



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112015006141-9 A2



(22) Data do Depósito: 20/09/2013

(43) Data da Publicação Nacional: 19/11/2019

(54) **Título:** MICROPARTÍCULAS BIODEGRADÁVEIS DE MÚLTIPLAS CAMADAS PARA LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE AGENTES TERAPÊUTICOS

(51) **Int. Cl.:** A61K 9/58.

(30) **Prioridade Unionista:** 20/09/2012 US 61/703,743.

(71) **Depositante(es):** OHR PHARMA, LLC..

(72) **Inventor(es):** CHRIS RHODES; NIKITA MALAVIA; ROBERT JENNINGS; REDDY LAXMA; BETTY NORMAN.

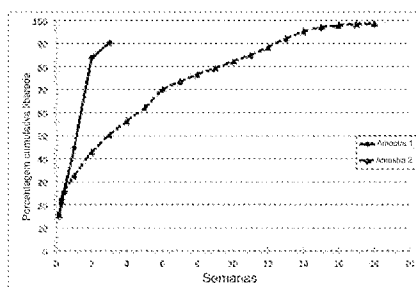
(86) **Pedido PCT:** PCT US2013060987 de 20/09/2013

(87) **Publicação PCT:** WO 2014/047477 de 27/03/2014

(85) **Data da Fase Nacional:** 19/03/2015

(57) **Resumo:** ABSTRACT Microparticles are prepared by a method that includes: (a) forming a layer comprising a first polymer on a solid surface by depositing a first composition one or more times on the solid surface, wherein the first composition comprises the first polymer and a first solvent, and evaporating the first solvent in the first composition; (b) forming one or more layers comprising a second polymer and a therapeutic agent by depositing a second composition on all or part of the layer formed in step (a), wherein the second composition comprises the second polymer, the therapeutic agent, and a second solvent; and evaporating the second solvent in the second composition; and (c) forming an additional layer comprising a third polymer by depositing a third composition one or more times on a previously formed layer, wherein the third composition comprises the third polymer and a third solvent; and evaporating the third solvent in the third composition.

RESUMO Patente de Invenção: "MICROPARTÍCULAS BIODEGRADÁVEIS DE MÚLTIPLAS CAMADAS PARA LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE AGENTES TERAPÊUTICOS". A presente invenção refere-se as micropartículas as quais são preparadas por meio de um método que inclui : (a) formar uma camada que compreende um primeiro polímero sobre uma superfície sólida (...).



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÃO DE MICROPARTÍCULAS BIODEGRADÁVEIS DE MÚLTIPLAS CAMADAS PARA LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE AGENTES TERAPÊUTICOS E MÉTODO PARA PREPARAR UMA MICROPARTÍCULA DE MÚLTIPLA CAMADA**".

CAMPO TÉCNICO

[001] A presente invenção refere-se aos métodos para a formação de micropartículas de múltiplas camadas para a liberação sustentada de agentes terapêuticos e as composições que compreende as micropartículas de múltiplas camadas.

ANTECEDENTES

[002] As micropartículas compostas de polímeros biodegradáveis são úteis para a liberação controlada de agentes terapêuticos. As micropartículas podem ser formadas usando um molde (US 2009 / 0136583).

SUMÁRIO

[003] A presente descrição apresenta os métodos de formação de micropartículas de múltiplas camadas para a liberação sustentada de agentes terapêuticos. Estes métodos incluem: (a) formar uma camada que compreende um primeiro polímero sobre uma superfície sólida por meio da deposição de uma primeira composição uma ou mais vezes sobre a superfície sólida, em que a primeira composição compreende o primeiro polímero e um primeiro solvente, e evaporando o primeiro solvente em uma primeira composição; (B) formar uma ou mais camadas que compreendem um polímero e um segundo agente terapêutico através do depósito de uma segunda composição em toda ou em parte da camada formada na etapa (a), em que a segunda composição compreende o segundo polímero, o agente terapêutico, e um segundo solvente; e evaporação do segundo solvente, na segunda composição; e (c) formar uma camada adicional que compreende um terceiro polímero por meio da deposição de uma terceira composição uma ou mais vezes sobre uma camada previamente formada, em que

a terceira composição compreende o terceiro polímero e um terceiro solvente; e evaporando o terceiro solvente na terceira composição. Em alguns casos, o peso molecular dos primeiro e terceiro polímeros é maior do que o peso molecular do segundo polímero. Em alguns casos, os primeiro e terceiro polímeros têm o mesmo peso molecular e, em alguns casos, eles diferem no peso molecular. Em alguns casos, existem duas ou mais camadas interiores. Por exemplo, uma camada interior pode conter um primeiro agente terapêutico e a segunda camada interior pode conter um segundo agente terapêutico. Além disso, quando existem duas ou mais camadas interiores, as mesmas podem diferir no tipo de polímero ou peso molecular. Além disso, quando existem duas ou mais camadas internas, as mesmas podem ser formadas utilizando composições que diferem em solvente, tal como explicado em maior detalhe abaixo, quando as camadas adjacentes são formadas utilizando as composições que diferem no que diz respeito ao solvente e / ou ao polímero, há uma menor tendência para o material das duas camadas adjacentes para se misturar durante a formação da camada. Em algumas modalidades, as primeira e terceira composições não contêm um agente terapêutico, dessa maneira, em alguns casos, as camadas formadas por meio das primeira e terceira composições contêm apenas só polímero ou polímero e componentes não terapêuticos. As camadas exteriores de polímero podem agir como barreiras em controlar a liberação brusca inicial do agente terapêutico e reduzir ainda mais a sua velocidade de liberação subsequente a partir da camada interior da micropartícula. Dessa maneira, os métodos de formação de micropartículas descritos na presente invenção são úteis para conseguir a liberação sustentada de agentes terapêuticos com liberação reduzida ou nenhuma explosão.

[004] Descreve-se na presente invenção um método para preparar uma micropartícula de múltipla camada, o método que compreen-

de:

(a) formar uma camada que compreende um primeiro polímero sobre uma superfície sólida por meio da deposição de uma primeira composição uma ou mais vezes sobre a superfície sólida, em que a primeira composição compreende o primeiro polímero e um primeiro solvente, e evapora o primeiro solvente na primeira composição depositada ;

(b) formar uma camada que compreende um segundo polímero e um agente terapêutico através do depósito de uma segunda composição em toda ou parte da camada formada na etapa (a), em que a segunda composição compreende o segundo polímero, o agente terapêutico, e um segundo solvente; e evaporação do segundo solvente, na segunda composição depositada; e

(c) formar uma camada adicional que compreende um terceiro polímero por meio da deposição de uma terceira composição uma ou mais vezes sobre uma camada previamente formada, em que a terceira composição compreende o terceiro polímero e um terceiro solvente; e evaporando o terceiro solvente na terceira composição depositada.

[005] Em várias modalidades: as primeira e terceira composições não contêm um agente terapêutico; os primeiro e terceiro polímeros têm uma solubilidade baixa no segundo solvente; o segundo polímero tem um peso molecular diferente do que o primeiro polímero e o terceiro polímero; em que o peso molecular dos primeiro e terceiro polímeros é maior do que o peso molecular do segundo polímero em pelo menos 40 quilodáltons; o peso molecular dos primeiro e terceiro polímeros é maior do que o peso molecular do segundo polímero de pelo menos 50 quilodáltons; Os primeiro e terceiro polímeros têm um peso molecular de 100 a 350 quilodáltons; o segundo polímero tem um peso molecular de 15 a 150 quilodáltons; os primeiro e terceiro polímeros

são o mesmo polímero; os primeiro e terceiro solventes são o mesmo solvente; o segundo solvente diferente dos primeiro e terceiro solventes; os primeiro, segundo e terceiro polímeros são selecionados de entre o grupo que consiste em ácido poli (lático-co-glicólico) (PLGA), ácido poli (lático) (PLA), ácido poli (L- lático) (PLLA), ácido poli (glicólico) (PGA), e poli (ϵ -caprolactona), e poli (orto éster); o agente terapêutico é selecionado a partir do grupo que consiste em um pequeno fármaco de molécula, um fármaco peptídico, um fármaco de proteína, um fármaco de polissacarídeo, um oligonucleotídeo, e um anticorpo; a etapa (a) compreende depositar a primeira composição mais do que uma vez; etapa (a) compreende depositar a primeira composição duas vezes e evaporou-se o primeiro solvente, na primeira composição por duas vezes; etapa (c) compreende depositar a terceira composição mais do que uma vez; etapa (c) compreende depositar a terceira composição e evaporar o terceiro solvente na terceira composição por duas vezes; a superfície sólida é substancialmente plana; a superfície sólida é substancialmente plana e revestida; em que a superfície sólida é uma base de um poço e o poço pode ser parcialmente preenchido, preenchido completamente ou sobre-enchido.

[006] Em alguns casos: o depósito compreende a pulverização, utilizando um dispositivo (por exemplo, uma microimpressora ou impressora a jato de pulverização) que gera gotículas tendo um diâmetro médio inferior a 200, 150, 100 ou 60 microns.

[007] Também é descrita uma composição que compreende uma ou mais micropartículas de múltiplas camadas, em que uma ou mais micropartículas de múltiplas camadas compreendem :

uma primeira camada que compreende um primeiro polímero; e

uma segunda camada que compreende um agente terapêutico e um segundo polímero, e uma terceira camada que compreende

um terceiro polímero,

em que os pesos moleculares dos primeiro e terceiro polímeros são maiores do que o peso molecular do segundo polímero.

[008] Em várias modalidades: as primeira e terceira camadas (também chamadas de topo e de fundo) não contêm um agente terapêutico; o peso molecular do primeiro polímero e o terceiro polímero é maior do que o peso molecular do segundo polímero em pelo menos 20 quilodáltons; os primeiro e segundo polímeros têm um peso molecular de 100 a 350 quilodáltons; o segundo polímero tem um peso molecular de 15 a 150 quilodáltons; os polímeros são selecionados de entre o grupo que consiste em ácido poli (lático-co- glicólico) (PLGA), ácido poli (lático) (PLA), ácido poli (L- lático) (PLLA), ácido poli (glicólico) (PGA) , poli (ϵ -caprolactona), e poli (orto-éster); o agente terapêutico é selecionado a partir do grupo que consiste em um pequeno fármaco de molécula, um fármaco peptídico, um fármaco de proteína, um fármaco de polissacarídeo, um oligonucleotídeo, e um anticorpo; as micropartículas de múltiplas camadas são essencialmente simétricas em três dimensões, e não é uma dimensão superior a 80 microns; as micropartículas de múltiplas camadas são simétricas em duas dimensões, em que a dimensão ao longo do eixo de simetria mais longo é menos do que 100 microns, e a dimensão ao longo do eixo menor de simetria é inferior a 60 microns; a composição é um implante com uma maior dimensão linear que é inferior a 10 mm; a composição é um implante com uma maior dimensão linear que é inferior a 2 mm; a composição é um implante com uma maior dimensão linear que é inferior a 500 microns; a composição compreende adicionalmente um veículo ou excipiente farmacologicamente aceitável; as micropartículas de múltiplas camadas compreendem três ou mais camadas; as micropartículas de múltiplas camadas consistem em cinco ou mais camadas; as micropartículas de múltipla camada compreendem as camadas de

espessura uniforme; as micropartículas de múltipla camada compreendem as camadas de diferentes espessuras; as micropartículas de múltiplas camadas compreendem uma ou mais camadas não coincidentes com uma camada adjacente; as micropartículas de múltiplas camadas compreendem uma ou mais camadas com uma abertura (por exemplo, uma abertura em forma de anel); e as micropartículas têm duas superfícies opostas substancialmente paralelas; e as partículas são substancialmente cilíndricas.

[009] Tal como descrito na presente invenção, uma partícula pode ter várias camadas e cada camada pode ser formada por meio de múltiplas aplicações de uma dada composição. No entanto, mesmo se duas ou mais deposições de uma composição são obrigadas a formar uma camada, a camada é ainda considerada uma única camada, porque a mesma composição foi usada para cada deposição usada para formar a camada.

[010] Em todas as modalidades, o polímero usado para formar as várias camadas é um polímero biodegradável, por exemplo, um polímero biodegradável farmacologicamente aceitável para administração a um ser humano, por exemplo, o olho de um ser humano.

[011] Os detalhes de uma ou mais modalidades da presente invenção são apresentados nos desenhos em anexo e na descrição abaixo. Outras características, objetivos e vantagens da presente invenção serão evidentes a partir da descrição e desenhos, e a partir das reivindicações.

DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[012] A FIGURA 1 é um gráfico de linhas que mostra que uma camada exterior de 178 quilodáltons (kDa) PLGA reduziu a liberação brusca inicial e a velocidade de liberação subsequente de brinzolamida das micropartículas contendo brinzolamida em um estudo de liberação de fármaco in vitro.

[013] A FIGURA 2 é um gráfico de linhas que mostra que uma camada externa de 180 quilodáltons PLLA-20 reduziu a liberação brusca inicial e a velocidade de liberação subsequente de brinzolamida das micropartículas contendo brinzolamida em uma extensão semelhante à que a camada externa de 178 quilodáltons PLGA fez.

[014] A FIGURA 3 é um gráfico de linhas que mostra que uma camada externa de 109 quilodáltons PLGA reduziu a liberação brusca inicial de acetazolamida das micropartículas contendo acetazolamida em um estudo de liberação de fármaco in vitro.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[015] A presente descrição refere-se aos métodos de formação de micropartículas de múltiplas camadas de liberação sustentada de agentes terapêuticos. As micropartículas de múltiplas camadas podem ser formadas usando as seguintes etapas. Em primeiro lugar, uma camada exterior inferior que compreende um primeiro polímero pode ser formada por meio da deposição de uma primeira composição, que contém o primeiro polímero e um primeiro solvente, uma ou mais vezes sobre uma superfície sólida e evapora o primeiro solvente. Em seguida, uma ou mais camadas interiores podem ser formadas por meio da deposição de uma segunda composição, que contém um segundo polímero, um agente terapêutico, e um segundo solvente, em toda ou em parte da camada inferior e evaporação do segundo solvente. Finalmente, uma camada externa adicional de topo que compreende um terceiro polímero pode ser formada por meio da deposição de uma terceira composição, que compreende um terceiro polímero e um terceiro solvente, uma ou mais vezes sobre a última camada formada e evaporação do terceiro solvente. Em algumas modalidades, as primeira e terceira composições são a mesma composição. Por exemplo, os primeiro e terceiro polímeros podem ser o mesmo polímero; os primeiro e terceiro solventes podem ser o mesmo solvente. Em outros casos, os

primeiro e terceiro polímeros podem ser diferentes. Em alguns casos, os primeiro e terceiro solventes diferem a partir do segundo solvente ou os primeiro e terceiro polímeros diferem a partir do segundo polímero, tal que os primeiro e terceiro polímeros são menos solúveis no segundo solvente que no segundo polímero.

[016] Em algumas modalidades, as primeira e terceira composições não contêm um agente terapêutico, dessa maneira, nestas modalidades, as camadas superior e inferior exteriores formadas por meio das primeira e terceira camadas exteriores são composições de polímero isoladamente ou contêm o polímero e os componentes não terapêuticos. As micropartículas de fármaco-polímero sem estas camadas exteriores tendem a ter bolsos de fármacos que são causados por meio de uma separação física entre o fármaco e o polímero durante a etapa de evaporação do solvente, possivelmente devido à solubilidade diferencial do fármaco e do polímero no solvente, e a migração do fármaco juntamente com o solvente de evaporação em direção à superfície da micropartícula. Após a administração, o fármaco na superfície da micropartícula, especialmente a partir das cavidades de fármacos, tende a libertar como uma grande explosão inicial. Além disso, a dissolução dos bolsos do fármaco resulta em micropartículas mais porosas e esta aumenta ainda mais a taxa de liberação do fármaco. As micropartículas descritas na presente invenção têm camadas exteriores que podem atuar como barreiras em controlar a liberação brusca inicial do agente terapêutico contido na camada interior ou as camadas e podem reduzir a velocidade de liberação subsequente a partir das camadas interiores da micropartícula. Dessa maneira, os métodos de formação de micropartículas descritos na presente invenção são úteis para conseguir a liberação sustentada de agentes terapêuticos ao longo de um período prolongado.

[017] Em algumas modalidades, as camadas externas (por vezes

referidas como as camadas superiores e inferiores) podem conter um agente terapêutico e este agente terapêutico pode ser o mesmo agente terapêutico tal como presente na camada interior (ou camadas) ou pode ser diferente.

[018] Para evitar a dissolução parcial de uma camada previamente formada em uma etapa de deposição subsequente e para evitar a mistura das camadas adjacentes, em algumas modalidades, o polímero na camada previamente formada pode ter baixa solubilidade no solvente de uma composição aplicada subsequentemente. Por exemplo, o primeiro polímero pode ter uma solubilidade baixa no segundo solvente, e, dessa maneira, a camada exterior inferior seca que compreende o primeiro polímero não é significativamente solubilizada por meio do segundo solvente durante a formação da camada interior contendo um agente terapêutico ou das camadas. O terceiro polímero também pode ter uma solubilidade baixa no segundo solvente, e, dessa maneira, a camada de topo exterior adicional que compreende o terceiro polímero não é misturada com a última camada interna contendo o agente terapêutico porque os segundo e terceiro polímeros permanecem na fase separada devido à sua solubilidade diferencial no segundo solvente.

[019] Em alguns casos, o solvente usado nas composições utilizadas para formar camadas adjacentes é o mesmo, mas a diferença em polímero ou polímero de peso molecular reduziu a tendência de um solvente subsequentemente aplicado contendo a composição para dissolver ou dissolver parcialmente a camada previamente formada.

[020] A solubilidade de um polímero em um determinado solvente pode ser estimada através do parâmetro de solubilidade Hilderbrand (δ). O cálculo do parâmetro de solubilidade Hilderbrand (δ) é descrito no artigo de revisão de autoria de Miller-Chou, B.A. e Koenig, J.L. (A avaliação da dissolução do polímero, Prog. Polym. Sci. 28 : 1223 a

1270, 2003), que é totalmente incorporada por meio da referência. Resumidamente, o parâmetro de solubilidade Hilderbrand (δ) é a raiz quadrada da densidade de energia coesiva (CED) :

$$\delta = (\text{CED})^{1/2} = (E / V)^{1/2} = [(\Delta H_{\text{vap}} - RT) / V]^{1/2}$$

onde ΔH_{vap} é a entalpia de vaporização, V é o volume, e T é a temperatura absoluta. A solubilidade é largamente afetada por meio da semelhança estrutural entre o polímero e o solvente, o qual é conhecido como o princípio "semelhante dissolve semelhante". Dessa maneira, se δ_1 é o parâmetro de solubilidade do solvente Hilderbrand, e δ_2 é o parâmetro de solubilidade do polímero Hilderbrand, um polímero mostra elevada solubilidade em um solvente quando $|\delta_1 - \delta_2|$ é pequeno, por exemplo, $|\delta_1 - \delta_2| < 4$. Pelo contrário, quando $|\delta_1 - \delta_2|$ é grande, por exemplo, $|\delta_1 - \delta_2| > 4$, um polímero tem baixa solubilidade no solvente. Em algumas modalidades, o segundo solvente é selecionado com base no agente terapêutico na segunda composição. Os primeiro e terceiro polímeros podem ser selecionados com base em uma grande diferença entre o parâmetro de solubilidade que Hilderbrand e o segundo solvente (isto é, valor $|\delta_1 - \delta_2|$ grande).

[021] O peso molecular de um polímero afeta a sua solubilidade em um determinado solvente: peso molecular mais elevado de um polímero reduz a sua solubilidade (Prog. Polym. Sci. 28 : 1223 a 1270, 2003). Em algumas modalidades, o peso molecular dos primeiro e terceiro polímeros é maior do que o peso molecular do segundo polímero. Por exemplo, o peso molecular dos primeiro e terceiro polímeros pode ser maior do que o peso molecular do segundo polímero de, pelo menos, 40 quilodálton (kDa), por exemplo, de 20 quilodáltons, 25 quilodáltons, 30 quilodáltons, 35 quilodáltons, 40 quilodáltons, 45 quilodáltons, 50 quilodáltons, 55 quilodáltons, 60 quilodáltons, 65 quilodáltons, 70 quilodáltons, 75 quilodáltons, 80 quilodáltons, 85 quilodáltons, 90 quilodáltons, 95 quilodáltons, 100 quilodáltons. Por exemplo, os primei-

ro e terceiro polímeros podem ter um peso molecular médio de 100 a 350 quilodáltons; e o segundo polímero pode ter um peso molecular médio de 15 a 150 quilodáltons. Em alguns casos, pode ser desejável ter as camadas exteriores formadas do mesmo polímero de peso molecular como as camadas interiores. Pode mesmo ser desejável ter as camadas exteriores constituídas por um polímero de peso molecular mais baixo do que as camadas interiores. Por exemplo, o peso molecular do polímero utilizado para formar a (s) camada (s) interna (s) pode ser maior do que o peso molecular do polímero utilizado para formar as camadas exteriores, pelo menos, 20 quilodáltons, 25 quilodáltons, 30 quilodáltons, 35 quilodáltons, 40 quilodálton (kDa), por exemplo, por 40 quilodáltons, 45 quilodáltons, 50 quilodáltons, 55 quilodáltons, 60 quilodáltons, 65 quilodáltons, 70 quilodáltons, 75 quilodáltons, 80 quilodáltons, 85 quilodáltons, 90 quilodáltons, 95 quilodáltons, 100 quilodáltons.

[022] Uma vasta variedade de polímeros pode ser utilizada para formar as micropartículas e a identidade e concentração do polímero podem variar nas diferentes camadas das micropartículas para proporcionar as partículas com características de liberação do fármaco desejadas. Exemplos não limitativos de polímeros incluem: ácido poli (lático-co-glicólico) (PLGA), ácido poli (lático) (PLA), ácido poli (L-lático) (PLLA), ácido poli (glicólico) (PGA), poli (ϵ -caprolactona) (PCL), e poli (orto éster) (POE), e outros polímeros biodegradáveis naturais, tais como colágeno, quitosano, e poli (aminoácido). Em algumas modalidades, os primeiro e terceiro polímeros podem ser selecionados a partir de PLGA, PLA e de PLLA. O segundo polímero pode ser selecionado a partir de PLGA, PLA, PLLA, PGA, PCL, e POE.

[023] Vários agentes terapêuticos podem ser administrados utilizando as micropartículas de múltiplas camadas descritas na presente invenção. Por exemplo, o agente terapêutico pode ser um fármaco de

moléculas pequenas, um fármaco peptídico, um fármaco de proteína, um fármaco de polissacarídeo, um oligonucleotídeo, ou de um anticorpo.

[024] Uma variedade de solventes pode ser usada na fabricação de micropartículas com base no tipo de agente terapêutico, o polímero, e a formulação. Por exemplo, os primeiro, segundo, e terceiro solventes podem ser selecionados a partir das classes 3 ou 2 de Solventes orgânicos de acordo com a orientação ICH da Indústria Q3C da Impurezas: Solventes residuais emitidos pela Administração de Comida e Fármaco (FDA) em 2012. Os solventes de Classe 3 são menos tóxicos e de baixo risco para a saúde humana e incluem o ácido acético, acetona, anisol, acetato de metila, acetato de etila, acetato de isobutila, acetato de propila, acetato de isopropila, acetato de butila, 1-butanol, 2-butanol, 3-metil-1-butanol, metiletilcetona, éter de terc-butilmetila, metilisobutilcetona, dimetil sulfóxido (DMSO), 2-metil-1-propanol, etanol, éter de etila, formiato de etila, ácido fórmico, heptano, pentano, 1-pentanol, 1-propanol, e 2-propanol. Os solventes de Classe 2 são tóxicos, mas podem ser utilizados em produtos farmacêuticos, se a sua concentração residual está limitada a um nível especificado pela FDA. Os solventes de Classe 2 incluem acetonitrila, clorobenzeno, clorofórmio, cumeno, ciclo-hexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, N, N-dimetilacetamida, N, N-dimetilformamida, 1,4-dioxano, 2-etoxietanol, etileno glicol, formamida, hexano, metanol, 2-metoxietanol, metilbutilcetona, metilciclo-hexano, N-metilpirrolidona, nitrometano, piridina, sulfolano, tetra-hidrofurano, tetralina, tolueno, tricloroetileno, e xileno. Estes solventes permitem uma grande flexibilidade para vários tipos de agente terapêutico, polímero, ou formulação. O segundo solvente pode ser selecionado com base no agente terapêutico da segunda composição. Os primeiro e terceiro solventes podem ser selecionados com base nos primeiro e terceiro polímeros,

respectivamente.

[025] As primeira, segunda e terceira composições podem ser um líquido, um gel ou uma pasta. Em alguns casos, o agente terapêutico é pelo menos parcialmente suspenso na composição contendo o segundo solvente e o segundo polímero, em vez de ser completamente dissolvido. Por vezes uma porção do agente terapêutico dissolve-se e uma porção é suspensa. Em algumas modalidades, as composições podem ser depositadas sobre a superfície sólida, utilizando um dispositivo capaz de dispensar uma pequena quantidade de líquido de uma maneira controlada, por exemplo, uma microimpressora. Por exemplo, uma camada da micropartícula pode ser formada por meio da pulverização de gotículas de microimpressora tendo um diâmetro médio inferior a 60 microns sobre uma superfície sólida ou de uma camada previamente formada. Em muitos casos, cada camada é formada utilizando uma etapa de deposição e uma etapa de evaporação. No entanto, em alguns casos, pode ser desejável proporcionar uma camada mais espessa, repetindo as etapas de deposição e de evaporação com uma composição escolhida. Por exemplo, a etapa de deposição e a etapa de evaporação podem ser repetidas uma vez, duas vezes ou três vezes. Os solventes podem ser evaporados por meio da secagem de ar a composição depositada à temperatura ambiente, por exemplo, para cinco a vinte minutos. A evaporação pode ocorrer depois de cada etapa de deposição, depois de algumas etapas de deposição ou depois de todas as etapas de deposição de uma camada serem completas. No entanto, é preferível que a evaporação de praticamente todo o solvente sob uma dada camada ocorra antes da deposição do material formar a camada posterior.

[026] Dependendo da formulação e do processo de composição e deposição de solvente utilizado, as micropartículas podem incluir uma variedade de tipos de camadas: 1) camadas planas simples que

são camadas em cima umas das outras, 2) as camadas que não sejam coincidentes umas com as outras, 3) camadas não uniformes que têm uma forma de rosca, onde o diâmetro exterior é mais espesso do que uma parte do meio da camada, 4) camadas não uniformes que têm uma forma semiesférica, onde o diâmetro exterior é mais fino do que uma porção média da camada. Em geral, uma dada camada não precisa de ter uma espessura uniforme.

[027] Em algumas modalidades, as composições podem ser depositadas sobre uma superfície substancialmente plana e que as micropartículas assim formadas na superfície podem ser subsequentemente libertadas a partir da superfície como descrito abaixo. A superfície substancialmente plana pode ser revestida para facilitar a deposição das composições e / ou a liberação das micropartículas formadas.

[028] Em algumas modalidades, um molde que tem uma pluralidade de poços pode ser utilizado para fabricar as micropartículas. As técnicas de microfabricação, empregando os modelos de hidrogel são descritas: Park (Journal of Controlled Release 141: 314 a 319, 2010). Outras técnicas de microfabricação que empregam outros tipos de modelos estão descritas em Whitesides (Annual Review Biomed Engineering 3: 335 a 73, 2001). Quando é utilizado um molde, a base de um poço no modelo serve como a superfície sólida, e as micropartículas de múltiplas camadas podem ser formadas a partir de um ou mais poços do modelo de enchimento completo, de enchimento parcial, ou o sobre-enchimento dos poços com as composições. As micropartículas de várias camadas formadas deste modo irão assumir a forma das cavidades em que se encontram formadas (por exemplo, cilindros, cubos, prismas retangulares podem ser formados desta maneira). Além disso, as partículas quase esféricas podem ser construídas utilizando um modelo de um molde hemisférico ou perfil muito baixo ou molde essencialmente plana feito de vidro revestido diferencialmente ou outro

substrato de tal modo que a superfície do substrato varia de uma maneira que permite que a composição depositada venha a manter uma forma particular, em vez de espalhar ao longo do substrato de uma maneira descontrolada. Desta maneira uma estrutura hemisférica pode ser produzida construindo camadas em cima umas das outras até que a estrutura fique saliente acima do molde e é seca. Em alguns casos, as características da composição (solvente, a viscosidade, etc.) controlam a forma da partícula.

[029] Quando um molde tendo poços é usado para formar as micropartículas, as micropartículas são, de preferência removidas do molde por meio da dissolução do molde. Dessa maneira, o molde pode ser solúvel em água, por exemplo, um hidrogel. Uma vez que as micropartículas são completas, elas podem ser libertadas a partir do modelo, tal como descrito abaixo.

[030] No caso de um modelo ser usado, o molde pode ser formado utilizando um molde. O molde pode ser preparado por meio do revestimento de uma pastilha de silício com fotorresistência e gravura a água forte de uma forma desejada para o molde, a qual depois é formada no molde. Os poços no molde podem ter qualquer forma desejada, tal que as micropartículas resultantes podem ter pelo menos uma seção transversal que é quadrada, retangular, circular ou qualquer outra forma desejada.

[031] As micropartículas podem ser libertadas a partir de superfícies planares ou modelos, utilizando quaisquer meios adequados, tais como por meio da imersão em um solvente que não dissolve substancialmente as micropartículas e filtração ou centrifugação. Por exemplo, quando um modelo de hidrogel solúvel em água é utilizado, as micropartículas podem ser libertadas por meio da dissolução dos modelos em água a uma temperatura desejada. As micropartículas podem ser recolhidas por meio da filtração da suspensão ou solução contendo

as micropartículas através de uma peneira, e recolhendo as micropartículas na superfície superior da peneira. Para remover o excesso de água, as micropartículas recolhidas podem ser liofilizadas, por exemplo, durante 12 horas, e, em seguida, secas sob vácuo durante um a dez dias, por exemplo, durante cinco dias. A superfície de suporte ou o molde pode ser imerso em nitrogênio líquido ou outro fluxo de gás resfriado. As micropartículas podem ser sopradas com ar ou sob vácuo. Além disso, os modelos podem ser imersos em um não solvente e ultrassons para libertar as micropartículas.

[032] Também descritas na presente invenções estão as composições que contêm micropartículas de múltiplas camadas. Cada micropartícula de múltiplas camadas da composição inclui uma ou mais camadas exteriores que compreende um primeiro polímero; e uma ou mais camadas interiores que compreendem um agente terapêutico e um segundo polímero. Em geral, uma ou mais camadas exteriores não contêm um agente terapêutico. O peso molecular do primeiro polímero é maior do que o peso molecular do segundo polímero em pelo menos 20 quilodáltons, por exemplo, de 20 quilodáltons, 25 quilodáltons, 30 quilodáltons, 35 quilodáltons, 40 quilodáltons, 45 quilodáltons, 50 quilodáltons, 55 quilodáltons, 60 quilodáltons, 65 quilodáltons, 70 quilodáltons, 75 quilodáltons, 80 quilodáltons, 85 quilodáltons, 90 quilodáltons, 95 quilodáltons, 100 quilodáltons. Por exemplo, o primeiro polímero pode ter um peso molecular médio de 100 a 350 quilodáltons; o segundo polímero pode ter um peso molecular médio de 15 a 150 quilodáltons. Os primeiro e segundo polímeros podem ser selecionados a partir de: ácido poli (lático-co-glicólico) (PLGA), ácido poli (lático) (PLA), ácido poli (L- lático) (PLLA), ácido poli (glicólico) (PGA), poli (ϵ -caprolactona) (PCL), e poli (orto éster) (POE), e outros polímeros biodegradáveis naturais, tais como colágeno, quitosano, e poli (aminoácido).

[033] Em algumas modalidades, as micropartículas de múltiplas camadas são essencialmente simétricas em três dimensões, e não é uma dimensão superior a 80 microns. Em algumas modalidades, as micropartículas de múltiplas camadas são simétricas em duas dimensões, e a dimensão ao longo do eixo de simetria mais longo é menos do que 100 microns, enquanto que a dimensão ao longo do eixo menor de simetria é inferior a 60 microns.

[034] Em algumas modalidades, a média (em uma base de volume das partículas) D_v (diâmetro de uma partícula esférica com o mesmo volume) das microcápsulas é inferior a 100 μm ; D_v a média das microcápsulas é selecionada a partir de: menos do que 90, 80, 70, 60 ou 50 μm . Em algumas modalidades as micropartículas são substancialmente monodispersas. Em algumas modalidades, pelo menos, 70 % (80 %, 90 %) das microcápsulas na composição podem variar de média D_v das microcápsulas na composição por não mais do que 50 % (40 %, 30 %, 20 % ou menos) . Em alguns casos, a maior dimensão linear média das microcápsulas é selecionada a partir de: menos de 100, 90, 80, 70, 60, 50 ou 40 μm e é maior do que 30, 40 ou 50 μm . Em algumas modalidades, as micropartículas compreendem três ou mais camadas, por exemplo, incluindo duas camadas exteriores e uma camada interior. Em algumas modalidades, as micropartículas compreendem quatro ou mais camadas, por exemplo, incluindo duas camadas exteriores (uma camada exterior superior e uma camada exterior inferior) e dois ou mais (por exemplo, duas, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, ou dez) camadas internas. As micropartículas podem incluir vários tipos de camadas. Por exemplo, as micropartículas podem conter múltiplas camadas de camadas de espessura uniforme. Em algumas modalidades, as micropartículas constituídas por camadas planas uniformes são em camadas umas em cima das outras. As micropartículas podem também conter múltiplas camadas de

camadas de diferentes espessuras. Em algumas modalidades, as micropartículas contêm um ou mais camadas não coincidentes com uma camada adjacente, por exemplo, uma camada de forma de rosca com uma abertura em forma de anel ou uma camada hemisférica. Em geral, uma dada camada não precisa de ter uma espessura uniforme. Por exemplo, as micropartículas podem conter camadas não uniformes, onde o diâmetro exterior é mais espesso ou mais fino do que a porção média da camada.

[035] As composições descritas na presente invenção também podem incluir excipientes, veículos, ou tampões que são adequados para uma formulação particular do agente terapêutico.

[036] Em algumas modalidades, as composições que contêm as micropartículas de múltiplas camadas podem formar um implante quando injetadas em um paciente. O implante pode ter uma maior dimensão linear de entre 0,5 e 10 mm, por exemplo, um implante cilíndrico com dimensões com 2 mm x 0,75 mm. O peso total do implante pode ser de 100 a 5000 microgramas (por exemplo, de 250 a 1000 microgramas). Tal grande implante pode conter uma maior quantidade de agente terapêutico e o agente terapêutico pode ser libertado durante um período mais longo de tempo. Por exemplo, as micropartículas podem ser formuladas para libertar o agente terapêutico ao longo de um período de pelo menos 3 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses, 18 meses, dois anos ou mais.

[037] As composições podem ser depositadas sobre um modelo ou uma superfície plana de uma variedade de maneiras. Por exemplo, quando uma microimpressora é usada para deposição sobre uma superfície plana, a superfície de cada camada depende inicialmente do diâmetro do bocal de impressora, a quantidade de composição líquida depositada para formar a camada e as características físicas da composição líquida. No entanto, ao mover a cabeça de impressão, é pos-

sível criar camadas em uma variedade de tamanhos e formas. Ao utilizar uma cabeça de impressão controlável, diferentes camadas podem ter diferentes tamanhos e / ou forma. Por exemplo, uma primeira camada pode ser um disco de 50 microns de diâmetro, a segunda camada pode ser um disco de 20 microns de diâmetro centrada sobre a primeira camada e a terceira camada pode ser um disco de 50 microns de diâmetro centrada sobre a primeira camada. Em algumas modalidades, a composição líquida pode ser depositada por uma microimpressora em um modelo em vez de sobre uma superfície substancialmente plana. Nesta modalidade, a microimpressora deposita a composição líquida de uma ou mais cavidades de um molde que tem uma pluralidade de poços.

[038] Quando se utiliza uma microimpressora, a atmosfera do fechamento em que a deposição da composição líquida ocorre pode ser controlada, a fim de melhorar a eficiência do bico de impressão, prevenir o entupimento do bico, controlar a evaporação de solvente na composição líquida depositada e fornecer condições de outro modo desejáveis. Dependendo do polímero, solvente, excipientes, terapêuticos, e formulação, pode ser útil aumentar ou diminuir a temperatura, a umidade, e a pressão atmosférica. Também pode ser útil empregar uma atmosfera de gás inerte (por exemplo, nitrogênio ou argônio), ou utilizar uma atmosfera pelo menos parcialmente saturada com um solvente. Além disso, a temperatura do injetor e / ou a superfície de deposição pode ser controlada por meio do resfriamento ou aquecimento.

EXEMPLOS

[039] A presente invenção é ainda descrita nos exemplos seguintes, que não limitam o âmbito da presente invenção descrita nas reivindicações.

Materiais

[040] Os experimentos foram realizados utilizando os materiais

comercialmente disponíveis: álcool polivinílico (PVA, Sigma); ácido poli (lático-co-glicólico) (PLGA): 54 Quilodáltons de PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 6535DLG4A), 109 ou 118 quilodáltons de PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E), 115 quilodáltons de PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E), e 178 quilodáltons de PLGA (Akina 8520); ácido poli (L-lático) (PLLA): 180 quilodáltons de PLLA-20 (Akina); Brinzolamida (BRZ, Chemvon Biotechnology), acetazolamida (ACZ, Spectrum Chemical), tetra-hidrofurano (THF, Merck Millipore), Dicolorometano (DCM, Merck Millipore), Dimetilformamida (DMF, Merck Millipore) e solução salina tamponada com fosfato pH 7,4 (PBS, VWR International).

Fabricação de modelos mestre de wafer de silício por meio da fotolitografia

[041] Um wafer de silício foi revestido com rotação SU8 2010 fototorresistente (Microchem, MA) a 3500 rpm durante 30 segundos para obter uma espessura desejada, seguido por meio da cozedura a 95 ° C durante 3 min. O wafer de silício fototorresistente revestido foi exposto à radiação UV através de uma máscara contendo 10 µm de diâmetro padrão circular de 12 s. Após a exposição, o wafer de silício foi pós-cozido a 95 ° C durante 3 min seguido por meio do desenvolvimento em SU-8 desenvolvedor durante 2 min. O wafer de silício foi lavado com isopropanol e seco com nitrogênio gasoso. O wafer assim fabricado continha poços com diâmetro variando de 1,5 µm a 50 µm ou maior.

Fabricação de modelos mestre de silício por e-litografia por feixe

[042] Os padrões circulares de 500 nm de diâmetro foram projetados usando o programa Auto CAD 2007. O wafer de silício de 76,2 mm (3 ") (100) coberto com uma camada de SiO₂ de 1 µm de espessura (Universidade Wafer) foi rodado revestido com poli (metacrilato de metila) (PMMA, Microchem) fototorresistente de 300 nm de camada

espessa usando um spin revestido (sistema de revestimento de rotação SCS P6708, 3500 rpm, 30 segundos). A camada de PMMA fotosensível revestida foi exposta ao feixe de elétrons (e-feixe) em um padrão pré-programado usando Instrumento de fotolitos do Campo ultra-amplio de alta resolução Leica VB6 (operando a 100 KV, taxa de transmissão de 25 MHz atual 5 nA). Depois de litografia de feixe, o wafer de silício foi desenvolvido em 3: 1 de isopropanol: solução de metil-isobutil-cetona para remover as regiões expostas do fotorresistente. Uma camada de cromo de 5 nm e 20 nm, camada de ouro foram depositadas sobre este padrão seguido por meio da descolagem da película de PMMA residual em acetona ao refluxo. O padrão foi transferido para o óxido de silício subjacente por meio do ataque químico com íons reativos de profundo plasma SF₆ / O₂. O molde mestre de silício gerado foi utilizado para a fabricação de moldes de hidrogel.

Fabricação de modelos de PVA dissolvíveis

[043] Os moldes temporários para microcápsulas produtoras podem ser formados utilizando os polímeros que podem ser dissolvidos em solução aquosa ou em uma mistura de soluções aquosas e orgânicas (por exemplo, água e etanol). A temperatura e o pH ou da solução utilizada para o modelo de dissolução podem ser alterados quer por meio do aumento ou por meio da diminuição da temperatura ambiente para dissolver um modelo temporário. Para formar os modelos utilizados nos Exemplos, uma solução clara de poli (álcool vinílico) (PVA) (15 % p / v em água, 5 ml) foi transferida com uma pipeta para um modelo mestre de wafer de silício, ou um modelo intermediário opcional feito de poli (dimetilsiloxano) (PDMS), (76,2 mm (3 " de diâmetro)) contendo os suportes circulares (por exemplo, de 50 µm de diâmetro e 70 mm de altura). A solução de PVA foi uniformemente distribuída de modo a formar uma película fina que cobre completamente o molde intermediário ou mestre PDMS e mantida em um forno a 70 °C duran-

te 30 minutos. Esta etapa resultou na formação de um molde de PVA fino e mecanicamente forte. O modelo de PVA foi desprendido a partir do modelo mestre ou modelo PDMS intermediário. O modelo de PVA obtido foi de cerca de 76,2 mm (3 ") de diâmetro, contendo os poços circulares (por exemplo, de 50 µm de diâmetro e 70 mm de profundidade). O modelo de PVA foi examinado sob um microscópio de campo brilhante de reflectância para determinar a sua integridade estrutural.

Fabricação de micropartículas contendo os agentes terapêuticos

[044] O agente terapêutico e uma formulação de polímero foram dissolvidos em um solvente adequado para se fazer 10 a 15 % (p / v, o peso total do agente terapêutico e o polímero) da suspensão de fármaco-polímero ou solução. O agente terapêutico constitui cerca de 1 a 30 % do total de sólidos; a formulação de polímero constitui o resto dos sólidos em suspensão / solução de polímero-fármaco. O solvente foi selecionado com base no agente terapêutico. A solução de polímero de revestimento foi preparada por meio da dissolução de um polímero de revestimento em um solvente adequado para esse polímero.

[045] Por exemplo, para fazer as micropartículas contendo brinzolamida, brinzolamida e PLGA fluidizada micro ou branqueada (118 quilodáltons ou 115 quilodáltons) foram dissolvidas em diclorometano para obter 15 % (p / v) de suspensão de fármaco-polímero. A solução de polímero de revestimento foi preparada por meio da dissolução de 178 quilodáltons ou PLGA (Akina 8520) ou 180 quilodáltons PLLA-20 (Akina) em diclorometano para atingir cerca de 5-7,5 % (p / v) de concentração.

[046] Para fazer as micropartículas contendo acetazolamida, acetazolamida foi dissolvida em dimetilformamida (DMF) primeiro para fazer a 300 mg / ml de estoque, e o material foi então homogeneizado em diclorometano antissolvente para formar microcristais de acetazolamida. Os microcristais de acetazolamida e PLGA (65 quilodáltons)

foram dissolvidos em diclorometano para obter 15 % (p / v) de suspensão de fármaco-polímero. A solução de polímero de revestimento foi preparada por meio da dissolução de 109 quilodáltons PLGA (Evonik Industries / Margem Biomaterials 8515 DLG 7E) em diclorometano para atingir cerca de 2 % (p / v) de concentração.

[047] As micropartículas foram formadas utilizando os moldes de hidrogel de PVA solúvel em água contendo poços circulares de 50 mm de diâmetro e 70 mm de profundidade. Primeiro, um polímero isoladamente da camada exterior inferior foi formado por meio da distribuição de 150 µl da solução de polímero de revestimento sobre a base de um ou mais poços no modelo de PVA. A solução de polímero de revestimento pode ser depositada sobre o molde e uma lâmina pode ser retirada através da superfície do molde para impelir a solução de polímero de revestimento nas cavidades e com a finalidade de remover substancialmente o excesso de solução sobre a superfície do molde entre poços. De uma maneira alternativa, a solução de polímero de revestimento pode ser depositada diretamente nos poços, utilizando um dispensador de micro ou por meio da pulverização. Depois da solução de polímero de revestimento ser depositada, o diclorometano é deixado evaporar ao ar durante cinco minutos à temperatura ambiente. A etapa de depositar pode ser repetida para uma camada exterior mais espessa. Dessa maneira, a solução de polímero de revestimento pode ser depositada uma, duas, três ou mais vezes. No entanto, as cavidades devem ser apenas parcialmente preenchidas, durante este processo. A evaporação do solvente pode ocorrer depois de cada etapa de depositar, depois de menos de todas as etapas de deposição ou após todas as etapas de deposição para a camada exterior inferior foram preenchidas. O solvente na camada exterior inferior deve, no entanto, ser evaporado antes do material ser depositado para formar uma camada interna.

[048] Em seguida, um fármaco contendo a camada interna foi formado por meio da distribuição de 150 µl da suspensão de fármaco-polímero para a camada exterior inferior previamente formada. A suspensão de fármaco-polímero foi depositada sobre a camada exterior inferior formada anteriormente seguida por meio da evaporação do diclorometano no ar durante cinco minutos à temperatura ambiente. Esta etapa foi repetida três a seis vezes, uma camada interior de fármaco-polímero na micropartícula. A suspensão de fármaco-polímero pode ser depositada nos poços da mesma forma como a solução de polímero de revestimento ou de uma maneira diferente (por exemplo, tanto pode ser depositada por um espalhamento ou pode ser depositada por difusão e a outra pode ser depositada por meio da supressão.

[049] Finalmente, a camada de topo exterior foi formada por meio da deposição de 150 µl da solução de polímero de revestimento sobre a camada interna. A solução de polímero de revestimento foi espalhada uniformemente sobre a camada interna, seguida por meio da evaporação do diclorometano no ar durante cinco minutos à temperatura ambiente. Assim como com a formação da camada exterior inferior, esta etapa pode ser repetida por meio de uma camada exterior mais espessa.

[050] Depois de formar todas as camadas desejadas, os modelos de PVA com as micropartículas foram secos à temperatura ambiente durante pelo menos 12 horas. As micropartículas foram então colhidas por meio da dissolução dos modelos em água a 37 °C durante pelo menos 30 minutos. A suspensão contendo micropartículas foi filtrada através de uma peneira de 104 microns primeiro. O filtrado foi em seguida filtrado através de um peneira de 45 microns, e as micropartículas foram recolhidas na superfície superior da peneira de 45 microns. As micropartículas recolhidas foram liofilizadas durante pelo menos 12 horas e, em seguida, secas sob vácuo a 40 °C durante cinco dias.

Estudo de liberação de fármaco in vitro

[051] Para o estudo de liberação de brinzolamida in vitro, pelo menos, 5 mg de micropartículas contendo brinzolamida foram suspensos em 10 ml de solução salina tamponada com fosfato (PBS), e colocados em um banho de água com agitação a 37 ° C para estudos de liberação in vitro do fármaco. Em um ponto de ensaio designado (por exemplo, todas as semanas, após a incubação inicial), as amostras foram centrifugadas e 1 mL de sobrenadante foi removido para a análise de brinzolamida por meio da cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC). Subsequentemente, 8 mL de sobrenadante foram removidos e descartados, e 9 mL de PBS fresco foram adicionados de volta à amostra. As correções adequadas foram feitas para dar conta de fármacos no sobrenadante não removido de 1 mL que transporta para o próximo período de liberação. O mesmo procedimento foi seguido a cada ponto de tempo testado (por exemplo, uma semana, duas semanas, três semanas, quatro semanas, cinco semanas, seis semanas, sete semanas, oito semanas, nove semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas, treze semanas, 14 semanas, 15 semanas, 16 semanas), até um ponto de terminação ter sido alcançado.

[052] Os resultados de liberação de brinzolamida in vitro foram apresentados como a porcentagem cumulativa do fármaco liberada nas Figuras 1 a 2. Como mostrado nas Figuras 1 a 2, a camada externa de 178 quilodáltons PLGA (Akina 8520) reduziu grandemente a liberação brusca inicial de brinzolamida quando em comparação com as micropartículas sem estas camadas exteriores. Significativamente, em duas semanas, a liberação cumulativa de brinzolamida das micropartículas com a camada exterior de polímero sozinha de 178 quilodáltons PLGA (Akina 8520) é de cerca de 40 %, enquanto que a partir das micropartículas sem a camada exterior é mais do que 80 % (Figura 1). Na Figura 2, uma redução semelhante na liberação inicial de ruptura

foi observada em micropartículas com uma camada externa de 180 quilodáltons PLLA-20 (Akina). Além disso, as micropartículas com uma camada externa de 178 quilodáltons PLGA conseguiram uma liberação de brinzolamida prolongada do fármaco ao longo de 18 semanas, enquanto que as micropartículas similares sem uma tal camada exterior libertaram 90 % do fármaco durante as primeiras três semanas (Figura 1). Uma tendência semelhante da liberação prolongada do fármaco foi observada nas micropartículas com uma camada externa de 180 quilodáltons-PLLA 20 (Figura 2).

[053] Para o estudo de liberação de acetazolamida in vitro, pelo menos, 5 mg de micropartículas contendo acetazolamida foram suspensos em 1 mL de PBS, e colocados em um banho de água com agitação a 37 °C para estudos in vitro de liberação do fármaco. Em um ponto de ensaio designado (por exemplo, todas as semanas, após a incubação inicial), as amostras foram centrifugadas e 0,9 mL do sobrenadante foi removido para a análise por meio de HPLC de acetazolamida. Subsequentemente, 0,9 mL de PBS fresco foi adicionado de volta à amostra. As correções adequadas foram feitas para explicar acetazolamida não removido 0,1 mL de solução que é transferido para o próximo período de liberação. Este procedimento foi seguido a cada ponto de tempo até que um ponto terminal foi alcançado. Os resultados de liberação de acetazolamida in vitro foram apresentados como a porcentagem acumulada de fármaco libertado na Figura 3. Tal como é mostrado na Figura 3, um modesto 2 % de 109 quilodáltons de PLGA da camada exterior também reduziu a liberação brusca inicial de acetazolamida das micropartículas contendo acetazolamida.

OUTRAS MODALIDADES

[054] É para ser entendido que embora a presente invenção tenha sido descrita em conjunção com a sua descrição detalhada, a descrição anterior destina-se a ilustrar e não limitar o âmbito da pre-

sente invenção, que é definido por meio do âmbito das reivindicações em anexo. Outros aspectos, vantagens e modificações estão dentro do âmbito das seguintes reivindicações.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para preparar uma micropartícula de múltipla camada, caracterizado pelo fato de que o método compreende:

(a) formar uma camada compreendendo um primeiro polímero sobre uma superfície sólida por meio da deposição de uma primeira composição uma ou mais vezes sobre a superfície sólida, em que a primeira composição compreende o primeiro polímero e um primeiro solvente, e evapora o primeiro solvente na primeira composição depositada;

(b) formar uma camada compreendendo um segundo polímero e um agente terapêutico através do depósito de uma segunda composição em toda ou em parte da camada formada na etapa (a), em que a segunda composição compreende o segundo polímero, o agente terapêutico, e um segundo solvente; e evapora o segundo solvente, na segunda composição depositada; e

(c) formar uma camada adicional compreendendo um terceiro polímero por meio da deposição de uma terceira composição uma ou mais vezes sobre uma camada previamente formada, em que a terceira composição compreende o terceiro polímero e um terceiro solvente; e evapora o terceiro solvente na terceira composição depositada.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que as primeira e terceira composições não contêm um agente terapêutico.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os primeiro e terceiro polímeros têm uma solubilidade baixa no segundo solvente.

4. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o segundo polímero tem um peso molecular diferente do que o primeiro polímero e o terceiro polímero.

5. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o peso molecular dos primeiro e terceiro polímeros é maior do que o peso molecular do segundo polímero em pelo menos 40 quilodáltons.

6. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o peso molecular dos primeiro e terceiro polímeros é maior do que o peso molecular do segundo polímero em pelo menos 50 quilodáltons.

7. Método de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que os primeiro e terceiro polímeros têm um peso molecular de 100 a 350 kDa.

8. Método de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que o segundo polímero tem um peso molecular de 15 a 150 kDa.

9. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os primeiro e terceiro polímeros são o mesmo polímero.

10. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os primeiro e terceiro solventes são o mesmo solvente.

11. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o segundo solvente é diferente dos primeiro e terceiro solventes.

12. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a etapa (a) compreende depositar a primeira composição mais do que uma vez.

13. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende uma ou mais micropartículas de múltiplas camadas, em que uma ou mais micropartículas de múltiplas camadas compreendem

uma ou mais camadas de fundo, compreendendo um pri-

meiro polímero; e

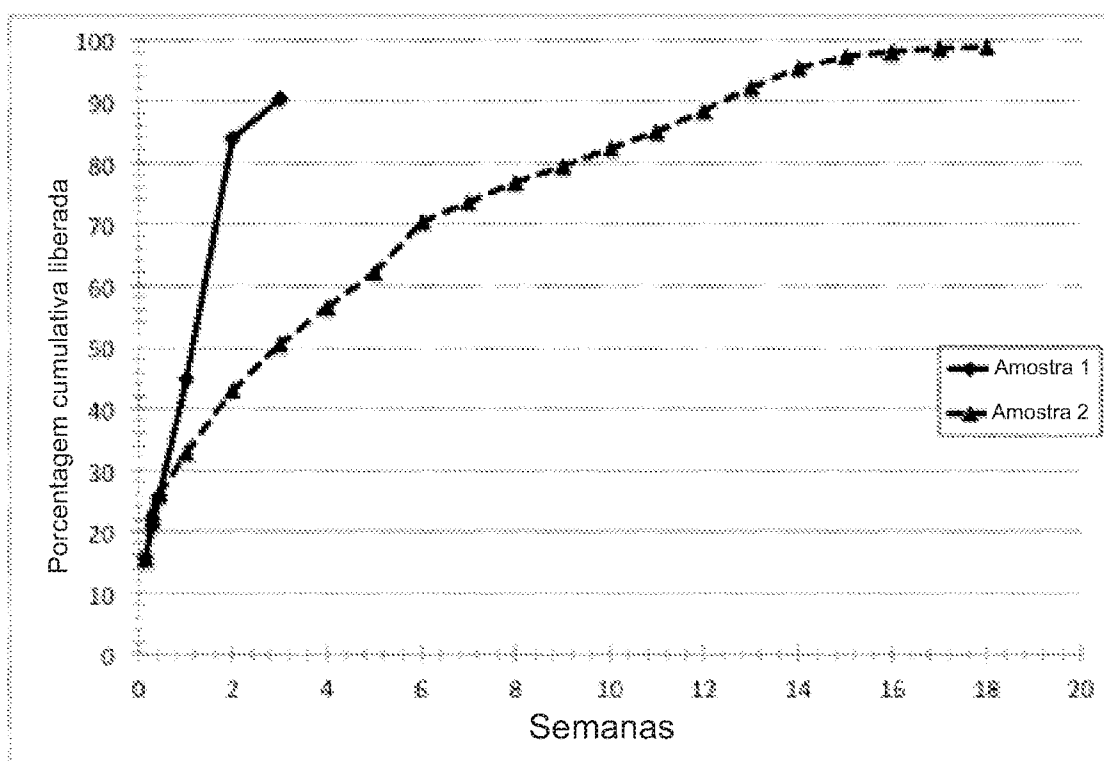
uma ou mais camadas interiores compreendendo um agente terapêutico e um segundo polímero, e uma ou mais camadas superiores compreendendo um terceiro polímero,

em que os pesos moleculares dos primeiro e terceiro polímeros são maiores do que o peso molecular do segundo polímero.

14. Composição de acordo com a reivindicação 13, caracterizada pelo fato de que as camadas superior e inferior não contêm um agente terapêutico.

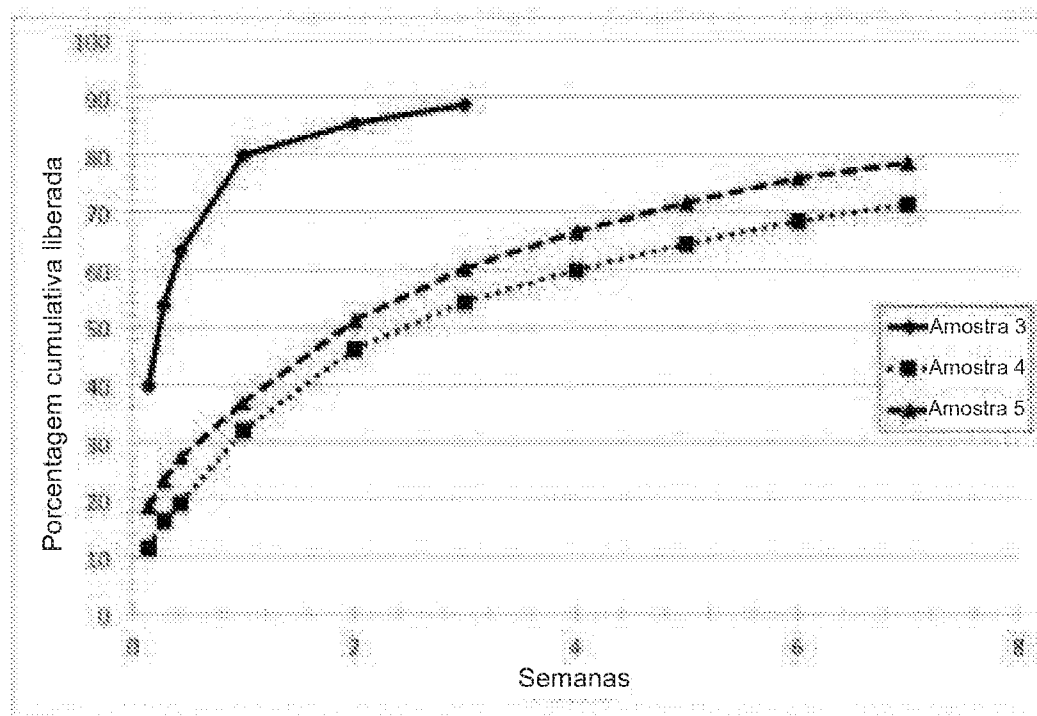
15. Composição de acordo com a reivindicação 13, caracterizada pelo fato de que o peso molecular dos primeiro e terceiro polímeros é maior do que o peso molecular do segundo polímero em pelo menos 20 quilodáltons.

16. Invenção, em quaisquer formas de suas concretizações ou em qualquer categoria aplicável de reivindicação, por exemplo, produto ou processo, ou uso, ou qualquer outro tipo de reivindicação englobada pela matéria inicialmente descrita, revelada ou ilustrada no pedido de patente.



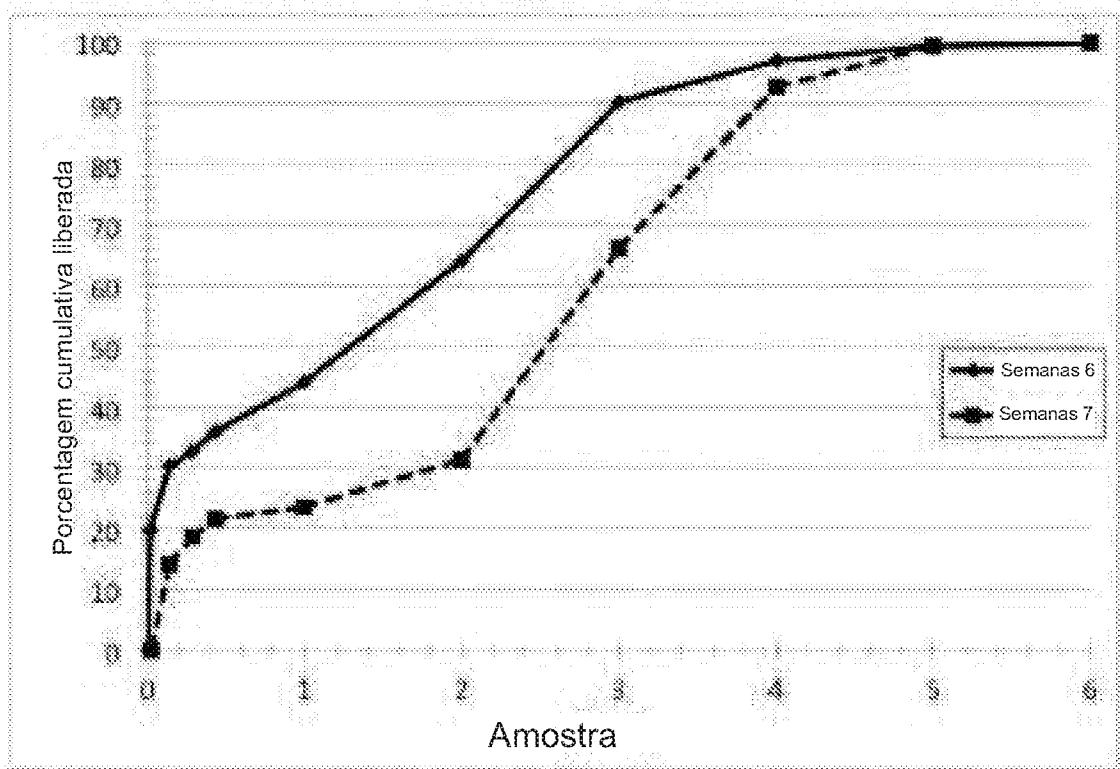
Amostra Nº	Descrição da amostra	Carregamento do fármaco (% p / p)	Polímero de camada interna	Polímero de camada externa
Amostra 1	Suspensão brinzolamida em diclorometano	11.9	115 kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E)	Nenhuma
Amostra 2	Suspensão brinzolamida em diclorometano	10.2	115 kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E)	Dois revestimentos de 5 % de 178 kDa de PLGA (Akina 8520)

Fig. 1



Amostra Nº	Descrição da amostra	Carregamento do fármaco (% p / p)	Polímero de camada interna	Polímero de camada externa
Amostra 3	Suspensão brinzolamida em diclorometano	18,9	118 kDa PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)	Nenhuma
Amostra 4	Suspensão brinzolamida em diclorometano	14,1	118 kDa PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)	Um revestimento de 7,5 % de 178 kDa de PLGA (Akina 8520)
Amostra 5	Suspensão brinzolamida em diclorometano	14,4	118 kDa PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)	Um revestimento de 7,5 % de 180 kDa de PLLA-20 (Akina)

Fig. 2



Amostra N°	Descrição da amostra	Carregamento do fármaco (% p / p)	Polímero de camada interna	Polímero de camada externa
Amostra 6	Suspensão de microcristal de acetazolamida em diclorometano	6.1	54 kDa PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 6535 DLG 4A)	Nenhuma
Amostra 7	Suspensão de microcristal de acetazolamida em diclorometano	2.8	54 kDa PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 6535 DLG 4A)	Um revestimento de 2% de 109 kDa de PLGA (Evonik Industries / Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)

Fig. 3

RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSIÇÃO DE MICROPARTÍCULAS BIODEGRADÁVEIS DE MÚLTIPLAS CAMADAS PARA LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE AGENTES TERAPÊUTICOS E MÉTODO PARA PREPARAR UMA MICROPARTÍCULA DE MÚLTIPLA CAMADA"**.

A presente invenção refere-se às micropartículas as quais são preparadas por meio de um método que inclui: (a) formar uma camada que compreende um primeiro polímero sobre uma superfície sólida por meio da deposição de uma primeira composição uma ou mais vezes sobre a superfície sólida, em que a primeira composição compreende o primeiro polímero e um primeiro solvente, e evaporar o primeiro solvente, na primeira composição; (b) formar uma ou mais camadas que compreendem um polímero e um segundo agente terapêutico através do depósito de uma segunda composição em toda ou em parte da camada formada na etapa (a), em que a segunda composição compreende o segundo polímero, o agente terapêutico, e um segundo solvente; e evaporação do segundo solvente, na segunda composição; e (c) formar uma camada adicional que compreende um terceiro polímero por meio da deposição de uma terceira composição uma ou mais vezes sobre uma camada previamente formada, em que a terceira composição compreende o terceiro polímero e um terceiro solvente; e evaporar o terceiro solvente na terceira composição.