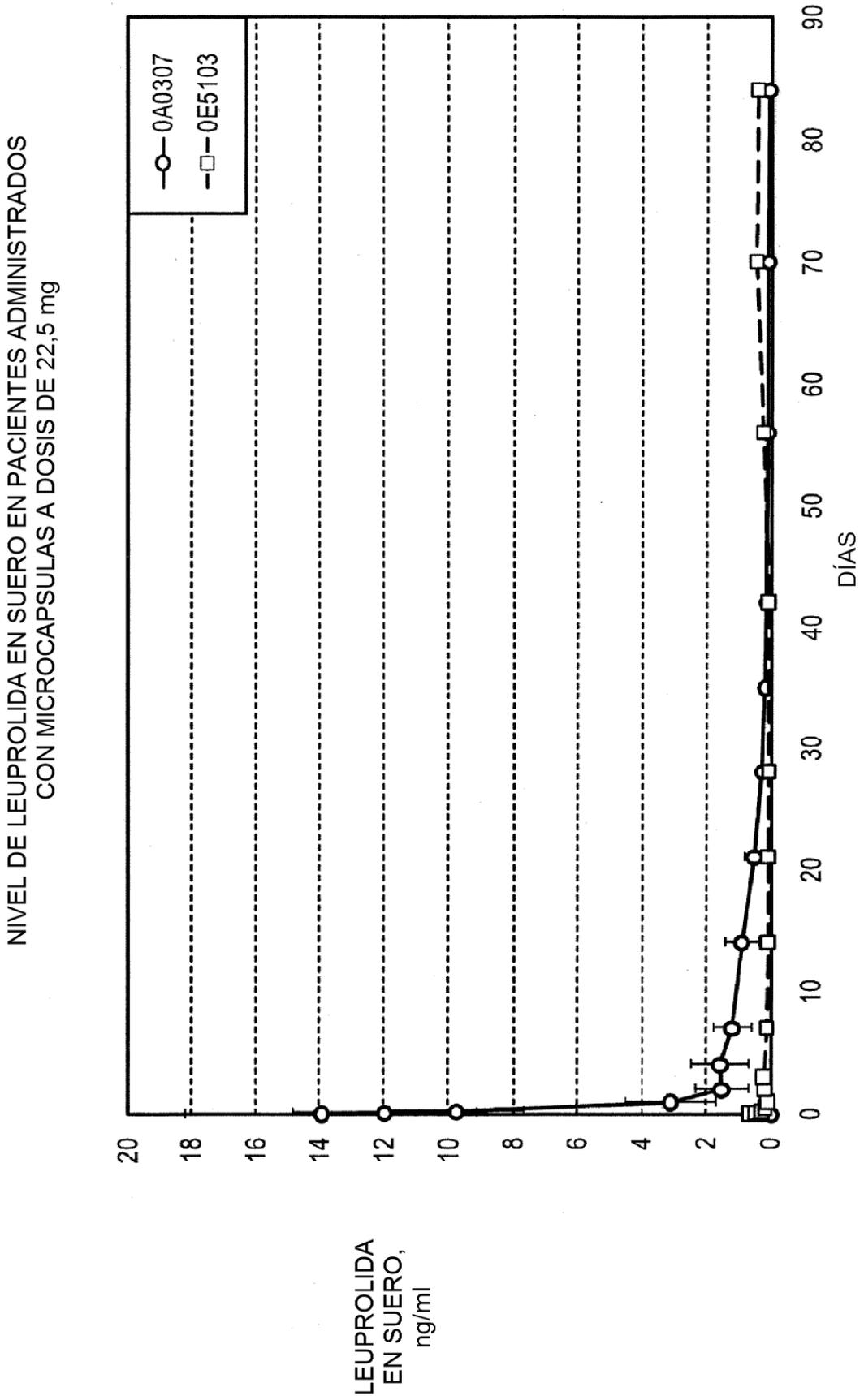


FIG. 9

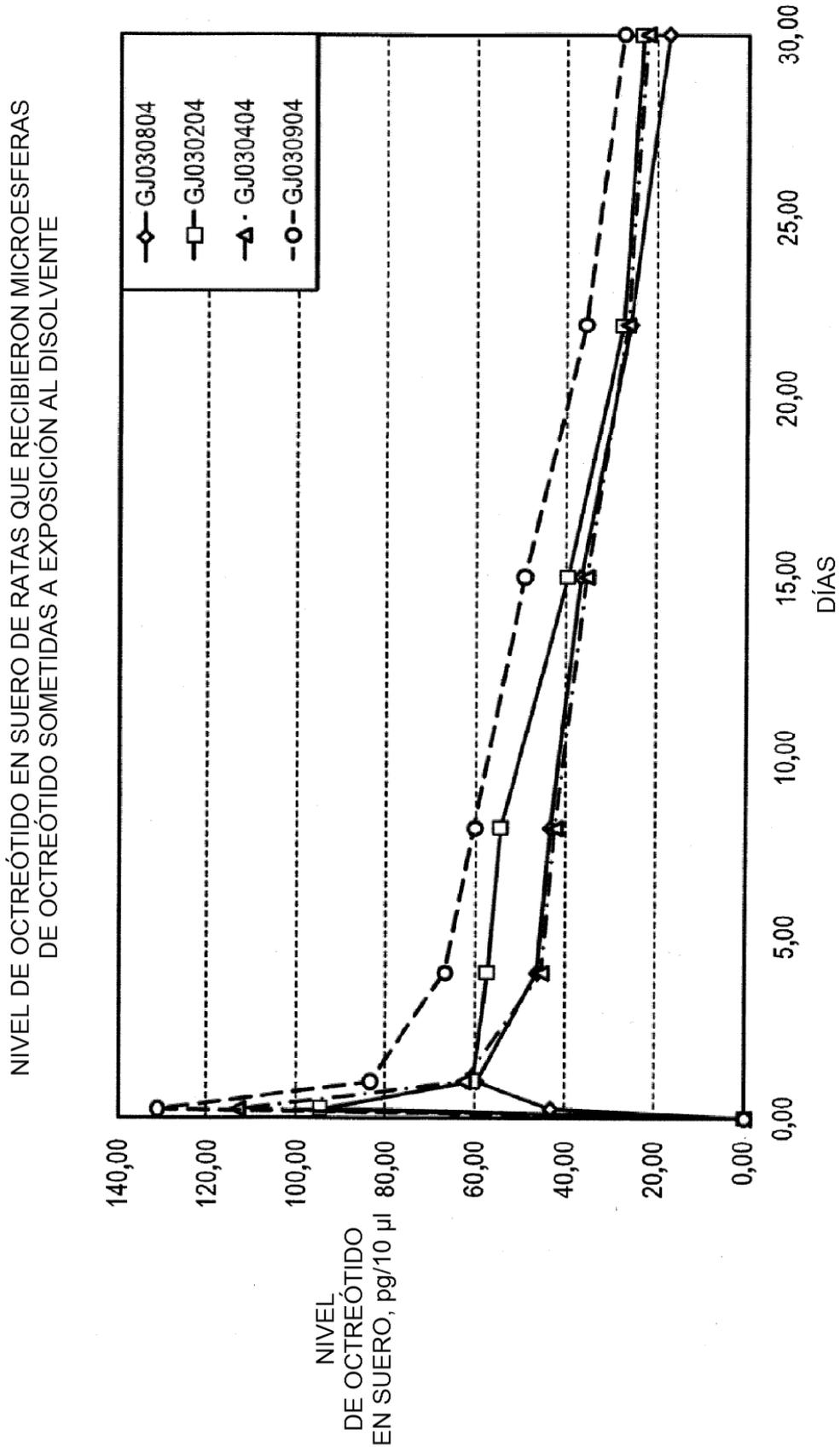


FIG. 10