

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 988 941**

51 Int. Cl.:

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.10.2021** **E 21201925 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2024** **EP 4162930**

54 Título: **Preparación de micro y nanopartículas cargadas con fármaco por impacto de chorro**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.11.2024

73 Titular/es:

LEON-NANODRUGS GMBH (100.0%)
Am Klopferspitz 19
82152 Planegg, DE

72 Inventor/es:

VOGLER, JULIAN;
BRÄUER, CARSTEN;
CLÉMENT, PASCALE y
STIENEKER, FRANK

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 988 941 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

Preparación de micro y nanopartículas cargadas con fármaco por impacto de chorro

Antecedentes

5 Las micro y nanopartículas formuladas como sistemas de administración de fármacos para ingredientes farmacéuticos activos desempeñan un papel creciente en la medicina y abordan desafíos en el diagnóstico, monitorización, control, prevención y tratamiento de enfermedades. El material portador puede basarse en nanoestructuras inorgánicas (por ejemplo, nanopartículas metálicas, puntos cuánticos semiconductores de diversos tamaños y formas) u orgánicas, incluyendo polímeros, dendrímeros, micelas, liposomas, nanopartículas lipídicas sólidas y conjugados de polímero-
 ingrediente farmacéutico activo (API).

10 Los sistemas de administración de fármacos basados en poli(lactida-co-ácido glicólico) (PLGA) ofrecen múltiples oportunidades en términos de diseño y rendimiento gracias a las diversas propiedades del PLGA que lo hacen un nanoportador ideal. El PLGA es un polímero biodegradable y biocompatible con un amplio intervalo de tiempos de degradación que pueden ajustarse por su peso molecular y relación de copolímero. Una proporción más baja de residuos glicólicos más hidrófilos o una proporción más alta de residuos láctidos más lipófilos da como resultado una
 15 semivida más larga in vivo.

Aunque ya han sido aprobados varios sistemas basados en PLGA tanto por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) como por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y se usan ampliamente en la clínica para el tratamiento o diagnóstico de enfermedades, actualmente no está disponible en el mercado global ninguna formulación de nanomedicina de PLGA. Una razón que dificulta la aplicabilidad industrial son los retos en el aumento
 20 de escala de la producción y la traslación asociada a la práctica clínica.

Dado que el tamaño de partícula tiene una influencia sobre la cinética de la liberación del ingrediente activo y la captación celular de las partículas, el método de preparación de las micro y nanopartículas basadas en PLGA es uno de los factores clave para la comercialización exitosa.

25 Los métodos más comúnmente usados para fabricar partículas de PLGA se basan en procesos de emulsión usando agitadores mecánicos seguido de la eliminación del disolvente. Sin embargo, estos procedimientos tienen la desventaja de que las partículas resultantes tienen una distribución de tamaño de partícula muy amplia, los procedimientos tienen una baja repetitividad y las condiciones de fabricación a veces son duras y por lo tanto inadecuadas para ingredientes activos sensibles.

30 Las técnicas microfluídicas alternativas fueron cada vez más importantes ya que permiten la producción de partículas de PLGA mediante un proceso controlado. Estas técnicas microfluídicas pueden dividirse en procesos basados en gotitas y procesos continuos.

35 En el proceso microfluídico basado en gotitas, se disuelve PLGA en un disolvente inmiscible en agua (disolvente) y se mezcla con un disolvente acuoso (no disolvente) durante el proceso. Se generan gotitas definidas que, después de la eliminación del disolvente, dan como resultado partículas de PLGA definidas. Estos procesos son adecuados para la producción de micropartículas, pero no para la producción de nanopartículas. Los métodos basados en gotitas no son adecuados para altos rendimientos debido a los bajos caudales. Los procesos continuos en donde una fase acuosa se mezcla con un disolvente miscible en agua (tal como acetona) ofrecen enfoques alternativos. En procesos continuos, el disolvente se elimina del sistema, lo que conduce a la formación de nanopartículas.

40 Recientemente, se ha podido mostrar que la tecnología microfluídica es adecuada para la preparación de nanopartículas de PLGA-PEG (Mares AG, et al., 2021, PLoS ONE 16(6): e0251821. doi.org/10.1371/journal.pone.0251821). Se formularon varios lotes de nanopartículas de PLGA-PEG mediante mezclado a granel manual y autoensamblaje de enfoque de flujo hidrodinámico a volúmenes correspondientes de disolvente y antidisolvente. Para el autoensamblaje de enfoque de flujo hidrodinámico se usaron chips microfluídicos con tres entradas y una salida (microcanales de 200 µm de ancho y 60 µm de alto) conectados a una bomba de jeringa con un tubo capilar. La fase de disolvente se inyectó en la entrada central y la anchura de la corriente (en la salida) se controló mediante el caudal de antidisolvente inyectado lateralmente. Se demostró que el ajuste de los caudales de disolvente y antidisolvente en el área de mezclado confinada permitió obtener un intervalo más amplio de diámetros que con la nanoprecipitación en masa. Se sabe que tales sistemas microfluídicos tienen una alta sensibilidad a las perturbaciones de las líneas de corriente, obstrucción de microcanales y ensuciamiento y la compatibilidad de los
 45 disolventes con el material del chip es a veces un reto.

50 La escalabilidad de los métodos basados en técnicas de nanoprecipitación se demostró por Feng 2019 (Feng et al., 2019, J Transl Med (2019) 17:200, doi.org/10.1186/s12967-019-1945-9). Se utilizaron tres escalas de mezcladores, incluyendo un mezclador de chorro incidente confinado a pequeña escala, un mezclador de vórtice de entrada múltiple a media escala (MIVM) y un mezclador de vórtice de entrada múltiple a gran escala, en la formulación de nanopartículas que comprenden Lumefantrina, un fármaco antimalaria y HPMCAS. Se prepararon nanopartículas de 200 nm en las tres escalas de mezcladores operando a números de Reynolds equivalentes (similitud dinámica) en cada mezclador. La divulgación no proporciona información sobre cómo realizar el método para obtener partículas de
 55

diferentes tamaños, por ejemplo, micropartículas o nanopartículas.

5 Como el tamaño de partícula y una estrecha distribución de tamaño de partícula siempre es importante tanto para el funcionamiento medicinal como para los procesos de aumento de escala en la producción, el ajuste fino del método de preparación de micro y nanopartículas basadas en PLGA sigue siendo un desafío. Por lo tanto, todavía existe la necesidad de un método robusto de producción de micro y nanopartículas que pueda aumentarse fácilmente de escala y proporcionar una producción rápida del producto deseado. Adicionalmente, también es importante que el proceso de producción pueda adaptarse a diferentes necesidades y requisitos que puedan surgir durante el proceso de desarrollo del producto o durante el aumento de escala.

10 Por lo tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar un método para la producción de micro y nanopartículas que sea flexible en términos de adaptación a diferentes tipos de productos, así como para producir de manera robusta, rápida y fiable el producto deseado. También existe la necesidad de procesos suficientemente controlados. Otros objetos de la invención resultarán claros sobre la base de la siguiente descripción de la invención, ejemplos y reivindicaciones.

Sumario de la invención

15 La presente invención proporciona un método para preparar micro o nanopartículas poliméricas que comprenden un agente biológicamente activo. El procedimiento comprende esencialmente las siguientes etapas:

20 (a) proporcionar un reactor de impacto de chorro que comprende una cámara de reacción definida por una superficie interior de una pared de la cámara, en donde la cámara de reacción tiene una forma general esferoidal sustancialmente esférica, comprendiendo dicha cámara una primera y una segunda entrada de fluido, en donde la primera y la segunda entrada de fluido están dispuestas en posiciones opuestas en un primer eje central de la cámara de reacción para apuntar una a la otra, y en donde cada una de la primera y la segunda entrada de fluido comprende una boquilla; y una salida de fluido dispuesta en una tercera posición, estando situada dicha tercera posición en un segundo eje central de dicha cámara, siendo el segundo eje central perpendicular al primer eje central;

25 (b) proporcionar una primera corriente de una primera composición líquida, en donde la primera composición líquida comprende una solución orgánica de un polímero seleccionado de PLA, PGA, PLGA y combinaciones de los mismos, y el agente biológicamente activo;

(c) proporcionar una segunda corriente de una segunda composición líquida, en donde la segunda composición líquida es una solución acuosa;

30 (d) inyectar simultáneamente la primera corriente a un primer caudal a través de la primera entrada de fluido y la segunda corriente a un segundo caudal a través de la segunda entrada de fluido en la cámara de reacción del reactor de impacto de chorro, de manera que se permita que la primera composición líquida y la segunda composición líquida se mezclen y formen así una tercera composición líquida;

(e) permitir que la tercera composición líquida fluya fuera de la cámara de reacción a través de la salida de fluido; y

35 (f) recoger la tercera composición líquida.

El reactor de impacto de chorro está diseñado preferiblemente para tener boquillas que están orientadas de manera que la primera corriente y la segunda corriente se dirigen a lo largo del primer eje central hacia el centro de la cámara de reacción y para permitir que la primera corriente y la segunda corriente colisionen en un ángulo de aproximadamente 180°.

40 La primera composición líquida que se usa para la primera corriente que se inyecta en el reactor, es una solución orgánica del polímero formador de partículas que también comprende el ingrediente biológicamente activo, y puede diseñarse para que sea miscible o inmisible con la solución acuosa que proporciona la segunda corriente. Si es miscible, el método puede llevarse a cabo de manera que el mezclado de las dos corrientes en el reactor de impacto de chorro conduce a la formación de nanopartículas poliméricas dispersadas en una fase líquida que comprende tanto agua como disolvente orgánico. Si la primera y la segunda composición líquida son inmiscibles, el método puede controlarse de manera que el mezclado de las dos corrientes en el reactor de impacto de chorro conduce a la formación de una emulsión que contiene gotitas orgánicas dispersadas a partir de las cuales pueden obtenerse micropartículas poliméricas en una etapa posterior. En cualquier caso, el ingrediente biológicamente activo se incorporará dentro de las partículas poliméricas.

50 Descripción del dibujo

La Figura 1, que no está a escala, representa un ejemplo de un reactor de impacto de chorro (1) que es útil para llevar a cabo el método de la invención. La cámara de reacción (6) definida por la superficie interior (2) de la pared de la cámara (3) es sustancialmente esférica, excepto por las dos entradas de fluido (4) y la salida de fluido (7). Las entradas de fluido (4) están dispuestas en posiciones opuestas en un primer eje central (x) de la cámara de reacción (6) y

apuntan una a la otra. Cada una de las entradas de fluido (4) comprende una boquilla (5), que es una boquilla de orificio liso en esta realización. La salida de fluido (7) está colocada en un segundo eje central (y) que es perpendicular al primer eje central (x). La distancia (d) entre las dos boquillas (4) es sustancialmente la misma que el diámetro de la cámara de reacción esférica (6).

- 5 La Figura 2 representa un conector de entrada de fluido (10) según una realización de la invención. El conector (10) tiene un extremo aguas arriba (11), un extremo aguas abajo (12) que sostiene una boquilla (13) en una posición aguas abajo del extremo aguas abajo (12) y un conducto de fluido (14) para conducir un fluido desde el extremo aguas arriba (11) hasta el extremo aguas abajo (12). El conector de entrada de fluido (10) está diseñado para proporcionar una entrada de fluido para un reactor de impacto de chorro (no mostrado) según la invención, y para ser insertable reversiblemente en la pared de tal reactor. La figura no está a escala.

Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar micro o nanopartículas poliméricas que comprenden un agente biológicamente activo. El método comprende las etapas (a) a (f), en donde las etapas se definen como sigue:

- 15 (a) proporcionar un reactor de impacto de chorro que comprende una cámara de reacción definida por una superficie interior de una pared de la cámara, en donde la cámara de reacción tiene una forma general sustancialmente esferoidal, comprendiendo dicha cámara una primera y una segunda entrada de fluido, en donde la primera y la segunda entrada de fluido están dispuestas en posiciones opuestas en un primer eje central de la cámara de reacción de manera que apuntan una a la otra, y en donde cada una de la primera y la segunda
- 20 entrada de fluido comprende una boquilla; y una salida de fluido dispuesta en una tercera posición, estando situada dicha tercera posición en un segundo eje central de dicha cámara, siendo el segundo eje central perpendicular al primer eje central;
- (b) proporcionar una primera corriente de una primera composición líquida, en donde la primera composición líquida comprende una solución orgánica de un polímero seleccionado de PLA, PGA, PLGA y combinaciones de
- 25 los mismos, y el agente biológicamente activo;
- (c) proporcionar una segunda corriente de una segunda composición líquida, en donde la segunda composición líquida es una solución acuosa;
- (d) inyectar simultáneamente la primera corriente a un primer caudal a través de la primera entrada de fluido y la segunda corriente a un segundo caudal a través de la segunda entrada de fluido en la cámara de reacción del reactor de impacto de chorro, de manera que se permita que la primera composición líquida y la segunda
- 30 composición líquida se mezclen y formen así una tercera composición líquida;
- (e) permitir que la tercera composición líquida fluya fuera de la cámara de reacción a través de la salida de fluido; y
- (f) recoger la tercera composición líquida.

35 En el contexto de la invención, las micropartículas poliméricas son partículas basadas en un vehículo polimérico que tiene un tamaño de partícula promedio en el intervalo de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 500 μm , mientras que las nanopartículas poliméricas tienen un tamaño de partícula promedio en el intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 1 μm . El tamaño de partícula promedio es preferiblemente el promedio z determinado por dispersión dinámica de luz o difracción láser. Las micro y nanopartículas pueden tener cualquier tipo de morfología. Por ejemplo, una microcápsula de un tipo específico de micropartícula que tiene un núcleo y una cubierta, en donde el núcleo y la cubierta muestran diferencias en su estructura o composición. Un agente biológicamente activo, en este contexto, es un compuesto o material que, cuando se administra a un sujeto, tiene un efecto biológico basado en el cual el agente puede ser útil como un ingrediente farmacéutico activo o agente de diagnóstico. Un agente biológicamente activo también puede denominarse agente activo, ingrediente activo o similar. Una sustancia farmacológica es un ejemplo de un agente biológicamente activo.

45 PLA significa poli(ácido láctico), también denominado polilactida; PLG significa poli(ácido glicólico), o poliglicolida; y PLGA se usa para referirse al copolímero poli(ácido láctico-co-glicólico) o polilactida-co-glicolida.

Una solución orgánica de un polímero, como se usa en la presente memoria, se refiere a una composición líquida en donde el polímero existe en estado disuelto, y en donde el o los constituyentes líquidos son predominantemente orgánicos. Una solución acuosa es una composición líquida que tiene una fase única en donde el único o el principal constituyente líquido es agua.

50 Un caudal, en el contexto de la invención, significa el caudal al que fluye un volumen definido de una corriente en la dirección de flujo, y por tanto se expresa como un volumen por unidad de tiempo, tal como ml/min.

Los inventores han descubierto inesperadamente que la tecnología de impacto de chorro que usa un reactor como se describe en la presente memoria puede emplearse para producir micro y nanopartículas poliméricas, en donde

cualquier tipo de partículas se carga con un agente activo.

Además, el tipo de partículas que se obtienen puede controlarse mediante la selección de los ingredientes, en particular de la primera composición líquida y, en cierta medida, mediante los parámetros del proceso, en particular los caudales.

- 5 Un tipo particularmente útil de reactor de impacto de chorro es uno cuya cámara de reacción tiene una forma general sustancialmente esferoidal. Dicho reactor se describe, por ejemplo, en la solicitud de patente en tramitación junto con la presente no. EP21192535.9.

10 Como se usa en la presente memoria, una forma general sustancialmente esferoidal significa que al menos la mayor parte de la cámara de reacción como se define por la superficie interna de la pared de la cámara tiene la forma de una esfera o es similar a una esfera. Por ejemplo, el esferoide puede estar conformado de manera que algunas de sus secciones transversales sean elipses. En una realización preferida, todas las partes o porciones de la cámara de reacción o de la superficie interior de la pared de la cámara excepto las porciones que contienen o definen una abertura de entrada o de salida son sustancialmente esferoidales, o incluso esféricas.

La Figura 1 ilustra un ejemplo de un reactor de impacto de chorro que es útil para llevar a cabo la invención.

15 En el caso de que la salida, que típicamente tiene un diámetro relativamente grande en comparación con el diámetro de las boquillas o aberturas de entrada, se entienda como una desviación de la forma de la cámara de reacción que de otro modo sería esférica, la forma de la cámara de reacción también puede describirse como una tapa esférica, también denominada cúpula esférica. En una realización preferida, tal tapa esférica tiene una altura, una base y un radio a lo largo del primer eje central (es decir, en donde se colocan las dos entradas de fluido), en donde la altura es mayor que dicho radio, y en donde la base está definida por la salida de fluido. En otras palabras, la cúpula esférica formada por la cámara de reacción es mayor en volumen que un hemisferio correspondiente, lo que también significa que el diámetro de la abertura de salida es menor que el diámetro más grande de la cámara de reacción. En una realización específica, la altura de la cúpula está en el intervalo de aproximadamente el 110 % a aproximadamente el 170 % del radio. Por ejemplo, la altura puede ser de aproximadamente el 120 % a aproximadamente el 160 % del radio, tal como aproximadamente el 120 %, aproximadamente el 130 %, aproximadamente el 140 %, aproximadamente el 150 % o aproximadamente el 160 % del radio.

20 Otra característica preferida del reactor se refiere a la disposición de las boquillas. Como se ha mencionado, cada una de la primera y la segunda entrada de fluido comprende una boquilla, y en el estado ensamblado del reactor, la distancia entre la boquilla de la primera entrada de fluido y la boquilla de la segunda entrada de fluido es la misma o menor que el diámetro de la cámara de reacción a lo largo del primer eje central. Esto contrasta con algunos reactores de chorro conocidos en la técnica que tienen boquillas que están retraídas. En una realización preferida de la invención, las boquillas - más precisamente sus extremos aguas abajo - no están retraídas ni sobresalen en la cámara de reacción, sino que están sustancialmente alineadas con la superficie interior de la pared de la cámara de reacción.

25 En una realización preferida adicional, el reactor de impacto de chorro se caracteriza porque las boquillas de la primera y segunda entrada de fluido están dispuestas de manera que dirigen una primera y una segunda corriente de fluido a lo largo del primer eje central hacia el centro de la cámara y permiten que la primera corriente y la segunda corriente colisionen en un ángulo de aproximadamente 180°. Como se usa en la presente memoria, la colisión en un ángulo de aproximadamente 180° también puede denominarse colisión frontal. En este contexto, la expresión "aproximadamente" significa que el ángulo real está lo suficientemente cerca de 180° para garantizar que la colisión de la primera corriente y la segunda corriente da como resultado un flujo de fluido rápido y altamente turbulento en la zona de mezclado, de modo que el mezclado completo tiene lugar dentro de un tiempo extremadamente corto, por ejemplo, típicamente en cuestión de milisegundos.

30 En una realización particularmente preferida adicional, la cámara de reacción está libre de otras entradas o salidas, es decir, de otras aberturas distintas de las descritas en la presente memoria como entradas o salidas. En otras palabras, la primera y la segunda entrada y la salida representan las únicas aberturas de la cámara de reacción que se proporcionan en la pared de la cámara. Esto también contrasta con algunos reactores de impacto de chorro conocidos que presentan una o más entradas adicionales, tales como una entrada para un gas que se va a introducir en la cámara de reacción o una salida para propósitos de desgasificación. Sin embargo, como los inventores han encontrado, tales entradas o salidas adicionales también pueden interferir negativamente con el proceso de impacto y dar como resultado una precipitación incontrolada o la acumulación de contaminación en tales aberturas adicionales, y que un reactor como se describe en la presente memoria tiene la ventaja de un mejor control sobre la interacción y mezclado de la primera corriente con la segunda corriente, una capacidad de limpieza mejorada y una consistencia de lote a lote aumentada.

35 En una realización preferida adicional, el reactor de impacto de chorro se caracteriza porque la boquilla de la primera entrada tiene un primer diámetro de orificio y la boquilla de la segunda entrada de fluido tiene un segundo diámetro de orificio, y porque el primer diámetro de orificio y/o el segundo diámetro de orificio están en el intervalo de 20 µm a 500 µm. Preferiblemente, tanto el primer diámetro de orificio como el segundo diámetro de orificio están en el intervalo de 20 µm a 500 µm, o en el intervalo de aproximadamente 50 µm a 500 µm. También se prefieren configuraciones de

reactor en donde al menos uno de los diámetros de orificio es de aproximadamente 500 μm , aproximadamente 400 μm , aproximadamente 300 μm , aproximadamente 200 μm , aproximadamente 100 μm , aproximadamente 50 μm o aproximadamente 20 μm , respectivamente. Se pueden considerar diámetros incluso más pequeños, por ejemplo, por debajo de 20 μm .

5 En una realización específica, los diámetros de la primera y la segunda boquilla (es decir, el orificio de la boquilla) son los mismos, tal como aproximadamente 300 μm , aproximadamente 200 μm , aproximadamente 100 μm . Los inventores han descubierto, sin embargo, que se pueden obtener resultados aún mejores con dos diámetros de boquilla que difieren entre sí. Por lo tanto, una realización preferida es que el reactor usado según la invención presente dos boquillas que difieren en tamaño. En otras palabras, el primer diámetro de orificio es mayor que el segundo diámetro de orificio, según esta preferencia. Tal configuración de boquillas asimétrica puede tener ventajas adicionales: Por ejemplo, puede usarse para minimizar la introducción de un disolvente que se requiere para fines de procesamiento. También puede usarse para la generación de dos corrientes líquidas que tienen diferentes caudales, pero una energía cinética similar a medida que se inyectan a través de las boquillas en la cámara de reacción donde colisionan.

10 En una realización, el diámetro de la primera boquilla (es decir, su orificio) es al menos un 20 % mayor que el de la segunda boquilla. En una realización adicional, la relación del primer diámetro de orificio al segundo diámetro de orificio es de aproximadamente 1,2 a aproximadamente 5. Por ejemplo, se pueden usar los siguientes pares de boquillas, en donde el primer valor representa el diámetro aproximado del primer orificio y el segundo valor el diámetro aproximado del segundo orificio: 100 μm y 50 μm ; 200 μm y 100 μm ; 200 μm y 50 μm ; 300 μm y 200 μm ; 300 μm y 100 μm ; 300 μm y 50 μm ; 400 μm y 300 μm ; 400 μm y 200 μm ; 400 μm y 100 μm ; 400 μm y 50 μm ; 500 μm y 400 μm ; 500 μm y 300 μm ; 500 μm y 200 μm ; 500 μm y 100 μm ; 500 μm y 50 μm .

15 En una realización adicional, el reactor de impacto de chorro usado para llevar a cabo el método de la invención se caracteriza porque cada una de la primera y la segunda entrada se proporciona mediante un conector de entrada de fluido que tiene un extremo aguas arriba, un extremo aguas abajo que sostiene la boquilla de la primera o segunda entrada de fluido, y un conducto de fluido para conducir un fluido desde el extremo aguas arriba hasta el extremo aguas abajo. Además, el extremo aguas abajo de cada conector de entrada de fluido se puede insertar reversiblemente en la pared de la cámara para proporcionar la primera y la segunda entrada de fluido. Opcionalmente, el conector de entrada de fluido que proporciona la primera y/o la segunda entrada de fluido se fija opcionalmente a la pared de la cámara por medio de un accesorio de casquillo único o un accesorio de casquillo doble.

20 En la solicitud de patente no. EP21192535.9 se divulgan otras características y preferencias opcionales relacionadas con reactores de impacto de chorro que son útiles para llevar a cabo la presente invención.

25 Como se mencionó, el polímero en el que se basan las partículas y que se introduce a través de la primera composición líquida o la primera corriente, respectivamente, se selecciona de PLA, PGA, PLGA y combinaciones de los mismos. Como es generalmente conocido por el experto en la técnica, están disponibles varios tipos y grados potencialmente adecuados de estos polímeros. Pueden diferir en su cinética de biodegradación y, por lo tanto, en los perfiles de liberación de fármaco que pueden lograrse con ellos. Por lo tanto, la selección del polímero también dependerá de la aplicación específica del producto para la que se vaya a utilizar el método. En general, se prefieren los grados farmacéuticos de PLA, PGA y PLGA aprobados por la FDA.

30 En una realización, el polímero comprendido en la primera composición líquida comprende un PLGA. En una realización adicional, el PLGA tiene una relación lactida:glicolida de 75:25, un grupo terminal ácido y un peso molecular medio de aproximadamente 20 kDa. Dicho PLGA también puede combinarse con otro polímero de PLGA, o con un PLA o PGA.

35 Los inventores han descubierto que el método funciona particularmente bien cuando la primera composición líquida, es decir, la solución orgánica del polímero que también comprende el agente activo, presenta una viscosidad moderada. La viscosidad se ve afectada sustancialmente por la concentración de polímero de la solución orgánica, pero también en cierto grado por el tipo y grado del polímero, el o los disolventes orgánicos y el tipo y cantidad de agente activo. Aunque en principio sería deseable usar una alta concentración de polímero con el fin de minimizar las cantidades requeridas de disolvente orgánico, los inventores han descubierto que el método funciona mucho más eficazmente si la viscosidad de la solución orgánica no es demasiado alta. En una de las realizaciones preferidas, la primera composición líquida se selecciona de tal manera que presenta una viscosidad de como máximo 40 mPas*s. En otras realizaciones, los ingredientes y sus cantidades se seleccionan de manera que la viscosidad de la primera composición líquida esté en el intervalo de aproximadamente 5 mPas*s a aproximadamente 40 mPas*s, o de aproximadamente 10 mPas*s a aproximadamente 35 mPas*s, respectivamente. Como se usa en la presente memoria, la viscosidad es la dinámica medida en o cerca de las condiciones normales, es decir, temperatura normal y presión normal.

40 Con respecto a la segunda composición líquida que representa una solución acuosa que se usa para que la segunda corriente se inyecte en el reactor, los inventores han descubierto que es altamente deseable que comprenda un estabilizador capaz de estabilizar físicamente las partículas poliméricas a medida que se forman. En particular, cuando se usa el método de la invención para producir nanopartículas, es útil estabilizarlas contra la aglomeración. Los estabilizadores potencialmente adecuados para este propósito son generalmente conocidos por un experto en la técnica. Incluyen tensioactivos, tales como tensioactivos iónicos (es decir, catiónicos, aniónicos, zwitteriónicos o

polielectrolíticos) o no iónicos, y polímeros anfífilos o hidrófilos, en particular polímeros solubles en agua.

5 En una de las realizaciones preferidas, la segunda composición líquida comprende un tensioactivo. En una realización adicional, el tensioactivo es un tensioactivo no iónico. Según una realización preferida adicional, este tensioactivo no iónico se selecciona del grupo de polisorbatos y poloxámeros. También se prefieren los grados de polisorbato y poloxámero que están aprobados como excipientes en productos farmacéuticos para uso parenteral, por ejemplo, polisorbato 20, polisorbato 80 o poloxámero 144. En una realización específica, la segunda composición líquida es una solución acuosa de polisorbato 20, en donde la concentración de polisorbato 20 en la segunda composición líquida está en el intervalo de aproximadamente el 0,1 % en peso al 2 % en peso. Opcionalmente, el polisorbato 20 también puede ser inferior, tal como de aproximadamente el 0,01 % en peso a aproximadamente el 0,1 % en peso; o puede ser de aproximadamente el 0,2 % en peso, aproximadamente el 0,5 % en peso o aproximadamente el 1 % en peso, respectivamente.

10 Como se mencionó, los inventores han descubierto que las micro y nanopartículas poliméricas se preparan ventajosamente usando un reactor de impacto de chorro que tiene una configuración asimétrica con respecto a los diámetros de la boquilla en que el diámetro de la primera boquilla es menor que el diámetro de la segunda boquilla. Se ha encontrado también que es ventajoso usar un caudal más alto para la segunda corriente que para la primera corriente.

15 Por consiguiente, es una realización preferida adicional que se caracteriza porque el segundo caudal es mayor que el primer caudal. Por ejemplo, el segundo caudal puede ser al menos un 10 % mayor que el primer caudal. Preferiblemente, el segundo caudal es al menos aproximadamente un 20 % mayor (es decir, más alto) que el primer caudal. En este contexto, la base de los porcentajes es el primer caudal, es decir, el menor de los dos caudales.

20 En una realización preferida adicional, la relación del primer caudal al segundo caudal está preferiblemente en el intervalo de 1,5:1 a 20:1, y en particular de 2:1 a 10:1. Otra relación de caudal útil varía de aproximadamente 2:1 a 5:1.

25 Con respecto al caudal total de las dos corrientes de líquido inyectadas en el reactor, que es la suma del primer caudal y el segundo caudal, este se selecciona preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1 ml/min a aproximadamente 500 ml/min cuando se realiza el método de la invención. También se prefieren caudales totales de al menos aproximadamente 10 ml/min. En una realización preferida adicional, el caudal total es al menos aproximadamente 50 ml/min. Los inventores descubrieron que estos caudales, en particular en combinación con otras preferencias descritas en la presente memoria, son ventajosos para la preparación de partículas poliméricas basadas en la tecnología de impacto de chorro según la invención.

30 Como se ha mencionado, las micro y nanopartículas poliméricas así preparadas comprenden el ingrediente biológicamente activo. Dependiendo de la morfología de las partículas, el ingrediente biológicamente activo puede incorporarse dentro de las partículas en forma de un material embebido o encapsulado, o puede asociarse con las partículas (por ejemplo, por adsorción superficial). En una realización preferida, el agente biológicamente activo está embebido y/o encapsulado dentro de las micro o nanopartículas poliméricas.

35 Como se ha descrito anteriormente, el método de la invención se puede llevar a cabo de manera que se obtengan micropartículas poliméricas o se puede llevar a cabo de manera que se produzcan nanopartículas poliméricas. Los inventores han encontrado que una manera particularmente ventajosa de controlar el proceso y el tipo de partícula resultante es diseñando específicamente la primera composición líquida, es decir, la solución de polímero orgánico que también contiene el agente activo, para que sea miscible o inmisible con la solución acuosa (por ejemplo, la solución acuosa de tensioactivo) que representa la segunda composición líquida, que se logra principalmente seleccionando un disolvente orgánico miscible en agua o inmisible en agua (o mezcla de disolventes) como único o principal constituyente líquido de la primera composición líquida. En general, el uso de una primera composición líquida que es miscible con la segunda composición líquida es particularmente ventajoso para preparar nanopartículas poliméricas, y el uso de una primera composición líquida que es inmisible con la segunda composición líquida es particularmente ventajoso para preparar micropartículas poliméricas.

45 Por consiguiente, en una de las realizaciones preferidas o grupo de realizaciones, la primera composición líquida es miscible con la segunda composición líquida. Esto se puede conseguir seleccionando un disolvente orgánico adecuado que sea miscible con agua. Por ejemplo, el disolvente orgánico comprendido en la primera composición líquida puede seleccionarse de acetona, DMSO, metanol, acetonitrilo o cualquier combinación de los mismos. También puede estar presente un disolvente orgánico adicional - incluso un disolvente que no sea miscible con agua como tal - siempre que la composición líquida resultante sea miscible con la segunda composición líquida.

50 En una realización específica, la primera composición líquida comprende acetona. En una realización adicional, la primera composición líquida es una solución de PLGA en acetona. Si se usa una solución de PLGA en acetona como primera composición líquida, también se prefiere que la concentración de polímero no sea superior a aproximadamente 320 mg/ml y/o que la viscosidad de la solución no sea superior a aproximadamente 40 mPa*s. Con respecto a polímeros alternativos o tipos o grados específicos de PLGA que pueden usarse, se hace referencia a la discusión respectiva anteriormente en la presente memoria.

55 Como se ha mencionado, la selección de una primera composición líquida que sea miscible con la segunda composición líquida es particularmente ventajosa para preparar nanopartículas poliméricas. Los inventores

descubrieron que estas nanopartículas se forman bastante rápidamente de manera que están presentes en la tercera composición líquida que se forma mezclando la primera y la segunda corriente en el reactor de impacto de chorro. Como se ha descrito anteriormente, estas nanopartículas también comprenden el agente biológicamente activo; preferiblemente, el agente activo está embebido y/o encapsulado dentro de las nanopartículas poliméricas comprendidas en la tercera composición líquida.

En una realización o grupo de realizaciones alternativa, pero también preferida, la primera composición líquida es inmisible con la segunda composición líquida. De nuevo, esto se logra principalmente mediante la elección apropiada del disolvente orgánico único o principal usado en la primera composición líquida. En este caso, se debe seleccionar un disolvente orgánico inmisible en agua. Por ejemplo, la primera composición líquida puede comprender un disolvente orgánico que se selecciona de acetato de etilo y/o diclorometano. En una de las realizaciones preferidas dentro de este grupo de realizaciones, caracterizadas porque la primera composición líquida es inmisible con la segunda composición líquida, la primera composición líquida es una solución de PLGA en diclorometano.

Si se usa una solución de PLGA en diclorometano como la primera composición líquida, se prefiere además que su concentración de polímero no sea superior a aproximadamente 620 mg/ml y/o que su viscosidad no sea superior a 40 mPa*s.

Se prefiere particularmente cuando se usa una primera composición líquida que es inmisible con la segunda composición líquida el uso de un estabilizante tal como un tensioactivo en la segunda composición líquida. Esto también se debe a que en este caso la inyección simultánea de la primera corriente y la segunda corriente en la cámara de reacción del reactor de impacto de chorro según la etapa (d) del método de la invención conducirá a la formación de una emulsión, que es la forma en donde se obtiene la tercera composición líquida. Inherentemente, una emulsión necesita estabilizarse físicamente para prevenir la coalescencia.

La emulsión que se obtiene como la tercera composición líquida es preferiblemente una que tiene una fase acuosa continua y una fase orgánica dispersada. En otras palabras, es una emulsión del tipo o/w. La formación de este tipo de emulsión está apoyada por la selección apropiada de las composiciones respectivas a partir de las cuales se prepara la emulsión, y por las cantidades relativas de estas composiciones que se inyectan en el reactor. Siguiendo la orientación y las preferencias proporcionadas anteriormente con respecto al primer y el segundo caudal, el experto en la técnica sabría generalmente qué selecciones conducirían a la formación de una emulsión o/w.

Con el fin de obtener las micropartículas poliméricas, se requiere una etapa adicional, que es la eliminación del disolvente orgánico. Por lo tanto, es una realización preferida adicional según la cual el método de la invención comprende una etapa adicional (g) en donde el disolvente orgánico se elimina de la tercera composición líquida para obtener micropartículas poliméricas. En este contexto, el disolvente orgánico debe entenderse como el único disolvente orgánico o la combinación de disolventes orgánicos usada en la segunda composición líquida, según sea el caso. Además, puede no ser necesario eliminar la cantidad total de disolvente orgánico presente en la tercera composición líquida, siempre que se elimine una porción o fracción sustancial del disolvente, con el efecto de que el polímero ya no pueda disolverse en la fase dispersada de la emulsión o/w.

Para la etapa (g) puede usarse cualquier método adecuado para eliminar el disolvente o disolventes orgánicos de la emulsión, incluyendo intercambio de disolvente, extracción de disolvente, evaporación de disolvente o cualquier combinación de estos. Por ejemplo, el intercambio de disolvente y la extracción de disolvente se pueden lograr mediante diálisis o filtración de flujo cruzado de la emulsión contra una fase acuosa. La evaporación del disolvente puede conseguirse aplicando calor y/o vacío a la emulsión. Opcionalmente, la emulsión puede secarse completamente, es decir, liofilizarse, lo que no sólo eliminará el disolvente orgánico, sino también el agua contenida en la emulsión o la tercera composición líquida, respectivamente. El secado también se puede realizar de manera que se obtengan micropartículas que se puedan volver a dispersar combinando la composición seca con un vehículo acuoso.

Otras características y preferencias opcionales se pueden derivar de los siguientes ejemplos y las reivindicaciones de la patente.

Ejemplos

Ejemplo 1

Se prepararon nanopartículas de PLGA que comprendían risperidona (Risp) como agente biológicamente activo según la invención. En esta serie de experimentos, la primera composición líquida fue una solución orgánica de risperidona y PLGA en acetona que tenía una concentración de risperidona de 6 mg/ml, y la segunda composición líquida fue una solución de polisorbato 20 en agua desmineralizada. El PLGA tenía una relación lactida:glicolida de 75:25, un grupo terminal ácido, y un peso molecular promedio de aproximadamente 20 kDa. El caudal total fue de 55 ml/min, y la relación del segundo caudal al primer caudal fue de 4:1. Los parámetros que se variaron fueron la concentración de PLGA en la primera composición líquida y la concentración de polisorbato 20 (PS20) en la segunda composición líquida.

Se usó un reactor de impacto de chorro según EP1165224 a temperatura ambiente para llevar a cabo el proceso de mezclado. La boquilla de la primera entrada de fluido a través de la cual se inyectó la primera composición líquida en la cámara de reacción tenía un diámetro de orificio de 100 µm, la de la segunda entrada de fluido tenía un diámetro

de 200 µm.

La mezcla resultante comprendía nanopartículas de risperidona, cuyo tamaño promedio y polidispersidad se evaluaron. Posteriormente, la acetona se eliminó a 42 °C y un vacío de 800 mbar, y las partículas se caracterizaron de nuevo con respecto a su tamaño de partícula promedio (promedio z) e índice de polidispersidad (PDI). Además, la liberación de risperidona de una de las series se midió mediante diálisis frente a PBS pH 7,4 a 45 °C usando un casete de diálisis convencional con una membrana de celulosa de MWCO de 10 kDa. La risperidona se cuantificó en muestras extraídas del casete de diálisis mediante HPLC.

Los resultados de los experimentos se proporcionan en la tabla 1.

Tabla 1

	Serie 1A	Serie 1B	Serie 1C	Serie 1D
PLGA conc.	12 mg/ml	18 mg/ml	30 mg/ml	54 mg/ml
PS20 conc.	0,2 % en peso	0,3 % en peso	0,6 % en peso	1,0 % en peso
promedio z	789 nm	465 nm	1.959 nm	106 nm
PDI	0,28	0,27	0,26	0,25
promedio z*	181 nm	176 nm	34 nm	81 nm
PDI*	0,27	0,31	0,25	0,19
Liberación de Risp	nd	nd	nd	80 % a 2 h

* después de la eliminación del disolvente

Ejemplo 2

En esta serie de experimentos, se prepararon micropartículas de placebo. La primera composición líquida fue una solución orgánica de PLGA en diclorometano, y la segunda composición líquida fue una solución de polisorbato 20 (PS20) o alcohol polivinílico (PVA) (ambos al 0,5 % en peso) en agua desmineralizada. Se usó el mismo PLGA que en el ejemplo 1. El caudal total (TFR) fue de 150 ml/min. Se varió la relación de caudal (FRR) entre el segundo caudal (solución acuosa de tensioactivo) y el primer caudal (solución orgánica de PLGA) y también la concentración de PLGA en la solución orgánica.

De nuevo, se usó un reactor de impacto de chorro según EP1165224 a temperatura ambiente para llevar a cabo el proceso de mezclado. Se usaron diámetros de orificio de 200 µm o 300 µm para la corriente orgánica y 300 µm para la corriente acuosa, respectivamente (véase la tabla 2). La mezcla resultante ya comprendía micropartículas, cuyo tamaño de partícula promedio se evaluó. Posteriormente, se eliminó el disolvente orgánico a temperatura ambiente y un vacío de 800 mbar y las partículas se caracterizaron de nuevo con respecto a su tamaño de partícula promedio (promedio z).

Los resultados se proporcionan en la tabla 2.

Tabla 2

	Serie 2A	Serie 2B	Serie 2C	Serie 2D	Serie 2E
Orificios*	200/300 µm	200/300 µm	300/300 µm	300/300 µm	300/300 µm
PLGA conc.	300 mg/ml	300 mg/ml	50 mg/ml	50 mg/ml	50 mg/ml
Tensioactivo	PS20	PS20	PS20	PVA	PVA
FRR	2:1	4:1	2:1	2:1	4:1
promedio z	8,1 µm	7,9 µm	14,5 µm	3,6 µm	3,4 µm
promedio z**	7,9 µm	11,0 µm	5,2 µm	3,6 µm	2,6 µm

* primera entrada de fluido/segunda entrada de fluido

** después de la eliminación del disolvente

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar micro o nanopartículas poliméricas que comprenden un agente biológicamente activo, comprendiendo el método las etapas de:
- 5 (a) proporcionar un reactor de impacto de chorro que comprende una cámara de reacción definida por una superficie interior de una pared de la cámara, en donde la cámara de reacción tiene una forma general sustancialmente esferoidal, comprendiendo dicha cámara
- 10 - una primera y una segunda entrada de fluido, en donde la primera y la segunda entrada de fluido están dispuestas en posiciones opuestas en un primer eje central de la cámara de reacción, de manera que apuntan una a la otra, y en donde cada una de la primera y la segunda entrada de fluido comprende una boquilla; y
- una salida de fluido dispuesta en una tercera posición, estando situada dicha tercera posición en un segundo eje central de dicha cámara, siendo el segundo eje central perpendicular al primer eje central;
- 15 (b) proporcionar una primera corriente de una primera composición líquida, en donde la primera composición líquida comprende una solución orgánica de
- un polímero seleccionado de PLA, PGA, PLGA y combinaciones de los mismos; y
- el agente biológicamente activo;
- (c) proporcionar una segunda corriente de una segunda composición líquida, en donde la segunda composición líquida es una solución acuosa;
- 20 (d) inyectar simultáneamente la primera corriente a un primer caudal a través de la primera entrada de fluido y la segunda corriente a un segundo caudal a través de la segunda entrada de fluido en la cámara de reacción del reactor de impacto de chorro, de manera que se permita que la primera composición líquida y la segunda composición líquida se mezclen y formen así una tercera composición líquida;
- (e) permitir que la tercera composición líquida fluya fuera de la cámara de reacción a través de la salida de fluido; y
- (f) recoger la tercera composición líquida.
- 25 2. El método de la reivindicación 1, en donde la distancia entre la boquilla de la primera entrada de fluido y la boquilla de la segunda entrada de fluido es la misma o menor que el diámetro de la cámara de reacción a lo largo del primer eje central.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en donde las boquillas están dispuestas de manera que dirigen la primera corriente y la segunda corriente a lo largo del primer eje central hacia el centro de la cámara de reacción y permiten que la primera corriente y la segunda corriente colisionen en un ángulo de aproximadamente 180°.
- 30 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la cámara de reacción está libre de otras entradas o salidas.
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la boquilla de la primera entrada tiene un primer diámetro de orificio y la boquilla de la segunda entrada tiene un segundo diámetro de orificio, en donde el primer diámetro de orificio y/o el segundo diámetro de orificio están en el intervalo de 20 μm a 500 μm , y en donde el primer diámetro de orificio es opcionalmente mayor que el segundo diámetro de orificio, la relación del primer diámetro de orificio al segundo diámetro de orificio es opcionalmente de 1,2 a 5.
- 35 6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el polímero comprendido en la primera composición líquida comprende PLGA, y en donde el PLGA tiene opcionalmente una relación lactida:glicolida de 75:25, un grupo terminal ácido y un peso molecular promedio de aproximadamente 20 kDa.
- 40 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera composición líquida tiene una viscosidad de no más de 40 mPas*s.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la segunda composición líquida comprende un tensioactivo, en donde el tensioactivo es opcionalmente un tensioactivo no iónico seleccionado de polisorbatos tales como polisorbato 20 y poloxámeros.
- 45 9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el segundo caudal es mayor que el primer caudal, y en donde la relación del primer caudal al segundo caudal está preferiblemente en el intervalo de 1,5:1 a 20:1, y en particular de 2:1 a 10:1, y en donde la suma del primer caudal y el segundo caudal es preferiblemente al menos 50 ml/min.

10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera composición líquida es miscible con la segunda composición líquida.
11. El método de la reivindicación 10, en donde la primera composición líquida comprende un disolvente orgánico seleccionado de acetona, DMSO, metanol, acetonitrilo o cualquier combinación de los mismos, y en donde la primera composición líquida es opcionalmente una solución de PLGA en acetona.
- 5 12. El método de la reivindicación 10 u 11, en donde la tercera composición líquida comprende nanopartículas poliméricas.
13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la primera composición líquida es inmisible con la segunda composición líquida.
- 10 14. El método de la reivindicación 13, en donde la primera composición líquida comprende un disolvente orgánico seleccionado de acetato de etilo y/o diclorometano, y en donde la primera composición líquida es preferiblemente una solución de PLGA en diclorometano.
15. El método de la reivindicación 13 o 14, que comprende además una etapa de
- 15 (g) eliminar el disolvente orgánico de las terceras composiciones líquidas para obtener micropartículas poliméricas, y en donde el disolvente orgánico se elimina preferiblemente mediante intercambio de disolvente, extracción de disolvente y/o evaporación de disolvente.

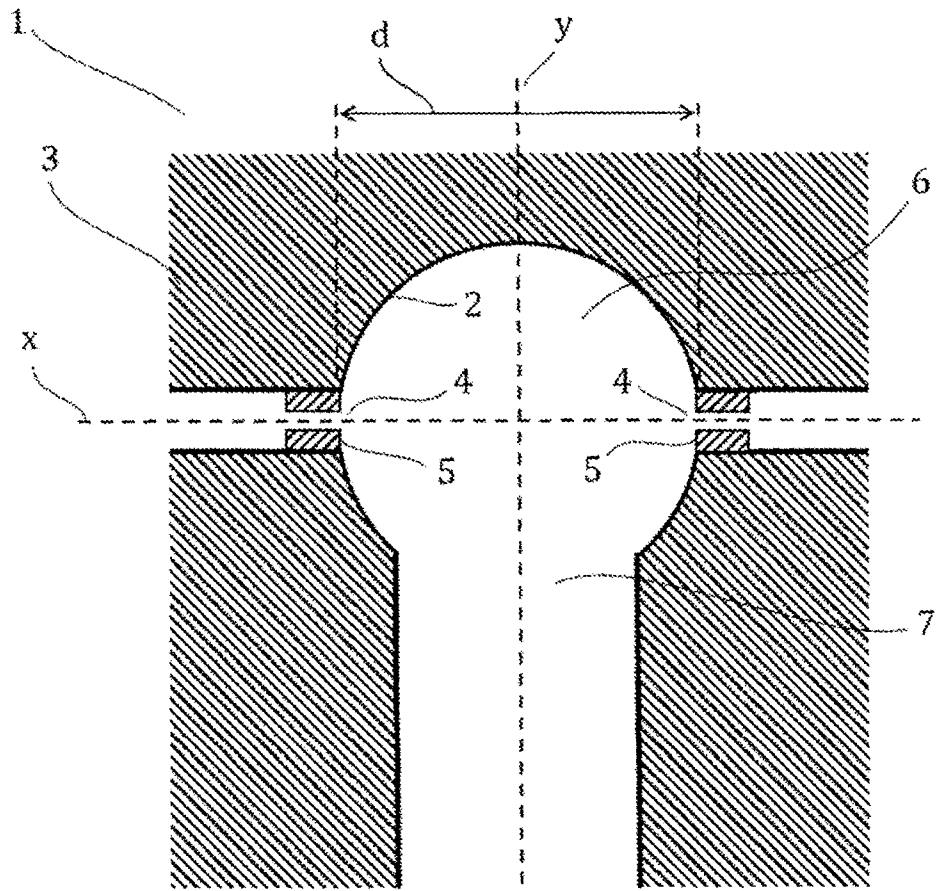


Fig. 1

