



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 292 634**

51 Int. Cl.:
A61K 9/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01985618 .6**

86 Fecha de presentación : **19.12.2001**

87 Número de publicación de la solicitud: **1343478**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **17.09.2003**

54 Título: **Procedimiento de transición de fase inducida para la producción de micropartículas que contienen agentes hidrófilos activos.**

30 Prioridad: **21.12.2000 US 257527 P**
21.06.2001 US 300021 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2008

73 Titular/es: **Alrise Biosystems GmbH**
Robert-Rossle-Strasse 10
13125 Berlin, DE

72 Inventor/es: **Albayrak, Celal**

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 292 634 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 transición de fase inducida para la producción de micropartículas que contienen agentes hidrófilos activos.

Campo de la invención

Esta invención se dirige a un procedimiento para la producción de micropartículas que contienen un agente biológicamente activo hidrosoluble, que incluye péptidos, proteínas, plásmidos de ADN u otro agente activo, así como a las micropartículas producidas mediante este procedimiento. Pueden producirse micropartículas de diversas morfologías, tales como microcápsulas, microesferas y microesponjas. Según la invención, se proporciona un procedimiento en una etapa simplificado para producir dichas micropartículas.

Antecedentes de la invención

Existen numerosos fármacos peptídicos y proteicos genéticamente modificados que actualmente están en el mercado, o que están siendo sometidos a ensayos clínicos, que incluyen hormonas, factores del crecimiento, citoquinas, anticuerpos monoclonales, y proteínas para bloquear enfermedades infecciosas. Sin embargo, su eficacia es muy restringida y su biodisponibilidad se ve fuertemente comprometida durante la administración oral, debido a su sensibilidad a la hidrólisis en el entorno ácido del estómago y por la degradación enzimática. Las proteínas son moléculas grandes que no pueden administrarse por vía oral por la degradación enzimática y son, en su mayor parte, demasiado grandes para administrarse de forma eficaz mediante un parche transdérmico. También sufren el hecho de que son relativamente inestables y tienen cortas semividas *in vivo*. Estas dificultades han requerido la administración de fármacos proteicos mediante infusión constante o inyección frecuente, limitando estas formas de administración su admisibilidad por parte de médicos y pacientes.

Las formulaciones apropiadas que evitan los problemas mencionados anteriormente incluyen sistemas depot o de liberación lenta en forma de micropartículas de polímeros, que también son ampliamente conocidas para péptidos y proteínas y están descritas en la bibliografía. Estos sistemas depot poseen la ventaja de que protegen a los péptidos, proteínas y otras sustancias biológicamente activas de la desactivación rápida y, debido a esto, conservan su eficacia farmacológica y, por tanto, permiten su administración en dosis bajas. Otras ventajas de estas formulaciones incluyen una reducción en los efectos secundarios indeseables, debido a la capacidad para proporcionar unas dosis menores; la reducción del número total de administraciones; y el potencial para la liberación controlada, y también dirigida, de los agentes activos.

Los procedimientos conocidos para la micro- o nanoencapsulación de agentes activos, incluyendo péptidos y proteínas, puede resumirse como sigue:

I. Evaporación del disolvente

La evaporación del disolvente implica disolver el polímero en un disolvente orgánico que contiene el agente activo disuelto o disperso. La mezcla de polímero/agente activo entonces se añade a una fase continua agitada que es, de forma típica, acuosa. Se incluyen emulsionantes en la fase acuosa para estabilizar la emulsión de aceite en agua. El disolvente orgánico entonces se evapora a lo largo de un periodo de varias horas o más, depositando, con ello, el polímero alrededor del material del núcleo. El procedimiento de evaporación del disolvente se describe en la patente de EEUU nº 4.389.330.

Sin embargo, la técnica de evaporación del disolvente a menudo no se prefiere, debido a que el ingrediente activo a menudo se pierde durante el procedimiento de extracción del disolvente. Esto es debido a que el procedimiento implica la emulsión en una fase acuosa, y un fármaco hidrosoluble a menudo se separa con rapidez de la fase de disolución del polímero, más hidrófoba, hacia el entorno acuoso.

La encapsulación mediante el procedimiento de evaporación del disolvente también conduce a la producción de microesferas. El ingrediente activo que se va a encapsular se dispersa, tradicionalmente, en una disolución de polímero en un disolvente orgánico volátil. Esta fase se emulsiona mediante un agente tensioactivo en un medio dispersor no miscible (agua o aceite mineral). El disolvente orgánico se evapora con agitación. Después de la evaporación, las microesferas se recuperan mediante filtración o centrifugación.

Las ventajas de la técnica son la ausencia de disolventes tóxicos, tales como heptano, y la ausencia de aglomeración de las microesferas. La evaporación del disolvente es más sencilla, más flexible y más fácil de industrializar que otros procedimientos, tales como la separación de fases o la coacervación, y permite emplear menores cantidades de disolvente.

De forma tradicional, la evaporación del disolvente se aplica, principalmente, a la encapsulación de sustancias lipófilas, tales como esteroides y nitrosoureas. La microencapsulación de ingredientes activos hidrófilos requiere el uso de una fase dispersora apolar, tal como un aceite mineral. Los sistemas de acetona/parafina se emplean de forma convencional. Sin embargo, los niveles de incorporación del ingrediente activo hidrófilo a las microesferas, con relación a las cantidades empleadas en el procedimiento, son bastante bajas y, además, este sistema implica una limitación

ES 2 292 634 T3

con respecto a los tipos de polímeros que pueden utilizarse, puesto que se requiere que el polímero sea soluble en acetona, que es el caso de los polímeros de ácido láctico, pero que no el caso de los copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico. Por tanto, la técnica de emulsión/evaporación se considera, de forma tradicional, no adecuada para péptidos hidrosolubles y para todas las sustancias hidrosolubles.

5

Se describen micropartículas producidas según el procedimiento de evaporación del disolvente en dos solicitudes de patentes canadienses, CA 2.100.925 (Rhône-Merieux) y CA 2.099.941 (Tanabe Seiyaku Co.).

Según la solicitud CA 2.099.941, el ingrediente activo hidrosoluble y el polímero biodegradable se disuelven, en primer lugar, en un disolvente o una mezcla de disolventes. El disolvente/mezcla de disolventes entonces se elimina, y la dispersión sólida formada se disuelve en otro disolvente orgánico inmiscible con el agua. La disolución resultante (fase oleosa) se emulsiona en una fase acuosa, de manera que se forma una emulsión W/O (“water/oil”, agua/aceite). Por último, el disolvente orgánico de la fase oleosa se evapora. Los ejemplos específicos citados en la patente describen el uso de un polímero de poli(lactida-co-glicólido) (PLGA) como matriz, y la hormona liberadora de tireotropina (TRH) o uno de sus derivados como principio activo.

15

Los componentes se disuelven, en primer lugar, en una mezcla de acetonitrilo/etanol y, opcionalmente, agua, o sólo acetonitrilo, o en una mezcla que consiste en acetonitrilo y una gelatina acuosa o diclorometano y etanol.

20

Se emplean disolventes orgánicos, tales como diclorometano o cloroformo, para disolver la dispersión sólida en formación. Una disolución acuosa de poli(alcohol vinílico) representa la fase acuosa. El tamaño de las micropartículas varía desde en un diámetro de 1 a 100 μm y, según los ejemplos específicos, de aproximadamente 50 μm a $\leq 100 \mu\text{m}$.

25

Según la solicitud CA 2.100.925, se producen micropartículas de hormona LHRH y sus análogos mediante la dispersión de la hormona LHRH en polvo en dos disolventes orgánicos, permitiendo un disolvente (el disolvente de dispersión) la producción de una suspensión homogénea mediante agitación sencilla. El segundo disolvente se mezcla con facilidad con agua y, por tanto, hace posible la microdispersión de la fase orgánica en la fase acuosa. Se emplea el diclorometano o, como alternativa, el cloroformo, como segundo disolvente. Las micropartículas tienen un diámetro de 1-250 μm . Las micropartículas son, preferiblemente, mayores que 50-60 μm .

30

La morfología de las micropartículas producidas de esta manera es, de nuevo, muy poco homogénea. Como se mencionó anteriormente, los disolventes halogenados empleados también presentan objeciones toxicológicas. Este procedimiento también requiere grandes cantidades de tensioactivos.

35

II. Separación de fases

Otra técnica que puede emplearse para formar micropartículas es la separación de fases, que implica la formación de una emulsión de agua en aceite o una emulsión de aceite en agua. El polímero precipita de la fase continua sobre el agente activo mediante un cambio en la temperatura, pH, fuerza iónica o la adición de precipitantes. De nuevo, este procedimiento sufre principalmente de la pérdida de ingrediente activo debido a la desnaturalización.

40

Por consiguiente, el uso de la separación de fases para la producción de micropartículas puede ser más adecuado para la formulación de micropartículas que contienen compuestos más hidrosolubles, en particular polipéptidos hidrosolubles. Los procedimientos de separación de fases para la preparación de micropartículas permiten una incorporación más eficaz de los fármacos y pueden ajustarse a escala con facilidad para fines industriales. El procedimiento de separación de fases normalmente emplea una emulsión o una suspensión de las partículas del fármaco en una disolución de un polímero de alto peso molecular y un disolvente orgánico del polímero. Entonces se añade un no disolvente a la suspensión o emulsión, lo cual provoca que el polímero se separe de la disolución y que encapsule las partículas de fármaco suspendidas o las gotas que lo contienen. Las micropartículas resultantes (que aún están hinchadas con el disolvente) entonces normalmente se endurecen mediante la posterior adición de un no disolvente o mediante otro procedimiento que refuerce y mejore las propiedades de las micropartículas.

50

En primer lugar, el producto que se va a encapsular se dispersa en la disolución del polímero previsto para formar, posteriormente, la matriz de las microcápsulas. En segundo lugar, se induce la coacervación del polímero mediante una modificación fisicoquímica del medio de reacción, en particular mediante un agente inductor de la separación de fases. En tercer lugar, las gotas coacervadas que se forman alrededor del material que se va a encapsular se estabilizan y solidifican mediante un no disolvente del polímero, por ejemplo heptano.

55

Las formulaciones farmacéuticas de péptido y proteínas hidrosolubles en forma de microcápsulas que se producen basándose en la coacervación y separación de fases de la emulsión se conocen a partir de las patentes de EEUU nº 4.675.189, 4.675.800, 4.835.139, 4.732.763 y 4.897.268; la solicitud de patente del Reino Unido nº 2.234.896; y los documentos EP 330.180 y EP 0302582, y de Ruiz *et al.* en the International Journal of Pharmaceutics (1989), 49:69-77, y en Pharmaceutical Research (1990), 9:928-934.

60

En estas descripciones se describen procedimientos en los que el copolímero empleado, preferiblemente un polímero de poli(lactida-co-glicólido), se disuelve en un disolvente orgánico halogenado, preferiblemente diclorometano, y una disolución acuosa de péptido se dispersa en esta disolución de polímero. Entonces se añade un llamado agente

65

ES 2 292 634 T3

de coacervación. El agente de coacervación es soluble en el disolvente orgánico empleado, pero no el polímero, de forma que se produce la precipitación del polímero con la incorporación de los polipéptidos dispersados.

Normalmente se utiliza aceite de silicona como agente de coacervación para la separación de fases. Después de la adición del aceite de silicona debe añadirse una gran cantidad de heptano, que produce la curación de las microcápsulas. La eficacia de encapsulación de este procedimiento es de aproximadamente 70% (patente de EEUU 4.835.139). Las microcápsulas producidas de esta manera tienen un diámetro de 1-500 μm , según los ejemplos preferiblemente de 10-50 μm .

La principal desventaja de este procedimiento es el uso de grandes cantidades de disolvente que, además de las restricciones de coste, produce problemas de toxicidad conectados con los disolventes, tales como el heptano. Esto es debido a que las técnicas mediante coacervación que emplean heptano no permiten su eliminación completa. Se observa una gran cantidad de disolventes residuales, del orden del 5% al 10% de heptano, en las microesferas.

Independientemente de lo expuesto anteriormente, también se ha observado que a menudo se producen agregados de microesferas que provocan una gran pérdida de rendimiento en la producción de estas microesferas mediante este procedimiento y, a veces, se requiere el rechazo total de algunos lotes que, de esta manera, no se pueden utilizar. La tendencia de las microesferas a agregarse provoca más dificultades en el momento de suspender las microesferas para la inyección, en el caso de microesferas inyectables.

Otra desventaja de la técnica mediante separación de fases es la distribución no homogénea de la sustancia activa en las microesferas con una liberación irregular y, en general, una primera fase de liberación acelerada ("efecto de estallido"). Esto se observa, en particular, cuando la sustancia activa se suspende en la disolución de polímero, en particular debido a que no es soluble en el disolvente para el polímero. Esto se aplica, en general, a los polipéptidos. Además, los problemas incluyen la formación de partículas no esféricas, la formación de partículas que no son lisas y tienen defectos, la presencia de partículas grandes con una amplia gama de tamaños, y la presencia de material que no está en partículas.

III. Emulsión doble

Otro ejemplo de un procedimiento para formar micropartículas se muestra en la patente de EEUU nº 3.523.906. En este procedimiento, un material que se va a encapsular se emulsiona en una disolución de un material polimérico en un disolvente que es inmiscible con el agua, y después la emulsión se emulsiona en una disolución acuosa que contiene un coloide hidrófilo. La eliminación del disolvente de las microcápsulas entonces se logra en una única etapa mediante evaporación, y se obtiene el producto.

El procedimiento de emulsión doble (W/O/W, "water/oil/water", agua/aceite/agua) y evaporación del disolvente también se describe en la patente de EEUU nº 3.523.906 para aplicaciones técnicas, y emplea polímeros no biodegradables como material de pared (por ejemplo, poliestireno), que se disuelven en hidrocarburos halogenados (diclorometano o cloroformo).

La patente de EEUU nº 5.330.767 describe el uso del procedimiento de emulsión doble W/O/W y evaporación del disolvente descrito en la patente de EEUU 3.523.906 para fines farmacéuticos. Por contraste con el procedimiento descrito en la patente de EEUU 3.523.906, en este caso sólo se utilizan polímeros biodegradables. Otros procedimientos de emulsión doble para la microencapsulación se describen en los documentos EP 190.833 y WO 99/58112, y las patentes de EEUU nº 5.648.095, 5.902.834, 4.954.298, 5.841.451, 4.917.893 y 4.652.441.

Sin embargo, un defecto grave de estos procedimientos es que las micropartículas producidas con ellos consisten en una mezcla de microesferas monolíticas, microcápsulas y microesponjas. Además de la limitada eficacia de encapsulación (30-60%), la morfología no homogénea de las micropartículas tiene un efecto significativo sobre el comportamiento de liberación del producto (R. Baker, *Controlled Release of Biologically Active Agents*, A. Wiley-Interscience Publications, 1987). Esto también impide, simultáneamente, la reproducibilidad de la calidad del producto.

Además, el procedimiento implica un complejo procedimiento de múltiples etapas, en las que el efecto específico de las etapas individuales del procedimiento sobre la calidad del producto es incierto y, por esta razón, la optimización del procedimiento también resulta difícil. El procedimiento es muy largo y requiere grandes volúmenes de disoluciones de tensioactivo. Otro defecto del procedimiento es el uso de disolventes con un elevado potencial toxicológico (Henschler D., *Angew. Chem.*, 106 (1994), 1997-2012).

IV. Secado por pulverización

Otro procedimiento para la producción de micropartículas biodegradables, en las que pueden incorporarse péptidos y proteínas hidrosolubles, descrito en el documento EP 0315875 (Hoeschst AG), se basa en el procedimiento de secado por pulverización. En este procedimiento, una disolución acuosa del péptido o proteína se emulsiona en una disolución orgánica del polímero, y esta emulsión entonces se seca por pulverización. Se describen ejemplos de otros procedimientos de secado por pulverización en las patentes de EEUU nº 5.648.096, 5.723.269 y 5.622.657.

ES 2 292 634 T3

Una mezcla de poli(ácido hidroxibutérico) y polímero de poli(lactida-co-glicólido) en una proporción de mezcla entre 99:1 y 20:80 se emplea como polímero biodegradable. El péptido/proteína se encuentra, entonces, en forma micronizada o en disolución acuosa. Se consideran disolventes el cloroformo, diclorometano, DMF o una mezcla de disolventes de agua/etanol/cloroformo. El cloroformo se emplea en los ejemplos mencionados. El secado por pulverización se realiza, preferiblemente, a temperaturas de 45°C a 95°C.

Los defectos de este procedimiento incluyen el bajo rendimiento (45% del teóricamente posible) y el elevado efecto de estallido inicial. Además, el uso de disolventes, tales como el diclorometano y el cloroformo, conduce a una contaminación con disolvente residual, toxicológicamente indeseable, del producto final. Las micropartículas secadas por pulverización, en principio, también muestran una fuerte tendencia hacia la aglomeración, y a menudo se forman aglomerados con un diámetro de hasta 100 μm .

En el secado por pulverización, el polímero y el fármaco se mezclan en un disolvente para el polímero. El disolvente entonces se evapora pulverizando la disolución hacia una cámara de secado, que también está provista de una fuente de agente de secado. Esto produce gotas poliméricas que contienen el fármaco. Sin embargo, las sustancias sensibles, como las proteínas, pueden inactivarse durante el procedimiento debido a las elevadas temperaturas empleadas y la exposición a interfases de disolvente orgánico/aire. Otras desventajas incluyen la generación de una alta porosidad, debido a la rápida eliminación del disolvente orgánico. Una variación que se ha introducido para evitar estos defectos es el uso de una baja temperatura durante la formación de las microesferas (documentos US 5.019.400, WO 90/13780 y US 4.166.800). Se han preparado microcápsulas utilizando un revestimiento por pulverización de micropartículas que contienen fármaco con polímeros de PLGA, como se describe en el documento US 4.568.559.

Otros ejemplos de procedimientos de microencapsulación se conocen en la técnica anterior. Por ejemplo, otro ejemplo de un procedimiento de microencapsulación convencional de la técnica anterior se muestra en la patente de EEUU n° 3.737.337, en la que se prepara una disolución de un material polimérico formador de pared o envuelta en un disolvente. El disolvente sólo es parcialmente soluble en agua. Un material sólido o de núcleo se disuelve o dispersa en la disolución que contiene polímero y, después, en una única etapa, la disolución que contiene el material de núcleo se dispersa en un líquido acuoso que es inmisible con el disolvente orgánico, para eliminar el disolvente de las microcápsulas. En otro procedimiento, tal como se muestra en la patente de EEUU n° 3.691.090, el disolvente orgánico se evapora de una dispersión de microcápsulas en un medio acuoso en una única etapa, preferiblemente a presión reducida. De forma similar, la descripción de la patente de EEUU n° 3.891.570 muestra un procedimiento en el que el disolvente de una dispersión de microcápsulas en un medio de alcohol polihidroxílico se evapora de las microcápsulas mediante la aplicación de calor, o poniendo las microcápsulas a presión reducida. Otro ejemplo de un procedimiento de eliminación del disolvente en una etapa se muestra en la patente de EEUU n° 3.960.757.

El documento WO 97/19676 describe un procedimiento para la microencapsulación de agentes activos hidrófilos. Una disolución acuosa de agente activo con un pH de 6,0-8,0 se añade a una disolución de polímero. Entonces se añade una fase acuosa de tensioactivo para formar microcápsulas que comprenden un núcleo interno acuoso que contiene el agente activo.

El documento WO 99/20253 describe un procedimiento para formar micropartículas, en el que una emulsión o dispersión del fármaco se inyecta en una disolución acuosa de polietilenglicol (PEG) que actúa como fase continua y como medio de extracción. El disolvente para la emulsión o dispersión debe ser inmisible o esencialmente inmisible, pero ligera o muy ligeramente soluble en la disolución de agua/PEG. Los ejemplos incluyen acetato de etilo, diclorometano, metil etil cetona y metil isobutil cetona, por sí solos o en combinación. Se emplea una alta concentración de PEG para evitar la difusión del agente activo desde las gotas/partículas. El procedimiento requiere varias horas de mezclado para producir las micropartículas.

Otros procedimientos para producir micropartículas se describen en las patentes de EEUU n° 6.291.013, 5.792.477, 5.643.605, 5.922.357, 6.309.569 y en las publicaciones PCT WO 99/59548 y WO 01/28591. Cualquiera que sea el procedimiento, el patrón de liberación del fármaco desde una micropartícula depende de numerosos factores. Por ejemplo, el tipo de fármaco encapsulado y la forma en la que se presenta (es decir, líquido o polvo) puede afectar al patrón de liberación del fármaco. Otro factor que puede afectar al patrón de liberación del fármaco es el tipo de polímero empleado para encapsular el fármaco. Otros factores que afectan al patrón de liberación del fármaco incluyen la carga del fármaco, la manera de distribución en el polímero, el tamaño de partícula y la forma de la partícula. A pesar de las numerosas modificaciones realizadas en los procedimientos anteriores para producir micropartículas para aplicaciones farmacéuticas, sigue habiendo problemas que reducen la eficacia y reproducibilidad de las micropartículas producidas mediante estos procedimientos, en particular para su uso en sistemas de administración de liberación controlada.

Definiciones

Tal como se utiliza en la presente, la expresión "fase del fármaco" hace referencia a la fase que contiene polímero/agente activo formada durante la fabricación de las micropartículas según la invención, que es el resultado de la adición de un agente activo a la disolución orgánica del polímero existente antes de la adición de la fase acuosa de tensioactivo. La fase del fármaco puede ser una disolución, dispersión, suspensión o emulsión.

ES 2 292 634 T3

Tal como se utiliza en la presente, el término “microcápsula” hace referencia a una micropartícula en la que una pared polimérico encierra a un núcleo que consiste en una disolución o suspensión acuosa. En el caso de microcápsulas que encapsulan agentes activos hidrófilos, el núcleo comprende una disolución acuosa que incluye el agente activo.

5 Tal como se utiliza en la presente, el término “micropartícula” hace referencia a partículas sustancialmente esféricas que tienen un diámetro medio de aproximadamente 20 nm a 1000 μm , e incluye microcápsulas, microesferas y microesponjas.

10 Tal como se utiliza en la presente, el término “microesfera” se refiere a una micropartícula en la que un agente activo está embebido dentro de una matriz polimérica sólida.

Tal como se utiliza en la presente, el término “microesponja” hace referencia a una micropartícula en la que un agente activo está embebido dentro de una matriz polimérica que comprende una estructura de células abiertas.

15 Tal como se utiliza en la presente, la expresión “fase de tensioactivo” hace referencia a una disolución acuosa que tiene un tensioactivo o mezcla de tensioactivos disueltos, con o sin otros excipientes.

20 Tal como se utiliza en la presente, la expresión “fracción en volumen” hace referencia al volumen de la fase indicada con respecto al volumen completo de material utilizado para producir la suspensión de micropartículas según la invención. Por ejemplo, la fracción en volumen de la fase acuosa de tensioactivo es el volumen de la fase acuosa de tensioactivo dividido entre el volumen total de la fase del fármaco y la fase acuosa de tensioactivo.

Sumario de la invención

25 La presente invención proporciona un procedimiento nuevo, sencillo y suave para la encapsulación de agentes activos hidrófilos en polímeros biodegradables, que evita o reduce las desventajas que aparecen en la técnica anterior. El procedimiento produce micropartículas no aglomerantes en el intervalo de tamaño de 20 nm a 1.000 μm , con unas eficacias de encapsulación mayores que 85%, preferiblemente mayores que 90%, utilizando disolventes toxicológicamente aceptables. El procedimiento de la presente invención emplea un volumen mínimo de disolución de tensioactivo, dando como resultado un menor tiempo de producción, comparado con otros procedimientos de la técnica anterior. Además, el procedimiento según la invención puede ajustarse a escala con facilidad para cumplir con las necesidades de una producción a escala comercial, puesto que proporciona un procedimiento en una etapa, muy simplificado, comparado con los procedimientos de la técnica anterior.

35 Además, el procedimiento según la presente invención proporciona un mayor control sobre la distribución del tamaño de partículas, permite la producción de micropartículas que tienen una morfología deseada, y también más uniforme, y permite una reducción en la energía de mezclado requerida para obtener las micropartículas. Además, la presente invención permite utilizar una menor cantidad de disolución de tensioactivo necesaria para formar la suspensión de micropartículas, comparado con los procedimientos de la técnica anterior, en los que la fase del fármaco se inyecta, de forma típica, en un gran exceso de disolución de tensioactivo. Esto reduce, en gran medida, el tiempo de procesamiento y minimiza la cantidad de tensioactivo que, en algunos casos, es necesario eliminar de las micropartículas antes de su uso previsto.

45 De forma más específica, la presente invención se refiere a un procedimiento para encapsular un agente activo hidrófilo en un polímero biodegradable, que comprende disolver un polímero en un disolvente exento de halógenos que es al menos parcialmente miscible en agua para formar una disolución de polímero; añadir un agente activo hidrófilo a la disolución de polímero para formar una fase del fármaco contenida en un recipiente; añadir una cantidad predeterminada de una fase acuosa de tensioactivo al recipiente que contiene la fase del fármaco, con mezclado, en el que $\delta_{\text{disolvente del polímero}} - \delta_{\text{fase acuosa}} < 0 \text{ (cal/cm}^3\text{)}^{1/2}$, siendo dicha cantidad predeterminada suficiente para (i) dar como resultado una fracción en volumen de la fase de tensioactivo entre 65% y 80%, y (ii) hacer que la fase de tensioactivo sea la fase continua y medio de extracción para extraer una cantidad de dicho disolvente de dicha fase del fármaco, de forma que se produce una suspensión de micropartículas tras la adición de la fase de tensioactivo a la fase del fármaco sin la formación de una emulsión doble W/O/W intermedia y sin requerir la eliminación del disolvente del recipiente.

55 **Breve descripción de los dibujos**

La figura 1 representa un esquema del procedimiento según un aspecto de la invención.

60 Las figuras 2a y 2b muestran imágenes de microscopio electrónico de microcápsulas producidas en el ejemplo 1.

La figura 3 muestra imágenes de microscopio óptico de microcápsulas producidas en el ejemplo 1.

65 La figura 4 muestra los niveles de testosterona resultantes de la administración de micropartículas de goserelina del ejemplo 19.

La figura 5 muestra los niveles de testosterona resultantes de la administración de micropartículas de goserelina del ejemplo 23.

Las figuras 6a-d muestran imágenes de microscopio óptico de microcápsulas producidas en el ejemplo 31/1-4.

Las figuras 7a-b muestran imágenes de microscopio electrónico de microesponjas producidas en los ejemplos 31/2 y 31/3.

Las figuras 8a-b muestran imágenes de microscopio electrónico de microesferas producidas en los ejemplos 32/2 y 32/3.

La figura 9 muestra la velocidad de liberación desde las formulaciones preparadas según los ejemplos 45-47.

Descripción detallada de la invención

Se ha descubierto, de forma sorprendente, que mediante la selección apropiada y la adición de una fase acuosa de tensioactivo a una fase de fármaco que comprende un disolvente o mezcla de disolventes orgánicos que son al menos parcialmente solubles en agua y, preferiblemente, tienen una solubilidad en agua de aproximadamente 1,5-40% en peso, la fase acuosa de tensioactivo actúa como fase continua y medio de extracción, permitiendo, con ello, formarse una suspensión de micropartículas casi inmediatamente sin requerir la evaporación del disolvente ni otra etapa de eliminación del disolvente parecida. El procedimiento de la presente invención puede practicarse para preparar micropartículas de diversas morfologías, incluyendo microcápsulas, microesponjas, microesferas y sus mezclas, y puede utilizarse para encapsular agentes activos hidrófilos.

Según la presente invención, el polímero para la microencapsulación se disuelve en un disolvente o mezcla de disolventes exentos de halógenos, parcialmente miscibles en agua, para formar una disolución orgánica del polímero. La solubilidad del disolvente o mezcla de disolventes orgánicos en agua o en la fase acuosa de tensioactivo, con o sin tampones, tiene un valor entre 1,5% (p/p) y 40% (p/p). Cuando se emplean disolventes con una solubilidad en agua mayor que 40% (p/p), se emplean mezclados con un volumen mayor de otro disolvente de menor solubilidad en agua, de forma que la solubilidad en agua de la mezcla de disolventes se reduce a menos de 40% p/p. Entonces se prepara una fase del fármaco dependiendo del agente activo que se va a encapsular y de la morfología deseada de las micropartículas, como se describe en detalle a continuación.

Cuando se ha preparado la fase del fármaco, se añade una fase acuosa de tensioactivo al recipiente en que está contenida la fase del fármaco, como se detalla a continuación. El disolvente del polímero se selecciona basándose en su miscibilidad en la fase acuosa de tensioactivo. Según la presente invención, el disolvente del polímero y las disoluciones acuosas de tensioactivo se seleccionan basándose en sus parámetros de solubilidad δ (cal/cm^3)^{1/2}, de forma que $\delta_{\text{disolvente del polímero}} - \delta_{\text{fase acuosa}} < 0$, preferiblemente $\delta_{\text{disolvente del polímero}} - \delta_{\text{fase acuosa}}$ está en el intervalo de 0 a -15δ (cal/cm^3)^{1/2}.

Además de los parámetros de solubilidad, las fracciones en volumen de cada una de las disoluciones combinadas según el procedimiento de la presente invención se seleccionan para que se forme una suspensión de micropartículas casi inmediatamente después de combinar la fase del fármaco con la fase acuosa.

Una suspensión de micropartículas se forma inmediatamente, preferiblemente en un minuto de mezclado. Se sigue mezclando, preferiblemente hasta aproximadamente 30 minutos, y más preferiblemente aproximadamente 4-10 minutos. Las micropartículas pueden retirarse de la suspensión mediante técnicas muy conocidas. Este procedimiento sorprendentemente sencillo para producir micropartículas da como resultado unas mejoras significativas frente a la técnica anterior, incluyendo el uso de disolventes del polímero menos tóxicos, un control sobre la morfología de las micropartículas, y un procedimiento mucho más simplificado, con una tremenda disminución en el tiempo de producción comparado con los procedimientos de la técnica anterior. Además, la presente invención se presta con facilidad al ajuste de escala para una producción a gran escala.

Según una realización dirigida a la encapsulación de agentes activos hidrófilos en microcápsulas, como se muestra en la figura 1, la fase del fármaco se prepara disolviendo el agente activo hidrófilo en agua o en una disolución tampón acuosa con un valor de pH entre 2,0 y 11, para formar una disolución acuosa del agente activo 20. Se prepara una disolución del polímero 10 disolviendo el polímero en un disolvente orgánico, que entonces se añade al recipiente 40. Se añade la disolución acuosa del agente activo 20 a la disolución orgánica del polímero en el recipiente 40 y se dispersa mediante un agitador mecánico para formar una fase del fármaco intermedia que comprende una emulsión W/O. Debe advertirse que, puesto que el procedimiento en una etapa de la presente invención es un procedimiento relativamente rápido, en este momento del procedimiento no se observa realmente una emulsión W/O y, por tanto, se denomina simplemente fase del fármaco de emulsión W/O intermedia en interés de este análisis. Entonces se añade una fase acuosa de tensioactivo 30 a la fase del fármaco en el recipiente 40 para producir una suspensión de micropartículas 50 en el recipiente 40, como se analiza a continuación.

Para formar la suspensión de micropartículas, se añade un volumen definido de una disolución acuosa o disolución tampón que contiene un tensioactivo o mezcla de tensioactivos como fase continua a la fase del fármaco producida mediante homogeneización durante la agitación, de forma que se produce una transición de fase desde la fase orgánica a la fase acuosa, con la formación inmediata de una suspensión de micropartículas. En una realización preferida, el volumen de la fase acuosa de tensioactivo continua requerida para la transición de fase se calcula, más o menos, considerando que las micropartículas de polímero en la fase acuosa de tensioactivo continua ocupan las cavidades

ES 2 292 634 T3

en una disposición “cúbica centrada en un cuerpo” o “cúbica centrada en una cara” o “empaquetada hexagonal”. La fracción en volumen de la fase acuosa de tensioactivo es entre 65% y 80%, y lo más preferible entre 68% y 74%.

5 Tal como se analizó anteriormente, según esta realización dirigida a la encapsulación de agentes activos hidrófilos en microcápsulas, la adición de la fase acuosa de tensioactivo a la fase del fármaco da como resultado la formación casi inmediata de una suspensión de micropartículas. El procedimiento según la presente invención elimina la etapa de formación de una emulsión doble (W/O/W) de la cual debe eliminarse el disolvente antes de la formación de cualquier micropartícula, como en los procedimientos de emulsión doble mencionados anteriormente. Como resultado, el procedimiento de la presente invención proporciona un mejor control de las distribuciones del tamaño de partícula, y produce micropartículas de diámetro medio más pequeño y una morfología más uniforme, y mayores eficacias de encapsulación. Además, la suspensión de micropartículas se forma a los pocos minutos de la adición de la fase acuosa de tensioactivo a la fase del fármaco, preferiblemente en un minuto, comparado con los procedimientos de la técnica anterior, que requieren unos tiempos de producción de hasta varias horas.

15 Cuando se ha formado la suspensión de micropartículas, el disolvente o mezcla de disolvente se elimina mediante los procedimientos habituales, preferiblemente al vacío y/o una corriente de aire/nitrógeno, o también mediante filtración o extracción. Después de eliminar el disolvente, las micropartículas también se someten a una filtración de “flujo cruzado”, si se desea; como resultado, se eliminan con suavidad los residuos de tensioactivo y los residuos de disolvente, así como cualquier sustancia activa no encapsulada o, como puede ser el caso, cualquier sustancia activa adherida a la superficie.

20 Las micropartículas se concentran después de lavar con agua (centrifugación o filtración) y, opcionalmente, se liofilizan o se secan por pulverización, según se describe en las patentes mencionadas anteriormente, o se secan en un lecho fluido como se describe, por ejemplo, en la patente de EEUU n° 6.080.429. Según una realización preferida, se añade un modificador de la viscosidad a la fase acuosa de tensioactivo. Se ha descubierto, de forma sorprendente, que la sustitución de una porción de agua de la fase acuosa de tensioactivo por un agente modificador de la viscosidad, tal como glicerol, produce unos diámetros medios de las micropartículas más pequeños y menores distribuciones de tamaño de las micropartículas, así como un aumento en la carga del fármaco y la eficacia de encapsulación.

30 La viscosidad de la fase acuosa de tensioactivo puede variarse en varios órdenes de magnitud mediante la sustitución sucesiva de agua por glicerina. Según esta realización, se proporciona la fase acuosa de tensioactivo con aproximadamente 1-80% en peso, preferiblemente 5-50% en peso, de un modificador de la viscosidad, tal como glicerol. Otros modificadores de la viscosidad incluyen polietilenglicol, ácido hialurónico, polímeros de celulosa y derivados de celulosa, quitosano y otros polímeros bioadhesivos, y otros agentes conocidos en la técnica, tales como los descritos en las patentes de EEUU n° 4.652.441, 4.711.282, 4.917.893 y 5.061.492.

40 Según otra realización preferida, se añade un codisolvente a la fase acuosa de tensioactivo. El codisolvente es miscible en agua y también se caracteriza por ser un disolvente para el disolvente del polímero, pero no un disolvente para el polímero. Según esta realización, la fase acuosa de tensioactivo es capaz de extraer más del disolvente del polímero de la disolución orgánica del polímero, comparado con un volumen equivalente de fase acuosa de tensioactivo sin ningún codisolvente. Esto reduce la fracción en volumen de fase acuosa de tensioactivo requerida para formar la suspensión de micropartículas, reduciendo, con ello, la cantidad de tensioactivo que debe eliminarse de la suspensión de micropartículas. La cantidad de codisolvente que se va a añadir a la fase acuosa de tensioactivo depende, principalmente, del polímero y del disolvente del polímero seleccionados. De forma típica, se añade aproximadamente 1-40% en peso de codisolvente a la fase acuosa de tensioactivo según esta realización. Los codisolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a alcoholes, tales como etanol, metanol, éteres y polietilenglicol.

45 Según otra realización preferida, se utilizan disoluciones tamponadas para aumentar las eficacias de encapsulación. Por ejemplo, un número significativo de proteínas y péptidos hidrófilos son estables a un pH neutro de alrededor de 7,0. Para la encapsulación de estos agentes activos hidrófilos en microcápsulas, el agente activo se disuelve en una disolución tamponada para mantener el pH en el que el agente activo permanece estable, de forma típica alrededor de pH 4,0-9,0. La fase acuosa de tensioactivo se proporciona, de manera similar, con un tampón para mantener el pH de la fase acuosa de tensioactivo en un intervalo en el que el agente activo no es soluble. Esta selección de tampones actúa para mantener el agente activo en la fase del fármaco y evita la migración del agente activo hacia el interior de las microcápsulas. Debe entenderse que el uso de tampones también puede emplearse para aumentar las eficacias de encapsulación según cualquiera de las realizaciones indicadas anteriormente.

50 Según la presente invención, el tamaño de partícula deseado puede ajustarse mediante la velocidad de agitación y el tiempo de agitación, y también mediante la concentración de tensioactivo. Las microesferas de la presente invención pueden prepararse en cualquier tamaño deseado, que varía de aproximadamente 0,1 μm hacia arriba hasta aproximadamente 1000 μm de diámetro, variando parámetros del procedimiento, tales como la velocidad de agitación, el volumen de disolvente utilizado en la etapa de transición de fase, la temperatura, la concentración del(los) polímero(s), y la viscosidad inherente del(los) polímero(s). Los expertos en la técnica pueden determinar con facilidad estos criterios de selección.

65 La presente invención puede practicarse para encapsular una amplia variedad de agentes activos hidrófilos, incluyendo proteínas, péptidos, polipéptidos, oligonucleótidos, plásmidos o ADN. Los ejemplos de agentes activos adecuados para su uso en esta invención incluyen, pero no se limitan a calcitonina, eritropoyetina (EPO), factor VIII,

factor IX, ceredasa, cerezima, ciclosporina, factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF), inhibidores de la alfa-1 proteinasa, elcatonina, factor estimulante de colonias de macrófagos granulocitos (GMCSF), hormonas del crecimiento, incluyendo hormona del crecimiento humana (HGH) y hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH), heparina, heparina de bajo peso molecular (LMWH), interferones, incluyendo interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, interleuquina-2, hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) y análogos de LHRH, incluyendo goserelina, insulina, somatostatina, análogos de la somatostatina, incluyendo octreótido, vasopresina y sus análogos, hormona estimulante del folículo (FSH), factor del crecimiento de tipo insulínico, insulintropina, antagonista del receptor de interleuquina-1, interleuquina-3, interleuquina-4, interleuquina-6, factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor del crecimiento nervioso, hormona paratiroidea (PTH), timosina alfa 1, inhibidor de IIB/IIIa, alfa-1 antitripsina, VLA-4, anticuerpos del virus sincitial respiratorio, gen regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), desoxirribonucleasa (ADNasa), proteína bactericida/de aumento de la permeabilidad (BPI), anticuerpo anti-CMV, receptor de interleuquina-1, vacunas, ácido 13-cis-retinoico, isetourato de pentamidina, sulfato de albuterol, sulfato de metaproterenol, dipreionato de beclometasona, acetamida de triamcinolona, acetonida de budesonida, fluticasona, bromuro de ipratropio, flunisolida, cromolina sodio, tartrato de ergotamina y los análogos, agonistas y antagonistas de los anteriores.

La cantidad de agente activo que se va a encapsular depende del tipo de sustancia, duración, tiempo y efecto deseado. Las cargas de fármaco según esta invención varían hasta aproximadamente 40% en peso (grado de carga = peso del principio activo x 100/peso del principio activo + peso del polímero).

Los polímeros adecuados para la práctica de la presente invención se conocen a partir de la bibliografía e incluyen, por ejemplo, poliamidas, polianhídridos, poliésteres, poliortoésteres, poliacetatos, polilactonatos y poliortocarbonatos. Un polímero biodegradable preferido según la invención comprende un poliéster de ácidos α -, β - y γ -hidroxicarboxílicos, o copolímeros en bloque de poliésteres de ácidos α -, β - y γ -hidroxicarboxílicos y polietilenglicoles lineales o estrellados. Los polímeros de polilactida-co-glicólido representan una clase particularmente preferida de polímeros según la invención.

De forma típica, una disolución de polímero adecuada contiene entre aproximadamente 1% (p/p) y aproximadamente 50% (p/p) de un polímero biocompatible adecuado, en el que el polímero biocompatible se disuelve, de forma típica, en un disolvente de polímero adecuado. Preferiblemente, una disolución de polímero contiene aproximadamente 5% (p/p) a aproximadamente 20% (p/p) del polímero. La velocidad de degradación para las micropartículas de la invención se determina, en parte, mediante el peso molecular del polímero. Los polímeros de diferentes pesos moleculares (o viscosidades inherentes) pueden mezclarse para producir un perfil de degradación deseado. Según una realización preferida, la velocidad de degradación se controla mediante la proporción de lactida a glicólido en el polímero.

Los ejemplos de polímeros biodegradables para su uso con el procedimiento de la presente invención son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a poliglicólidos (PGA) y copolímeros de glicólidos, tales como copolímeros de glicólido/lactida (PGA/PLLA) o copolímeros de glicólido/carbonato de trimetileno (PGA/TMC); L-polilactidas (PLA) y estereocopolímeros de polilactidas, tales como poli(L-lactida) (PLLA), copolímeros de poli(DL-lactida), y copolímeros de L-lactida/DL-lactida; copolímeros de PLA, tales como copolímeros de lactida/tetrametilglicólido, copolímeros de lactida/ δ -valerolactona, y copolímeros de lactida/ ϵ -caprolactona (PHPA), poli(β -hidroxibutirato) (PHBA), copolímeros de PBBA/ β -hidroxivalerato (PHBA/HVA), poli(β -hidroxipropionato) (PHPA), poli(P-dioxanona) (PDS), poli(δ -valerolactona), poli(ϵ -caprolactona), poli(poli-amino-ácidos), polisacáridos que se han hecho hidrófobos, o ácido hialurónico que se ha hecho hidrófobo, o dextranos que se han hecho hidrófobos, o amilopectina o ácido hialurónico que se han hecho hidrófobos de una manera autoorganizativa.

Los copolímeros en bloque AB que comprenden PLA y PEG, los copolímeros en tribloque ABA que comprenden PLA-PEG-PLA, los copolímeros en bloque S(3)-PEG-PLA, y los copolímeros en bloque S(4)-PEG-PLA son adecuados para su uso en el procedimiento según la invención como copolímeros en bloque de poliésteres de ácidos hidroxicarboxílicos y polietilenglicol (PEG) lineal o estrellado.

Los polímeros adecuados que se pueden adquirir en el mercado para su uso según la presente invención incluyen, pero no se limitan a Resomer[®] (Bohringer-Ingelheim) L-104, L-206, L-207, L-208, L-209, L-210, L-214, R-104, R-202, R-203, R-206, R-207, R-208, G-110, G-205, LG-909, RG-502, RG-502H, RG-503, RG-503H, RG-504, RG-504H, RG-505, RG-505H, RG-506, RG-508, RG-752, RG-756 y Resomer[®] RG-858.

Los disolventes o mezclas de disolvente preferidos según la invención incluyen acetona, etanol, acetatos de alquilo, tales como acetato de metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo o butilo, formiatos de alquilo, tales como formiato de metilo, etilo, propilo, isopropilo o isobutilo, triacetina, citrato de trietilo y/o lactatos de alquilo C1-C4, por ejemplo lactatos de metilo o etilo, metil etil cetona, metil isobutil cetona, tetrahidrofurano, sulfóxido de dimetilo, 1-metil-2-pirrolidona y 3-metil-1-butanol, acetonitrilo, THF, DMSO, PEG 100, PEG 400, N-metilpirrolidona, glicofurol, carbonato de dietilo, y 2-metil-1-propanol.

Los tensioactivos preferidos incluyen tensioactivos catiónicos, aniónicos y no iónicos, incluyendo, pero sin limitarse a Poloxamere[®]/Poloxamine[®], polietilenglicol alquil éteres, polisorbatos (Tween[®], Span[®]), ésteres de sacarosa (Sistema[®], Países Bajos), ésteres de sacarosa (Ryoto Sugar Ester, Tokio), gelatinas, polivinilpirrolidona, poliglicósidos de alcoholes grasos, Charps, Charpso, decil- β -D-glicopiranosido, decil- β -D-maltopiranosido, dodecil- β -D-maltopira-

ES 2 292 634 T3

nósido, oleato de sodio, polietilenglicol, poli(alcohol vínlico), éteres de ácidos grasos polietoxilados (Brij®), Triton X 100 o sus mezclas. Se utilizarán unas cantidades eficaces para proporcionar una formulación estable y acuosa, normalmente en el intervalo de aproximadamente 0,1% (p/v) a aproximadamente 30% (p/v).

5 La eficacia de encapsulación del procedimiento es al menos 85%, pero se logran unas eficacias de encapsulación preferiblemente entre 90% y 95%. Se entiende que la eficacia de encapsulación significa el peso del ingrediente activo encapsulado x 100/peso del ingrediente activo empleado. Además, la presente invención proporciona unas morfologías muy uniformes, de forma que las micropartículas resultantes comprenden al menos 85%, preferiblemente al menos 90%, y lo más preferible más de 95% de una única morfología uniforme (es decir, al menos 95% de microcápsulas).

10 Las formulaciones de la presente invención pueden contener un conservante, múltiples excipientes, tales como polietilenglicol (PEG), además de polioles, tales como trehalosa o manitol. Los ejemplos de conservantes adecuados para la formulación incluyen fenol, alcohol bencílico, meta-cresol, metilparabeno, propilparabeno, cloruro de benzalconio, y cloruro de benzetonio. Los conservantes preferidos incluyen aproximadamente del 0,2% al 0,4% (p/v) de fenol, y aproximadamente del 0,7% al 1% (p/v) de alcohol bencílico, aunque el tipo de conservante y el intervalo de concentración no resultan críticos.

20 En general, la fase del fármaco, la disolución orgánica del polímero y/o la fase de tensioactivo de la presente invención pueden contener otros componentes en cantidades que no desvirtúan la preparación de formas estables, y en cantidades suficientes para una administración farmacéutica eficaz y segura. Por ejemplo, otros excipientes farmacéuticamente aceptables muy conocidos por los expertos en la técnica pueden formar parte de la composición pertinente. Éstos incluyen, por ejemplo, sales, diversos agentes de relleno, otros agentes tamponantes, agentes quelantes, antioxidantes, codisolventes y similares; los ejemplos específicos de éstos incluyen sales de tris-(hidroximetil)aminometano (“tampón Tris”), y edetato de disodio. Se añaden opcionalmente para la liofilización crioprotectores, tales como azúcares, alcoholes de azúcares, o inhibidores de la cristalización, tales como los descritos en la patente de EEUU nº 5.676.968, tales como polivinilpirrolidona de bajo peso molecular y derivados.

30 Según un uso preferido de las micropartículas para una aplicación farmacéutica, las microesferas se colocan en formulaciones farmacéuticamente aceptables, estériles e isotónicas, junto con cualquier cofactor requerido, y se administran, opcionalmente, mediante medios convencionales muy conocidos en la técnica. Las formulaciones en microesferas se conservan, de forma típica, como un polvo seco. Debe entenderse que las micropartículas de la presente invención pueden encontrar un uso en otras aplicaciones, tales como productos químicos industriales, herbicidas, fertilizantes y tintes.

35 La invención se explica más a fondo a continuación en los ejemplos prácticos.

40 Ejemplo 1

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-756 en 15 ml de acetato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 5 mmol que contiene 200 mg de HSA (albúmina de suero humana) (pH 7,4) mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente.

45 Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Pluronic F68 al 4% como fase continua, con agitación (10.000 rpm). Después de aproximadamente 30 segundos de agitación, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de acetato de etilo a temperatura ambiente aplicando un vacío, o mediante extracción con agua. Después de 2 horas, la suspensión se lava con 6 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado.

50 Una purificación y una concentración pueden realizarse de modo más suave mediante filtración de flujo cruzado con un sistema Sartocoon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

55 La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de tensioactivo se mezcla con un crioprotector (por ejemplo, con un derivado de azúcar, alcohol de azúcar o polivinilpirrolidona), se congela lo más deprisa posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y se liofiliza. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en albúmina de suero humana de 18% (peso de la albúmina de suero humana x 100/peso de la albúmina de suero humana + peso del polímero = grado de carga), y éstas tienen un diámetro de 0,2 a 8 µm. La eficacia de encapsulación es de 86%.

60 Las figuras 2a y 2b muestran imágenes de microscopio electrónico de microcápsulas producidas en el ejemplo 1.

65 Las figuras 3a y 3b muestran imágenes de microscopio óptico de microcápsulas producidas en el ejemplo 1.

ES 2 292 634 T3

Ejemplo 2

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-858 en 15 ml de acetato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución tampón acuosa de PBS 50 mmol (pH 7,4) que contiene 100 mg de HSA (albúmina de suero humana) en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm, mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Pluronic F127 al 4% como fase continua, con agitación (10.000 rpm). Después de aproximadamente 30 segundos de agitación, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

La suspensión de micropartículas se sigue procesando como en el ejemplo 1.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en albúmina de suero humana de 10% (peso de la albúmina de suero humana x 100/peso de la albúmina de suero humana + peso del polímero = grado de carga), y éstas tienen un diámetro de 0,2 a 15 µm. La eficacia de encapsulación es de 88%.

Ejemplo 3

Polímero: RG-858, cantidad empleada: 750 mg. El polímero se disuelve en 15 ml del disolvente listado en la tabla 1.

Disolución de tensioactivo: volumen, 50 ml. Se disuelven 2 g del tensioactivo listado en la tabla 1 en 50 ml de agua.

Disolución de HSA: Se disuelven 10 mg de HSA en 5 ml de una disolución de Tris(hidroximetil)aminometano 10 mmol (pH 7,4).

Se producen microcápsulas cargadas con HSA a partir de los componentes listados en este ejemplo, según el procedimiento descrito en el ejemplo 1. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un diámetro de 0,2 a 15 µm.

TABLA 1

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
Acetato de metilo							
Acetato de etilo							
Acetato de isopropilo							
Formiato de etilo							
Formiato de propilo							
Formiato de isopropilo							
Etil metil cetona							

La eficacia de encapsulación en todas las cargas listadas en la tabla 1 es de al menos 85%.

Ejemplo 4

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-752 en 15 ml de acetato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de tampón de PBS 10 mmol que contiene 50 mg de ovalbúmina (pH 7,4) en la disolución del polímero durante 3 minutos a 9.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Pluronic F127 al 4% como fase continua, con agitación (9.000 rpm). Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un

ES 2 292 634 T3

matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de acetato de etilo a temperatura ambiente aplicando un vacío, mediante la introducción de nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. Después de 3 horas, la suspensión se lava con 6 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra mediante centrifugación o filtración hasta el volumen deseado. Se realiza una filtración “de flujo cruzado” mediante un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen) con un membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 µm).

La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de tensioactivo se mezcla con un crioprotector (por ejemplo, con un derivado de azúcar, alcohol de azúcar o polivinilpirrolidona), se congela lo más deprisa posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y se liofiliza.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 5%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 20 µm. La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 5

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de tampón de PBS 10 mmol que contiene 50 mg de ovoalbúmina 5 mmol acuosa (pH 7,4) en la disolución del polímero durante 3 minutos a 9.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 45 ml de una disolución en agua de Poloxamin T-707 al 4% como fase continua, con agitación (9.000 rpm). Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 4.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 4,7%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 µm. La eficacia de encapsulación es de 87%.

Ejemplo 6

Polímero: RG-858, cantidad empleada: 750 mg. El polímero se disuelve en 15 ml del disolvente listado en la tabla 2.

Disolución de tensioactivo: volumen, 50 ml. Se disuelven 2 g del tensioactivo listado en la tabla 2 en 50 ml de agua.

Disolución de ovoalbúmina: Se disuelven 10 mg de ovoalbúmina en 5 ml de una disolución de Tris(hidroximetil) aminometano 10 mmol (pH 7,4).

Se producen microcápsulas cargadas con ovoalbúmina a partir de los componentes listados en este ejemplo, según el procedimiento descrito en el ejemplo 4. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un diámetro de 0,2 a 20 µm.

TABLA 2

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
Acetato de metilo							
Acetato de etilo							
Acetato de isopropilo							
Formiato de etilo							
Formiato de propilo							
Formiato de isopropilo							
Etil metil cetona							

La eficacia de encapsulación en todas las cargas listadas en la tabla 2 es de al menos 85%.

ES 2 292 634 T3

Ejemplo 7

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-752 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de tampón citrato 50 mmol (pH 6,6) que contiene 50 mg de citocromo C en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de Poloxamin T-707 al 4% como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml agitado con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de acetato de metilo a 20°C aplicando un vacío, mediante la introducción de nitrógeno o agua, o mediante extracción con agua. Después de 3 horas, la suspensión se lava con 6 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración. El uso de una filtración "de flujo cruzado" resulta ventajoso, por ejemplo, con un sistema Sartocon mini[®] (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 µm).

La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de tensioactivo se mezcla con un crioprotector (por ejemplo, con un derivado de azúcar, alcohol de azúcar o polivinilpirrolidona), se congela lo más deprisa posible (por ejemplo, con nitrógeno líquido) y se liofiliza.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 4,8%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 10 µm. La eficacia de encapsulación es de 87%.

Ejemplo 8

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-752 en 15 ml de etil metil cetona, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,6) que contiene 50 mg de citocromo C en la disolución del polímero durante 3 minutos a 8.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 45 ml de una disolución de Tween-80 al 4% como fase continua, con agitación (8.000 rpm). Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 7.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 5%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 12 µm. La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 9

Polímero: RG-858, cantidad empleada: 750 mg. El polímero se disuelve en 15 ml del disolvente listado en la tabla 3.

Disolución de tensioactivo: volumen, 50 ml. Se disuelven 2 g del tensioactivo listado en la tabla 3 en 50 ml de agua.

Disolución de citocromo C: Se disuelven 10 mg de citocromo C en 5 ml de una disolución de Tris(hidroximetil) aminometano 10 mmol (pH 7,4).

Se producen microcápsulas cargadas con citocromo C a partir de los componentes listados en este ejemplo, según el procedimiento descrito en el ejemplo 7. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un diámetro de 0,2 a 12 µm.

ES 2 292 634 T3

TABLA 3

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
5 Acetato de metilo							
Acetato de etilo							
10 Acetato de isopropilo							
Formiato de etilo							
Formiato de propilo							
15 Formiato de isopropilo							
20 Etil metil cetona							

La eficacia de encapsulación en todas las cargas listadas en la tabla 3 es de al menos 85%.

Ejemplo 10

25 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 10 mg de insulina en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

30 Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Pluronic F-68 al 4% como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de acetato de metilo a 20°C aplicando un vacío, mediante la introducción de nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. 35 Después de 3 horas, la suspensión se lava con 5 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración. Se realiza una filtración "de flujo cruzado", por ejemplo, mediante un sistema Sartocoon mini® (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 µm).

40 La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de emulsionante se congela lo más deprisa posible con nitrógeno líquido y se liofiliza.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 8%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 µm. La eficacia de encapsulación es de 90%.

45 Ejemplo 11

50 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 60 mg de insulina en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

55 Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Pluronic F-127 al 4% como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 10.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 6%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 µm. La eficacia de encapsulación es de 85%.

60 Ejemplo 12

65 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 3,2) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

ES 2 292 634 T3

Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Pluronic F-68 al 4% como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 10.

- 5 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 4,4%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 13

10

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 3,0) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

15

Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Pluronic F-127 al 4% como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 10.

- 20 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 4,4%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 14

25

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

30

- 35 Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 5,3, $\text{IP}_{\text{insulina}}$ pH 5,3) que contiene 2 g de Pluronic F-68 como fase continua, con agitación (10.000 rpm). Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 10.

- 40 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 4,8%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 15

- 45 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

- 50 Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 5,3, $\text{IP}_{\text{insulina}}$ pH 5,3) que contiene 2 g de Pluronic F-127 como fase continua, con agitación (10.000 rpm). Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 10.

- 55 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 4,8%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 16

- 60 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

65

Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Poloxamin T-908 al 2% como fase continua, con agitación (10.000 rpm). Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 10.

ES 2 292 634 T3

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 3,9%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

5 Ejemplo 17

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 20 mg de insulina en la disolución del polímero durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución en agua de Poloxamin T-908 al 2% como fase continua, con agitación (10.000 rpm). Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 10.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 2,2%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 μm . La eficacia de encapsulación es de 85%.

20 Ejemplo 18

Polímero: RG-858, cantidad empleada: 750 mg. El polímero se disuelve en 15 ml del disolvente listado en la tabla 4.

Disolución de tensioactivo: volumen, 50 ml. Se disuelven 2 g del tensioactivo listado en la tabla 4 en 50 ml de agua.

Disolución de insulina: Se disuelven 10 mg de insulina en 5 ml (pH 7,5).

Se producen microcápsulas cargadas con insulina a partir de los componentes listados en este ejemplo, según el procedimiento descrito en el ejemplo 10. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un diámetro de 0,2 a 12 μm .

35 TABLA 4

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
40 Acetato de metilo							
Acetato de etilo							
45 Acetato de isopropilo							
Formiato de etilo							
Formiato de propilo							
50 Formiato de isopropilo							
Etil metil cetona							

55 La eficacia de encapsulación en todas las cargas listadas en la tabla 4 es de al menos 85%.

Ejemplo 19

60 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-858 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 50 mmol (pH 7,5) que contiene 120 mg de acetato de goserelina (agonista de LHRH) en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

65 Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-65 como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces

ES 2 292 634 T3

se elimina el disolvente de formiato de etilo a 20°C aplicando un vacío, mediante introducción de nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. Después de 5 horas, la suspensión se lava con 5 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración.

- 5 Se realiza una filtración “de flujo cruzado” con un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 µm). La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de emulsionante se congela lo más deprisa posible con nitrógeno líquido y se liofiliza.

10 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12,5%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 12 µm. La eficacia de encapsulación es de 90%.

15 La figura 4 muestra los niveles de testosterona resultantes de la administración de micropartículas de goserelina del ejemplo 19.

Ejemplo 20

20 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de formiato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 50 mmol (pH 7,5) que contiene 120 mg de acetato de goserelina (agonista de LHRH) en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

25 Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-68 como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 19.

30 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12,5%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 8 µm. La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 21

35 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-756 en 15 ml de formiato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 50 mmol (pH 7,5) que contiene 120 mg de acetato de goserelina (agonista de LHRH) en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

40 Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-68 como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 19.

45 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12,5%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 12 µm. La eficacia de encapsulación es de 90%.

50

Ejemplo 22

55 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-756 en 15 ml de formiato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 50 mmol (pH 7,5) que contiene 120 mg de acetato de goserelina (agonista de LHRH) en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

60 Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-68, sacarosa al 3% y 7 g de etanol como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 19.

65 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 10 µm. La eficacia de encapsulación es de 90%.

ES 2 292 634 T3

Ejemplo 23

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-756 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 50 mmol (pH 7,5) que contiene 120 mg de acetato de goserelina (agonista de LHRH) en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-68 y 9 g de etanol como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 19.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 10 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

La figura 5 muestra los niveles de testosterona resultantes de la administración de micropartículas de goserelina del ejemplo 23.

Ejemplo 24

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-858 en 15 ml de formiato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 50 mmol (pH 7,5) que contiene 120 mg de acetato de goserelina (agonista de LHRH) en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene Pluronic F-127 al 4% como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 19.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12,5%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 15 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 25

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-858 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de succinato 50 mmol (pH 4,6) que contiene 120 mg de acetato de goserelina (agonista de LHRH) en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene Pluronic F-68 al 4% como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 19.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12,5%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 15 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 26

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-858 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 50 mmol (pH 7,4) que contiene 120 mg de acetato de goserelina (agonista de LHRH) en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene Pluronic F-68 al 4% como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 19.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 15 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

ES 2 292 634 T3

Ejemplo 27

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 120 mg de acetato de buserelina en la disolución del polímero durante 4 minutos a 8.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-68 como fase continua, con agitación a 8.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de formiato de etilo a 20°C aplicando un vacío, mediante introducción de nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. Después de 5 horas, la suspensión se lava con 5 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración.

Se realiza una filtración “de flujo cruzado” mediante un sistema Sartoclon mini[®] (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 μm). La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de emulsificante se congela lo más deprisa posible con nitrógeno líquido y se liofiliza.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 10 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 28

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-585 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 50 mmol (pH 7,0) que contiene 120 mg de triptorelina en la disolución del polímero durante 4 minutos a 8.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-68 como fase continua, con agitación a 8.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de formiato de etilo a 20°C aplicando un vacío, mediante introducción de nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. Después de 5 horas, la suspensión se lava con 5 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración.

Se realiza una filtración “de flujo cruzado” mediante un sistema Sartoclon mini[®] (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 μm). La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de emulsificante se congela lo más deprisa posible con nitrógeno líquido y se liofiliza.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 12%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 15 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 29

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-585 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 120 mg de bromocriptina en la disolución del polímero durante 4 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-68 como fase continua, con agitación a 10.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de formiato de etilo a 20°C aplicando un vacío, mediante introducción de nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. Después de 5 horas, la suspensión se lava con 5 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración.

Se realiza una filtración “de flujo cruzado” mediante un sistema Sartoclon mini[®] (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 μm). La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de emulsificante se congela lo más deprisa posible con nitrógeno líquido y se liofiliza.

ES 2 292 634 T3

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 10%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 15 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

5 Ejemplo 30

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-585 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 100 mg de octreótido en la disolución del polímero durante 4 minutos a 8.000 rpm a temperatura ambiente mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm).

Entonces se añaden 50 ml de una disolución de tampón citrato 50 mmol (pH 6,0) que contiene 2 g de Pluronic F-68 como fase continua, con agitación a 8.000 rpm. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de formiato de etilo a 20°C aplicando un vacío, mediante introducción de nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. Después de 5 horas, la suspensión se lava con 5 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra hasta el volumen deseado mediante centrifugación o filtración.

Se realiza una filtración “de flujo cruzado” mediante un sistema Sartocoon mini[®] (Sartorius AG, Göttingen) con un membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 μm). La suspensión exenta de disolvente y casi exenta de emulsificante se congela lo más deprisa posible con nitrógeno líquido y se liofiliza.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con un contenido en principio activo de 10%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 15 μm . La eficacia de encapsulación es de 90%.

Ejemplo 31

30 Microesponjas

Se producen microesponjas morfológicamente uniformes según el procedimiento convencional “procedimiento de transición de fase inducida” como en el ejemplo 1, pero sin principio activo.

Volumen de la disolución del polímero: 750 mg del correspondiente polímero de la tabla 5 se disuelven en 15 ml del disolvente orgánico listado en la tabla 5.

Fase interna: 5 ml de PBS, pH 7,4 (50 mmol).

Fase continua de tensioactivo: 50 ml de disolución acuosa que contiene 2 g del tensioactivo listado en la tabla 5.

Se produjeron microesponjas a partir de los componentes listados en este ejemplo, según el procedimiento descrito en el ejemplo 1. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microesponjas con un diámetro de 0,2 a 20 μm .

TABLA 5

Ejemplo n°	31/1	31/2	31/3	31/4
Polímero	R-202	RG-503	RG-755	RG-858
Disolvente orgánico	acetato de isopropilo	acetato de metilo	acetato de metilo	acetato de isopropilo
Fase interna acuosa	PBS	PBS	PBS	PBS
Fase continua de tensioactivo	T-908	Tween-20	Tween-80	F-68

Las figuras 6a-d muestran imágenes de microscopio óptico de microcápsulas producidas en el ejemplo 31/1-4.

Las figuras 7a-b muestran imágenes de microscopio electrónico de microesponjas producidas en los ejemplos 31/2 y 31/3.

ES 2 292 634 T3

Ejemplo 32

Microesferas monolíticas

5 Se producen microesferas monolíticas morfológicamente uniformes según el procedimiento convencional “procedimiento de transición de fase inducida” como en el ejemplo 1, pero sin principio activo.

Volumen de la disolución del polímero: 750 mg del correspondiente polímero de la tabla 6 se disuelven en 15 ml del disolvente orgánico listado en la tabla 6.

10

Fase interna: 5 ml de PBS, pH 7,4 (50 mmol), o tampón citrato, pH 6,5 (50 mmol).

Fase continua de tensioactivo: 50 ml de disolución acuosa que contiene 2 g del tensioactivo listado en la tabla 6.

15

Se produjeron microesferas monolíticas a partir de los componentes listados en este ejemplo, según el procedimiento descrito en el ejemplo 1. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microesferas monolíticas con un diámetro de 0,2 a 20 μm .

20

TABLA 6

25

Ejemplo n°	32/1	32/2	32/3	32/4
Polímero	R-202	RG-503	RG-752	RG-858
Disolvente orgánico	acetato de isopropilo	formiato de etilo	acetato de isopropilo	acetato de isopropilo
Fase interna acuosa	PBS	PBS	PBS	Citrato
Fase continua de tensioactivo	F-68	Tween-20	Tween-80	Tween-80

30

35

40

Las figuras 8a-b muestran imágenes de microscopio electrónico de microesferas producidas en los ejemplos 32/2 y 32/3.

45 Ejemplo 33

Microcápsulas

50 Se producen microcápsulas morfológicamente uniformes según el procedimiento convencional “procedimiento de transición de fase inducida” como en el ejemplo 1, pero sin principio activo.

Volumen de la disolución del polímero: 750 mg del correspondiente polímero de la tabla 7 se disuelven en 15 ml del disolvente orgánico listado en la tabla 7.

55

Fase interna: 5 ml de PBS, pH 7,4 (50 mmol), o tampón Tris, pH 9 (50 mmol).

Fase continua de tensioactivo: 50 ml de disolución acuosa que contiene 2 g del tensioactivo listado en la tabla 7.

60

Se produjeron microcápsulas a partir de los componentes listados en este ejemplo, según el procedimiento descrito en el ejemplo 1. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microesferas monolíticas con un diámetro de 0,2 a 20 μm .

65

ES 2 292 634 T3

TABLA 7

Polímero	R-203	RG-502H	RG-755	RG-858
Disolvente orgánico	formiato de etilo	etil metil cetona	acetato de metilo	acetato de etilo
Fase interna acuosa	PBS	Citrato	Tris	Citrato
Fase continua de tensioactivo	F-127	F-68	F-127	F-68

Ejemplo 34

Se disuelven 50 mg del polímero Resomer® RG-756 en 15 ml de acetato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de Tris(hidroximetil)aminometano 5 mmol (pH 7,4) que contiene 200 mg de HSA (albúmina de suero humana) en la disolución del polímero con la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante un periodo de 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente. Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Pluronic F-68 al 4% en una mezcla de agua y glicerina (1:1) con agitación (10.000 rpm) como fase continua. Después de agitar durante aproximadamente 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de acetato de etilo a temperatura ambiente aplicando un vacío, o mediante extracción con agua. Después de 2 horas, la suspensión se lava con 6 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra evaporativamente hasta el volumen deseado con la ayuda de centrifugación o filtración.

Una purificación y una concentración evaporativa pueden realizarse de modo más suave con la ayuda de una filtración "de flujo cruzado" mediante un sistema Sartocoon mini® (Sartorius AG, Göttingen).

La suspensión, que está exenta de disolvente y casi exenta de tensioactivo, se mezcla con un crioprotector (por ejemplo, con un derivado de azúcar, alcohol de azúcar o polivinilpirrolidona), después se congela lo más deprisa posible, por ejemplo, con nitrógeno líquido, y se liofiliza. El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con un contenido en albúmina de suero humana de 20%, y un diámetro de 0,2 a 5 µm.

Ejemplo 35

Se disuelven 50 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de formiato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución tampón acuosa de PBS 50 mmol (pH 7,4) que contiene 100 mg de HSA (albúmina de suero humana) en la disolución del polímero mediante un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente.

Entonces se añaden 0 ml de una disolución que comprende Pluronic F-68 al 4% en una mezcla de agua y glicerina (40:60) con agitación (10.000 rpm) como fase continua. Después de agitar durante aproximadamente 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético.

La suspensión de micropartículas se sigue procesando como en el ejemplo 34.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con un contenido en albúmina de suero humana de 10%, y un diámetro de 0,2 a 5 µm.

Ejemplo 36

Polímero: RG-858; cantidad utilizada: 750 mg. El polímero se disuelve en 15 ml, en cada caso, de los disolventes listados en la tabla 8.

Disolución de tensioactivo: volumen, 50 ml. Se disuelven 2 g de cada tensioactivo listado en la tabla 8 en 50 ml de una mezcla de agua y glicerina (20:80).

Disolución de HSA: Se disuelven 100 mg de HSA en 5 ml de una disolución de Tris(hidroximetil)aminometano 10 milimolar (pH 7,4).

ES 2 292 634 T3

Se prepararon microcápsulas, que están cargadas con HSA y que comprenden los componentes listados en este ejemplo, según el procedimiento descrito en el ejemplo 34. El liofilizado, que se resuspende en agua o una disolución acuosa, contiene micropartículas con un diámetro de 0,2 a 5 μm .

5

TABLA 8

	T-707	T-908	Tween-80	F-68	F-127	P-1570	L-1695
10 Acetato de metilo							
Acetato de etilo							
15 Acetato de isopropilo							
Formiato de etilo							
Formiato de propilo							
20 Formiato de isopropilo							
Etil metil cetona							

25

La concentración de HSA es de 10% (p/p) en todas las formulaciones listadas en la tabla 8.

Ejemplo 37

30

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-752 en 15 ml de acetato de etilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa de tampón PBS 10 milimolar (pH 7,4) que contiene 50 mg de albúmina de huevo en la disolución del polímero con la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante un periodo de 3 minutos a 9.000 rpm a temperatura ambiente.

35

Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Pluronic F-127 al 4% en una mezcla de agua y glicerina (25:75) con agitación (9.000 rpm), como fase continua. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de acetato de etilo a temperatura ambiente aplicando un vacío, o admitiendo nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. Después de 3 horas, la suspensión se lava con 6 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra evaporativamente hasta el volumen deseado con la ayuda de centrifugación o filtración. Se realiza una filtración "de flujo cruzado" mediante un sistema Sartocoon mini[®] (Sartorius AG, Göttingen) con un membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 μm).

40

La suspensión, que está exenta de disolvente y casi exenta de emulsionante, se mezcla con un crioprotector (por ejemplo, con un derivado de azúcar, alcohol de azúcar o polivinilpirrolidona), se congela lo más deprisa posible, por ejemplo, con nitrógeno líquido, y se liofiliza.

45

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con una concentración de la sustancia activa de 5,5%, y un diámetro de 0,2 a 5 μm .

Ejemplo 38

50

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución tampón acuosa de PBS 10 mmol (pH 7,4) que contiene 50 mg de albúmina de huevo en la disolución del polímero con la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante 3 minutos a 9.000 rpm a temperatura ambiente.

55

Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Poloxamin T-707 al 4% en una mezcla de agua y glicerina (20:80) con agitación (9.000 rpm) como fase continua. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 37.

60

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con una concentración de la sustancia activa de 5,5% y un diámetro de 0,2 a 5 μm .

65

ES 2 292 634 T3

Ejemplo 39

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 80 mg de insulina en la disolución del polímero con la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante un periodo de 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente.

Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Pluronic F-68 al 4% en una mezcla de agua y glicerina (20:80) con agitación (10.000 rpm) como fase continua. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se agita con un agitador magnético. Entonces se elimina el disolvente de acetato de metilo a 20°C aplicando un vacío, o admitiendo nitrógeno o aire, o mediante extracción con agua. Después de 3 horas, la suspensión se lava con 5 l de agua o una disolución acuosa, y se concentra evaporativamente hasta el volumen deseado con la ayuda de centrifugación o filtración. Se realiza una filtración “de flujo cruzado”, por ejemplo, mediante un sistema Sartocon mini® (Sartorius AG, Göttingen) con una membrana de poliolefina (límite de exclusión, 0,2 µm). La suspensión, que está exenta de disolvente y casi exenta de emulsionante, se congela lo más deprisa posible con nitrógeno líquido y se liofiliza.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene microcápsulas con una concentración de la sustancia activa de 8,5%. Las microcápsulas tienen un diámetro de 0,2 a 5 µm.

Ejemplo 40

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 60 mg de insulina en la disolución del polímero mediante la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente.

Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Pluronic F-127 al 4% en una mezcla de agua y glicerina (20:80) con agitación (10.000 rpm) como fase continua. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 39.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con una concentración de la sustancia activa de 6,5% y un diámetro de 0,2 a 5 µm.

Ejemplo 41

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 3,2) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero mediante la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente.

Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Pluronic F-68 al 4% en una mezcla de agua y glicerina (20:80) con agitación (10.000 rpm) como fase continua. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 39.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con una concentración de la sustancia activa de 4,8% y un diámetro de 0,2 a 5 µm.

Ejemplo 42

Se disuelven 750 mg del polímero Resomer® RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 3,0) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero con la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente.

Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Pluronic F-127 al 4% en una mezcla de agua y glicerina (20:80) con agitación (10.000 rpm) como fase continua. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 39.

El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con una concentración de la sustancia activa de 4,8% y un diámetro de 0,2 a 4 µm.

ES 2 292 634 T3

Ejemplo 43

5 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero mediante la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente.

10 Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Pluronic F-68 al 4% en una mezcla que comprende tampón citrato 50 mmol de pH = 6,6 y glicerina (80:20) con agitación (10.000 rpm) como fase continua. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 39.

15 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con una concentración de la sustancia activa de 4,8% y un diámetro de 0,2 a 4 μm .

Ejemplo 44

20 Se disuelven 750 mg del polímero Resomer[®] RG-503 en 15 ml de acetato de metilo, y se trasladan a un recipiente de doble pared de acero (altura interna 11,0 cm, diámetro interno 4 cm). Entonces se dispersan 5 ml de una disolución acuosa (pH 7,5) que contiene 40 mg de insulina en la disolución del polímero mediante la ayuda de un agitador mecánico (Dispermat FT, VMA-Getzmann GmbH, disco de disolución de 2 cm) durante 3 minutos a 10.000 rpm a temperatura ambiente.

25 Entonces se añaden 50 ml de una disolución que comprende Pluronic F-127 al 4% en una mezcla que comprende tampón citrato 50 mmol a pH = 6,6 y glicerina (60:40) con agitación (10.000 rpm) como fase continua. Después de un tiempo de dispersión de 30 segundos, la suspensión de micropartículas se traslada a un matraz de dos bocas de 500 ml y se sigue procesando como en el ejemplo 39.

30 El liofilizado, resuspendido en agua o en una disolución acuosa, contiene micropartículas con una concentración de la sustancia activa de 4,8% y un diámetro de 0,2 a 4 μm .

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la producción de micropartículas poliméricas, que comprende
5 disolver un polímero en un disolvente exento de halógenos que es al menos parcialmente miscible en agua, para formar una disolución de polímero;
añadir un agente activo hidrófilo a la disolución de polímero para formar una fase del fármaco contenida en un
10 recipiente;
añadir una cantidad predeterminada de una fase acuosa de tensioactivo al recipiente que contiene la fase del fármaco, con mezclado, en el que $\delta_{\text{disolvente del polímero}} - \delta_{\text{fase acuosa}} < 0 \text{ (cal/cm}^3\text{)}^{1/2}$, siendo dicha cantidad predeterminada suficiente para (i) dar como resultado una fracción en volumen de la fase de tensioactivo entre 65% y 80%, y (ii) hacer que la fase de tensioactivo sea la fase continua y el medio de extracción para extraer una cantidad de dicho disolvente de dicha fase del fármaco, de forma que se produce una suspensión de micropartículas tras la adición de la fase de tensioactivo a la fase del fármaco sin la formación de una emulsión doble W/O/W intermedia y sin requerir la eliminación del disolvente del recipiente.
15
2. Un procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además eliminar el disolvente.
20
3. Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el disolvente se elimina mediante lavado, filtración, vacío, o evaporación.
4. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el disolvente tiene una solubilidad en agua de al menos 1,5% al 40% en peso en agua.
25
5. Un procedimiento según la reivindicación 4, en el que la solubilidad del disolvente es al menos 5% en peso en agua.
6. Un procedimiento según la reivindicación 5, en el que la solubilidad del disolvente es al menos 10% en peso en agua.
30
7. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que la fracción en volumen de la fase de tensioactivo es del 65% al 75%.
35
8. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que la proporción en volumen entre fase de polímero:fase de tensioactivo está en el intervalo de 1:2 a 1:30.
9. Un procedimiento según la reivindicación 8, en el que la proporción es de 1:2 a 1:20.
40
10. Un procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además añadir un codisolvente miscible en agua a la fase de tensioactivo, en el que dicho disolvente del polímero es soluble en dicho codisolvente y dicho polímero no es soluble en dicho codisolvente.
- 45 11. Un procedimiento según la reivindicación 10, en el que dicho codisolvente se selecciona del grupo que consiste en alcoholes, polietilenglicol, y éteres.
12. Un procedimiento según la reivindicación 11, en el que el codisolvente se selecciona del grupo que consiste en etanol, metanol, alcohol isopropílico, y polietilenglicol.
50
13. Un procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además añadir un tampón a la disolución del fármaco.
14. Un procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además añadir un tampón a la fase de tensioactivo.
55
15. Un procedimiento según la reivindicación 14, en el que el polímero no es soluble en la fase de tensioactivo.
16. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que las micropartículas comprenden microcápsulas.
- 60 17. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que las micropartículas comprenden microesponjas.
18. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que las micropartículas comprenden microesferas.
- 65 19. Un procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además añadir un modificador de la viscosidad a la fase acuosa de tensioactivo.

ES 2 292 634 T3

20. Un procedimiento según la reivindicación 19, que comprende del 5% al 50% en peso del modificador de la viscosidad.

5 21. Un procedimiento según la reivindicación 20, en el que el modificador de la viscosidad se selecciona del grupo que consiste en glicerol, ácido hialurónico, polímeros de celulosa y sus derivados, quitosano, o polietilenglicol.

22. El procedimiento según la reivindicación 13, en el que la disolución tamponada se selecciona del grupo que consiste en una disolución de tampón fosfato, una disolución de tampón citrato, y una disolución de tris(hidroximetil) aminometano.

10 23. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el polímero se selecciona del grupo que consiste en poliamidas, polianhídridos, poliésteres, poliortoésteres, poliacetatos, polilactonas, y poliortocarbonatos.

15 24. Un procedimiento según la reivindicación 23, en el que el polímero se selecciona del grupo que consiste en poliésteres de ácidos α -, β - y γ -hidroxicarboxílicos, o copolímeros en bloque de poliésteres de ácidos α -, β - y γ -hidroxicarboxílicos y polietilenglicoles lineales o estrellados.

20 25. Un procedimiento según la reivindicación 24, en el que el polímero comprende un polímero de poli(lactida-co-glicólido).

26. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el disolvente parcialmente miscible en agua se selecciona del grupo que consiste en acetona, etanol, acetato de metilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo, acetato de isobutilo, acetato de butilo, formiatos de alquilo, triacetina, citrato de trietilo, y lactatos de alquilo o sus mezclas.

25 27. Un procedimiento según la reivindicación 26, en el que el disolvente se selecciona del grupo que consiste en etanol, acetona, acetato de metilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo, acetato de butilo, formiato de metilo, formiato de etilo, formiato de propilo, formiato de isopropilo, formiato de butilo, triacetina, citrato de trietilo, lactato de metilo, lactato de etilo o sus mezclas.

30 28. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el tensioactivo es un tensioactivo no iónico.

35

40

45

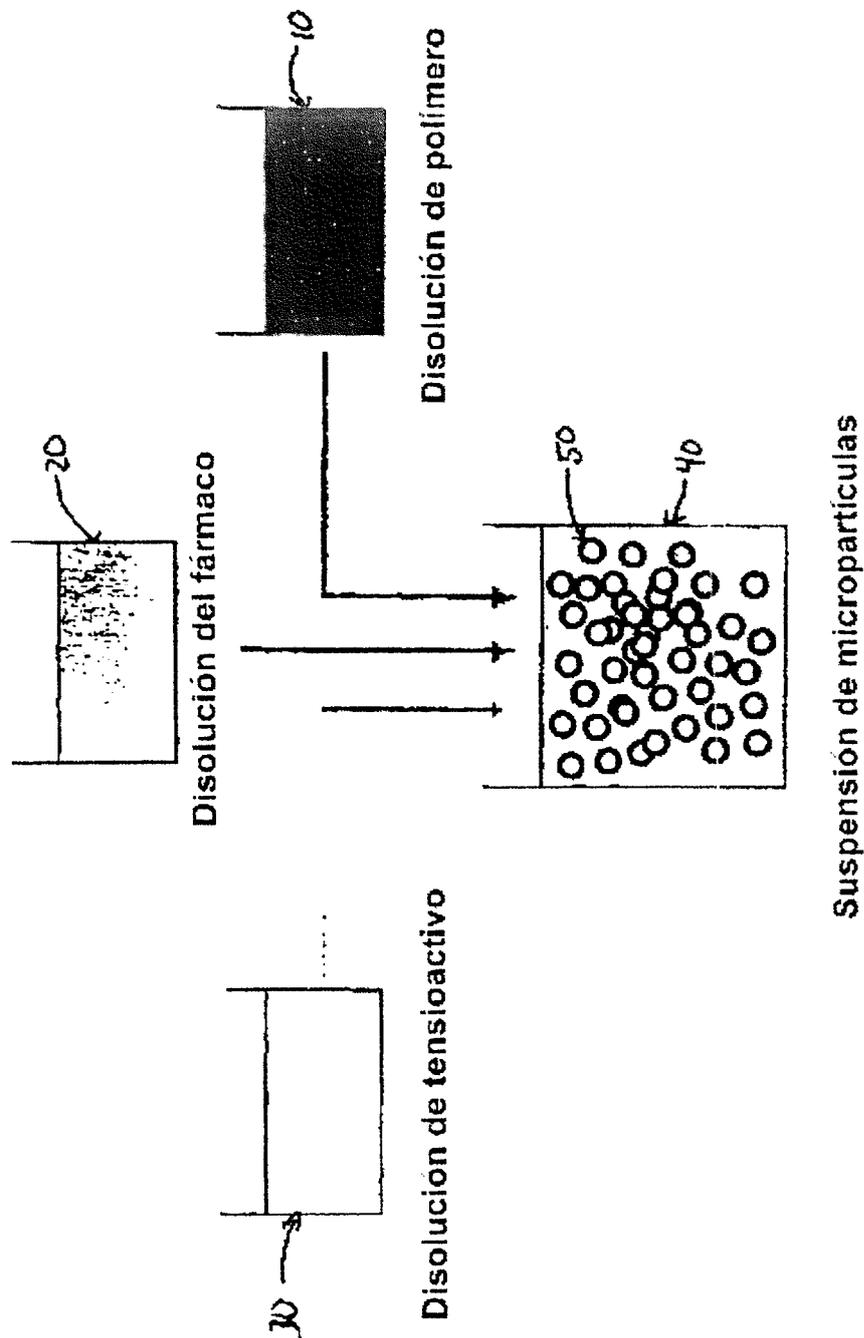
50

55

60

65

Fig. 1
Esquema del método de transición de fase inducida



Imágenes de microscopio electrónico de microcapsulas

Fig. 2a

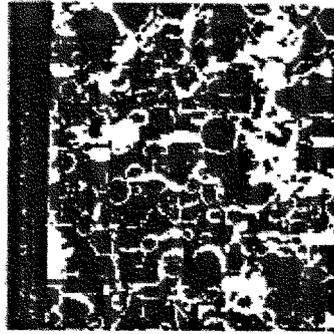


Fig. 2b



Imágenes de microscopio óptico

Microcápsulas

Fig. 3a



Fig. 3b



Fig. 4

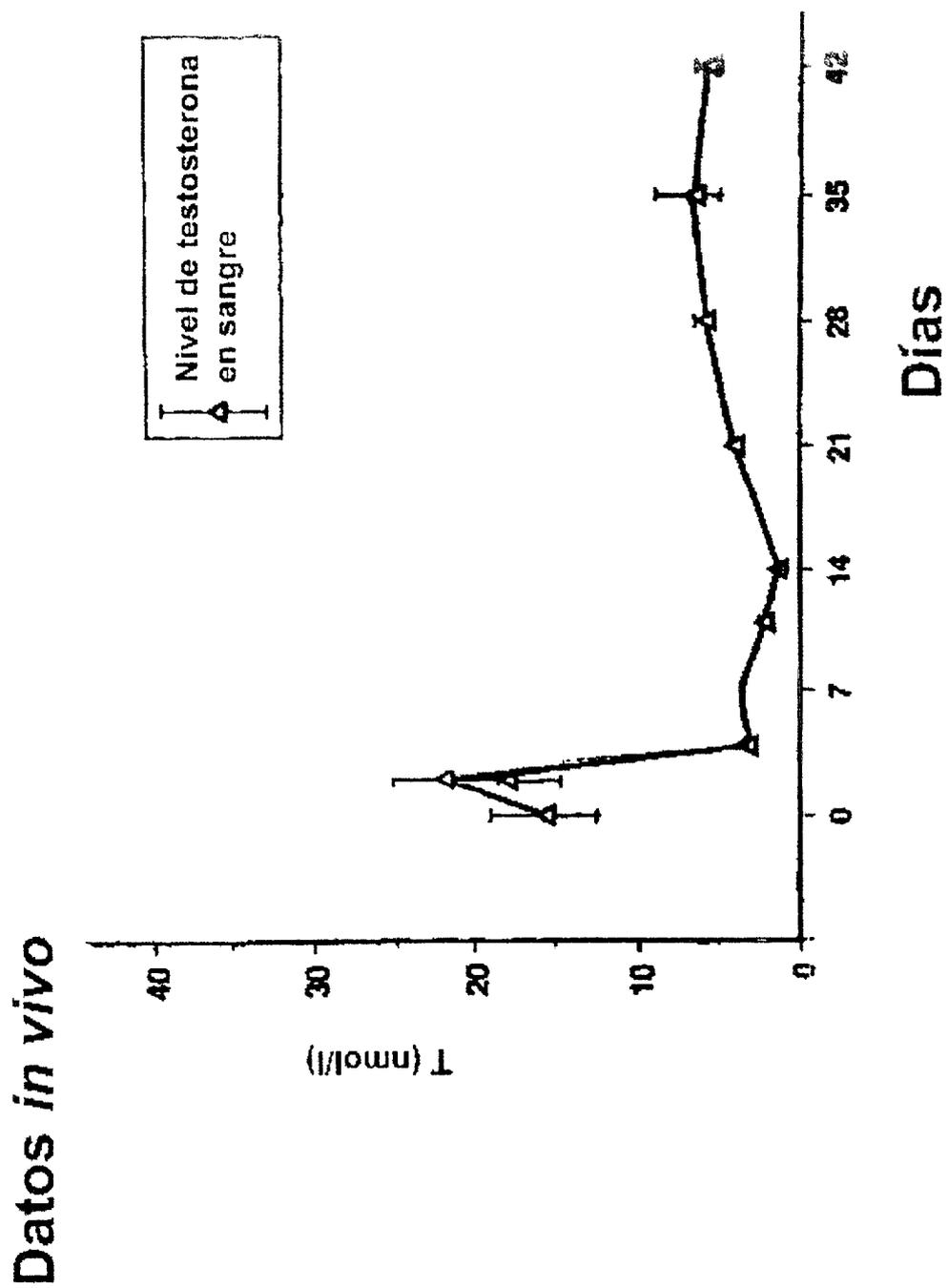
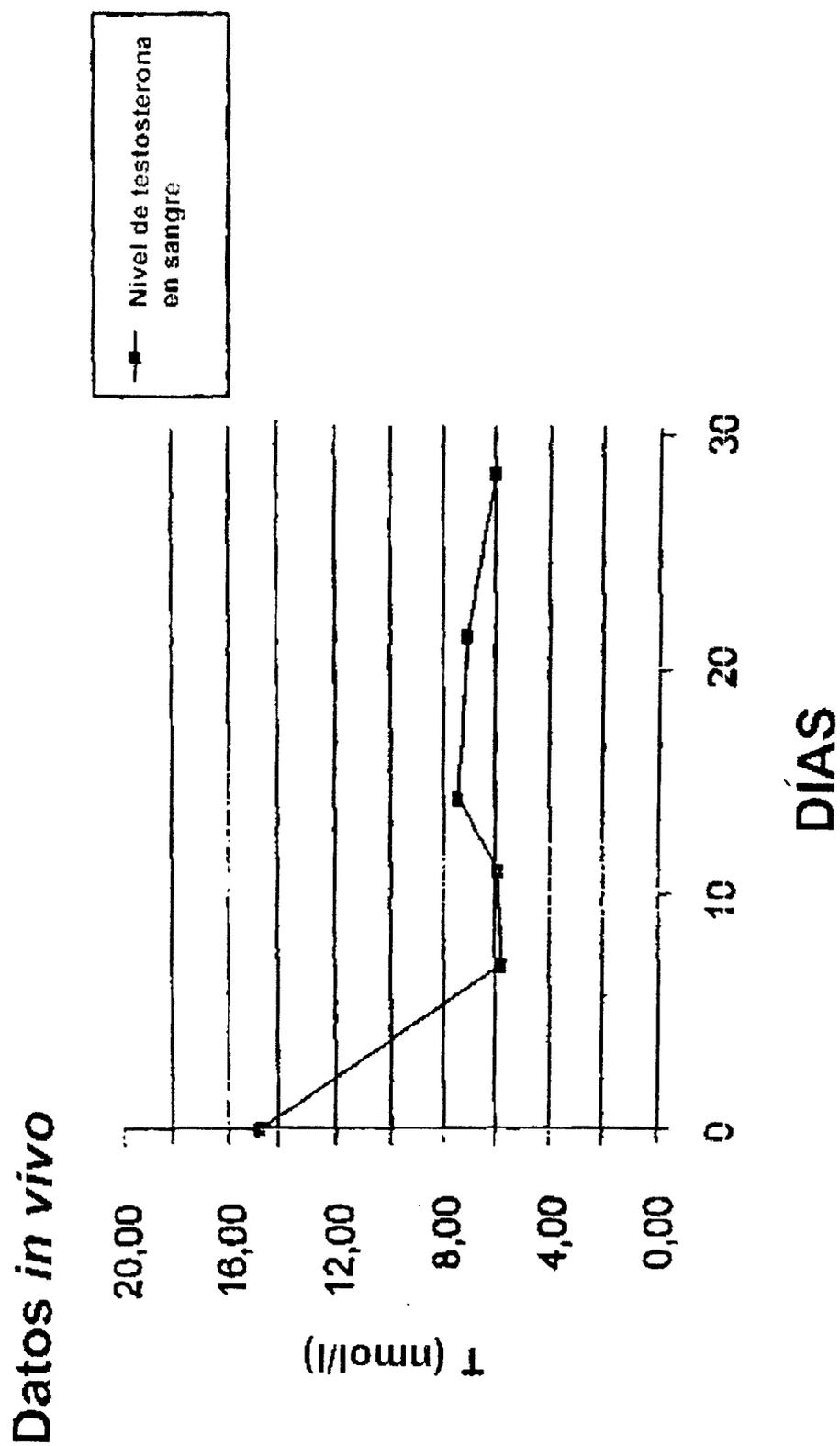


Fig. 5



Imágenes de microscopio óptico

Microesponjas

Fig. 6a

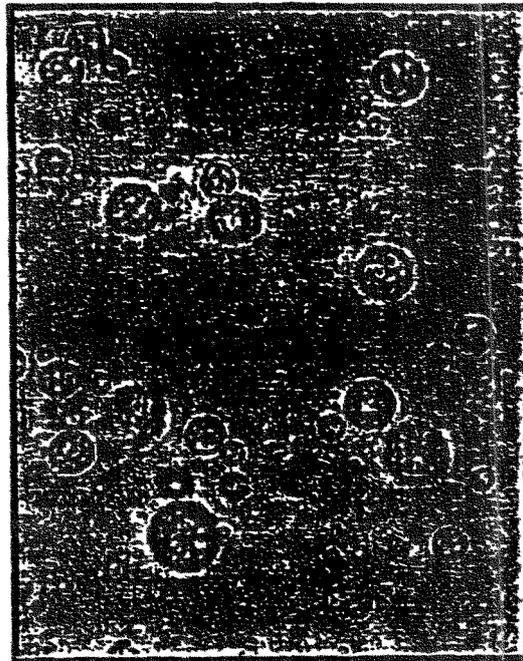
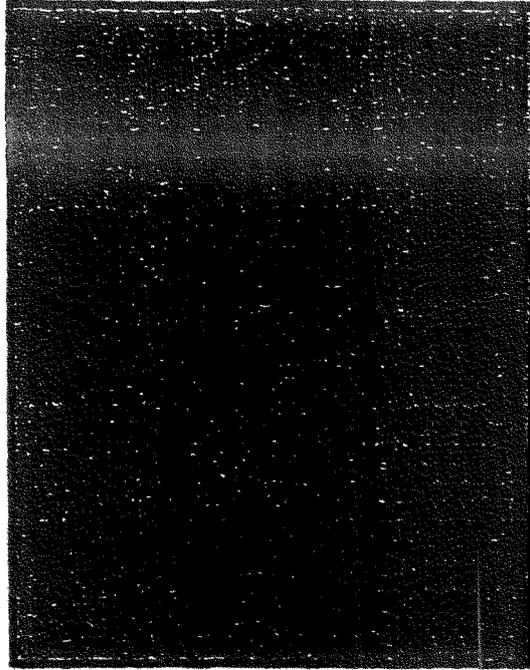


Fig. 6b



Imágenes de microscopio óptico

Microesponjas

Fig. 6c

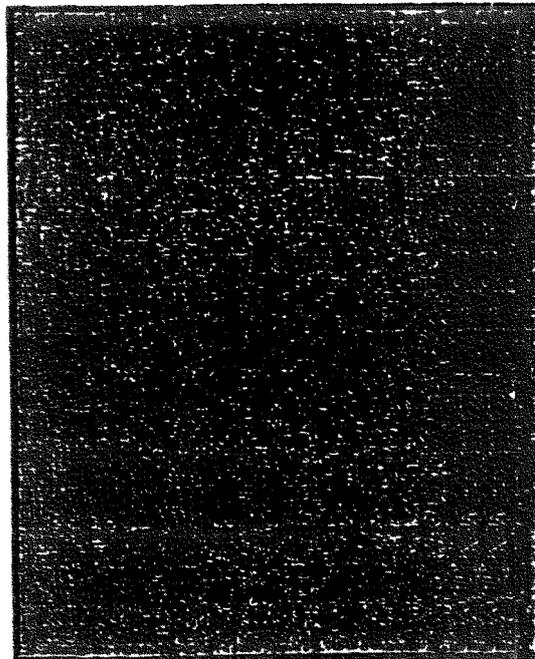
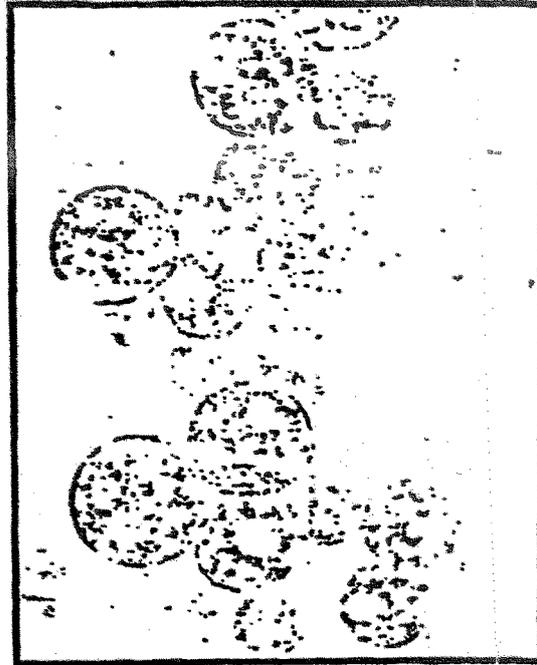


Fig. 6d



Imágenes de microscopio electrónico

Microesponjas

Fig. 7b

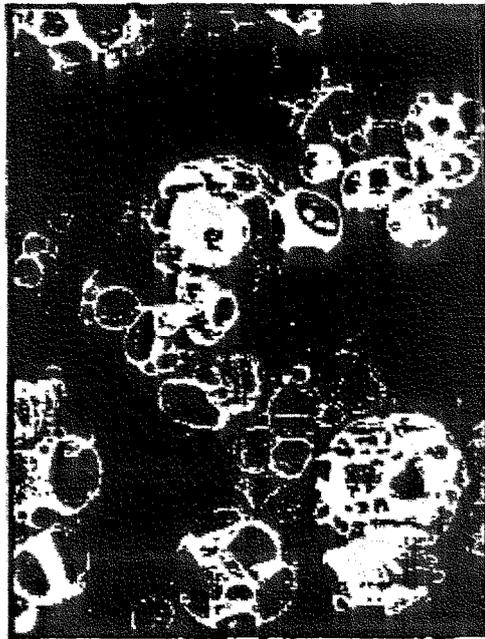


Fig. 7a



Imágenes de microscopio electrónico

Microesferas

Fig. 8a

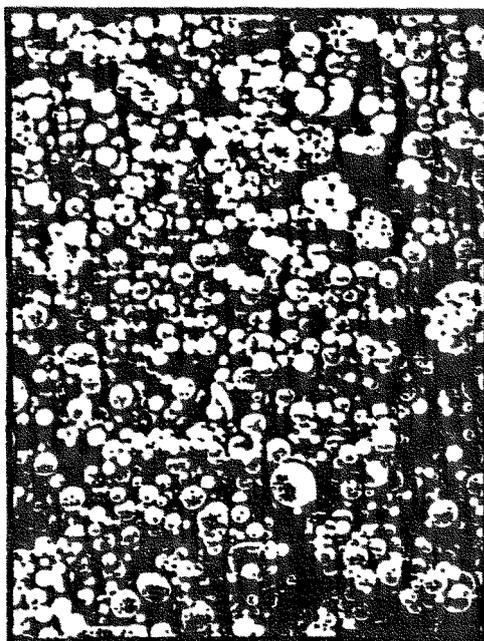


Fig. 8b

