

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 979 169**

51 Int. Cl.:

A61K 38/02	(2006.01) A61K 9/50	(2006.01)
A61K 38/10	(2006.01)	
A61K 38/16	(2006.01)	
A61K 9/14	(2006.01)	
A61P 25/00	(2006.01)	
A61P 37/04	(2006.01)	
C07K 14/00	(2006.01)	
C07K 2/00	(2006.01)	
C07K 7/08	(2006.01)	
A61K 9/19	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.08.2017** **PCT/IL2017/050954**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.03.2018** **WO18042423**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2017** **E 17845665 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2024** **EP 3503907**

54 Título: **Proceso para la preparación de micropartículas que contienen acetato de glatiramero**

30 Prioridad:

28.08.2016 US 201662380426 P

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

24.09.2024

73 Titular/es:

MAPI PHARMA LTD. (100.0%)
16 Einstein Street Weizmann Science Park P.O.
Box 4113
74140 Ness Ziona, IL

72 Inventor/es:

BLEICH KIMELMAN, NADAV;
RUBNOV, SHAI y
MAROM, EHUD

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 979 169 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

Proceso para la preparación de micropartículas que contienen acetato de glatiramero

5 CAMPO DE LA INVENCION

10 [0001] La presente invención se refiere a un proceso mejorado para preparar micropartículas que contienen acetato de glatiramero que tienen niveles bajos de disolvente(s) orgánico(s) residual(es), en particular diclorometano (DCM). Las micropartículas se incorporan en composiciones farmacéuticas parenterales de acción prolongada en forma de depósito que son adecuadas para implantación o inyección subcutánea o intramuscular y que pueden usarse para tratar la esclerosis múltiple.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 [0002] El acetato de glatiramero (AG), comercializado con el nombre comercial Copaxone®, está indicado para el tratamiento de pacientes con formas recurrentes de esclerosis múltiple. El acetato de glatiramero es un polímero aleatorio compuesto de cuatro aminoácidos que se encuentran en la proteína básica de mielina. El acetato de glatiramero comprende las sales de acetato de polipéptidos que contienen ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina y L-lisina. Las fracciones molares promedio de los aminoácidos son 0,141, 0,427, 0,095 y 0,338, respectivamente, y el peso molecular promedio del copolímero-1 está entre 5.000 y 9.000 dalton. Químicamente, el acetato de glatiramero se denomina polímero de ácido L-glutámico con L-alanina, L-lisina y L-tirosina, acetato (sal). Su fórmula estructural es: (Glu, Ala, Lys, Tyr)_xCH₃COOH, aprox. relación Glu₁₄Ala₄₃Tyr₁₀Ly₃₄X(CH₃COOH)₂₀.

25 [0003] Copaxone® se fabrica como una solución para inyección subcutánea. Cada 1 mL de solución de Copaxone® contiene 20 mg o 40 mg de acetato de glatiramero y 40 mg de manitol. La concentración de 20 mg/mL está indicada para inyección diaria, mientras que la concentración de 40 mg/mL está indicada para inyección tres veces por semana. Los efectos secundarios generalmente incluyen un bulto en el lugar de la inyección (reacción en el lugar de la inyección), dolores, fiebre y escalofríos.

30 [0004] El documento WO2011080733 A1, las patentes de EE. UU. US 8.377.885 y US 8.796.226 describen composiciones parenterales de acción prolongada de sales farmacéuticamente aceptables de glatiramero, incluido acetato de glatiramero, en forma de depósito adecuada para implantación o inyección subcutánea o intramuscular. Las composiciones de acción prolongada proporcionan una eficacia terapéutica igual o superior en comparación con las formulaciones inyectables diarias de Copaxone®, con una incidencia y/o gravedad reducida de efectos secundarios tales como irritación en el lugar de la inyección, debido a la frecuencia reducida de administración. Las composiciones se preparan mediante un proceso de "doble emulsificación". Se dispersa una solución acuosa de acetato de glatiramero en una solución de un polímero biodegradable (PLGA) en un disolvente orgánico volátil inmiscible en agua. La "emulsión de agua en aceite (w/o, por sus siglas en inglés)" obtenida se dispersa en una fase acuosa externa continua que contiene tensioactivo para formar gotitas de "emulsión doble de agua en aceite en agua (w/o/w, por sus siglas en inglés)". El disolvente orgánico se evapora lentamente agitando la emulsión doble en una campana extractora. Las micropartículas resultantes se recogen mediante filtración o centrifugación, se lavan con agua y se liofilizan. Los disolventes utilizados en el proceso antes mencionado son hidrocarburos halogenados, particularmente cloroformo o diclorometano, que actúan como disolventes del polímero. Sin embargo, la presencia de disolventes de hidrocarburos halogenados residuales, pero detectables, en el producto final es indeseable debido a su toxicidad general y su posible actividad cancerígena. Para abordar esto, las agencias reguladoras han impuesto limitaciones a la cantidad de disolventes orgánicos residuales presentes en las composiciones farmacéuticas destinadas a usos humanos y veterinarios.

50 [0005] Existe la necesidad en la técnica de un proceso mejorado y fiable para preparar micropartículas que contengan acetato de glatiramero que tengan niveles bajos de disolvente(s) orgánico(s) residual(es), en particular disolventes orgánicos halogenados.

SUMARIO DE LA INVENCION

55 [0006] La presente invención proporciona un proceso mejorado para preparar micropartículas que contienen acetato de glatiramero que tienen niveles bajos de disolvente(s) orgánico(s) residual(es), en particular hidrocarburos halogenados tales como diclorometano. Inesperadamente, se ha descubierto que los niveles de disolvente orgánico pueden reducirse a niveles reglamentariamente aceptables (por ejemplo, menos de aproximadamente 600 ppm para diclorometano) alterando el paso de evaporación del disolvente orgánico en el proceso de doble emulsificación descrito previamente en los documentos US 8.377.885 y US 8.796.226. Un desafío principal al modificar dicho proceso fue mantener intactos la morfología de la micropartícula, el porcentaje de unión y el perfil de liberación del ingrediente activo de acetato de glatiramero, a pesar de las modificaciones del proceso. Ahora se ha descubierto que la aplicación de vacío y/o corriente de aire a la doble emulsión de agua en aceite en agua da como resultado un producto que tiene niveles reducidos de disolvente orgánico, manteniendo al mismo tiempo las micropartículas intactas de acetato de glatiramero. En particular, mediante un ajuste cuidadoso de las intensidades de mezcla, burbujeo de aire y/o vacío, se lograron micropartículas que tenían las propiedades morfológicas y terapéuticas deseadas (por ejemplo, perfil de liberación de fármaco), mientras que al mismo tiempo se minimizaba el nivel de disolvente orgánico a niveles regulatorios aceptables. Por ejemplo, para

disolventes orgánicos clorados como el diclorometano (DCM, también denominado indistintamente cloruro de metileno), los límites reglamentarios según las directrices de la ICH son 600 ppm.

[0007] Por lo tanto, la presente invención proporciona un proceso para preparar micropartículas que comprenden acetato de glatiramero, comprendiendo el proceso los pasos de: (a) preparar una fase acuosa interna que comprende acetato de glatiramero y agua; (b) preparar una fase orgánica que comprende un polímero biodegradable o no biodegradable y un disolvente orgánico volátil inmiscible en agua; (c) preparar una fase acuosa externa que comprende agua y un tensioactivo; (d) mezclar la fase acuosa interna obtenida en el paso (a) y la fase orgánica obtenida en el paso (b) para formar una emulsión de agua en aceite (w/o); (e) mezclar la emulsión de agua en aceite (w/o) obtenida en el paso (d) con la fase de agua externa obtenida en el paso (c) para obtener una emulsión de agua en aceite en agua (w/o/w) doble emulsión; (f) eliminar el disolvente orgánico mezclando la emulsión doble de agua en aceite en agua (w/o/w) obtenida en el paso (e), y aplicando una corriente de aire y un vacío, en donde el vacío se aplica durante al menos aproximadamente 3 horas; y (g) secar para obtener micropartículas de acetato de glatiramero, comprendiendo las micropartículas menos de aproximadamente 1.000 ppm de disolvente orgánico residual. En una forma de realización, el paso (f) se lleva a cabo en condiciones suficientes para reducir el nivel de disolvente orgánico a menos de aproximadamente 1000 ppm, preferiblemente menos de aproximadamente 600 ppm.

[0008] Como se ha indicado en este documento, el proceso de la presente invención da como resultado un producto que tiene niveles reducidos de disolvente(s) orgánico(s) residual(es), cumpliendo así con las limitaciones impuestas por las reglamentaciones. En una forma de realización, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 600 ppm de disolvente orgánico residual, que es el límite regulatorio para disolventes clorados como DCM según las directrices de la ICH. En otra forma de realización, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 500 ppm de disolvente orgánico residual. En otra forma de realización, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 250 ppm de disolvente orgánico residual. En otra forma de realización más, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 100 ppm de disolvente orgánico residual.

[0009] En otras formas de realización, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente el 0,1 % de disolvente(s) orgánico(s) residual(es). En otra forma de realización, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 0,05 % de disolvente(s) orgánico(s) residual(es). En otra forma de realización más, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente el 0,01 % de disolvente(s) orgánico(s) residual(es).

[0010] El disolvente orgánico utilizado en el proceso de la invención es inmiscible en agua y volátil. En algunas formas de realización actualmente preferidas, el disolvente orgánico es un disolvente orgánico halogenado tal como un hidrocarburo halogenado. En algunas formas de realización actualmente preferidas, el hidrocarburo clorado es diclorometano o cloroformo, representando cada posibilidad una forma de realización separada de la presente invención.

[0011] En una forma de realización particular, el proceso de la invención utiliza diclorometano como disolvente orgánico. De acuerdo con esta forma de realización, las micropartículas resultantes comprenden menos de aproximadamente 600 ppm, preferiblemente menos de aproximadamente 500 ppm, menos de aproximadamente 250 ppm o menos de aproximadamente 100 ppm de diclorometano residual.

[0012] La etapa de eliminación de disolvente (f) comprende una combinación de mezcla y aplicación de una corriente de aire y/o vacío a la doble emulsión de agua en aceite en agua (w/o/w). La mezcla, la aplicación de una corriente de aire y/o el vacío se realizan en condiciones adecuadas que no afectarán la integridad del producto final (por ejemplo, su morfología, porcentaje de unión de AG o perfil de liberación), sin dejar de dar lugar a un producto que tiene niveles bajos de disolvente orgánico, como se describe en el presente documento.

[0013] En otras formas de realización, la emulsión doble w/o/w se puede mezclar usando un homogeneizador, preferiblemente a una velocidad de al menos aproximadamente 2500 rondas por minuto (RPM), preferiblemente al menos aproximadamente 2750 RPM. En algunas formas de realización, el paso (f) comprende mezclar la emulsión doble w/o/w en combinación con la aplicación de vacío. Preferiblemente, el vacío se aplica durante al menos aproximadamente 5 horas. En otras formas de realización, el paso (f) comprende mezclar la emulsión doble w/o/w en combinación con la aplicación de una corriente de aire comprimido a la emulsión doble w/o/w a una presión de aproximadamente 0,1 a 1 bar, preferiblemente aproximadamente 0,5 bar o cualquier valor intermedio. Aún en otras formas de realización, el paso (f) comprende mezclar la emulsión doble w/o/w junto con la aplicación de una combinación de corriente de aire comprimido y vacío como se describió anteriormente.

[0014] Después de la evaporación del disolvente, las micropartículas de acetato de glatiramero se aíslan mediante secado (paso (g)). En algunas formas de realización, este paso comprende secar las micropartículas obtenidas en una preparación a granel o en dosis unitarias. El secado puede realizarse mediante cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo liofilización o liofilización o cualquier otro método de secado adecuado. En otras formas de realización, el proceso incluye además una etapa de filtrar o centrifugar el producto del paso (f), opcionalmente lavar con agua, antes de secar, obteniendo así las micropartículas de acetato de glatiramero. El polímero utilizado en la fase orgánica puede ser biodegradable o no biodegradable. En algunas formas de realización, el polímero biodegradable o no biodegradable se selecciona del grupo que consiste en poli(D,L, ácido láctico) (PLA), poliglicolidas (PGA), poli(láctida-co-glicolida) (PLGA), policaprolactona, polihidroxibutirato, poliortoésteres, polialcanohídridos, gelatina, colágeno, celulosa oxidada y

polifosfaceno, representando cada posibilidad una forma de realización separada de la presente invención. En algunas formas de realización actualmente preferidas, el polímero es un polímero biodegradable seleccionado del grupo que consiste en PLA, PGA y PLGA. Un polímero biodegradable actualmente preferido es el PLGA.

- 5 **[0015]** En formas de realización adicionales, la fase acuosa externa comprende un tensioactivo seleccionado entre alcohol polivinílico (PVA), alcohol polivinílico (PVA) parcialmente hidrolizado, polisorbato, copolímeros en bloque de óxido de polietileno-óxido de polipropileno y ésteres de celulosa. Cada posibilidad representa una forma de realización separada de la invención. En formas de realización actualmente preferidas, el tensioactivo es PVA o PVA parcialmente hidrolizado.
- 10 **[0016]** En formas de realización adicionales, la composición comprende además un modificador de tonicidad. Un modificador de la tonicidad preferido es el cloruro de sodio que se añade a una o más fases acuosas para crear el equilibrio osmótico. Otros modificadores de tonicidad adecuados se describen en la descripción detallada a continuación.
- 15 **[0017]** Según algunas formas de realización, el acetato de glatiramero comprende la sal de acetato de L-alanina, ácido L-glutámico, L-lisina y L-tirosina en proporciones molares de aproximadamente 0,14 de ácido glutámico, aproximadamente 0,43 de alanina, aproximadamente 0,10 de tirosina y aproximadamente 0,33 de lisina.
- 20 **[0018]** Según otras formas de realización, el acetato de glatiramero u otra sal farmacéuticamente aceptable de glatiramero comprende de aproximadamente 15 a aproximadamente 100 aminoácidos.
- 25 **[0019]** En algunas formas de realización, las micropartículas comprenden de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 750 mg de acetato de glatiramero. En otras formas de realización, las micropartículas comprenden aproximadamente 40 mg de acetato de glatiramero. En otras formas de realización, las micropartículas comprenden aproximadamente 80 mg de acetato de glatiramero.
- 30 **[0020]** Tal como se indica en este documento, las micropartículas de acetato de glatiramero se preparan en forma de una formulación de depósito, adecuada para implantación subcutánea o intramuscular en una ubicación médicamente aceptable en un sujeto que lo necesita. Por tanto, en algunas formas de realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica parenteral de acción prolongada que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero, estando la composición en una forma de depósito de liberación sostenida adecuada para implantación subcutánea o intramuscular en una ubicación médicamente aceptable en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo la composición micropartículas de acetato de glatiramero preparadas de acuerdo con el proceso de la invención.
- 35 **[0021]** Según algunas formas de realización, el depósito de acción prolongada es adecuado para un programa de dosificación desde aproximadamente una vez por semana hasta aproximadamente una vez cada 6 meses. Según formas de realización particulares, la composición es adecuada para dosificar desde aproximadamente una vez cada 2 semanas hasta aproximadamente una vez al mes.
- 40 **[0022]** Según otras formas de realización, el depósito de acción prolongada libera una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero durante un período de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 6 meses. Según otras formas de realización, el depósito de acción prolongada libera una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero durante un período de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 1 mes. Ejemplos específicos de composiciones de acción prolongada incluyen microesferas biodegradables o no biodegradables, implantes de cualquier forma geométrica adecuada, varillas implantables, cápsulas implantables, anillos implantables, geles de liberación prolongada y matrices erosionables. Cada posibilidad representa una forma de realización separada de la invención.
- 45 **[0023]** La presente invención proporciona además una composición para usar en un método para tratar la esclerosis múltiple, que comprende la administración parenteral o implantación de una composición de depósito que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero, preparándose la composición de acuerdo con el proceso de la presente invención. Cualquier referencia a un método debe interpretarse como relacionada con la presente composición para su uso en ese método.
- 50 **[0024]** Ventajosamente, las composiciones farmacéuticas proporcionan una eficacia terapéutica igual o superior a las formas de dosificación inyectables diarias disponibles comercialmente, con una incidencia y/o gravedad reducida de los efectos secundarios a niveles locales y/o sistémicos.
- 55 **[0025]** La presente invención abarca una composición que comprende acetato de glatiramero en forma de depósito preparada mediante el proceso según la presente invención, siendo la formulación de depósito adecuada para su implantación en un individuo que lo necesite, para su uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple, en particular la esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR).
- 60 **[0026]** La presente invención abarca además el uso del depósito implantable de acetato de glatiramero preparado de acuerdo con el proceso de la presente invención, siendo el depósito adecuado para proporcionar una liberación prolongada o una acción prolongada de glatiramero en un sujeto.
- 65

[0027] Otras formas de realización de la presente invención resultarán evidentes a partir de la descripción detallada que se proporciona a continuación. Sin embargo, debe entenderse que la descripción detallada y los ejemplos específicos, si bien indican formas de realización preferidas de la invención, se dan únicamente a modo de ilustración. El alcance de la invención quedará definido por el conjunto de reivindicaciones adjunto.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0028] La presente invención proporciona un proceso mejorado para preparar micropartículas que contienen acetato de glatiramero que tienen niveles bajos de disolvente(s) orgánico(s) residual(es), en particular diclorometano. Las micropartículas tienen la forma de una formulación de depósito que puede administrarse mediante administración parenteral (por ejemplo, por vía intramuscular o subcutánea) y proporciona una eficacia terapéutica igual o superior en comparación con las inyecciones diarias de Copaxone® y, por lo tanto, da como resultado un mejor cumplimiento del paciente. Además de proporcionar una eficacia terapéutica similar y efectos secundarios reducidos, las composiciones de depósito de acción prolongada contienen niveles bajos de disolvente orgánico residual (por ejemplo, diclorometano), cumpliendo así con los requisitos reglamentarios con respecto a las cantidades residuales permitidas de dichos disolventes.

[0029] Las composiciones en micropartículas de la presente invención comprenden una doble emulsión agua en aceite-en agua (w/o/w). La emulsión doble comprende una fase acuosa interna que comprende acetato de glatiramero, una fase oleosa o fase orgánica inmiscible en agua que comprende un polímero biodegradable o no biodegradable y un disolvente orgánico inmiscible en agua, y una fase acuosa externa que comprende un tensioactivo y opcionalmente un modificador de tonicidad. Los términos "fase oleosa" y "fase orgánica inmiscible en agua" pueden usarse indistintamente en el presente documento.

Preparación de micropartículas

[0030] Las composiciones de la presente invención se pueden preparar en forma de micropartículas inyectables mediante un proceso conocido como proceso de "doble emulsificación", que representa una mejora del proceso descrito en los documentos US 8.377.885 y US 8.796.226. Según los principios de la presente invención, se dispersa una solución de acetato de glatiramero en una solución de un polímero biodegradable o no biodegradable en un disolvente orgánico volátil inmiscible en agua. La "emulsión de agua en aceite (w/o)" así obtenida se dispersa luego en una fase acuosa externa continua que contiene tensioactivo para formar gotitas de "emulsión doble de agua en aceite en agua (w/o/w)". A continuación, se elimina el disolvente orgánico (es decir, se evapora) mezclando la emulsión doble de agua en aceite en agua (w/o/w) y aplicando una corriente de aire y/o vacío, en condiciones suficientes para reducir la cantidad de disolvente orgánico a niveles aceptables para aplicaciones farmacéuticas (por ejemplo, cumplimiento de las directrices ICH). El proceso descrito en los documentos US 8.377.885 y US 8.796.226 no contempla la aplicación de una corriente de aire o vacío durante el paso de evaporación del disolvente. En algunas formas de realización, el nivel de disolvente orgánico residual se reduce a menos que el disolvente residual máximo permitido según las agencias reguladoras. Generalmente, el nivel de disolvente orgánico residual se reduce a menos de aproximadamente 1.000 ppm. Cuando se utilizan disolventes orgánicos halogenados (por ejemplo, diclorometano), el nivel se reduce preferiblemente a menos de aproximadamente 600 ppm, que es el nivel regulatorio máximo permitido. Después de la evaporación del disolvente orgánico, las micropartículas solidifican y se recogen mediante filtración o centrifugación. Las micropartículas (MP) recolectadas se lavan con agua purificada para eliminar la mayor parte del tensioactivo y del péptido no unido y se centrifugan nuevamente. Las MP lavadas se recogen y liofilizan sin aditivos o con la adición de crioprotector (p. ej., manitol) para facilitar su reconstitución posterior. Sorprendentemente, utilizando el proceso de la presente invención, se obtienen micropartículas de acetato de glatiramero que retienen las propiedades deseadas de las micropartículas tales como morfología, porcentaje de unión ("potencia") y perfil de liberación, al mismo tiempo que se logran niveles reducidos de disolventes orgánicos.

[0031] Según la presente invención, las micropartículas de acetato de glatiramero se preparan mediante un proceso que comprende las etapas de: (a) preparar una fase acuosa interna que comprende acetato de glatiramero y **agua**; (b) preparar una fase orgánica que comprende un polímero biodegradable o no biodegradable y un disolvente orgánico volátil inmiscible en agua; (c) preparar una fase acuosa externa que comprende agua y un tensioactivo; (d) mezclar la fase acuosa interna obtenida en el paso (a) y la fase orgánica obtenida en el paso (b) para formar una emulsión de agua en aceite (w/o); (e) mezclar la emulsión de agua en aceite (w/o) obtenida en el paso (d) con la fase de agua externa obtenida en el paso (c) para obtener una emulsión de agua en aceite en agua (w/o/w) doble emulsión; (f) eliminar el disolvente orgánico mezclando la emulsión doble de agua en aceite en agua (w/o/w) obtenida en el paso (e), y aplicando una corriente de aire y/o vacío; y (g) secar para obtener micropartículas de acetato de glatiramero, comprendiendo las micropartículas menos de aproximadamente 1.000 ppm, preferiblemente menos de 600 ppm de disolvente orgánico residual. En una forma de realización, el paso (f) se lleva a cabo en condiciones suficientes para reducir el nivel de disolvente orgánico a menos de aproximadamente 1000 ppm, preferiblemente menos de aproximadamente 600 ppm.

Fase interna de agua

[0032] La fase acuosa interna (agua) comprende acetato de glatiramero y agua, que es preferiblemente agua estéril para inyección (WFI). Un intervalo de concentración adecuado de acetato de glatiramero en la fase acuosa interna está

entre aproximadamente 10 mg/mL y aproximadamente 150 mg/mL, o cualquier cantidad intermedia. Por ejemplo, la concentración de acetato de glatiramer en la fase acuosa interna puede estar entre 80 y 120 mg/mL, entre 90 y 110 mg/mL, y así sucesivamente.

- 5 **[0033]** Para la preparación de la fase acuosa interna, se prepara y opcionalmente se filtra una solución que contiene WFI estéril y acetato de glatiramer.

Fase orgánica (fase inmiscible en agua)

- 10 **[0034]** La fase orgánica comprende un polímero biodegradable o no biodegradable y un disolvente orgánico. El disolvente orgánico es inmiscible en agua y volátil. En algunas formas de realización actualmente preferidas, el disolvente orgánico es un hidrocarburo halogenado. En algunas formas de realización, el disolvente halogenado es un disolvente clorado, por ejemplo diclorometano o cloroformo. El diclorometano también se denomina indistintamente diclorometano o DCM. Cada posibilidad representa una forma de realización separada de la presente invención.

- 15 **[0035]** En una forma de realización particular, el proceso de la invención utiliza diclorometano como disolvente orgánico. Las cantidades reglamentariamente permitidas de este disolvente en composiciones farmacéuticas son aproximadamente 600 ppm. Por consiguiente, las micropartículas resultantes del proceso de la invención comprenden preferiblemente menos de aproximadamente 600 ppm de diclorometano. En formas de realización preferidas, las micropartículas resultantes comprenden menos de aproximadamente 500 ppm, por ejemplo menos de aproximadamente 250 ppm o menos de aproximadamente 100 ppm de diclorometano residual. Cada posibilidad representa una forma de realización separada de la presente invención.

- 25 **[0036]** El polímero puede ser un polímero biodegradable o no biodegradable, dándose preferencia a los polímeros biodegradables. El término "biodegradable" como se usa en el presente documento se refiere a un componente que se erosiona o degrada en sus superficies con el tiempo debido, al menos en parte, al contacto con sustancias que se encuentran en los fluidos tisulares circundantes, o por acción celular. En particular, el componente biodegradable es un polímero tal como, entre otros, polímeros basados en ácido láctico tales como polilactidas, por ejemplo poli(D,L-lactida), es decir, PLA; polímeros basados en ácido glicólico tales como poliglicólidos (PGA), por ejemplo Lactel® de Durect; poli(D,L-lactida-co-glicolida), es decir, PLGA, (Resomer® RG-504, Resomer® RG-502, Resomer® RG-504H, Resomer® RG-502H, Resomer® RG-504S, Resomer® RG-502S, de Boehringer, Lactel® de Durect); policaprolactonas tales como poli(ε-caprolactona), es decir, PCL (Lactel® de Durect); polianhídridos; poli(ácido sebácico), SA; poli(ácido ricenólico), RA; poli(ácido fumárico), FA; poli(atenuador de ácidos grasos), FAD; poli(ácido tereftálico), TA; poli(ácido isoftálico), IPA; poli(p-f carboxifenoxi)metano), CPM; poli(p-{carboxifenoxi}propano), CPP; poli(p-{carboxifenoxi}hexano)s CPH; poliaminas, poliuretanos, poliesteramidas, poliortoésteres {CHDM: cis/trans-ciclohexildimetanol, HD:1,6-hexanodiol. DETOU: (3,9-dietiliden-2,4,8,10-tetraoxaspiro undecano)}; polidioxanonas; polihidroxitiratos; oxalatos de polialquileño; poliámidas; poliesteramidas; poliuretanos; poliacetales; policetales; policarbonatos; poliortocarbonatos; polisiloxanos; polifosfacenos; succinatos; ácido hialurónico; poli(ácido málico); poli(aminoácidos); polihidroxisalvateratos; succinatos de polialquileño; polivinilpirrolidona; poliestireno; ésteres de celulosa sintéticos; ácidos poliacrílicos; ácido polibutírico; copolímeros tribloque (PLGA-PEG-PLGA), copolímeros tribloque (PEG-PLGA-PEG), poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm), poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) copolímeros tribloque (PEO-PPO-PEO), ácido polivalérico; polietilenglicol; polihidroxiálquilcelulosa; quitina; quitosano; poliortoésteres y copolímeros, terpolímeros; lípidos tales como colesterol, lecitina; poli(ácido glutámico-co-glutamato de etilo) y similares, o mezclas de los mismos. Cada posibilidad representa una forma de realización separada de la presente invención.

- 45 **[0037]** En algunas formas de realización, las micropartículas comprenden un polímero biodegradable seleccionado entre, entre otros, PLGA, PLA, PGA, policaprolactona, polihidroxitirato, poliortoésteres, polialcanohidridos, gelatina, colágeno, celulosa oxidada, polifosfaceno y similares. En otras formas de realización, las micropartículas comprenden un polímero biodegradable seleccionado entre, entre otros, PLGA, PLA y PGA. Cada posibilidad representa una forma de realización separada de la presente invención.

- 50 **[0038]** Un polímero biodegradable actualmente preferido es un polímero a base de ácido láctico, más preferiblemente polilactida o poli(D,L-lactida-co-glicolida), es decir, PLGA. Preferiblemente, el polímero biodegradable está presente en una cantidad entre aproximadamente el 10% y aproximadamente el 98% p/p de la composición. El polímero a base de ácido láctico tiene una relación de monómero de ácido láctico a ácido glicólico en el intervalo de 100:0 a aproximadamente 0:100, preferiblemente de aproximadamente 100:0 a aproximadamente 10:90 y tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 1.000 a unos 200.000 dalton. Sin embargo, se entiende que la cantidad de polímero biodegradable está determinada por parámetros tales como la duración del uso y similares.

- 60 **[0039]** Los polímeros PLGA están disponibles comercialmente de múltiples proveedores; Alkermes (polímeros Medisorb), Absorbable Polymers International [anteriormente Birmingham Polymers (una división de Durect)], Purac y Boehringer Ingelheim.

- 65 **[0040]** Para la preparación de la fase acuosa interna, el disolvente orgánico y el polímero se mezclan y opcionalmente se filtran.

Fase de agua externa

[0041] La fase acuosa externa comprende agua y un tensioactivo. El agua es preferentemente WFI estéril. La fase acuosa externa puede comprender además un modificador de la tonicidad, para el mantenimiento del equilibrio osmótico. Un modificador de la tonicidad preferido es el cloruro de sodio que se añade a la fase acuosa externa. Otros modificadores de la tonicidad adecuados incluyen, entre otros: manitol y glucosa. Cada posibilidad representa una forma de realización separada de la invención.

[0042] El tensioactivo en la fase acuosa externa es preferiblemente alcohol polivinílico (PVA). Sin embargo, se pueden usar otros tensioactivos, por ejemplo polisorbato, copolímeros en bloque de óxido de polietileno-óxido de polipropileno o ésteres de celulosa, o cualquiera de los cotensioactivos descritos a continuación.

[0043] Para la preparación de la fase acuosa externa (paso (c)), el tensioactivo y el modificador de tonicidad opcional se mezclan en agua, preferiblemente WFI estéril, y opcionalmente se filtran. Alternativamente, se puede dispersar o disolver una solución de tensioactivo en agua en una solución de agua que comprende un modificador de tonicidad. En una forma de realización de la presente invención, la fase acuosa externa se preparó preparando una solución de PVA parcialmente hidrolizada en WFI estéril y filtrando a través de una membrana. Por separado, se preparó una solución de NaCl en WFI estéril y se filtró a través de una membrana. La solución de NaCl se añadió a la solución de PVA para formar de ese modo la fase acuosa externa.

Preparación de emulsión de agua en aceite (w/o)

[0044] Después de la preparación de cada una de las fases acuosa y orgánica, se forma la emulsión w/o. Para esto, se mezclan la fase acuosa interna y la fase orgánica, opcionalmente usando un homogeneizador u otro método de mezcla de alto cizallamiento, en condiciones suficientes para formar la emulsión w/o. En una forma de realización, la fase acuosa interna se añadió a la fase orgánica y se procesó usando un homogeneizador equipado con un dispositivo de dispersión de estator y rotor a 2.500-10.000 rondas por minuto (RPM) durante un período de tiempo que oscilaba entre 1 y 30 minutos. En una forma de realización específica, la emulsión w/o se preparó homogeneizando a 7200 RPM durante 10 minutos (mezclado de alto cizallamiento).

Preparación de doble emulsión agua en aceite en agua (w/o/w)

[0045] A continuación, la emulsión w/o se mezcla con la fase acuosa externa para formar una doble emulsión agua en aceite en agua (w/o/w). La mezcla se puede realizar usando un homogeneizador u otro método de mezcla de alto cizallamiento, y se puede realizar en un lote o en múltiples lotes. Por ejemplo, la emulsión w/o se puede agregar a una porción de la fase acuosa externa, luego se mezcla y luego se agrega el resto de la fase acuosa externa. La mezcla se realiza como se describe anteriormente para la emulsión w/o. En una forma de realización, la emulsión w/o/w se preparó añadiendo la emulsión w/o a la mitad de la fase acuosa externa durante el mezclado continuo de la emulsión. La emulsión doble w/o/w se procesó usando un homogeneizador equipado con un dispositivo de dispersión de rotor-estator a 2.500-10.000 rondas por minuto (RPM) durante un período de tiempo que oscilaba entre 1 y 30 minutos. En una forma de realización de la especificación, la emulsión doble w/o/w se preparó homogeneizando una mezcla que contenía la mitad de la fase acuosa externa con la fase orgánica a 2900 RPM durante 3 minutos, seguido de la adición del resto de la fase acuosa externa (apagado).

Eliminación/evaporación de disolventes

[0046] A continuación, se elimina el disolvente orgánico. La etapa de eliminación de disolvente comprende una combinación de mezcla y aplicación de una corriente de aire y vacío a la doble emulsión de agua en aceite en agua (w/o/w). La mezcla, la aplicación de corriente de aire y el vacío se realizan en condiciones adecuadas que no afectarán la integridad del producto final y darán lugar a un producto que tiene niveles bajos de disolvente orgánico, como se describe en el presente documento.

[0047] En algunas formas de realización, la emulsión doble w/o/w se puede mezclar usando un homogeneizador u otros métodos de mezcla de alto cizallamiento, preferiblemente a una velocidad de al menos aproximadamente 2500 RPM, preferiblemente al menos aproximadamente 2750 RPM. Si se desea, se pueden usar velocidades de mezclado mayores o menores.

[0048] El vacío se puede aplicar durante la cantidad de tiempo deseada para lograr los resultados deseados, es decir, eliminación del disolvente. El vacío se aplica durante al menos aproximadamente 3 horas, preferiblemente al menos aproximadamente 5 horas, etc. El vacío también se puede aplicar durante periodos de tiempo más largos, por ejemplo, 12-24 horas o durante la noche.

[0049] En otras formas de realización, el paso de eliminación de disolvente comprende mezclar la emulsión doble w/o/w en combinación con la aplicación de una corriente de aire a la emulsión doble w/o/w. Preferiblemente, la corriente de aire es una corriente de aire comprimido. La corriente de aire comprimido se puede aplicar a una presión de aproximadamente 0,1 a 1 aproximadamente bar, preferiblemente aproximadamente 0,5 bar. La corriente de aire se puede aplicar a una

presión mayor o menor, dependiendo del resultado deseado. La corriente de aire se puede aplicar durante el periodo de tiempo deseado, por ejemplo, 1-24 horas, 5-24 horas, 10-20 horas, 10-12 horas y similares.

[0050] En otras formas de realización más, el paso de eliminación de disolvente comprende mezclar la emulsión doble w/o/w y aplicar una combinación de corriente de aire comprimido y vacío.

[0051] En algunas formas de realización específicas, la emulsión doble w/o/w se mezcló usando un homogeneizador a diferentes velocidades durante 15-17 horas. Se burbujeó aire comprimido a 0,5 bar a través de la emulsión durante 10-12 horas. Se aplicó vacío durante la parte del proceso, por ejemplo, durante aproximadamente 3 horas o aproximadamente 5 horas.

[0052] El tamaño de partícula de la "doble emulsión agua en aceite en agua (w/o/w)" se puede determinar mediante varios parámetros que incluyen, entre otros, la cantidad de fuerza aplicada en esta etapa, la velocidad de mezcla, tipo y concentración de tensioactivo, etc. Los tamaños de partículas adecuados oscilan entre aproximadamente 1 y aproximadamente 100 µm.

Separación y lavado

[0053] Después de la evaporación del disolvente, las micropartículas de acetato de glatiramero se separan de la mezcla de reacción. En algunas formas de realización, este paso comprende filtrar o centrifugar la suspensión obtenida del paso de evaporación del disolvente. La centrifugación se puede realizar a cualquier velocidad y tiempo que efectúe la separación de las micropartículas de la emulsión. Por ejemplo, en un ejemplo no limitante, la centrifugación se puede realizar a una velocidad de 2.500 a 10.000 RPM durante un período de tiempo que varía, por ejemplo, de 5 a 30 minutos. Opcionalmente, el sedimento obtenido se puede lavar con agua una o varias veces. En una forma de realización específica, la suspensión se centrifuga a 5300 RPM durante 10 minutos. Se descarta el sobrenadante y se resuspende el sedimento (micropartículas sedimentadas) en WFI y se mezcla usando un agitador magnético. Las micropartículas resuspendidas se centrifugan nuevamente a 2900 RPM durante 10 minutos para obtener micropartículas de acetato de glatiramero.

Secado

[0054] A continuación, las micropartículas lavadas se secan, por ejemplo, mediante liofilización u otros métodos de secado conocidos en la técnica, para obtener micropartículas de acetato de glatiramero en preparación a granel o en dosis unitarias. El secado se efectúa durante un periodo de tiempo y a una temperatura suficiente para eliminar los disolventes y obtener micropartículas secas. Por ejemplo, la liofilización puede ocurrir a -20°C o menos durante un periodo de tiempo que oscila entre 12 y 48 horas.

[0055] Como se indica en este documento, el proceso de la presente invención da como resultado un producto que tiene niveles reducidos de disolvente(s) orgánico(s) residual(es), cumpliendo así con las limitaciones impuestas reglamentariamente. En una forma de realización, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 600 ppm de disolvente orgánico residual. En una forma de realización, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 500 ppm de disolvente orgánico residual. En otra forma de realización, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 250 ppm de disolvente orgánico residual. En otra forma de realización más, las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 100 ppm de disolvente orgánico residual. En una forma de realización preferida, el disolvente orgánico es un disolvente orgánico halogenado, por ejemplo un disolvente orgánico clorado tal como diclorometano o cloroformo. En este caso, las micropartículas no deberían tener más de 600 ppm de disolvente residual, la cantidad máxima permitida por la normativa.

Ingrediente activo

[0056] El término "acetato de glatiramero" como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto anteriormente conocido como Copolímero 1 que se vende con el nombre comercial Copaxone® y consiste en sales de acetato de polipéptidos sintéticos, que contienen cuatro aminoácidos naturales: ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina y L-lisina con una fracción molar promedio de 0,141, 0,427, 0,095 y 0,338, respectivamente. El peso molecular promedio del acetato de glatiramero en Copaxone® es de 5.000 a 9.000 dalton (etiqueta FDA Copaxone®) y el número de aminoácidos oscila entre aproximadamente 15 y aproximadamente 100 aminoácidos. El término también se refiere a derivados químicos y análogos del compuesto.

[0057] El acetato de glatiramero se puede preparar y caracterizar como se especifica en cualquiera de las patentes de EE. UU. números 8.377.885; 8.796.226; 7.199.098; 6.620.847; 6.362.161; 6.342.476; 6.054.430; 6.048.898 y 5.981.589.

Composiciones de depósito

[0058] Las micropartículas preparadas mediante el proceso de la presente invención están preferiblemente en forma de composiciones farmacéuticas parenterales de acción prolongada que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz

de acetato de glatiramero, específicamente en forma de una formulación de depósito adecuada para implantación subcutánea o intramuscular en una ubicación médicamente aceptable en un sujeto que la necesita.

[0059] En el presente documento se refiere a rutas seleccionadas entre subcutánea (SC), intravenosa (IV), intramuscular (IM), intradérmica (ID), intraperitoneal (IP) y similares.

[0060] El término "cantidad terapéuticamente eficaz", tal como se utiliza en el presente documento, pretende calificar la cantidad de copolímero de acetato de glatiramero que logrará el objetivo de aliviar los síntomas de la esclerosis múltiple. Las dosis adecuadas incluyen, entre otras, 20-750 mg para cada forma de dosificación. Sin embargo, se entiende que la cantidad de copolímero de acetato de glatiramero administrada será determinada por un médico, según diversos parámetros que incluyen la vía de administración elegida, la edad, el peso y la gravedad de los síntomas del paciente. Por ejemplo, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero puede oscilar entre aproximadamente 20 y 100 mg. En algunas formas de realización, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero en la formulación de depósito es 40 mg. En algunas formas de realización, la cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero en la formulación de depósito es 80 mg.

[0061] El término "acción prolongada" como se usa en el presente documento se refiere a una composición que proporciona una liberación prolongada, sostenida o extendida del acetato de glatiramero a la circulación sistémica general de un sujeto o a los sitios de acción locales en un sujeto. Este término puede referirse además a una composición que proporciona una duración de acción (farmacocinética) prolongada, sostenida o extendida de la sal de glatiramero en un sujeto. En particular, las composiciones farmacéuticas de acción prolongada proporcionan un régimen de dosificación que oscila entre una vez por semana y una vez cada 6 meses. Según formas de realización actualmente preferibles, el régimen de dosificación varía desde una vez a la semana, dos veces al mes (aproximadamente una vez cada 2 semanas) a una vez al mes. Dependiendo de la duración de la acción requerida, cada dispositivo de depósito o implantable contendrá típicamente entre aproximadamente 20 y 750 mg del ingrediente activo, por ejemplo, 40 mg u 80 mg, diseñado para liberarse durante un período que oscila entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 6 meses, por ejemplo, desde aproximadamente 2 semanas hasta aproximadamente 1 mes.

[0062] La presente invención proporciona además la presente composición farmacéutica de acción prolongada que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero para su uso en un método de tratamiento de la esclerosis múltiple mediante administración parenteral de la misma a un sujeto que lo necesita, en la que la composición farmacéutica se prepara de acuerdo con el proceso de la presente invención, y comprende niveles reducidos de disolvente orgánico como se describe en el presente documento. El término "tratar", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la supresión o alivio de los síntomas después de la aparición de la esclerosis múltiple. Los síntomas comunes después de la aparición de la esclerosis múltiple incluyen, entre otros, reducción o pérdida de la visión, tropiezos y marcha irregular, dificultad para hablar, así como frecuencia urinaria e incontinencia. Además, la esclerosis múltiple puede provocar cambios de humor y depresión, espasmos musculares y parálisis severa. El "sujeto" al que se administra el fármaco es un mamífero, preferiblemente, pero sin limitación, un ser humano. El término "esclerosis múltiple", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una enfermedad autoinmunitaria del sistema nervioso central que se acompaña de uno o más de los síntomas descritos anteriormente en el presente documento.

[0063] La presente invención proporciona además una composición farmacéutica de acción prolongada que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero, en la que la composición farmacéutica se prepara de acuerdo con el proceso de la presente invención y comprende niveles reducidos de disolvente orgánico como se describe en el presente documento para su uso en un método para aliviar al menos un síntoma de esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR) en un paciente que padece EMRR.

[0064] Se describe además un método para aumentar la tolerabilidad del tratamiento con AG en un paciente humano que sufre de esclerosis múltiple remitente-recurrente (EMRR), que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica de acción prolongada que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero, en el que la composición farmacéutica se prepara de acuerdo con el proceso de la presente invención y comprende niveles reducidos de disolvente orgánico como se describe en el presente documento.

[0065] Se describe además un método para reducir la frecuencia de recaídas en un paciente humano que sufre de esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR), que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica de acción prolongada que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero, en el que la composición farmacéutica se prepara de acuerdo con el proceso de la presente invención y comprende niveles reducidos de disolvente orgánico como se describe en el presente documento.

[0066] Se describe además un método para prevenir o ralentizar la progresión de la esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR) en un paciente humano que padece EMRR, que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica de acción prolongada que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero, en el que la composición farmacéutica se prepara de acuerdo con el proceso de la presente invención y comprende niveles reducidos de disolvente orgánico como se describe en el presente documento.

[0067] Las composiciones de depósito pueden comprender además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables seleccionados entre, entre otros, cotensioactivos, disolventes/codisolventes, disolventes inmiscibles en agua, agua, disolventes miscibles en agua, componentes oleosos, disolventes hidrófilos, emulsionantes, conservantes, antioxidantes, agentes antiespumantes, estabilizadores, agentes tampón, agentes de ajuste del pH, agentes osmóticos, agentes formadores de canales, agentes de ajuste osmótico o cualquier otro excipiente conocido en la técnica. Los cotensioactivos adecuados incluyen, entre otros, polietilenglicoles, copolímeros de bloque de polioxietileno-polioxipropileno conocidos como "poloxámero", ésteres de ácidos grasos de poliglicerina tales como monolaurato de decaglicerilo y monomiristato de decaglicerilo, ésteres de ácido graso de sorbitán tales como monoestearato de sorbitán, ácido graso de polioxietileno sorbitán éster tal como monooleato de polioxietileno sorbitán (Tween), éster de ácido graso de polietilenglicol tal como monoestearato de polioxietileno, éter de polioxietileno alquílico tal como éter de lauril polioxietileno, aceite de ricino de polioxietileno y aceite de ricino endurecido tal como aceite de ricino endurecido con polioxietileno, y similares o mezclas de los mismos. Los disolventes/codisolventes adecuados incluyen, entre otros, alcoholes, triacetina, dimetilisorbida, glicofulol, carbonato de propileno, agua, dimetilacetamida y similares o mezclas de los mismos. Los agentes antiespumantes adecuados incluyen, entre otros, emulsiones de silicio o sesquieoato de sorbitán. Los estabilizadores adecuados para prevenir o reducir el deterioro de los componentes en las composiciones incluyen, entre otros, antioxidantes tales como glicina, α -tocoferol o ascorbato, BHA, BHT y similares o mezclas de los mismos. Los modificadores de la tonicidad adecuados incluyen, entre otros, manitol, cloruro sódico y glucosa. Los agentes tampón adecuados incluyen, entre otros, acetatos, fosfatos y citratos con cationes adecuados.

[0068] Los sistemas de depósito abarcan cualquier forma conocida por un experto en la técnica. Las formas adecuadas incluyen, entre otras, microesferas biodegradables o no biodegradables, varillas implantables, cápsulas implantables y anillos implantables. Se contemplan además el depósito de gel de liberación prolongada y las matrices erosionables. Los sistemas implantables adecuados se describen, por ejemplo, en el documento US 2008/0063687. Las varillas implantables se pueden preparar como se conoce en la técnica usando microextrusoras adecuadas.

[0069] En alguna forma de realización, las composiciones farmacéuticas de acción prolongada descritas en el presente documento proporcionan una eficacia terapéutica igual o superior a las formas de dosificación inyectables diarias disponibles comercialmente, con una incidencia reducida de efectos secundarios y con una gravedad reducida de los efectos secundarios a nivel local y/o sistémico. En algunas formas de realización, las composiciones proporcionan una liberación prolongada o una acción prolongada del glatiramero en un sujeto en comparación con una dosis sustancialmente similar de una formulación de liberación inmediata de acetato de glatiramero.

[0070] Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar más completamente ciertas formas de realización de la invención. Sin embargo, de ningún modo deben interpretarse como limitativos del amplio alcance de la invención. Un experto en la técnica puede idear fácilmente muchas variaciones y modificaciones de los principios aquí descritos sin apartarse del alcance de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de micropartículas de depósito basadas en PLGA de acetato de glatiramero que contienen niveles bajos de diclorometano

[0071]

Tabla 1: Materias primas y función.

Ingrediente	Fabricante	Papel en la formulación	Composición [%]	Importe neto del peso total [g]
Cloruro de sodio	SAFC	Creación de equilibrio osmótico	0,75	460
Alcohol de polivinilo	J.T.Baker	Tensioactivo	0,45	275
Diclorometano (DCM)	Merck	Disolvente de fase orgánica	8,11	4,950
Poli(lactida-coglicolida)	Evonik	API envolvente de polímero	0,90	550
Agua para inyección	B.Braun / Baxter	Disolvente de fases internas y externas	89,69	54,745
Acetato de glatiramero*	Fabricado internamente	API	0,09	55

*Fabricado según el proceso de US 7,199,098.

Proceso de preparación**[0072]**

- 5 (1) Preparación de la fase acuosa externa: solución de alcohol polivinílico (PVA) parcialmente hidrolizada a una concentración del 2% Se preparó p/p en WFI estéril en un reactor y se filtró a través de una membrana de 0,22 µm. Una solución de NaCl en WFI estéril se preparó y se filtró a través de una membrana de 0,22 µm en el reactor que contenía el PVA.
- 10 (3) Preparación de la fase orgánica: Se preparó una fase orgánica compuesta de diclorometano y poli(lactida-co-glicolida) preparado en un reactor y filtrado a través de una membrana de 0,22 µm.
- (4) Preparación de la fase acuosa interna: se preparó una solución que contenía WFI estéril y acetato de glatiramer y se filtró a través de una membrana de 0,22 µm.
- 15 (5) Preparación de emulsión de agua en aceite (w/o): Se añadió fase acuosa interna a la fase orgánica y se procesó utilizando un homogeneizador IKA Ultra-Turrax T50 equipado con un dispositivo de dispersión de rotor y estator a 7200 RPM durante 10 minutos (mezcla de alto cizallamiento).
- 20 (6) Preparación de emulsión de agua en aceite en agua (w/o/w): Se añadió agua en emulsión de aceite (w/o) preparada en el paso 5 a la mitad de la fase acuosa externa durante el mezclado continuo de la emulsión w/o. La doble emulsión w/o/w fue procesada usando un homogeneizador IKA Ultra-Turrax UTS80 con un cabezal de estator y rotor a 2900 RPM durante 3 minutos desde el final de la transferencia sin transferencia a la fase acuosa externa. A continuación se agregaron otros 30 litros de la fase acuosa externa añadida a la emulsión (apagado).
- 25 (7) Eliminación/evaporación del disolvente: La doble emulsión w/o/w formada en el paso (6) se mezcló usando el homogeneizador IKA UTS80 a diferentes velocidades durante 15-17 horas. Se burbujeó aire comprimido a 0,5 bar a través de la emulsión durante 10-12 horas. Se aplicó vacío durante la parte del proceso.
- 30 (8) Separación y lavado: La suspensión se centrifugó a 5.300 RPM durante 10 minutos. El sobrenadante se descartó y el sedimento (micropartículas sedimentadas) se resuspende en 550 g de WFI y se mezcla usando un agitador magnético durante 3 minutos. Las micropartículas resuspendidas se centrifugaron a 2900 RPM durante 10 minutos.
- 35 (9) Secado por liofilización: las micropartículas lavadas se resuspendieron en aproximadamente 750 g de WFI estéril y se mantienen a -20°C hasta su liofilización. La liofilización se llevó a cabo utilizando bandejas lyoguard estériles de la siguiente manera: congelar a -40 °C, 24 horas. Secado primario a 0,2 hPa, -5°C, 48 horas. Secado secundario a 0,2 hPa, 10°C, 48 horas.

[0073] La composición de depósito de AG seca se proporciona en la Tabla 2:

Tabla 2: Composición de depósito de AG 40 mg por vial

Ingrediente	mg/vial nº	Función
GA	44	Activo
POLIGLACTIN 50:50, peso molecular 7.000-17.000 (PLGA)	506	Transportador
Agua para inyección*	-	Solvente compuesto
Diclorometano (DCM)*	-	Solvente compuesto
Alcohol de polivinilo**	-	Tensioactivo
NaCl**	-	Presión isotónica
* Evaporado durante el proceso de liofilización		
** Se elimina durante la producción, no se incorpora al producto final		
Nº Cada vial contiene un 10 % de exceso para compensar las pérdidas durante la retirada del producto reconstituido		

[0074] Un resumen del procedimiento, equipo y materiales involucrados en la preparación del depósito de AG 55 g usando el sistema de reactor de 100 L se muestra en la Tabla 3:

Tabla 3:

Etapa	Composición	Vasos e instrumentos
5 Fase de agua externa	13750 g solución PVA al 2% 460 g NaCl 40845 g WFI	Reactor de vidrio de 30 L filtrado a través de membrana maqueosa de 0,2 µm.
10 Fase interna de agua	55 g de AG (ausente en placebo) 425 g de WFI	Frasco de vidrio de 2 L filtrado a través de membrana maqueosa de 0,2 µm.
15 Fase orgánica	550 g PLGA 4950 g DCM	Reactor de vidrio de 10 L filtrado a través de membrana morganica de 0,2 µm.
20 Emulsión de agua en aceite	Se añade la fase acuosa interna a la fase orgánica y se procesa a 7200 RPM durante 10 minutos.	Homogeneizado en reactor SS de 10 L usando homogeneizador IKA Ultra-Turrax T50.
25 Emulsión agua en aceite en agua	Se añade agua en emulsión de aceite a la fase acuosa externa y se procesa a 2900 RPM durante 3 minutos.	Homogeneizado en reactor SS de 100 L usando homogeneizador IKA Ultra-Turrax UTS80.
30 Evaporación de DCM	Mezclado de emulsión doble y burbujeo de aire comprimido durante la noche seguido de vacío durante 5 horas	Evaporación en reactor SS de 100 L utilizando homogeneizador IKA Ultra-Turrax UTS80.
35 Separación y lavado	Centrifugación a 5300 RPM y 2900 RPM durante 10 minutos.	Centrífuga Thermo Fisher Scientific RC 12BP+
	Resuspensión	Dispersión del precipitado con 550 g de WFI
		NA

Resultados y discusión

[0075] Contenido residual de DCM: La Tabla 4 detalla la velocidad de evaporación, la duración de la aplicación de vacío y el contenido residual de DCM de ocho lotes preparados. Los resultados muestran que el contenido residual de DCM en la formulación final de AG Depot disminuye al aumentar la velocidad de evaporación y el tiempo de vacío. El DCM residual cumplió con los límites a una velocidad de 2750 RPM y 5 horas de vacío tal como se implementó en el lote de placebo (6). Se prepararon dos lotes adicionales, (7, placebo) y (8 (acetato de glatiramero)) en las mismas condiciones de evaporación para garantizar la reproducibilidad.

Tabla 4:

Producto	Lote N°	Velocidad de evaporación [RPM]	Presión del aire comprimido [bar]	Tiempo de vacío [h]	Contenido residual de DCM [ppm]
Placebo para 55 g de depósito de AG	(1)	900	0,5	No se aplicó vacío	5761
	(2)	800			N/A
	(3)	2100			3872
	(4)	2216			1921
	(5)	2500		3	945
	(6)	2750		5	213
	(7)	2750		5	82
55 g de depósito AG	(8)	2750		5	92

[0076] Esterilidad y endotoxinas bacterianas: Los primeros cuatro lotes de placebo no se prepararon asépticamente y, por lo tanto, los datos de esterilidad y endotoxinas bacterianas no son relevantes. Se demostró que los lotes posteriores

eran estériles y caían dentro de la limitación de endotoxinas bacterianas, como se puede observar en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5:

Producto	Lote N°	Esterilidad	Endotoxinas bacterianas δ 0,3 UE/mg
Placebo para AG Depot 55 g	(1)	No se aplica	No se aplica
	(2)		
	(3)		
	(4)		
	(5)	Sin crecimiento	< 0,05
	(6)	Sin crecimiento	0,1904
	(7)	Sin crecimiento	< 0,05
55 g de depósito AG	(8)	Sin crecimiento	0,1303

Perfil de liberación *in vitro*

[0077] El sistema *in vitro* es como se describe en los documentos US 8.377.885 y US 8.796.226 como se resume a continuación:

Materiales y métodos

Equipo

[0078]

viales de 20 ml
agitador magnético multipunto
Incubadora
Pipetas
Espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu 1601
Reactivos y material de plástico/vidrio

[0079] Artículos de prueba: Micropartículas liofilizadas secas que contienen acetato de glatiramero preparadas mediante el proceso de la invención (lote 9) o según el proceso de los documentos US 8.377.885 y US 8.796.226 (lote 10).

Temperatura: 37°C

Ácido 2, 4, 6-trinitrobenzenosulfónico (TNBS, ácido picrilsulfónico, 170,5 mM) 5 % en MeOH

[0080] Descripción del proceso: Se añadieron a cada vial 20 ml de PBS (fosfato 0,01 M, NaN₃ 0,05 %) pH 7,4. Los viales se colocaron a 37°C y se agitaron con un pequeño imán. Se centrifugaron muestras de 600 µl a 10.000 g durante 5 minutos. Se transfirieron 500 µl de sobrenadante a un microtubo de 1,5 ml seguido de la adición de 500 µl de tampón de borato 0,1 M (dilución doble) y 50 µl de TNBS. La composición resultante se mezcló y se mantuvo en la mesa durante 30 minutos. El análisis se realizó utilizando el método TNBS (descrito a continuación).

[0081] Las partículas precipitadas restantes, resuspendidas con 500 µl de PBS fresco (con NaN₃), se devolvieron al vial. El cálculo correcto de la cantidad liberada de acetato de glatiramero se realizó en un proceso de liberación adicional del 2,5 % para cada punto temporal.

[0082] La liberación del acetato de glatiramero incorporado se llevó a cabo en viales de vidrio de 20 ml bien cerrados, utilizando una incubadora a 37°C, equipada con un agitador magnético multipunto. Se utilizó solución salina tamponada con fosfato (PBS) con pH 7,4 como medio de liberación.

[0083] Se probó la liberación del acetato de glatiramero durante un período de 1 a 30 días. El contenido de AG liberado se determina mediante un método GPC

Instrumento:	Sistema HPLC adecuado equipado con un detector UV
Columna:	Columna Superose 12 HR 10/30
Detección:	UV a 208 nm
Caudal:	0,5 ml/min
Volumen de inyección:	10 µL
Temperatura de la columna:	ambiente
Fase móvil:	Tampón fosfato 0,2 M pH 1,5

[0084] Un perfil de liberación representativo de dos muestras representativas de depósito de AG elaborado mediante el proceso de la invención se proporciona en la Tabla 6.

Tabla 6: Perfil de liberación de 100L de depósito AG, dos lotes representativos, el lote (9) elaborado mediante el proceso de la invención, en comparación con el lote (10) según el proceso descrito en los documentos US 8.377.885 y US 8.796.226.

Número de lote	9	10
día 0	11%	NT
día 1	13%	10%
día 7	19%	22%
día 14	43%	35%
día 21	80%	68%
día 30	98%	93%

Conclusiones

[0085] Como se demuestra en el presente documento, se puede concluir que al aumentar la velocidad de evaporación seguido de la aplicación de vacío fue posible optimizar la evaporación de DCM y adquirir resultados que se encuentran dentro de las especificaciones requeridas. Los resultados muestran que las condiciones óptimas de evaporación son una velocidad de homogeneización de aproximadamente 2750 RPM y aproximadamente 5 horas de vacío. Sorprendentemente, se pudo lograr la minimización de los niveles de DCM utilizando el proceso de la invención, manteniendo al mismo tiempo los atributos deseados del producto (el porcentaje de unión a AG, la morfología de las partículas y el perfil de liberación del ingrediente activo acetato de glatiramero permanecieron intactos a pesar de las modificaciones del proceso).

[0086] Además, los lotes se sometieron a pruebas de endotoxinas bacterianas y esterilidad, que también cumplían con sus criterios de aceptación.

Ejemplo 2: Experimento comparativo

[0087] El depósito AG se preparó según el proceso descrito en el Ejemplo 3 del documento WO 2011080733 A1 (correspondiente a los documentos US 8.377.885 y US 8.796.226). Para la eliminación del disolvente (DCM), se colocó un vaso de precipitados abierto que contenía la emulsión doble en un agitador de placa magnética y se agitó durante 3-4 horas a temperatura ambiente en una campana extractora hasta que todo el disolvente se evaporó y las micropartículas se solidificaron. No se aplicó corriente de aire y/o vacío.

[0088] Se analizaron muestras liofilizadas para determinar los niveles de DCM usando GC con espacio de cabeza. Cantidad promedio de DCM detectada en las muestras fue de 19.453 ppm.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para preparar micropartículas que comprenden acetato de glatiramero, comprendiendo el proceso las etapas de:
 - a. preparar una fase acuosa interna que comprende acetato de glatiramero y agua;
 - b. preparar una fase orgánica que comprende un polímero biodegradable o no biodegradable y un disolvente orgánico volátil inmiscible en agua;
 - c. preparar una fase acuosa externa que comprende agua y un tensioactivo;
 - d. mezclar la fase acuosa interna obtenida en el paso (a) y la fase orgánica obtenida en el paso (b) para formar una emulsión de agua en aceite (w/o);
 - e. mezclar la emulsión de agua en aceite (w/o) obtenida en el paso (d) con la fase acuosa externa obtenida en el paso (c) para obtener una doble emulsión agua en aceite en agua (w/o/w);
 - f. eliminar el disolvente orgánico mezclando la emulsión doble de agua en aceite en agua (w/o/w) obtenida en el paso (e), y aplicar una corriente de aire y un vacío, en donde el vacío se aplica durante al menos aproximadamente 3 horas; y
 - g. secado para obtener micropartículas de acetato de glatiramero, comprendiendo dichas micropartículas menos de aproximadamente 1.000 ppm de disolvente orgánico residual.
2. El proceso según la reivindicación 1, en el que las micropartículas comprenden menos de aproximadamente 600 ppm, preferiblemente menos de aproximadamente 500 ppm, menos de aproximadamente 250 ppm o menos de aproximadamente 100 ppm de disolvente orgánico residual.
3. El proceso según la reivindicación 1, en el que el disolvente orgánico volátil inmiscible en agua es un disolvente orgánico halogenado, preferiblemente en el que el disolvente orgánico halogenado es un hidrocarburo clorado seleccionado del grupo que consiste en diclorometano (DCM) y cloroformo, más preferiblemente en el que el disolvente orgánico clorado es diclorometano (DCM).
4. El proceso según la reivindicación 3, en el que las micropartículas comprenden menos de 600 aproximadamente ppm, preferiblemente menos de aproximadamente 250 ppm y más preferiblemente menos de aproximadamente 100 ppm de diclorometano residual (DCM).
5. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el paso (f) comprende mezclar la emulsión doble w/o/w en un homogeneizador a una velocidad de al menos aproximadamente 2.500 rondas por minuto (RPM), preferiblemente al menos aproximadamente 2.750 rpm.
6. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el paso (f) comprende aplicar vacío a la doble emulsión w/o/w durante al menos aproximadamente 5 horas.
7. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el paso (f) comprende aplicar una corriente de aire comprimido a la emulsión doble w/o/w a una presión de aproximadamente 0,1 a 1 bar, preferiblemente aproximadamente 0,5 bar.
8. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el paso (f) comprende mezclar la emulsión doble w/o/w en un homogeneizador a una velocidad de al menos aproximadamente 2.750 RPM, aplicando una corriente de aire comprimido a una presión de aproximadamente 0,5 bar, y aplicando vacío durante al menos aproximadamente 5 horas.
9. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además el paso de filtrar o centrifugar el producto del paso (f) y opcionalmente lavar con agua antes del paso de secado (g).
10. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el paso de secado (g) comprende liofilización o secado en frío.
11. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polímero biodegradable o no biodegradable se selecciona del grupo que consiste en poli(D,L, ácido láctico) (PLA), poliglicolidas (PGA), poli(lactida-co-glicolida) (PLGA) policaprolactona, polihidroxibutirato, poliortoésteres, polialcanohídridos, gelatina, colágeno, celulosa oxidada y polifosfaceno, preferiblemente en donde el polímero es un polímero biodegradable seleccionado de entre el grupo que consiste en PLA, PGA y PLGA, más preferiblemente, en donde el polímero es PLGA.
12. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el tensioactivo en la fase acuosa externa obtenido en el paso (c) se selecciona del grupo que consiste en alcohol polivinílico (PVA), alcohol polivinílico (PVA) parcialmente hidrolizado, polisorbato, copolímeros en bloque de óxido de polietileno-óxido de polipropileno y ésteres de celulosa, preferiblemente, en donde el tensioactivo es PVA parcialmente hidrolizado.
13. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las micropartículas de acetato de glatiramero

están en la forma de una composición farmacéutica parenteral de acción prolongada en forma de depósito de liberación sostenida adecuada para implantación subcutánea o intramuscular en una ubicación médicamente aceptable en un sujeto que lo necesita, preferiblemente en donde las micropartículas comprenden de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 750 mg de acetato de glatiramero, más preferiblemente en donde las micropartículas comprenden 40 mg de acetato de glatiramero, o en donde las micropartículas comprenden 80 mg de acetato de glatiramero.

14. Una composición farmacéutica parenteral de acción prolongada que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero, estando la composición en una forma de depósito de liberación sostenida adecuada para implantación subcutánea o intramuscular en una ubicación médicamente aceptable en un sujeto que lo necesite, comprendiendo la composición micropartículas de acetato de glatiramero preparado de acuerdo con el proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, preferiblemente en el que la composición de depósito libera una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero durante un período de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 6 meses, o en el que la composición de depósito libera una cantidad terapéuticamente eficaz de acetato de glatiramero durante un período de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 1 mes, preferiblemente en el que las micropartículas comprenden 40 mg de acetato de glatiramero.

15. La composición farmacéutica según la reivindicación 14, para uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple, preferiblemente donde la esclerosis múltiple es esclerosis múltiple remitente-recurrente (EMRR).

20