



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 281 509**

51 Int. Cl.:

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

B01J 2/04 (2006.01)

B05B 7/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02715546 .4**

86 Fecha de presentación : **22.01.2002**

87 Número de publicación de la solicitud: **1357901**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **05.11.2003**

54 Título: **Proceso para preparar partículas.**

30 Prioridad: **26.01.2001 GB 0102075**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.10.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.10.2007

73 Titular/es: **AstraZeneca AB.**
151 85 Södertälje, SE

72 Inventor/es: **Sundholm, Goran, Eric;**
Demirbaker, Mustafa y
Moshashae, Saeed

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

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

Proceso para preparar partículas.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un proceso para preparar partículas de una sustancia que utiliza una técnica anti-disolvente que opera en condiciones supercríticas o subcríticas, más particularmente a un proceso para preparar partículas que tienen un diámetro menor que 10 micrómetros de una proteína o polipéptido que utiliza la dispersión mejorada en solución por un proceso de fluidos supercríticos (SEDSTM).

Antecedentes de la invención

Los fluidos supercríticos tienen propiedades singulares, dado que combinan el poder disolvente semejante a los líquidos con propiedades de transporte semejantes a los gases. Dichos fluidos tienen una gran compresibilidad en comparación con los gases ideales. Por esta razón, un cambio pequeño en temperatura o presión cerca de los valores críticos dará como resultado grandes cambios en la densidad del fluido y por consiguiente en su poder disolvente. Estas características pueden utilizarse para proporcionar propiedades de solvatación muy controlables.

El dióxido de carbono es el fluido supercrítico más generalmente utilizado, debido a los parámetros críticos favorables ($T_c = 31,1^\circ\text{C}$, $P_c = 73,8$ bar), coste y ausencia de toxicidad.

Dos principios para la precipitación de partículas con fluidos supercríticos han sido desarrollados, la Expansión Rápida de Soluciones Supercríticas (RESS) y la precipitación con Anti-Disolventes Supercrítico (SAS) o con Anti-Disolvente Gaseoso (GAS).

En el proceso RESS, se utiliza la sensibilidad del poder disolvente de un fluido supercrítico frente a pequeños cambios de presión para desencadenar una precipitación mecánica de partículas. Sin embargo, RESS no es adecuado para uso con sustancias tales como péptidos y proteínas que tienen baja solubilidad en el fluido supercrítico.

Los procesos SAS o GAS pueden utilizarse para precipitar partículas de una sustancia que es insoluble en el fluido supercrítico, con tal que el fluido supercrítico sea miscible con el líquido en el cual se disuelve la sustancia.

Los documentos WO 95/01221, WO 96/00610, WO 98/36825, WO 99/44733, WO 99/59710, WO 01/03821 y WO 01/15664 describen el proceso de Dispersión Mejorada en Solución por Fluidos Supercríticos (SEDSTM), que, además de las propiedades anti-disolvente del fluido supercrítico, lleva acoplada una función fisicomecánica. La técnica SEDSTM implica un flujo continuo de una solución que contiene la sustancia a precipitar y el fluido supercrítico, co-introducido a través de una tobera coaxial en una vasija de formación de partículas que conduce a una dispersión y mezcla sustancialmente simultáneas de la solución, sobresaturación rápida y nucleación y formación de partículas. Por variación de las condiciones de proceso utilizadas en el proceso SEDSTM, pueden controlarse las propiedades de las partículas resultantes.

La precipitación de proteínas utilizando dióxido de carbono supercrítico se ha visto limitada principalmente hasta la fecha a disolver las partículas en disolventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido (DMSO) y N,N-dimetilformamida (DMF). Sin embargo, el uso de tales disolventes para disolver la proteína puede dar como resultado el desplegamiento o la desnaturalización de la proteína. Esto puede dar lugar a una pérdida de efecto terapéutico (Winters *et al.*, Precipitation of Proteins in Supercritical Carbon Dioxide, 1996, J. Pharm Sci, 85, 586-594, Jackson *et al.*, Beware of Proteins in DMSO, Biochem et Biophysical Acta 1078, 231-235).

Adicionalmente, la rápida extracción del disolvente orgánico por el fluido supercrítico tiende a promover aglomeración de las partículas a medida que las mismas precipitan de la solución, debido a la nucleación y crecimiento rápido de las partículas.

La precipitación de proteínas a partir de una solución acuosa evitaría el deterioro de la proteína causado por la presencia de disolventes orgánicos tales como DMSO. Sin embargo, la deficiente solubilidad del dióxido de carbono supercrítico en soluciones acuosas y viceversa es un impedimento importante a la utilización de técnicas anti-disolvente tales como SEDSTM con soluciones acuosas de muchas sustancias tales como proteínas. El uso de técnicas anti-disolvente tales como SEDSTM para precipitar partículas de una solución acuosa da como resultado la formación de partículas grandes en comparación con la precipitación a partir de disolventes tales como DMSO. La formulación de partículas grandes es indeseable cuando, por ejemplo, las partículas precipitadas han de utilizarse como medicamento pulmonar que es inhalado por los pacientes. En tales casos, las partículas tienen preferiblemente un diámetro de partícula menor que 10 micrómetros.

El documento WO 96/00610 describe la preparación de partículas de proteína a partir de una solución de la proteína en agua y etanol utilizando la técnica SEDSTM. En el documento WO 96/00610, se utiliza una tobera co-axial de tres canales para mezclar una solución acuosa de la proteína con el etanol inmediatamente antes de la dispersión en el dióxido de carbono supercrítico. Se cree que la presencia de etanol mejora la coincidencia de solubilidad entre dióxido de carbono y agua y mejora con ello la eficiencia del proceso SEDSTM.

El documento WO 99/52507 describe un proceso para incorporar una sustancia activa en una matriz portadora en el cual se prepara una emulsión estable de agua en aceite que comprende una fase continua no acuosa y una fase acuosa discontinua, estando presente la sustancia activa en la fase acuosa discontinua y estando presente el portador en la fase acuosa o en la fase no acuosa. Se forman luego partículas que comprenden la sustancia activa y el portador poniendo en contacto la emulsión estable de agua en aceite con un fluido gaseoso antidisolvente utilizando, por ejemplo, la técnica SEDS™.

El documento WO 97/14407 describe un proceso para la preparación de partículas de fármaco insolubles en agua que tienen un tamaño medio de partícula de 100 nm a 300 nm por pulverización de una solución del fármaco en un disolvente orgánico en un fluido comprimido gaseoso, líquido o super-crítico que contiene un modificador de la superficie disuelto en una fase acuosa. Se indica que la presencia de la fase acuosa reduce la aglomeración de las partículas precipitadas.

El documento US 6.299.906 describe un proceso en el cual se disuelve un fármaco en dimetiléter comprimido que contiene opcionalmente un modificador de la superficie y la solución resultante se pulveriza en un anti-disolvente.

El documento WO 95/01221 describe una vasija de formación de partículas que permite que la formación de partículas ocurra en un entorno completamente cerrado, en donde la co-introducción del fluido supercrítico y una solución o suspensión fluida de las partículas requeridas se introduce en direcciones de flujo paralelas a través de una tobera que tiene dos o tres conductos coaxiales. Se exponen también métodos y aparatos para la recogida del producto particulado de la vasija de formación y reciclado de uno o más de los componentes de nuevo a la vasija de formación.

El documento US 5.639.441 describe el uso de una sustancia disuelta o suspendida en un fluido en el cual el fluido es al menos parcialmente inmiscible con un segundo fluido supercrítico. Después de la mezcla de los dos fluidos y reducción rápida de la presión, se forma una dispersión suspendida en el aire de dicha sustancia.

El documento WO 00/30613 describe un proceso para la producción de partículas cristalinas que contienen una sustancia en forma solvatada. Este proceso comprende disolver la sustancia en un primer disolvente, introducir en condiciones supercríticas o subcríticas en un aparato la solución que contiene la sustancia con un anti-disolvente y un segundo disolvente, que es agua y es miscible con dicho anti-disolvente, y recuperar las partículas esencialmente cristalinas formadas.

Aunque el uso de agua como disolvente es deseable para muchas sustancias tales como proteínas, trazas de agua en las partículas precipitadas pueden dar como resultado la formación de aglomerados de partículas fuertemente unidas. Esto es indeseable, dado que tales aglomerados son difíciles de romper y, de hecho, dan lugar a una distribución amplia del tamaño de partícula. La formación de aglomerados fuertemente unidos es una desventaja particular cuando el producto particulado está diseñado para ser utilizado como medicamento inhalable. En estas aplicaciones, se requiere la formación de pequeñas partículas (preferiblemente submicrométricas) de un tamaño uniforme a fin de asegurar una dosis exacta del medicamento. Por ello, cualesquiera aglomerados de partículas que se formen deberían estar flojamente unidos a fin de que los mismos puedan romperse fácilmente antes de la administración a un paciente (por ejemplo mediante el uso de un inhalador). Adicionalmente, la aglomeración de las partículas precipitadas puede causar obstrucciones en los sistemas de filtración utilizados en el aparato SEDS™, dando lugar a una presión excesiva en el aparato. La presencia de tales aglomerados impide por consiguiente el desarrollo de un proceso de precipitación continuo/extendido.

La deficiente solubilidad del agua en fluidos supercríticos tales como dióxido de carbono da también como resultado una extracción relativamente lenta del agua y por consiguiente una precipitación lenta de las partículas. Tales condiciones favorecen la formación de partículas grandes ($> 1 \mu\text{m}$).

Existe por tanto necesidad de un proceso que permita la formación de partículas (especialmente partículas submicrométricas de tamaño uniforme) a partir de un medio acuoso que evite algunas o todas las dificultades descritas anteriormente.

Sumario de la invención

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un proceso para preparar partículas de una sustancia que comprende los pasos de acuerdo con la reivindicación 1.

Descripción detallada de la invención

Sorprendentemente, se ha encontrado que la presencia del modulador en el primer líquido proporciona partículas sub-micrométricas de un tamaño uniforme. El presente proceso reduce también la formación de aglomerados de partículas unidas fuertemente en comparación con procesos en los cuales está ausente el modulador. La reducción de la aglomeración permite que el proceso de acuerdo con la presente invención se realice como un proceso continuo/extendido por reducción del riesgo de sobre-presurización del aparato utilizado en la técnica de fluido gaseoso anti-disolvente causada, por ejemplo, por la obstrucción del filtro por aglomerados. La reducción de la formación de aglomerados fuertemente unidos es ventajosa cuando las partículas se administran a un paciente por inhalación, dado

ES 2 281 509 T3

que es más fácil controlar exactamente la dosis proporcionada y la aglomeración reducida conduce a una dispersión mejorada de las partículas en el pulmón.

Preferiblemente, las partículas tienen un diámetro mediano másico (MMD) menor que $10\text{ }\mu\text{m}$, más preferiblemente menor que $1\text{ }\mu\text{m}$, especialmente de 100 a 900 nm y todavía más especialmente de 200 a 500 nm. El MMD puede determinarse utilizando métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo utilizando un analizador de tamaños de partícula LS Coulter.

Las partículas pueden encontrarse en forma cristalina, semi-cristalina o amorfa.

Las partículas preparadas por el proceso de acuerdo con la presente invención son de un tamaño uniforme. Así pues, las partículas exhiben generalmente una distribución estrecha de tamaños de partícula.

Modulador

El modulador tiene una solubilidad en agua (s) que decrece cuando aumenta la temperatura (T), es decir $ds/dT < 0$. En particular, la solubilidad en agua del modulador decrece con la temperatura a lo largo de la temperatura de operación del proceso de acuerdo con la presente invención.

De acuerdo con ello, moduladores adecuados son aquéllos que tienen una solubilidad en agua que decrece a medida que aumenta la temperatura en el intervalo de aproximadamente 10°C hasta la temperatura del segundo líquido utilizado en el paso (b) del proceso. La temperatura del segundo líquido en el paso (b) dependerá del fluido gaseoso anti-disolvente particular y de la técnica anti-disolvente empleada. Cuando el fluido gaseoso anti-disolvente es dióxido de carbono y se utiliza en estado supercrítico, el modulador tiene preferiblemente una solubilidad en agua que decrece a medida que la temperatura aumenta desde 10 a 60°C , más preferiblemente desde 30 a 50°C .

El primer líquido que comprende agua, la sustancia y el modulador tiene una temperatura de punto de enturbiamiento que es inferior o igual a la temperatura a la cual se pone en contacto el primer líquido con el segundo líquido utilizado en el paso (b) del proceso de acuerdo con la presente invención.

La temperatura del punto de enturbiamiento es la temperatura a la cual una solución que contiene el modulador sufre una separación de fases causada porque el modulador llega a hacerse insoluble a medida que aumenta la temperatura de la solución. A la temperatura del punto de enturbiamiento, una solución del modulador llegará a enturbiarse debido a la separación de fases del modulador de la solución. En el caso de los moduladores adecuados para uso en el presente proceso, el punto de enturbiamiento se encontrará típicamente a una temperatura que es mayor que la utilizada para preparar el primer líquido. De acuerdo con ello, el modulador se disolverá inicialmente en el primer líquido, sin embargo, después de calentamiento del primer líquido y antes del contacto con el segundo líquido en el paso (b) del proceso, el primer líquido llegará a enturbiarse cuando su temperatura excede del punto de enturbiamiento debido a que el parámetro ds/dT del modulador es < 0 y tiene lugar separación de fases del modulador del primer líquido. Después de la separación de fases, el primer líquido comprende una fase acuosa continua que contiene la sustancia, estando dispersadas en dicha fase acuosa continua regiones discretas de modulador. Es la presencia de las regiones discretas de modulador en la fase acuosa continua lo que causa el enturbiamiento del primer líquido.

La temperatura del punto de enturbiamiento del primer líquido puede determinarse utilizando técnicas de rutina. Por ejemplo, una muestra del primer líquido puede introducirse en una vasija de vidrio adecuada y calentarse la solución gradualmente (por ejemplo a $5^\circ\text{C}/\text{min}$). Se observa la muestra durante el calentamiento, y el punto de enturbiamiento es la temperatura a la cual la solución comienza a enturbiarse o se vuelve “nublada”. La observación puede realizarse a simple vista o, alternativamente, utilizando un aparato de monitorización adecuado, por ejemplo por monitorización de la transmisión de la luz a través de la muestra, o por dispersión láser. La determinación de la temperatura del punto de enturbiamiento puede realizarse sobre una pequeña muestra del primer líquido, calentando por ejemplo un tubo capilar que contiene una muestra del primer líquido en una platina caliente de un microscopio mientras que se observa el líquido durante el calentamiento a través de un microscopio.

Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que la separación de fases resultante del calentamiento del primer líquido a una temperatura que es igual o superior a la temperatura del punto de enturbiamiento da como resultado la formación de regiones de fase rica en modulador en la fase acuosa continua que contiene la sustancia en el primer líquido. Después del contacto con el segundo líquido, se cree que la presencia de las fases ricas en modulador aumenta el contacto superficial entre el segundo líquido y la fase acuosa que contiene la sustancia, promoviendo con ello la formación de pequeñas subunidades acuosas que contienen la sustancia, a partir de las cuales se precipitan las partículas de la sustancia por extracción de agua en el segundo líquido.

El modulador es un trialquiléster de ácido cítrico. El trialquiléster es preferiblemente un éster formado entre ácido cítrico y un alcohol, preferiblemente un alcohol C_{1-6} , más preferiblemente un alcohol C_{1-4} o especialmente un alcohol C_{2-3} . El alcohol puede ser un alcohol de cadena lineal, de cadena ramificada o cíclico, por ejemplo metanol, propanol, isopropanol, ciclohexanol o (especialmente) etanol. Opcionalmente, el grupo hidroxilo del trialquiléster de ácido cítrico puede estar esterificado con un ácido carboxílico adecuado, por ejemplo ácido acético. Es especialmente preferido que el modulador sea citrato de trietilo.

Pueden utilizarse en el primer líquido mezclas de moduladores con tal que el primer líquido exhiba una temperatura de punto de enturbiamiento.

Convenientemente, el primer líquido tiene una temperatura de punto de enturbiamiento comprendida en el intervalo de 25 a 60°C, tal como 25 a 50°C, dado que esto hace posible que el proceso se conduzca en condiciones relativamente moderadas, permitiendo con ello la utilización del presente proceso para preparar partículas de sustancias que son sensibles a temperaturas altas, por ejemplo ciertas proteínas o compuestos que se degradan cuando se exponen al calor.

La cantidad de modulator presente en el primer líquido puede variar dentro de límites amplios; por ejemplo, la relación en peso de modulator a sustancia puede ser de 50:1 a 1:200, preferiblemente de 50:1 a 1:50. La concentración de modulator utilizada dependerá, necesariamente, de las propiedades del modulator y la sustancia contenida en el primer líquido.

En una realización de la presente invención, el modulator (particularmente citrato de trietilo) está presente en el primer líquido a una concentración igual o mayor que la concentración de la sustancia. Por ejemplo, la relación en peso de modulator a sustancia puede ser de 1:1 a 10:1, tal como de 1:1 a 5:1, convenientemente de 1:1 a 3:1.

En la presente invención, el modulator es soluble en el segundo líquido, dado que se ha encontrado que esto permite la extracción del modulator del primer líquido por contacto con el segundo líquido, produciéndose con ello partículas de la sustancia que están sustancialmente exentas del modulator (conteniendo por ejemplo menos de 1% en peso de modulator, convenientemente menos de 0,5% y preferiblemente menos de 0,1% en peso del modulator).

La expresión “soluble en el segundo líquido” hace referencia a que el modulator tiene una solubilidad en el segundo líquido en las condiciones de operación del proceso en el paso (b) de al menos 0,003 partes por parte del segundo líquido, por ejemplo al menos 0,05 partes por parte del segundo líquido, tal como al menos 0,01 partes por parte del segundo líquido, en donde las partes se expresan en peso. En esta realización, se prefiere que el modulator tenga una solubilidad en el segundo líquido que es igual a, o preferiblemente mayor que, la solubilidad del agua en el segundo fluido en las condiciones de operación del paso (b) del proceso. Se ha encontrado que esto asegura que sustancialmente la totalidad del modulator se extrae junto con el agua en el segundo líquido.

Se prefiere que el peso molecular del modulator (por ejemplo polímero o agente tensioactivo no iónico soluble en agua) sea menor que 1000. Se ha encontrado que los moduladores con un peso molecular menor que 1000 tienen generalmente mejor solubilidad en el fluido gaseoso anti-disolvente, reduciendo con ello la cantidad de modulator presente en las partículas de la sustancia.

Preferiblemente, la sustancia es sustancialmente insoluble en el modulator, dado que esto reduce la posibilidad de que la sustancia se extraiga en el segundo líquido durante el contacto del primer líquido con el segundo líquido. Por “sustancialmente insoluble” se entiende que la sustancia tiene una solubilidad en el modulator en las condiciones de operación del paso (b) del proceso, menor que 0,001 partes por parte del segundo líquido, por ejemplo menor que 0,0001 partes por parte del modulator, en donde las partes se expresan en peso.

Se ha encontrado que, cuando el modulator es citrato de trietilo, el mismo es sustancialmente miscible con ciertos fluidos supercríticos tales como dióxido de carbono (por lo cual se entiende que el citrato de trietilo es miscible, o sustancialmente miscible en todas proporciones en dióxido de carbono supercrítico o que el citrato de trietilo tiene una solubilidad suficiente en el dióxido de carbono en las condiciones de operación para comportarse como si los dos materiales fueran miscibles). Esto da como resultado una extracción muy rápida del citrato de trietilo del primer líquido y proporciona partículas de tamaño sub-micrométrico de la sustancia que están sustancialmente exentas de citrato de trietilo. Esta realización es particularmente útil cuando se requieren partículas esencialmente puras de la sustancia.

Paso (b)

El paso (b) del proceso de la presente invención se realiza utilizando una técnica de fluido gaseoso anti-disolvente. Técnicas de fluido gaseoso anti-disolvente adecuadas incluyen, pero sin carácter limitante, GAS (precipitación con anti-disolvente gaseoso) como se describe, por ejemplo, en Gallagher *et al.*, *Supercritical Fluid Science and Technology*, ACS Symp Ser 406, 1989, pp 334; SEDS™ (una versión modificada de la técnica GAS), ASES (Sistema de Extracción con Disolvente Aerosol), SAS (Anti-Disolvente Supercrítico) como se describe en Tom, J.W. Lim, G-B. Debenedetti, P.G. y Prud'homme, R.K. (1993) Applications of supercritical fluids in the controlled release of drugs. *Supercritical Engineering Science, American Chemical Society*, 240-256; y PCA (Precipitación con Anti-disolvente fluido Comprimido) como se describe en Dixon, D.J. Jonston, K.P. Bodmeier, R.A. (1993) Polymeric materials formed by precipitation with a compressed fluid anti-solvent, *AIChE Journal*, 39, 127-139.

En una realización preferida, el paso (b) se realiza utilizando un proceso SEDS™. Cuando se utiliza un proceso SEDS™ se emplea un aparato que comprende una vasija de formación de partículas con medios para controlar la temperatura y la presión de dicha vasija, junto con un medio para co-introducción en dicha vasija del segundo líquido que comprende el fluido gaseoso y el disolvente orgánico, y el primer líquido, de tal modo que la dispersión y extracción del agua del primer líquido ocurren de modo sustancialmente simultáneo por la acción del fluido gaseoso anti-disol-

vente. Un aparato adecuado para el proceso SEDS™ se describe en los documentos WO 95/01221, WO 96/00610, WO 98/36825, WO 99/44733, WO 99/59710, WO 01/03821 y WO 01/15664.

El contacto entre el primer líquido y el disolvente orgánico puede ocurrir de modo sustancialmente simultáneo a o ligeramente anterior a la dispersión y extracción, por el fluido gaseoso anti-disolvente, por ejemplo empleando el aparato multicanal de inyección co-axial descrito en el documento WO 96/00610. Alternativamente, el primer líquido puede ponerse en contacto directamente con el segundo líquido que comprende el fluido gaseoso anti-disolvente y el disolvente orgánico utilizando el aparato descrito en la Figura 1 del documento WO 95/01221. La temporización de la puesta en contacto entre el primer líquido, el disolvente orgánico y el fluido gaseoso anti-disolvente dependerá de la naturaleza de la sustancia, y de la naturaleza de las propiedades deseadas del producto final particulado del proceso.

Cuando la sustancia es sensible al contacto con un disolvente orgánico (por ejemplo una proteína) es deseable que el primer líquido se ponga en contacto directamente con el segundo líquido que comprende el fluido gaseoso anti-disolvente y el disolvente orgánico. Alternativamente, el primer líquido puede ponerse en contacto con el disolvente orgánico inmediatamente antes del contacto con el fluido gaseoso anti-disolvente utilizando, por ejemplo, una tobera multicanal descrita en el documento WO 96/00610. Esto minimiza el tiempo de contacto entre la sustancia y el disolvente orgánico, minimizando con ello cualquier degradación de la sustancia.

El término “fluido gaseoso” utilizado en esta memoria hace referencia a un material en sus estados supercrítico y subcrítico, así como gases comprimidos.

El término “anti-disolvente” utilizado en esta memoria hace referencia a la sustancia que es sustancialmente insoluble en el fluido gaseoso anti-disolvente. Generalmente, es deseable que la sustancia tenga una baja solubilidad en el segundo líquido a fin de minimizar la pérdida de la sustancia en el fluido gaseoso anti-disolvente y el disolvente orgánico, siendo este el caso particularmente cuando la sustancia es una sustancia farmacológicamente activa. Convenientemente, la sustancia tiene una solubilidad en el segundo líquido menor que 0,001 partes por parte del segundo líquido, preferiblemente menos de 0,0001 partes por parte del segundo líquido en las condiciones de operación del paso (b) del proceso, en donde las partes se expresan como parte en peso.

El término “fluido supercrítico” utilizado en esta memoria hace referencia a un material que se encuentra en su estado supercrítico, es decir por encima de su presión crítica (P_c) y temperatura crítica (T_c) simultáneamente. En la práctica, la presión del fluido está comprendida probablemente en el intervalo de $(1,01-7,0)P_c$, y su temperatura en el intervalo $(1,01-4,0)T_c$.

El término “fluido subcrítico” hace referencia a un material que se encuentra por encima de su presión crítica y próximo a su temperatura crítica. En la práctica, la temperatura de un fluido subcrítico está comprendida probablemente en el intervalo de $0,9T_c$ hasta T_c .

Como se comprenderá, la referencia al término “segundo líquido”, tal como se utiliza en esta memoria, tiene por objeto abarcar la combinación del fluido gaseoso anti-disolvente y el disolvente orgánico. Así, cuando el fluido gaseoso anti-disolvente se encuentra en un estado supercrítico, el segundo líquido exhibirá propiedades asociadas con los fluidos supercríticos en virtud de la presencia del anti-disolvente supercrítico. De acuerdo con ello, la expresión “segundo líquido” tiene por objeto abarcar fluidos supercríticos, fluidos subcríticos y gases comprimidos, dependiendo de las condiciones utilizadas en la técnica de fluido gaseoso anti-disolvente adoptada en el paso (b).

Fluido Gaseoso Anti-Disolvente

El fluido gaseoso anti-disolvente es convenientemente uno o más de dióxido de carbono, óxido nitroso, hexafluoruro de azufre, etano, etileno, propano, n-pentano, xenón, clorotrifluorometano, un fluorocarbono tal como trifluorometano, tetrafluoroetano y heptafluoropropano, un compuesto de clorofluorocarbono, o nitrógeno. El fluido gaseoso anti-disolvente es preferiblemente dióxido de carbono. Se prefiere que el fluido gaseoso anti-disolvente sea un fluido supercrítico, tal como dióxido de carbono supercrítico.

Disolvente Orgánico

El disolvente orgánico es soluble o, preferiblemente, miscible con el fluido gaseoso anti-disolvente. El disolvente orgánico es preferiblemente un disolvente orgánico soluble en agua o más preferiblemente miscible con el agua.

Convenientemente, el disolvente orgánico se selecciona de uno o más de un alcohol inferior, una cetona y un éster. Alcoholes inferiores adecuados son aquéllos que contienen hasta seis átomos de carbono, por ejemplo metanol, etanol, propanol o isopropanol. Cetonas adecuadas incluyen, por ejemplo, acetona o metiletil-cetona. Ésteres adecuados incluyen acetatos de alquilo (1-4C), por ejemplo acetato de etilo. Un disolvente orgánico preferido es etanol.

La cantidad de disolvente orgánico requerida en el segundo líquido dependerá de las condiciones operativas utilizadas en el paso (b) del proceso, del fluido gaseoso anti-disolvente particular utilizado y de la solubilidad del agua contenida en el primer líquido en el fluido gaseoso anti-disolvente. El disolvente orgánico en el segundo líquido actúa para modificar las propiedades disolventes del fluido gaseoso anti-disolvente, mejorando con ello la extracción del agua del primer líquido por el fluido gaseoso anti-disolvente. Algunos materiales son sensibles al contacto con

disolventes orgánicos, por lo que generalmente es deseable que el segundo líquido contenga la cantidad mínima de disolvente orgánico necesaria para permitir que sustancialmente la totalidad del agua contenida en el primer líquido sea extraída por el fluido gaseoso anti-disolvente en el paso (b) del proceso. Sin embargo, la cantidad de disolvente orgánico debería ser menor que la requerida para saturar el fluido gaseoso anti-disolvente. En una realización de la presente invención, existe un exceso molar de disolvente orgánico con relación a la cantidad de agua presente en el primer líquido.

Como se ha indicado anteriormente en esta memoria, el paso (b) del proceso de acuerdo con la presente invención se lleva a cabo en condiciones subcríticas o, más preferiblemente, supercríticas. Las condiciones precisas de operación del paso (b) del proceso dependen de varios factores, por ejemplo del fluido gaseoso anti-disolvente empleado. Cuando el fluido gaseoso anti-disolvente es dióxido de carbono, una presión adecuada está comprendida en el intervalo que va desde aproximadamente 80 a aproximadamente 400 bar, convenientemente en el intervalo de 100 a 250 bar, preferiblemente en el intervalo de 110 a 150 bar, mientras que la temperatura puede estar comprendida en el intervalo que va desde aproximadamente 35 hasta aproximadamente 80°C, convenientemente en el intervalo de 40 a 70°C, preferiblemente en el intervalo de 45 a 60°C, con tal que la temperatura de operación sea igual o superior a la temperatura del punto de enturbiamiento del primer líquido.

Las partículas precipitadas resultantes del paso (b) del proceso de acuerdo con la presente invención pueden recogerse utilizando medios convencionales, por ejemplo utilizando un sistema de filtración en la vasija de formación de las partículas para separar las partículas del fluido gaseoso, agua y etanol.

La aglomeración reducida de las partículas preparadas utilizando el presente proceso significa que ventajosamente el proceso puede realizarse durante un tiempo prolongado y sustancialmente de manera continua en comparación con procesos en los cuales no se utiliza modulador alguno, dado que los sistemas de filtración utilizados para recoger las partículas precipitadas no se obstruyen tan rápidamente. El tiempo durante el cual se lleva a cabo el proceso de acuerdo con la presente invención, dependerá de la cantidad deseada de partículas así como de cualquier limitación resultante del atascamiento de los filtros. Realizaciones adecuadas del proceso fluctúan desde aproximadamente 5 min hasta aproximadamente 48 horas, convenientemente desde 15 min hasta 24 horas, y preferiblemente desde 30 min hasta 12 horas.

Teniendo en cuenta las preferencias que anteceden en una primera realización preferida de la invención, se proporciona un proceso para la preparación de partículas uniformes de una sustancia, teniendo dichas partículas un tamaño de partícula MMD menor que 10 μm , siendo preferiblemente las partículas sub-micrométricas (es decir, con MMD < 1 μm), que comprende:

(a) preparar un primer líquido que comprende agua, la sustancia y un modulador, en donde el modulador tiene una solubilidad en agua que decrece con la temperatura creciente; y

(b) poner en contacto el primer líquido con un segundo líquido que comprende un fluido gaseoso anti-disolvente y un disolvente orgánico (preferiblemente un disolvente orgánico miscible con el agua) utilizando un proceso SEDS™, en donde:

i) la sustancia es soluble en agua;

ii) el disolvente orgánico es soluble en el fluido gaseoso anti-disolvente;

iii) la sustancia es sustancialmente insoluble en el segundo líquido (y con preferencia sustancialmente insoluble en el modulador);

iv) la cantidad de disolvente orgánico utilizada es menor que la requerida para saturar el fluido gaseoso anti-disolvente; y

v) la temperatura del primer líquido es igual o superior a la temperatura del punto de enturbiamiento del primer líquido cuando el primer líquido se pone en contacto con el segundo líquido.

En las condiciones i) y ii), el término “soluble” hace referencia a una solubilidad en las condiciones de operación del paso (b) del proceso de la sustancia/disolvente orgánico de al menos 0,003 partes por parte de agua/anti-disolvente, preferiblemente al menos 0,005 partes por parte de agua/anti-disolvente, por ejemplo al menos 0,001 partes por parte de agua/anti-disolvente, en donde las partes se expresan en peso.

En la condición iii), el término “sustancialmente insoluble” hace referencia a que la sustancia tiene una solubilidad en el segundo líquido en las condiciones de operación del paso (b) del proceso menor que 0,001 partes por parte del segundo líquido, preferiblemente menor que 0,0001 partes en peso del segundo líquido, donde las partes son partes en peso.

El criterio (iv) es esencial para evitar la formación de un sistema bifásico que contenga anti-disolvente saturado con disolvente supercrítico, v.g., dióxido de carbono saturado con etanol, y una fase líquida que contenga v.g., agua, disolvente y sustancia disuelta.

De modo especialmente preferido, el fluido gaseoso anti-disolvente es dióxido de carbono que se encuentra en un estado supercrítico, el disolvente orgánico es etanol y el modulador es citrato de trietilo.

El primer líquido se encuentra a o por encima de la temperatura del punto de enturbiamiento del primer líquido cuando el primer líquido se pone en contacto con el segundo líquido. El primer líquido puede calentarse utilizando cualquier método adecuado. Por ejemplo, el líquido puede calentarse antes de transferirlo al segundo líquido. Convenientemente, cuando el primer líquido se introduce en el segundo líquido por medio de un conducto tal como una tobera, el primer líquido puede ser calentado por el segundo líquido por conducción de calor a medida que el primer líquido es transportado a lo largo del conducto. Este método de calentamiento es particularmente adecuado cuando existe una diferencia importante entre la temperatura del punto de enturbiamiento y la temperatura del segundo líquido, dado que ello minimiza el tiempo de residencia del primer líquido en el conducto requerido para asegurar que el primer líquido se encuentre a o por encima de la temperatura del punto de enturbiamiento cuando se pone en contacto con el segundo líquido.

El proceso de acuerdo con la presente invención proporciona un alto rendimiento de partículas sub-micrométricas en comparación con los procesos realizados sin un modulador. Cualesquiera partículas de mayor tamaño (por ejemplo con un valor MMD superior a 10 μm) que puedan formarse se pueden retirar utilizando técnicas convencionales tales como tamizado.

Como se describe anteriormente en esta memoria, la presente invención reduce la formación de aglomerados de partículas fuertemente unidas. No obstante, cuando las partículas preparadas de acuerdo con la presente invención son de tamaño submicrométrico, las fuerzas atractivas partícula-partícula, tales como las fuerzas de van der Waals pueden dar lugar a la formación de aglomerados de partículas flojamente unidas. Sin embargo, se ha encontrado que cualesquiera aglomerados de este tipo formados están unidos muy flojamente y se rompen fácilmente, por ejemplo suspendiendo las partículas en un vehículo líquido o haciendo pasar las partículas a través de un dispositivo de administración tal como un nebulizador.

En una realización de la presente invención, las partículas producidas de acuerdo con el presente proceso, pueden ponerse en contacto subsiguientemente con una composición que comprende un fluido gaseoso anti-disolvente sustancialmente seco (que puede encontrarse en un estado supercrítico o subcrítico) a fin de obtener partículas secas de la sustancia. Por “sustancialmente seco” se entiende un fluido gaseoso que contiene menos de 1%, por ejemplo menos de 0,1% en peso de agua.

En otra realización de la presente invención, las partículas de la sustancia se tratan convenientemente con una composición que comprende un fluido gaseoso anti-disolvente, especialmente un anti-disolvente supercrítico (por ejemplo dióxido de carbono supercrítico), y un segundo disolvente (por ejemplo etanol). Un proceso adecuado para el tratamiento subsiguiente de las partículas se describe en el documento WO 2000/30614. El uso de tales procesos de tratamiento permite modificar las características físicas de las partículas, por ejemplo por modificación del estado cristalino de las partículas, y/o por formación de solvatos de las partículas. Tales tratamientos pueden mejorar ventajosamente la estabilidad de las partículas.

Sustancia

En las realizaciones de la presente invención, la sustancia puede estar suspendida en el primer líquido. Sin embargo, se prefiere que la sustancia esté totalmente disuelta en el primer líquido dado que esto proporciona partículas más uniformes y promueve la formación de partículas sub-micrométricas de la sustancia. Así, se prefiere que el primer líquido se prepare como una solución monofásica que comprende la sustancia y el modulador disueltos en el agua. El primer líquido se prepara por tanto preferiblemente como una solución clara. Por el término “solución” se entiende que el primer líquido es una fase simple homogénea, es decir que la sustancia y el modulador están suficientemente disueltos en el agua para dar una solución clara. El primer líquido puede comprender otros componentes además del modulador y la sustancia, por ejemplo aditivos para minimizar la adsorción de la sustancia al equipo de proceso. Por ejemplo, cuando la sustancia es albúmina, puede ser ventajoso incluir un aditivo tal como Polysorbate 80 para minimizar la adsorción de la albúmina a las superficies del aparato utilizado para preparar las partículas. Generalmente, es preferible seleccionar condiciones en el paso (b) del proceso que den como resultado que sustancialmente la totalidad del o de los aditivos se extraigan en el fluido gaseoso anti-disolvente para dar partículas de la sustancia que tienen alta pureza. Se prefiere que el primer líquido preparado para uso en el paso (a) del proceso esté exento de líquidos inmiscibles con el agua tales como disolventes orgánicos inmiscibles con el agua, dado que la presencia de tales materiales puede dar como resultado la extracción y pérdida inadvertidas de sustancia cuando el primer líquido se pone en contacto con el segundo líquido. Adicionalmente, la presencia de tales líquidos inmiscibles con el agua podría dar como resultado la degradación de sustancias sensibles.

La sustancia puede ser un material orgánico o inorgánico o una mezcla de los mismos. Preferiblemente, la sustancia es una sustancia farmacológicamente activa, un material farmacológicamente inerte tal como un excipiente o aditivo, o una mezcla de los mismos, por ejemplo dos o más sustancias farmacológicamente activas o una mezcla de una o más sustancias farmacológicamente activas y uno o más materiales farmacológicamente inertes.

Sustancias farmacológicamente activas adecuadas incluyen agonistas β_2 , glucocorticosteroides, anticolinérgicos, antagonistas de leucotrienos, inhibidores de la síntesis de leucotrienos, hormonas, proteínas y polipéptidos y mezclas de los mismos.

Ejemplos de agonistas β_2 adecuados para uso en la presente invención incluyen, sin limitación, formoterol (v.g. fumarato de formoterol dihidratado), salmeterol (v.g. xinafoato de salmeterol), terbutalina (v.g. sulfato de terbutalina), salbutamol (v.g. sulfato de salbutamol), bambuterol (v.g. hidrocloreto de bambuterol), rimiterol, fenoterol, repreterol, pirbuterol, bitolterol, clembuterol, procaterol, broxaterol, picumeterol, mabuterol, isoprenalina, orciprenalina y adrenalina.

El glucocorticosteroide, si se utiliza en la invención, es preferiblemente un glucocorticosteroide anti-inflamatorio. Ejemplos de tales glucocorticosteroides que pueden utilizarse en la presente invención incluyen betametasona, fluticasona (v.g. como propionato), budesonida, tipredano, dexametasona, beclometasona (v.g. como dipropionato), prednisolona, fluocinolona (v.g. como acetónido), triamcinolona (v.g. como acetónido), mometasona (v.g. como fuoroato), flumetasona, flunisolida, ciclesonida, deflazacort y cortivazol. Proteínas y polipéptidos adecuados incluyen insulina, interferones, anticuerpos, calcitoninas, vacunas, hormonas paratiroides, factores estimulantes de colonias de granulocitos, proteína estimulante de los folículos y análogos. Se contemplan también combinaciones de éstos, tales como una combinación de un corticosteroide y un agonista β . Ejemplos de proteínas y polipéptidos adecuados incluyen aquéllos que son adecuados para administración a un paciente por inhalación.

Cuando se utiliza una mezcla de sustancias farmacológicamente activas, cada componente de la mezcla se disuelve en el primer líquido. La solución resultante se pone luego en contacto con el segundo líquido para formar partículas que comprenden los materiales farmacológicamente activos. Dependiendo de las propiedades físicas de los componentes activos y las condiciones utilizadas en el paso (b), las partículas resultantes pueden comprender una mezcla de partículas individuales de cada sustancia activa. Alternativamente, las partículas pueden formarse como un material compuesto en el cual cada partícula comprende una mezcla de los componentes activos. Mezclas adecuadas de sustancias activas que pueden utilizarse incluyen, por ejemplo, una mezcla de un glucocorticosteroide y un agonista β_2 tal como budesonida y formoterol.

Cuando la sustancia es un material farmacológicamente inerte, el mismo es preferiblemente un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como un vehículo, un aditivo o un diluyente, con inclusión de antioxidantes. Excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, sin limitación, monosacáridos (v.g. glucosa, fructosa y galactosa), disacáridos (sacarosa, trehalosa, maltosa, celobiosa y lactosa, preferiblemente lactosa como el monohidrato), trisacáridos (v.g. rafinosa, melezitosa), oligosacáridos, polisacáridos o polioles. Los polisacáridos pueden ser celulosa, almidón, dextrinas o dextrano, o derivados químicos de cualquiera de éstos. El poliol es preferiblemente un azúcar-alcohol, v.g. sorbitol y manitol. Aditivos adecuados incluyen aquéllos que mejoran la absorción in vivo de un fármaco, por ejemplo mejoradores de la solubilidad.

Las sustancias mencionadas anteriormente en esta memoria pueden encontrarse en la forma de ésteres, sales o solvatos (tales como hidratos) farmacológicamente aceptables, o solvatos de tales ésteres o sales. La sustancia puede encontrarse también en la forma de una mezcla racémica o como uno o más isómeros ópticos.

Como se ha mencionado anteriormente en esta memoria, la sustancia puede comprender una mezcla de sustancias, por ejemplo una mezcla que comprende dos o más sustancias farmacológicamente activas o una mezcla que comprende una o más sustancias farmacológicamente activas y una o más sustancias farmacológicamente inertes.

Cuando la sustancia es una o más sustancias farmacológicamente activas, la misma puede premezclarse con uno o más excipientes o aditivos farmacéuticamente aceptables antes de aplicar el proceso de la invención (por ejemplo por disolución de la o las sustancias farmacológicamente activas y el o los excipientes/portadores farmacéuticamente aceptables en el primer líquido). Esto es especialmente ventajoso si la sustancia activa es muy potente. La co-precipitación de una sustancia farmacológicamente activa y un excipiente farmacéuticamente aceptable del primer líquido es útil, por ejemplo, para modificar las características de disolución y/o absorción de la sustancia farmacológicamente activa. Por ejemplo, la sustancia puede comprender insulina y un mejorador de la absorción tal como taurocolato de sodio.

Preferiblemente, la sustancia tiene una solubilidad en agua a 25°C mayor que 1 mg/ml, preferiblemente mayor que 10 mg/ml y muy preferiblemente mayor que 20 mg/ml.

La cantidad de material en el primer líquido dependerá necesariamente de las propiedades de la sustancia. Generalmente es deseable que la concentración de la sustancia en el primer líquido sea lo más alta posible, mientras se mantiene la sustancia en solución en el primer líquido. Convenientemente, el primer líquido contiene una cantidad suficiente de la sustancia para formar una solución saturada o próxima a la saturación de la sustancia en el primer líquido, dado que esto aumenta la cantidad de partículas formadas por unidad de volumen del primer líquido.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporcionan partículas de una sustancia obtenidas por el proceso de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención. Como se describe anteriormente en esta memoria, las partículas pueden comprender una sola sustancia, una mezcla de dos o más sustancias o una composición que comprende partículas de la sustancia y el modulador. Las partículas pueden formularse ulteriormente

para proporcionar composiciones como las descritas anteriormente en esta memoria. Por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende partículas de un agente farmacológicamente activo de acuerdo con el segundo aspecto de la invención y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde, opcionalmente, el o los excipientes se preparan utilizando el proceso de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una sustancia farmacológicamente activa y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, en donde al menos uno de la sustancia farmacológicamente activa y excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable se ha preparado por el proceso de acuerdo con el primer aspecto de la invención.

La composición farmacéutica puede comprender partículas que comprenden una sustancia farmacológicamente activa preparada utilizando el proceso de acuerdo con la presente invención que están mezcladas con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados. En este caso, las partículas del excipiente pueden producirse también de acuerdo con la presente invención utilizando v.g. la técnica SEDS™, o pueden prepararse por otra técnica adecuada. También es posible preparar partículas que contienen uno o más excipientes de acuerdo con la presente invención y mezclarlas con partículas que contienen una o más sustancias farmacológicamente activas. En este caso, las partículas de una sustancia activa pueden prepararse también de acuerdo con la presente invención, o se pueden preparar por otra técnica adecuada.

Cuando las partículas y composiciones de acuerdo con el segundo y tercer aspectos de la presente invención comprenden una sustancia farmacológicamente activa, las partículas pueden utilizarse para propósitos farmacéuticos con inclusión, pero sin carácter limitante, de tratamientos terapéuticos y profilácticos y para propósitos de diagnóstico.

Cuando las partículas preparadas de acuerdo con la presente invención se utilizan para propósitos farmacéuticos, las mismas pueden administrarse por una diversidad de rutas que incluyen, pero sin carácter limitante, la administración oral, rectal, amigdalal, bucal, nasal, vaginal, parenteral, intramuscular, subcutánea, intra-ocular, pulmonar o transdérmica.

Como se ha mencionado anteriormente en esta memoria, en una realización preferida las partículas de acuerdo con el segundo aspecto de la invención son de un tamaño de partícula sub-micrométrico, comprendiendo una proteína o polipéptido farmacológicamente activa(o) (especialmente insulina) que es adecuada(o) para administración pulmonar.

Tales partículas, y formulaciones de las mismas, pueden ser adecuadas por ejemplo para uso en el tratamiento de un trastorno respiratorio tal como una afección alérgica y/o inflamatoria de la nariz o los pulmones, para uso en el tratamiento de enfermedades intestinales tales como enfermedades inflamatorias intestinales o para uso en el tratamiento de la diabetes.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra partículas de de lisozima precipitadas en agua utilizando un proceso SEDS™ sin la presencia de un modulador de citrato de trietilo.

La Figura 2 muestra partículas de lisozima precipitadas en agua utilizando un proceso SEDS™ en presencia de un modulador de citrato de trietilo.

La Figura 3 muestra partículas de lisozima preparadas precipitadas a partir de una solución agua/citrato de trietilo utilizando un proceso SEDS™ en el cual el segundo líquido era dióxido de carbono y etanol.

La Figura 4 muestra partículas de albúmina precipitadas en agua utilizando un proceso SEDS™ en presencia de un modulador de citrato de trietilo.

La presente invención se ilustrará por los ejemplos siguientes:

Ejemplo 1

Ejemplo 1.1

Se disolvió lisozima (100 mg, de Sigma-Aldrich) en una solución de 300 mg de citrato de trietilo en agua (5 ml) a la temperatura ambiente (aproximadamente 22°C). La solubilidad del citrato de trietilo en agua a 25°C es 5,7 g/100 ml.

Esta solución se mezcla con dióxido de carbono modificado con etanol a través de una tobera coaxial (diámetro de la punta de la tobera 0,1 mm) en la cámara de un aparato SEDS™ como se describe en la Figura 1 y el texto acompañante en el documento WO 95/01221. El dióxido de carbono y etanol se co-introducen en un canal de la tobera a los caudales indicados más adelante. La solución de lisozima se calentó a 50°C dando una solución turbia (causada por separación de fases del citrato de trietilo cuando la temperatura de la solución excedía de la temperatura del punto de enturbiamiento de la solución). La solución se introdujo luego en la cámara de formación de partículas SEDS™ del aparato al caudal especificado más adelante.

ES 2 281 509 T3

Las partículas de lisozima formadas se recogen en el fondo de la cámara. El citrato de trietilo se disuelve en el dióxido de carbono supercrítico y se retira luego, dando como resultado partículas de lisozima que estaban sustancialmente exentas de citrato de trietilo. El experimento se llevó a cabo sin un aumento sensible de la presión.

5 Las condiciones de funcionamiento del aparato SEDS™ fueron:

Temperatura:	50°C
Presión:	100 bar
10 Caudal de dióxido de carbono:	10 ml/min
Caudal de la solución:	0,05 ml/min
Caudal de etanol:	1,0 ml/min

15 El porcentaje de partículas de lisozima con un MMD menor que 1 micrómetro preparadas a partir de la solución de lisozima al 2% (p/v) producido era 36%. La Figura 2 es una SEM de las partículas de lisozima preparadas.

20 Cuando se repitió el proceso arriba descrito utilizando una solución acuosa totalmente *en ausencia* de citrato de trietilo, se encontró que el porcentaje de partículas con un MMD menor que 1 micrómetro era 12% de acuerdo con las medidas de tamaño de partícula con el instrumento LS Coulter.

Ejemplo 1.2

25 Se repitió el proceso descrito en el Ejemplo 1.1 utilizando las condiciones siguientes: 90 bar, 50°C, un caudal de dióxido de carbono de 9 ml/min, un caudal de solución acuosa que contenía lisozima y citrato de tri-etilo de 0,045 ml/min y un caudal de etanol de 0,9 ml/min. Esto dio como resultado un 89% de partículas de lisozima con un MMD menor que 1 micrómetro. Una SEM de estas partículas se muestra en la Figura 3.

Ejemplo 2

30 Se disolvieron 5 ml de una solución acuosa de albúmina que contenía 10 mg/ml en una solución acuosa (5 ml) que contenía 300 mg de citrato de trietilo y 200 mg de Polysorbate 80 (para minimizar la adsorción de albúmina en el equipo de proceso) (albúmina de Fluka). El proceso se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 1 pero con los parámetros de preparación siguientes: temperatura 50°C, presión 200 bar (para asegurar la extracción total del Polysorbate 80), caudal de dióxido de carbono: 18 ml/min, caudal de la solución de albúmina 0,08 ml/min y caudal de etanol 1,8 ml/min.

35 El análisis SEM en la Figura 4 de este experimento muestra claramente las partículas submicrométricas uniformes formadas.

40 Ejemplo 3

Preparación de Partículas de Insulina (sin Taurocolato de Na)

45 Se disolvió a la temperatura ambiente insulina humana (87 mg) en HCl 0,02 M (2 ml) y NaOH 0,02 M (2 ml), y se ajustó el pH a pH 7. Se añadió citrato de trietilo (240 mg) y se disolvió mientras se agitaba. El proceso se llevó a cabo de acuerdo con el Ejemplo 1 con los parámetros siguientes: temperatura 50°C; presión 125 bar; caudal de dióxido de carbono: 15 ml/min; caudal de la solución de insulina: 0,05 ml/min y caudal de etanol: 1,4 ml/min.

50 El análisis SEM de las partículas resultantes demostró que se habían formado partículas de tamaño comprendido en el intervalo de 0,2 a 2 μ m, siendo la mayor parte de las partículas de tamaño sub-micrométrico.

Ejemplo 4

55 *Preparación de Partículas de Insulina y Taurocolato de Na*

Se disolvió a la temperatura ambiente insulina humana (345 mg) en HCl 0,02 M (9 ml) y NaOH 0,02 M (9 ml). El pH se ajustó a 7. Se añadió taurocolato de Na (115 mg, de Prodotti Chimici E. Alimentari SPA) bajo agitación, y se añadió luego citrato de trietilo (1,07 g). El proceso se llevó a cabo de acuerdo con el Ejemplo 1 con los parámetros siguientes: temperatura 50°C; presión 125 bar; caudal de dióxido de carbono: 18 ml/min; caudal de la solución de insulina: 0,05 ml/min y caudal de etanol: 2 ml/min.

60 El análisis SEM de las partículas demostró que se habían formado partículas en el intervalo de 0,1 a 0,5 μ m, siendo la mayor parte de las partículas de tamaño submicrométrico.

65

ES 2 281 509 T3

Ejemplo 5

Preparación de Partículas de Lisozima y Taurocolato de Na

5 Se disolvió lisozima (153 mg, de Serva) en agua (6 ml), se añadió una solución de taurocolato de Na (15,3 mg, de Prodotti Chimici E. Alimentari SPA) en agua (1,5 ml) con agitación, y se añadió después citrato de trietilo (450 mg). El proceso se llevó a cabo de acuerdo con el Ejemplo 1 con los parámetros siguientes: temperatura 50°C; presión 100 bar; caudal de dióxido de carbono: 15 ml/min; caudal de la solución de lisozima: 0,05 ml/min y caudal de etanol: 1 ml/min.

10 El análisis SEM demostró que se habían formado partículas sub-micrométricas uniformes.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para preparar partículas de una sustancia que comprende:

(a) preparar un primer líquido que comprende agua, la sustancia y un modulador, en donde el modulador tiene una solubilidad en agua que decrece con la temperatura creciente; y el modulador es un trialkiléster de ácido cítrico, en donde la o las solubilidades en agua disminuyen con la temperatura (T) creciente de acuerdo con la ecuación $ds/dT < 0$; y

(b) poner en contacto el primer líquido con un segundo líquido que comprende un fluido gaseoso y un disolvente orgánico utilizando una técnica de fluido gaseoso anti-disolvente en condiciones de temperatura y presión que dan como resultado la precipitación de partículas que comprenden la sustancia, en donde la temperatura del primer líquido es igual o superior a la temperatura del punto de enturbiamiento del primer líquido cuando el primer líquido se pone en contacto con el segundo líquido, y en donde el modulador es soluble en el segundo líquido y se extrae del primer líquido por contacto con el segundo líquido, produciéndose con ello partículas de las sustancias que contienen menos de 1% en peso de modulador.

2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde las partículas tienen un diámetro mediano másico menor que $10\ \mu\text{m}$.

3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el modulador es citrato de trietilo.

4. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el primer líquido tiene una temperatura de punto de enturbiamiento comprendida en el intervalo de 25 a 60°C.

5. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la técnica del fluido gaseoso anti-disolvente se selecciona de GAS, SEDS™, SAS y PCA.

6. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el fluido gaseoso anti-disolvente en el paso (b) se encuentra en un estado supercrítico.

7. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el disolvente orgánico es un disolvente orgánico miscible con el agua.

8. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el disolvente orgánico es etanol.

9. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el primer líquido en el paso (a) se prepara como una solución monofásica que comprende la sustancia y modulador disueltos en agua.

10. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de partículas uniformes de una sustancia, teniendo dichas partículas un diámetro mediano másico menor que 10 micrómetros, que comprende:

(a) preparar un primer líquido que comprende agua, la sustancia y un modulador, en donde el modulador tiene una solubilidad en agua que disminuye con la temperatura creciente de acuerdo con la ecuación $ds/dT < 0$; y

(b) poner en contacto el primer líquido con un segundo líquido que comprende un fluido gaseoso anti-disolvente y un disolvente orgánico utilizando un proceso SEDS™, en donde:

i) la sustancia es soluble en agua;

ii) el disolvente orgánico es soluble en el fluido gaseoso anti-disolvente;

iii) la sustancia es sustancialmente insoluble en el segundo líquido;

iv) la cantidad de disolvente orgánico utilizada es menor que la requerida para saturar el fluido gaseoso anti-disolvente; y

v) la temperatura del primer líquido es igual o superior a la temperatura del punto de enturbiamiento del primer líquido cuando el primer líquido está en contacto con el segundo líquido.

11. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la sustancia se disuelve totalmente en el primer líquido.

12. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la sustancia es una sustancia farmacológicamente activa o un material farmacológicamente inerte.

ES 2 281 509 T3

13. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la sustancia es una proteína o polipéptido farmacológicamente activa(o).

14. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la sustancia es insulina.

15. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la sustancia comprende dos o más sustancias.

16. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la sustancia comprende un glucocorticosteroide y un agonista β_2 .

17. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 16, en donde la sustancia comprende budesonida y formoterol.

18. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la sustancia comprende insulina y un mejorador de la absorción.

19. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la sustancia comprende insulina y taurocolato de sodio.

20. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde las partículas formadas en el paso (b) se ponen en contacto con una composición que comprende un fluido gaseoso anti-disolvente sustancialmente seco.

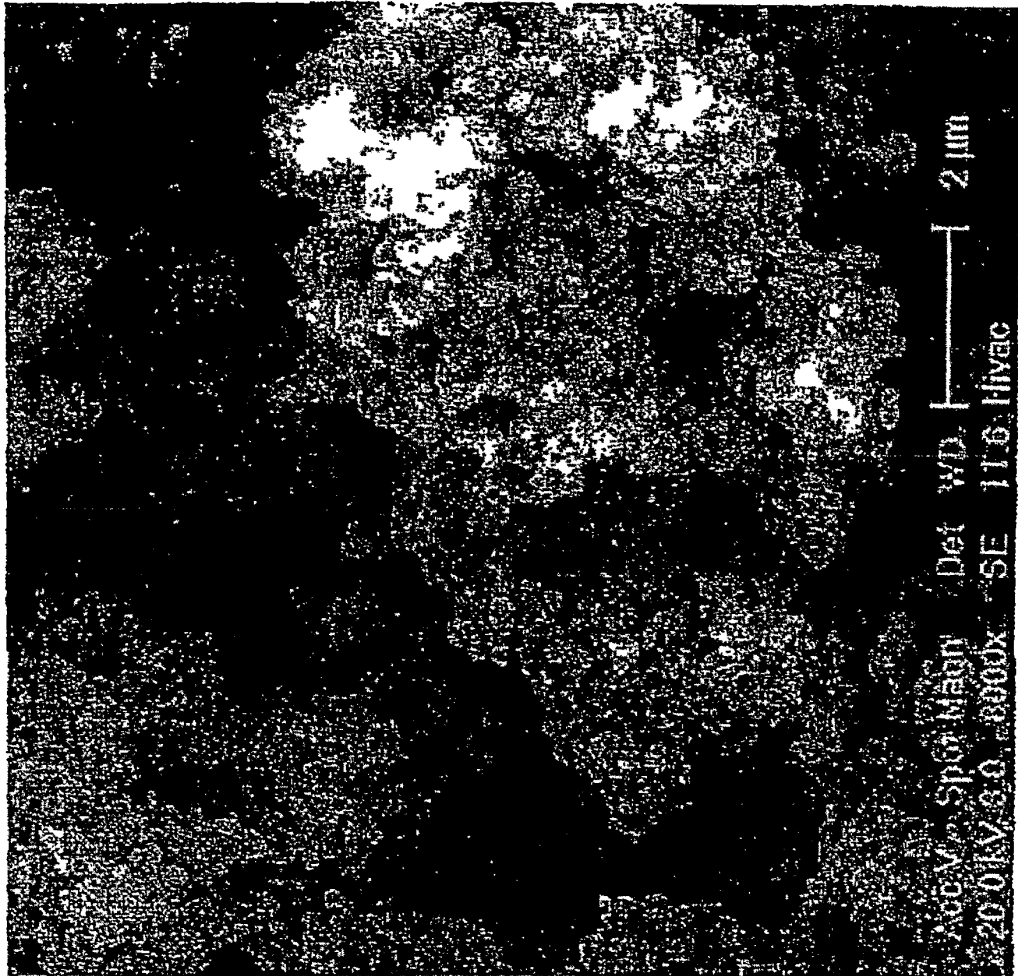


Figura 1

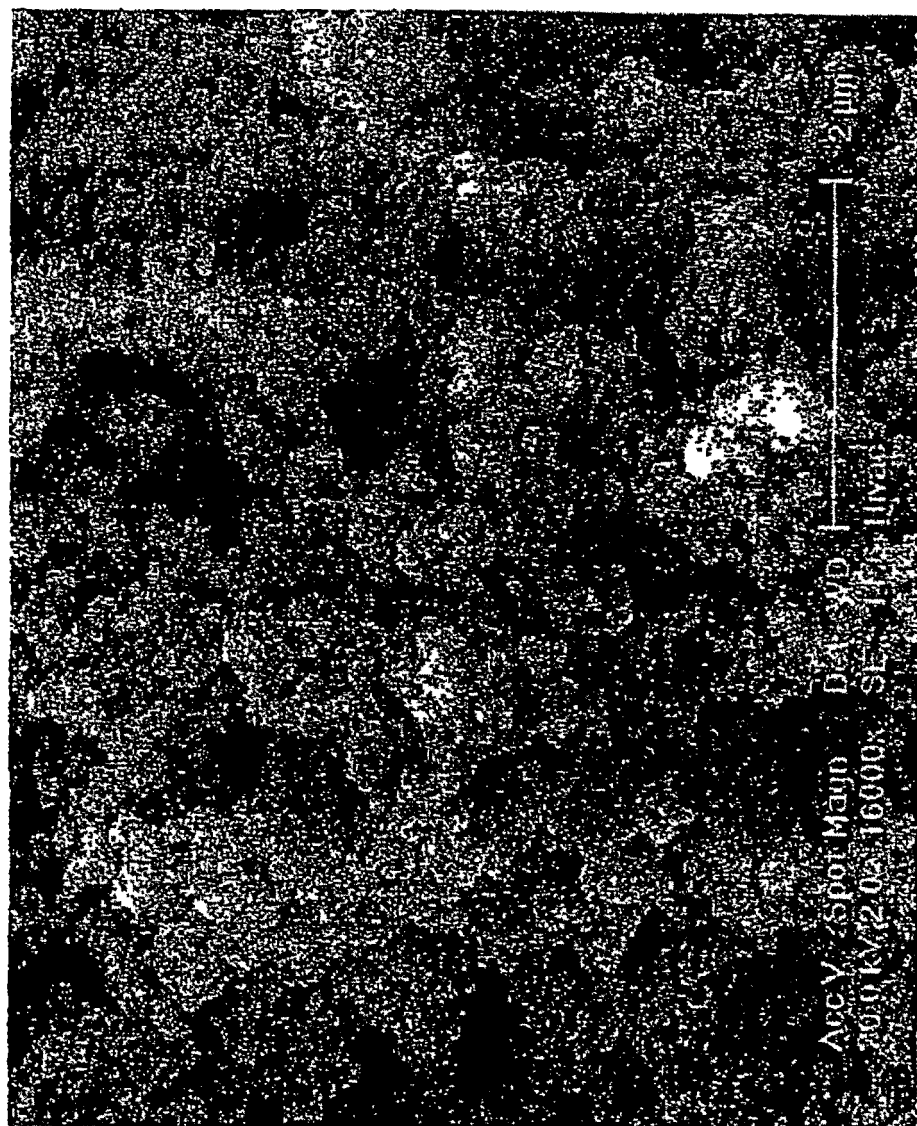


Figura 2



Figura 3

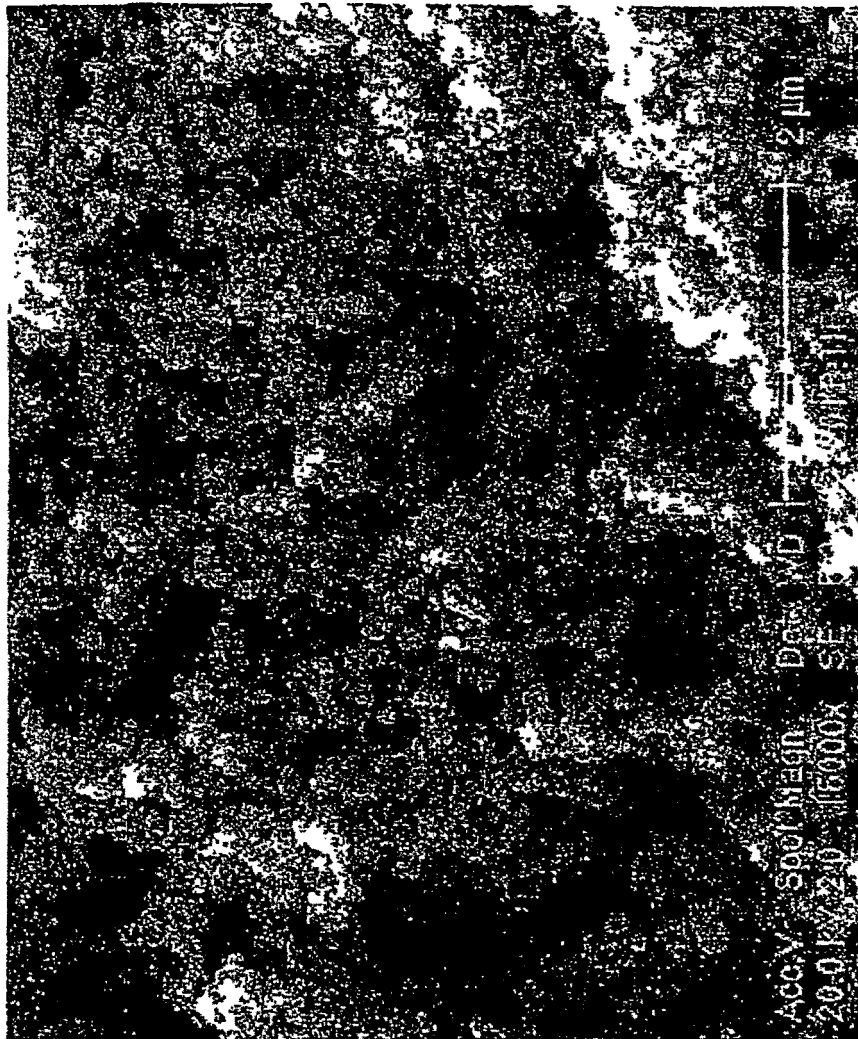


Figura 4