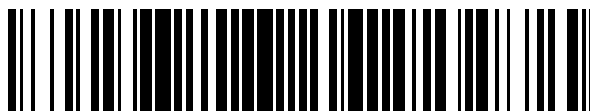


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 315**

51 Int. Cl.:

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

B01J 13/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.04.2001 E 08102276 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **16.08.2017 EP 1925297**

54 Título: **Método para preparar micropartículas que tienen un peso molecular polimérico seleccionado**

30 Prioridad:

19.05.2000 US 575075

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente modificada:
20.12.2017

73 Titular/es:

**ALKERMES, INC. (100.0%)
88 Sidney Street
Cambridge MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**WRIGHT, STEVEN G;
RICKEY, MICHAEL E.;
RAMSTACK, MICHAEL J.;
LYONS, SHAWN, L. y
HOTZ, JOYCE, M.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 391 315 T5

DESCRIPCIÓN

Método para preparar micropartículas que tienen un peso molecular polimérico seleccionado

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a la preparación de micropartículas. Más particularmente, la presente invención se refiere a un método para preparar micropartículas que tienen peso molecular polimérico seleccionado.

Antecedentes de la técnica

- 10 Se conoce una variedad de métodos mediante los cuales se pueden encapsular compuestos en forma de micropartículas. Es particularmente ventajoso encapsular un agente biológicamente activo o farmacéuticamente activo dentro de un material formador de una pared biodegradable y biocompatible (por ejemplo, un polímero) para proporcionar una liberación sostenida o retardada de fármacos u otros agentes activos. En estos métodos, el material a encapsular (fármacos u otros agentes activos) generalmente se disuelve, dispersa o emulsiona en uno o más disolventes que contienen el material formador de la pared usando agitadores, removedores u otras técnicas de mezcla dinámica. Luego, el disolvente se elimina de las micropartículas y, después, se obtiene el producto en forma de micropartículas.

- 20 Una variable que afecta al rendimiento *in vitro* e *in vivo* del producto en forma de micropartículas es el peso molecular del polímero o material de la matriz polímera en el producto final en forma de micropartículas. El peso molecular afecta a las características de liberación de los fármacos. El peso molecular de un polímero influye en la velocidad de biodegradación del polímero. Para un mecanismo de difusión de liberación de un agente activo, el polímero debe permanecer intacto hasta que todo el agente activo se libere de las micropartículas, y luego degradarse. El agente activo también se puede liberar de las micropartículas conforme se bioerosiona el material de la matriz polímera. Mediante una selección apropiada de los materiales polímeros, se puede fabricar una formulación de micropartículas en la que las micropartículas resultantes presentan propiedades tanto de liberación difusional como de liberación por biodegradación. Esto es útil para proporcionar modelos de liberación multifásica.

- 25 Se ha informado que el peso molecular del componente poli(D,L-lactida) ("DL-PV") de microcápsulas que contenían hasta 50% de base libre de tioridazina disminuyó durante la fabricación, y en estudios de velocidad de disolución de la microcápsula (véase Maulding, H.V. et al., Biodegradable Microcapsules: "Acceleration of Polymeric Excipient Hydrolytic Rate by Incorporation of a Basic Medicament", Journal of Controlled Release, Volumen 3, 1986, páginas 103-117; en lo sucesivo "el artículo de Maulding"). Los resultados dados a conocer en el artículo de Maulding revelan que la velocidad de degradación del DL-PL en microcápsulas de base libre de quetotifeno fue mayor cuando el procedimiento de encapsulamiento se llevó a cabo a 4°C que cuando el procedimiento de encapsulamiento se llevó a cabo a 25°C. Por el contrario, la velocidad de degradación de DL-PL en microcápsulas de base libre de tioridazina fue mayor cuando el procedimiento de encapsulamiento se llevó a cabo a 23°C que cuando el procedimiento de encapsulamiento se llevó a cabo a 4°C. Basándose en estos resultados, el artículo de Maulding sugiere evitar la degradación del polímero llevando a cabo la preparación de microcápsulas a 4°C en el caso de una base de tioridazina. El artículo de Maulding no proporciona ningún método mediante el cual se pueda controlar convenientemente el peso molecular del polímero en la micropartícula acabada. El artículo de Maulding tampoco proporciona ningún método para preparar micropartículas que en el producto acabado en forma de micropartículas tengan un peso molecular de polímero seleccionado.

- 40 El documento EP-A1-0998917 describe un método para preparar micropartículas que comprenden risperidona y poli(d,l-lactida-co-glucolida).

- De este modo, en la técnica existe la necesidad de un método mejorado para preparar micropartículas que controle el peso molecular del polímero o material de la matriz polímera en el producto acabado en forma de micropartículas. En la técnica existe una necesidad particular de un procedimiento mejorado que proporcione un método para preparar micropartículas que tengan un peso molecular de polímero seleccionado. La presente invención, cuya descripción se expone por completo más adelante, resuelve la necesidad en la técnica de tal método mejorado.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona un método para preparar micropartículas, que comprende:

- 50 (a) preparar una primera fase, comprendiendo la primera fase un compuesto nucleófilo seleccionado del grupo que consiste en risperidona, 9-hidroxirisperidona, y sus sales farmacéuticamente aceptables, un polímero de poli(d,l-lactida-co-glucolida) que tiene un peso molecular de partida en el intervalo de 50 a 250 kDa, y un disolvente para el polímero;

- (b) mantener la primera fase a una temperatura de permanencia de 25°C durante un periodo de permanencia en el intervalo de 0,05 a 6 horas, para permitir que el peso molecular de partida del polímero se reduzca en el intervalo de 10 a 50%;
- 5 (c) combinar la primera fase con una segunda fase bajo la influencia de medios de mezcladura, para formar una emulsión;
- (d) combinar la emulsión y un medio de extracción, formando de ese modo micropartículas;
- (e) secar las micropartículas;
- (f) resuspender las micropartículas a una temperatura en el intervalo de 0-15°C;
- (g) lavar las micropartículas con un segundo medio de extracción; y
- 10 (h) secar finalmente las micropartículas.

La presente invención permite que se produzcan productos en forma de micropartículas de pesos moleculares de polímero variables usando material de partida del mismo peso molecular. La presente invención también permite que se produzcan productos en forma de micropartículas con sustancialmente el mismo peso molecular de polímero a partir de materiales de partida de peso molecular variable.

- 15 La primera fase se puede preparar disolviendo en el disolvente el polímero y el compuesto nucleófilo.
- Se puede añadir un agente inactivo. La temperatura de permanencia puede ser 25°C. El medio de mezcladura puede ser una mezcladora estática. El disolvente puede comprender alcohol bencílico y acetato de etilo. El polímero puede ser poli(d,l-lactida-co-glucolida), que tiene una relación molar de lactida a glucolida en el intervalo de 75:25. La primera fase se puede mezclar durante el periodo de permanencia.
- 20 El peso molecular del polímero en forma de micropartículas se puede reducir en el intervalo de 10 kD a 185,0 kD.

Características y ventajas

Una característica de la presente invención es que se puede usar para preparar micropartículas, que contienen un agente activo.

- 25 Una característica adicional de la presente invención es que permite que se modifiquen el tiempo de permanencia de una disolución de polímero/compuesto nucleófilo para conseguir, en el producto en forma de micropartículas, un peso molecular de polímero seleccionado.

Una ventaja de la presente invención es que se puede conseguir en el producto en forma de micropartículas un peso molecular de polímero seleccionado usando una diversidad de polímeros, que tienen pesos moleculares de partida variables, variando el tiempo de permanencia de la disolución de polímero/compuesto nucleófilo.

- 30 Una ventaja adicional de la presente invención es que se pueden producir productos en forma de micropartículas de pesos moleculares de polímero variables usando el mismo polímero de partida, o usando un polímero que tiene el mismo peso molecular de partida.

Breve descripción de las figuras

- 35 La presente invención se describe con referencia a los dibujos anexos. En los dibujos, los números de referencia parecidos indican elementos idénticos o funcionalmente similares.

La Figura 1 representa una gráfica del porcentaje de la pérdida de peso molecular en función del tiempo de permanencia (horas) de la disolución, a una escala de 1 kg;

la Figura 2 representa una gráfica del porcentaje de la pérdida de peso molecular en función del tiempo de permanencia (horas) de la disolución, a una escala de 20 kg;

- 40 la Figura 3 representa una gráfica del peso molecular (kD) en función del tiempo de permanencia (horas) de la disolución a 15°C, 2°C y 35°C; y

la Figura 4 muestra una realización de una configuración de un equipo adecuada para preparar micropartículas de acuerdo con la presente invención.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

- 45 Perspectiva general

La presente invención proporciona un método mejorado para preparar micropartículas. Con el fin de controlar el peso molecular del polímero en el producto acabado en forma de micropartículas, los métodos de la presente invención controlan el tiempo de permanencia de una disolución de polímero. De esta manera, los métodos de la presente invención permiten ventajosamente que se consiga un peso molecular de polímero seleccionado a partir de una diversidad de pesos moleculares del material de partida. Alternativamente, se pueden producir productos en forma de micropartículas de pesos moleculares de polímero variables usando un material de partida del mismo peso molecular. De este modo, a partir de los mismos materiales de partida se puede fabricar un intervalo de productos, eliminando de ese modo la necesidad de reformular el producto acabado para conseguir el peso molecular deseado de polímero en el producto acabado.

La disolución de polímero usada en la presente invención comprende un compuesto nucleófilo seleccionado del grupo que consiste en risperidona, 9-hidroxisperidona, y sales farmacéuticamente aceptables de los anteriores.

Para garantizar la claridad de la descripción que sigue, se proporcionan las siguientes definiciones. Mediante "micropartículas" o "microesferas" se quiere decir partículas que comprenden un polímero que sirve como matriz o aglutinante de las partículas. Las micropartículas contienen un agente activo disperso o disuelto en la matriz polímera. Preferiblemente, el polímero es biodegradable y biocompatible. Mediante "biodegradable" se indica un material que mediante los procesos se degrada en productos fácilmente desechables por el cuerpo y que no se acumula en el cuerpo. Los productos de la biodegradación también son biocompatibles con el cuerpo. Mediante "biocompatible" se indica que no es tóxico para el cuerpo, es farmacéuticamente aceptable, no es cancerígeno, y que no induce inflamación en los tejidos corporales significativamente. Según se usa aquí, "cuerpo" se refiere preferiblemente al cuerpo humano, pero se entiende que cuerpo también se puede referir a un cuerpo animal no humano. Mediante "peso en %" o "% en peso" se indican partes en peso por peso total de micropartículas. Por ejemplo, 10% en peso de agente activo indica 10 partes en peso de agente activo y 90 partes en peso de polímero. Mediante "micropartícula de liberación controlada" o "micropartícula de liberación sostenida" se indica una micropartícula de la que se libera, en función del tiempo, un agente activo u otro tipo de sustancia. Mediante "diámetro medio másico" se indica el diámetro al que la mitad de la distribución (porcentaje en volumen) tiene un diámetro más grande y la otra mitad tiene un diámetro más pequeño.

Método y ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan para explicar la invención y para describir los materiales y métodos usados para llevar a cabo la invención. Los ejemplos no pretenden limitar de ninguna manera la invención.

Experimentos de peso molecular con compuestos nucleófilos

Ejemplo 1

Se realizó una serie de experimentos, a la escala de 1 kg, que demostraron la relación entre el peso molecular del producto acabado en forma de micropartículas y la duración de un periodo de permanencia de una disolución de polímero/compuesto nucleófilo. Las micropartículas, que comprenden risperidona, se prepararon a la escala de un kilogramo. El procedimiento para 1 kg (400 gramos de agente activo y 600 gramos de polímero) proporcionó una carga teórica de fármaco de micropartículas del 40% (400 gramos/1.000 gramos x 100%).

Se preparó una disolución de polímero al 16,7% en peso disolviendo 600 gramos de polímero MEDISORB® 7525 DL (Alkermes, Inc., Blue Ash, Ohio) en acetato de etilo. Se preparó una disolución de fármaco al 24% en peso disolviendo 400 gramos de risperidona (agente activo nucleófilo básico) (Janssen Pharmaceutica, Beerse, Bélgica) en alcohol bencílico. Se preparó una disolución de agente activo nucleófilo/polímero (fase orgánica) mezclando la disolución de fármaco en la disolución de polímero. La disolución de agente activo/polímero se mantuvo a una temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$. La disolución de agente activo/polímero se mantuvo durante un tiempo de permanencia de duración suficiente para conseguir en el producto acabado en forma de micropartículas el peso molecular de polímero seleccionado o deseado, basándose en el peso molecular de partida del polímero. Los resultados de los experimentos, que muestran el efecto del tiempo de permanencia sobre la pérdida de peso molecular, se comentan a continuación con más detalle con respecto a la Tabla 1 y la Figura 1.

Se preparó la segunda fase continua preparando una disolución de 30 litros de poli(alcohol vinílico) (PAV) al 1%, actuando el PAV como emulsionante. A esto se añadieron 2.086 gramos de acetato de etilo para formar una disolución al 6,5% en peso de acetato de etilo.

Las dos fases se combinaron usando una mezcladora estática, tal como una mezcladora estática Kenics de $\frac{1}{2}$ " disponible en Chemineer, Inc., North Andover, MA. Un caudal total de 3 l/min proporciona generalmente unas distribuciones de tamaños de micropartículas con un diámetro medio másico (DMM) en el intervalo de alrededor de 80-90 μm . La relación de la fase continua a la fase discontinua fue 5:1 (v/v).

El líquido de paralización rápida fue una disolución al 2,5% de acetato de etilo y agua para inyección (API) a $5-10^\circ\text{C}$. El volumen del líquido de paralización rápida fue 0,25 l por gramo de tamaño del lote. La etapa de paralización rápida se llevó a cabo durante un periodo de tiempo mayor que alrededor de 4 horas, con agitación de las micropartículas en el tanque de paralización rápida.

ES 2 391 315 T5

Después de terminar la etapa de paralización rápida, las micropartículas se recogieron, se deshidrataron y se secaron. La temperatura se mantuvo a menos de alrededor de 15°C.

5 Después, las micropartículas se volvieron a suspender en un tanque de resuspensión usando una disolución de etanol al 25%. La temperatura en el tanque de resuspensión estaba en el intervalo de alrededor de 0°C a alrededor de 15°C. Después, las micropartículas se transfirieron otra vez al tanque de paralización rápida para lavado durante un periodo de tiempo de al menos 6 horas con otro medio de extracción (una disolución de etanol al 25%), que se mantuvo preferiblemente a 25±1°C.

10 Las micropartículas se recogieron, se deshidrataron y se secaron. La temperatura se elevó por encima de alrededor de 20°C, pero por debajo de 40°C. El secado se continuó durante un periodo de tiempo mayor que alrededor de 16 horas.

15 Se prepararon veinticuatro lotes de micropartículas de risperidona, a la escala de 1 kg, usando el procedimiento descrito antes. La siguiente Tabla 1 muestra, para cada lote, el peso molecular de partida del polímero (kD), el peso molecular final del polímero (kD) en el producto acabado en forma de micropartículas, la pérdida porcentual de peso molecular de los polímeros, y el tiempo de permanencia (horas) de la disolución de agente activo/polímero. Mediante GPC (cromatografía de permeación en gel), se determinó el peso molecular del polímero en el producto acabado en forma de micropartículas.

Tabla 1

Número de lote	PM inicial (kD)	PM final (kD)	Pérdida (%)	Tiempo de permanencia (horas)
825	230	182	21,0	0,10
708	161	110	32,0	2,08
714	161	133	17,3	0,33
812	161	100	37,9	2,40
819	161	102	36,7	2,47
319	131	110	16,2	0,10
331	131	115	12,2	0,07
423	131	78	40,7	2,85
506	129	112	13,6	0,07
512	129	86	33,7	3,10
520	129	92	29,1	3,07
527	129	95	26,8	2,22
* 603	129	65	49,4	6,10
610	129	101	22,0	1,13
617	128	95	26,1	2,20
902	128	85	33,8	1,90
908	128	91	29,0	1,18
921	128	99	23,2	0,08
* 930	128	103	19,4	0,03
915	92	69	24,8	1,82
1.021	135	104	23,0	0,03
1.028	138	119	13,7	0,45

Número de lote	PM inicial (kD)	PM final (kD)	Pérdida (%)	Tiempo de permanencia (horas)
1.110	138	115	16,8	1,28
1.215	138	111	19,4	1,50
* no dentro del alcance de la invención				

En el gráfico mostrado en la Figura 1 se representan los datos dados en la Tabla 1. La Figura 1 muestra una pérdida inicial de peso molecular de aproximadamente 17%, con una pérdida adicional de aproximadamente 5,7% por hora de tiempo de permanencia de la disolución de agente activo/polímero.

5 Ejemplo 2

Se realizaron experimentos adicionales, a la escala de 20 kg, que también demuestran la relación entre el peso molecular del producto acabado en forma de micropartículas y la duración del periodo de permanencia de una disolución de compuesto nucleófilo/polímero. Se prepararon micropartículas que comprendían risperidona, a la escala de veinte kilogramos. El procedimiento para 20 kg (8 kg de agente activo y 12 kg de polímero) proporcionó una carga teórica de fármaco en las micropartículas del 40% (8 kg/20 kg x 100%).

Se preparó una disolución de polímero al 16,7% en peso disolviendo 12 kg de polímero MEDISORB® 7525 DL (Alkermes, Inc., Blue Ash, Ohio) en acetato de etilo. Se preparó una disolución de fármaco al 24% en peso disolviendo 8 kg de risperidona (Janssen Pharmaceutica, Beerse, Bélgica) en alcohol bencílico. Se preparó una disolución de agente activo nucleófilo/polímero (fase orgánica) mezclando la disolución de fármaco con la disolución de polímero. La disolución de agente activo/polímero se mantuvo a una temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$. La disolución de agente activo/polímero se mantuvo durante un tiempo de permanencia de duración suficiente para conseguir en el producto acabado en forma de micropartículas el peso molecular de polímero seleccionado o deseado, basándose en el peso molecular de partida del polímero. Los resultados de los experimentos, que muestran el efecto del tiempo de permanencia sobre la pérdida de peso molecular, se comentan a continuación con más detalle con respecto a la Tabla 2 y la Figura 2.

La segunda fase continua se preparó preparando una disolución de 600 litros de PAV al 1 %, actuando el PAV como emulsionante. A esto se añadieron 42 kg de acetato de etilo para formar una disolución de acetato de etilo al 6,5% en peso. Las dos fases se combinaron usando una mezcladora estática, tal como una mezcladora estática Kenics de 1" disponible en Chemineer, Inc., North Andover, MA.

El líquido de paralización rápida fue una disolución de acetato de etilo al 2,5% y agua para inyección (API) a $5-10^\circ\text{C}$. El volumen del líquido de paralización rápida fue 0,25 l por gramo de peso del lote. La etapa de paralización rápida se llevó a cabo durante un periodo de tiempo mayor que alrededor de 4 horas, con agitación de las micropartículas en el tanque de paralización rápida.

Después de terminar la etapa de paralización rápida, las micropartículas se recogieron, se deshidrataron y se secaron. La temperatura se mantuvo a menos de alrededor de 15°C .

Después, las micropartículas se volvieron a suspender en un tanque de resuspensión usando una disolución de etanol al 25%. La temperatura en el tanque de resuspensión estaba en el intervalo de alrededor de 0°C a alrededor de 15°C . Luego, las micropartículas se transfirieron otra vez al tanque de paralización rápida para lavado durante un periodo de tiempo de al menos 6 horas con otro medio de extracción (una disolución de etanol al 25%) que se mantuvo preferiblemente a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Las micropartículas se recogieron, se deshidrataron y se secaron. La temperatura se elevó por encima de alrededor de 20°C pero por debajo de 40°C . El secado se continuó durante un periodo de tiempo mayor que alrededor de 16 horas.

Usando el procedimiento descrito antes, se prepararon cuatro lotes de micropartículas de risperidona a la escala de 20 kg. La siguiente Tabla 2 muestra, para cada lote, el peso molecular de partida del polímero (kD), el peso molecular final del polímero (kD) en el producto acabado en forma de micropartículas, la pérdida porcentual de peso molecular del polímero, y el tiempo de permanencia (horas) de la disolución de agente activo/polímero. Mediante GPC, se determinó el peso molecular del polímero en el producto acabado en forma de micropartículas.

Tabla 2

Número de lote	PM inicial (kD)	PM final (kD)	Pérdida (%)	Tiempo de permanencia (horas)
3.308	146	117	20	0,5
4.068	145	103	29	1,75
4.138	143	111	22	1,0
4.208	143	110	23	1,0

Los datos indicados en la Tabla 2 muestran que, a partir de un material de partida de peso molecular relativamente constante (143 kD, 145 kD y 146 kD), se consiguió un peso molecular variable en el producto acabado en forma de micropartículas variando el tiempo de permanencia de la disolución de agente activo/polímero. Los datos indicados en la Tabla 2 se representan en el gráfico mostrado en la Figura 2. La Figura 2 muestra una pérdida inicial de peso molecular de aproximadamente 16%, con una pérdida adicional de aproximadamente 7,3% por hora de tiempo de permanencia de la disolución de agente activo/polímero.

Ejemplo 1 comparativo

Para las micropartículas que contenían el compuesto nucleófilo naltrexona, se determinaron el peso molecular de partida del polímero (kD) y el peso molecular final del polímero (kD) en el producto acabado en forma de micropartículas. La relación de lactida:glucolida en el polímero de partida fue 75:25, 85:15 y 65:35. Los polímeros usados fueron el polímero MEDISORB® 7525 DL, el polímero MEDISORB® 8515 DL y el polímero MEDISORB® 6535 DL, todos ellos disponibles en Alkermes, Inc., Blue Ash, Ohio.

Las micropartículas a base de naltrexona se produjeron usando un procedimiento de extracción por co-solvente. El peso teórico del lote fue 15 a 20 gramos. El polímero se disolvió en acetato de etilo para producir una disolución de polímero al 16,7% en peso/peso. La base de naltrexona anhidra se disolvió en alcohol bencílico para producir una disolución al 30% en peso/peso. En varios lotes, la cantidad usada de fármaco y polímero se varió para producir micropartículas con una carga teórica diferente de fármaco que variaba de 30% a -75%. Las disoluciones de fármaco y polímero en condiciones ambiente se mezclaron entre sí hasta que se produjo una disolución homogénea simple (fase orgánica). La fase acuosa estaba en condiciones ambiente y contenía 1% en peso/peso de un alcohol polivinílico y una cantidad saturante de acetato de etilo. Estas dos disoluciones se bombearon por medio de unas bombas de desplazamiento positivo a una relación de 3:1 (fase acuosa: fase orgánica) a través de una mezcladora en línea de ¼" para formar una emulsión. La emulsión se transfirió a una disolución de extracción por solvente, con agitación, consistente en 2,5% en peso/peso de acetato de etilo disuelto en agua destilada a 5-10°C y con un volumen de 0,5 l de disolución de extracción por gramo teórico de micropartículas. Para producir las micropartículas, de las gotitas de emulsión se extrajeron en la disolución de extracción tanto los solventes del polímero como del fármaco. El procedimiento inicial de extracción varió de dos a cuatro horas. Las micropartículas se recogieron en un tamiz de 25 µm y se enjuagaron con una disolución fría (<5°C) de etanol al 25% en peso/peso. Las micropartículas se secaron en frío durante la noche (aproximadamente 17 horas) usando nitrógeno. Luego, las micropartículas se transfirieron a las disoluciones de resuspensión, que consistían en una disolución de etanol al 25% en peso/peso vigorosamente agitada a 5-10°C. Después de un corto periodo de tiempo de mezcla (de cinco a quince minutos), la disolución de resuspensión y las micropartículas se transfirieron a una disolución de extracción secundaria de etanol al 25% en peso/peso con agitación (aproximadamente a 25°C con un volumen de 0,2 l de disolución de extracción secundaria por gramo teórico de micropartículas). Las micropartículas se agitaron durante seis horas, permitiendo que tuviera lugar una separación adicional de solvente de las micropartículas. Luego, las micropartículas se recogieron en un tamiz de 25 µm y se enjuagaron con una disolución de etanol al 25% en peso/peso a temperatura ambiente. Estas micropartículas se secaron en una campana bajo condiciones ambiente durante la noche (aproximadamente 17 horas), se tamizaron para separar las micropartículas aglomeradas y se pusieron luego en un congelador para su almacenamiento.

Como se muestra a continuación en la Tabla 3, se prepararon tres lotes de micropartículas usando el polímero de 75:25, dos lotes con el polímero de 85:15, y cuatro lotes con el polímero de 65:35. Para cada tanda, la Tabla 3 muestra el peso molecular de partida del polímero (kD), y el peso molecular final del polímero (kD) en los productos acabados en forma de micropartículas, y la pérdida porcentual de peso molecular del polímero. Mediante GPC, se determinó el peso molecular del polímero en el producto acabado en forma de micropartículas. Los datos de la Tabla 3 proporcionan un ejemplo de la pérdida de peso molecular del polímero en un producto acabado en forma de micropartículas que contienen un compuesto nucleófilo (naltrexona) para polímeros que tienen relaciones variables de lactida:glucolida.

Tabla 3

Relación lactida:glucolida en el polímero de partida	Lote	PM inicial (kD)	PM final (kD)	Pérdida (%)
75:25	99-123-004	116,2	76,0	34,6
	99-123-009	116,2	74,0	36,3
	99-123-012	116,2	74,3	36,1
85:15	99-123-016	109,7	83,7	23,7
	99-123-024	109,7	74,9	31,7
65:35	99-123-021	102,3	56,3	45,0
	99-123-028	102,3	63,4	38,0
	99-123-037	102,3	69,6	32,0
	99-123-034	102,3	79,6	22,2

Ejemplo 3

- 5 Se realizaron con otros polímeros experimentos adicionales que también demostraron la relación entre el peso molecular del producto acabado en forma de micropartículas y la duración del periodo de permanencia de una disolución de compuesto nucleófilo/polímero. Se prepararon micropartículas que comprendían otros polímeros con diferentes relaciones de lactida:glucolida. Usando el mismo procedimiento descrito antes en el Ejemplo 1, se prepararon micropartículas que comprendían risperidona usando polímeros que tenían relaciones de
- 10 lactida:glucolida de 65:35, 85:15 y 100:0, a la escala de 1 kg. Los polímeros usados fueron el polímero MEDISORB® 6535 DL, el polímero MEDISORB® 8515 DL y el polímero MEDISORB® 100 DL, todos ellos disponibles en Alkermes, Inc., Blue Ash, Ohio.

- La siguiente Tabla 4 muestra, para cada polímero, el peso molecular de partida del polímero (kD), el peso molecular final del polímero (kD) en el producto acabado en forma de micropartículas, la pérdida porcentual de peso molecular del polímero, y el tiempo de permanencia (horas) de la disolución de agente activo/polímero. Mediante GPC, se determinó el peso molecular del polímero en el producto acabado en forma de micropartículas.
- 15

Tabla 4

Relación de lactida:glucolida	PM inicial (kD)	PM final (kD)	Pérdida (%)	Tiempo de permanencia (horas)
65:35	105	79	24,8	0,27
85:15	112	96	14,3	0,23
*100 dl	105	98	6,7	0,17
* no dentro del alcance de la invención				

- Los datos indicados en la Tabla 4 muestran que se puede preparar un producto en forma de micropartículas con alrededor del mismo peso molecular (96 kD y 98 kD) a partir de dos polímeros de peso molecular diferente (112 kD y 105 kD, respectivamente) que tienen dos relaciones de lactida:glucolida diferentes (85:15 y 100:0, respectivamente). De este modo, la presente invención ventajosamente permite que se produzcan productos en forma de micropartículas con el mismo peso molecular de polímero usando dos materiales de partida diferentes. Es de destacar que no está dentro del alcance de la invención el método específico usado para preparar micropartículas que tienen una relación de lactida:glucolida de 100:0 y una pérdida de 6,7% del peso molecular del polímero.
- 20
- 25

Ejemplo 2 comparativo

Se realizaron experimentos adicionales que demostraron la pérdida de peso molecular de los polímeros en presencia de un compuesto nucleófilo (oxibutinina) en función del tiempo. Los ensayos se realizaron usando un polímero de lactida:glucolida 100:0 y dos polímeros de lactida:glucolida 75:25, con diferente viscosidad inherente. Se llevó a cabo el siguiente protocolo para cada ensayo. Pése se alrededor de 6 g de polímero en un matraz Erlenmeyer. Añádase al polímero 44 g de acetato de etilo, sométase a ultrasonido y sacúdase para disolver el polímero. Pése se 1,5 g de una base de oxibutinina. Agítase la disolución de polímero, y añádase el fármaco a la disolución de polímero. Póngase en marcha un temporizador conforme se añada el fármaco. Extráigase una muestra de la disolución de fármaco/polímero a 1,5 y 15 minutos, tomando alrededor de 1/3 del volumen original para cada alícuota conforme se agita la disolución. Dispénsese la alícuota en 250 mL de H₂O:MeOH y agítase. Esta mezcla precipita el polímero y separa el fármaco del precipitado. Permítase que se pose el polímero precipitado y decántese el líquido sobrante. Lávese el residuo de polímero con 100 ml de MeOH, agítase aproximadamente un minuto, añádase H₂O hasta 250 ml. Permítase que el polímero se pose de nuevo, y repítase la operación. Luego, el residuo se separa del vaso de precipitados y se pone en un vial de centelleo y se congela. Una vez que todas las muestras se recogen y congelan, las muestras se ponen en un liofilizador, enfriado hasta -10°C. El liofilizador se activa, y una vez que se consigue un vacío estable, se eleva la temperatura de los estantes hasta 15°C y se mantiene durante la noche (~18 horas) para separar los solventes residuales.

En la Tabla 5 se muestran los resultados de estos experimentos. Para cada experimento se muestra el peso molecular de partida del polímero, junto con el peso molecular del polímero para 1,5 y 15 minutos de exposición del polímero al compuesto nucleófilo en la disolución de fármaco/polímero. Como se observa en la Tabla 5, cuanto mayor es la exposición o el tiempo de permanencia de la disolución de fármaco/polímero, menor es el peso molecular del polímero.

Tabla 5

Relación de partida de lactida:glucolida en el polímero	PM de partida (kD)	Tiempo = 1 min., PM (kD)	Tiempo = 5 min., PM (kD)	Tiempo = 15 min., PM (kD)
100:0	77,1	67,2	63	60,8
75:25	82,8	56,2	55,1	48,8
75:25	54,1	44,1	42,9	38,4

Experimentos del efecto de la temperatura sobre el peso molecular

Ejemplo 4

Se realizaron unos experimentos adicionales para determinar el efecto de la temperatura sobre la relación entre el peso molecular del producto acabado en forma de micropartículas y la duración del periodo de permanencia de una disolución de compuesto nucleófilo/polímero. Se disolvieron cincuenta gramos de risperidona (Janssen Pharmaceutica, Beerse, Bélgica) en 275 g de alcohol bencílico para formar una disolución de fármaco. Se formó una disolución de polímero disolviendo 75 g de MEDISORB® 7525 DL (Alkermes, Inc., Blue Ash, Ohio) en acetato de etilo. El peso molecular inicial del polímero fue 146 kD. La disolución de fármaco y la disolución de polímero se mezclaron para formar una disolución combinada. Se puso un matraz de la disolución combinada en cada cámara de 15°C, 25°C y 35°C. A intervalos de tiempo periódicos, en cada cámara se retiraron del matraz 10 ml de la disolución combinada por medio de una jeringuilla y una aguja. Luego, la muestra de 10 ml se precipitó en un baño que contenía 200 ml de metanol a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C). El polímero precipitado se recuperó del baño de metanol, y se secó a vacío durante la noche. Las muestras secas se ensayaron para determinar su peso molecular mediante GPC.

En el gráfico de la Figura 3 se representan los resultados de los experimentos. Como se muestra en la Figura 3, la caída del peso molecular aumenta conforme aumenta la temperatura. Por lo tanto, aumentado la temperatura de permanencia de la disolución que contiene el polímero y el compuesto nucleófilo, aumenta la caída del peso molecular del polímero, y se reduce la duración del periodo de permanencia para conseguir una reducción particular del peso molecular. Similarmente, disminuyendo la temperatura de permanencia de la disolución que contiene el polímero y el compuesto nucleófilo, disminuye la caída del peso molecular del polímero y aumenta la duración del

periodo de permanencia para conseguir una reducción particular del peso molecular. Por ejemplo, el tiempo requerido para reducir el peso molecular de 130 kD a 110 kD es el más corto a 35°C (alrededor de 5 horas) y el más largo a 15°C (alrededor de 15 horas).

La Figura 3 muestra un aumento inicial de peso molecular del polímero. Lo más probable es que este fenómeno se produzca porque alguna parte del polímero, particularmente las fracciones de menor peso molecular, es soluble en el medio de extracción. Debido a que la medida analítica del peso molecular es una representación de todas las fracciones de pesos moleculares presentes, la eliminación (disolución) del material de bajo peso molecular puede aumentar el peso molecular medido.

Métodos de preparación de micropartículas

Ejemplo 5

Como se ejemplifica mediante los ejemplos comentados antes, se describen ahora con más detalle métodos para preparar micropartículas que tienen un peso molecular de un polímero en forma de micropartículas de acuerdo con la presente invención. En una realización de la presente invención, se prepara una primera fase que comprende el compuesto nucleófilo, el polímero con un peso molecular de partida, y un solvente para el polímero. En una realización de la presente invención, la primera fase se prepara disolviendo un agente activo nucleófilo en un primer solvente para formar una disolución de un agente activo. El polímero se disuelve en un segundo solvente para formar una disolución del polímero. La disolución del agente activo y la disolución del polímero se mezclan para formar la primera fase.

El agente activo se selecciona del grupo que consiste en risperidona, 9-hidroxisperidona, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Un primer disolvente preferido es alcohol bencílico, y un segundo disolvente preferido es acetato de etilo.

En otra realización de la presente invención, la primera fase se prepara disolviendo en un solvente el compuesto nucleófilo y el polímero, para formar una disolución. En todavía otra realización, a la primera fase se añade un agente activo. En otra realización, a la primera fase se añade también un agente inactivo. Se debe comprender que la presente invención no se limita a ningún método o procedimiento particular mediante el que se prepara la primera fase, y para un experto en la técnica serán fácilmente evidentes otros procedimientos adecuados.

Se prepara una segunda fase, y se combina con la primera fase para formar una emulsión bajo la influencia de un medio de mezclado. En una realización preferida, para combinar las dos fases para formar una emulsión se usa una mezcladora estática. En la patente U.S. n° 5.654.008, por ejemplo, se describe un procedimiento para formar una emulsión que usa una mezcladora estática. La emulsión se combina con un medio de extracción que extrae el solvente de las gotitas de emulsión, endureciéndolas de ese modo como micropartículas.

Antes de combinar la primera y la segunda fases, la primera fase se mantiene a la temperatura de permanencia durante el periodo de permanencia. El periodo de permanencia es de duración suficiente para permitir que el peso molecular de partida del polímero se reduzca al peso molecular de polímero en forma de micropartículas seleccionado a la temperatura de permanencia. En la presente invención, para alcanzar el peso molecular de polímero seleccionado, el peso molecular de partida del polímero se reduce en alrededor de 10% a alrededor de 50%.

Durante el periodo de permanencia, la primera fase se puede mezclar, agitar, o remover de otra manera. Alternativamente, durante el periodo de permanencia, la primera fase se puede no someter a mezclado, agitación o remoción. Preferiblemente, la temperatura de permanencia es 25°C.

Ahora se describirá un método alternativo para preparar micropartículas según la presente invención. Para formar la primera fase, se disuelve en un solvente un polímero con un peso molecular de partida y el compuesto nucleófilo. A la primera fase se pueden añadir un agente inactivo. La primera fase se combina con una segunda fase bajo la influencia de un medio de mezclado para formar una emulsión. La emulsión se combina con un medio de extracción que extrae el solvente, endureciendo de ese modo las gotitas de emulsión como micropartículas. Antes de combinar la primera y la segunda fases, la primera fase se mantiene a la temperatura de permanencia durante el periodo de permanencia. El periodo de permanencia se selecciona de modo que el peso molecular de partida del polímero se reduzca hasta un peso molecular de polímero en forma de micropartículas seleccionado, a la temperatura de permanencia. La duración del periodo de permanencia se puede ajustar cambiando la temperatura de permanencia de la manera que se describió antes.

Micropartículas de la presente invención

Las micropartículas preparadas mediante el procedimiento de la presente invención comprenden poli(d,l-ácido láctico-co-glucólico), que se puede obtener comercialmente de Alkermes, Inc. (Blue Ash, OH). Un producto adecuado disponible comercialmente en Alkermes, Inc. es el poli(d,l-ácido láctico-co-glicólico) 50:50, conocido como MEDISORB® 5050 DL. Este producto tiene una composición porcentual en moles de 50% de lactida y 50% de

glucolida. Otros productos adecuados disponibles comercialmente son MEDISORB® 6535 DL, 7525 DL y 8515 DL. Las poli(lactida-co-glucolidas) también están disponibles comercialmente en Boehringer Ingelheim (Alemania) bajo su marca comercial Resomer®, por ejemplo PLGA 50:50 (Resomer® RG 502) y PLGA 75:25 (Resomer® RG 752), y en Birmingham Polymers (Birmingham, Alabama). Estos copolímeros están disponibles en un amplio intervalo de pesos moleculares y relaciones de ácido láctico a ácido glicólico.

Un tipo de micropartícula adecuada para preparación mediante la presente invención es el de una micropartícula de liberación sostenida que es biodegradable. Sin embargo, se debe entender por el experto en la técnica que la presente invención no está limitada a tipos biodegradables u otros tipos de micropartículas de liberación sostenida. Como es evidente para un experto en la técnica, el peso molecular del material aglutinante polímero para las micropartículas biodegradables es de cierta importancia. El peso molecular debe ser suficientemente alto para permitir la formación de revestimientos polímeros satisfactorios, es decir, el polímero debe ser un buen formador de película. Sin embargo, puesto que las propiedades de la película también son parcialmente dependientes del material aglutinante polímero particular que se use, es muy difícil especificar para todos los polímeros un intervalo apropiado de pesos moleculares. El peso molecular del polímero también es importante desde el punto de vista de su influencia sobre la velocidad de biodegradación del polímero. Para un mecanismo difusional de liberación de fármacos, el polímero debe permanecer intacto hasta que se libere de las micropartículas todo el fármaco, y luego degradarse. El fármaco también se puede liberar de las micropartículas conforme el aglutinante polímero se bioerosiona. Mediante una selección apropiada de los materiales polímeros, se puede fabricar una formulación en forma de micropartículas en la que las micropartículas resultantes presenten propiedades tanto de liberación difusional como de liberación por biodegradación. Esto es útil de acuerdo con los modelos de liberación multifásica. Un peso molecular de partida satisfactorio de los polímeros está en el intervalo de 50 kD a 250 kD. Preferiblemente, el peso molecular del polímero en forma de micropartículas está en el intervalo de alrededor de 10 kD a alrededor de 185 kD.

Las micropartículas preparadas de acuerdo con la presente invención incluyen un agente activo nucleófilo que se libera de las micropartículas en el huésped. El agente activo es 3-[2-[4-(6-fluoro-1,2-bencisoxazol-3-il)-1-piperidinil]etil]-6,7,8,9-tetrahidro-2-metil-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona ("risperidona"), 3-[2-[4-(6-fluoro-1,2-bencisoxazol-3-il)-1-piperidinil]etil]-6,7,8,9-tetrahidro-9-hidroxi-2-metil-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona ("9-hidroxi-risperidona"), o sus sales farmacéuticamente aceptables. La risperidona (término el cual, como se usa aquí, pretende incluir sus sales farmacéuticamente aceptables) es la más preferida. La risperidona se puede preparar de acuerdo con las enseñanzas de la patente de U.S. nº 4.804.663. La 9-hidroxi-risperidona se puede preparar de acuerdo con las enseñanzas de la patente de U.S. nº 5.158.952.

Las micropartículas se pueden mezclar según su tamaño o según su tipo. En una realización, las micropartículas se mezclan de una manera que proporcione el suministro del agente activo al huésped de una manera multifásica, y/o de una manera que proporcione diferentes agentes activos al huésped en tiempos diferentes, o una mezcla de agentes activos al mismo tiempo. Por ejemplo, se pueden mezclar con un agente activo y proporcionar al huésped antibióticos secundarios, vacunas, o cualquier agente activo deseado, bien en forma de micropartículas o bien en forma no encapsulada, convencional.

Aparato

Con referencia ahora a la FIG. 4, se muestra una realización de una configuración de un equipo adecuado para uso para preparar micropartículas de acuerdo con la presente invención. En una realización preferida de la presente invención, el equipo que se encuentra dentro del límite de la línea de puntos mostrado en general con la cifra **270** se esteriliza usando un procedimiento por "vapor de agua in situ" (VIS).

Se proporciona una primera fase **201**. Preferiblemente, la primera fase **201** es la fase discontinua, que comprende un polímero disuelto en uno o más solventes, y un agente activo. El agente activo se puede disolver o dispersar en el mismo solvente o en un solvente diferente que el(los) solvente(s) en que se disuelve el polímero. Preferiblemente una segunda fase **202** es la fase continua que comprende preferiblemente agua como medio de tratamiento continuo. Preferiblemente, a la fase continua se añade un agente emulsionante, tal como un tensioactivo o un coloide hidrófilo, para evitar que se aglomeren las microgotitas y para controlar el tamaño de las microgotitas en la emulsión. Los ejemplos de compuestos que se pueden usar como tensioactivos o coloides hidrófilos incluyen, pero no se limitan a, poli(alcohol vinílico) (PVA), carboximetilcelulosa, gelatina, poli(vinilpirrolidona), Tween 80, Tween 20, y similares. La concentración de tensioactivo o de coloide hidrófilo en la fase continua será de alrededor de 0,1% a alrededor de 10% en peso, basado en el medio de tratamiento continuo, dependiendo del tensioactivo, del coloide hidrófilo, de la fase discontinua y del medio de tratamiento continuo usados. Una fase continua preferida es una disolución de PVA en agua al 0,1 a 10% en peso, más preferiblemente 0,5 a 2% en peso. Aunque no es absolutamente necesario, se prefiere saturar la fase continua con al menos uno de los solventes formadores de la fase discontinua.

La primera fase **201** y la segunda fase **202** se combinan bajo la influencia de un medio de mezclado para formar una emulsión. Un tipo preferido de medio de mezclado es una mezcladora estática **210**. Otros medios de mezclado adecuados para uso con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, dispositivos para agitar

mecánicamente la primera y la segunda fases, tales como homogeneizadores, hélices, ruedas de paletas, agitadores, y similares.

Preferiblemente, las fases discontinua y continua **201** y **202** se bombean a través de una mezcladora estática **210** para formar una emulsión, y en un gran volumen de líquido de paralización rápida, para obtener micropartículas que contienen el agente activo encapsulado en el material de la matriz polímera. Una bomba **203** bombea la primera fase **201** a la mezcladora estática **210**, y una bomba **204** bombea la segunda fase **202** a la mezcladora estática **210**. En la patente de U.S. nº 5.654.008 se describe un método de mezclado con una mezcladora estática especialmente preferido en el procedimiento de la presente invención.

La primera y la segunda fases **201** y **202** se mezclan en la mezcladora estática **210** para formar una emulsión. La emulsión formada comprende micropartículas que contienen el agente activo encapsulado en el material de la matriz polímera. Luego, preferiblemente las micropartículas se agitan en un tanque de paralización rápida o de extracción **220** que contiene un líquido de paralización rápida, con el fin de separar de las micropartículas la mayoría del solvente, dando lugar a la formación de micropartículas endurecidas. Tras el movimiento de las micropartículas desde la mezcladora estática **210** y su entrada en el tanque de paralización rápida **220**, el medio de tratamiento continuo se diluye, y mediante extracción se separa la mayor parte del solvente en las micropartículas. En esta etapa extractiva de paralización rápida, las micropartículas se pueden suspender en la misma fase continua (segunda fase **202**) usada durante el emulsionamiento, con o sin un coloide hidrófilo o tensioactivo, o en otro líquido de paralización rápida. El líquido de paralización rápida separa de las micropartículas una parte importante del solvente, pero no las disuelve. Durante la etapa extractiva de paralización rápida, el líquido de paralización rápida que contiene el solvente disuelto se puede separar opcionalmente y sustituir por líquido de paralización rápida de nueva aportación.

A la terminación de la etapa de paralización rápida en el tanque de paralización rápida **220**, las micropartículas se transfieren mediante una bomba **224** a un dispositivo **230** que funciona como un dispositivo de recogida de micropartículas, un dispositivo de deshidratación y un dispositivo de secado.

El dispositivo **230** comprende un tamiz o criba vibradora. La vibración provoca que las partículas más pequeñas y el líquido caigan a través de la criba, mientras que se retienen las partículas más grandes. Las partículas más pequeñas y el líquido que caen a través de la criba se separan como un residuo **235**. El dispositivo **230** también funciona como un secador a vacío, por medio del uso de una tubería de vacío **237**. Las micropartículas se fluidizan mediante la energía vibracional, y mediante una pequeña cantidad de purga por gas seco, preferiblemente una purga **236** por nitrógeno seco (N_2).

Las micropartículas secas se transfieren a otro medio de extracción para llevar a cabo una etapa de lavado. Preferiblemente, la etapa de lavado se lleva a cabo en el tanque de paralización rápida **220**, usando un medio de extracción **222** que tiene una temperatura mayor que la temperatura de transición vítrea (T_g) de las micropartículas. Para llevar a cabo la etapa de lavado, la micropartícula se introduce primero en un tanque de resuspensión u otro tipo de vasija **240**, como se muestra mediante la ruta **231**. La temperatura del medio de extracción **242** que se usa en el recipiente **240** es menor que la T_g de las micropartículas.

Después de que se termina la etapa de lavado en el tanque de paralización rápida **220**, las micropartículas se transfieren de nuevo por medio de la bomba **224** al dispositivo **230** para su deshidratación y secado final. A la terminación del secado final, las micropartículas se descargan desde el dispositivo **230** a un tamiz **250** de la manera antes descrita, como se muestra mediante la ruta **232**. El tamiz **250** se usa para fraccionar las micropartículas según su tamaño para el llenado de viales y para el ensayo masivo durante el proceso de fabricación (por ejemplo, aspecto, contenido de agente activo, disolventes residuales, liberación in vitro, y distribución de tamaños de partículas).

Conclusión

Mientras que se han descrito anteriormente diversas realizaciones de la presente invención, se debería entender que se han presentado sólo a título de ejemplo, y no de limitación. De este modo, la amplitud y alcance de la presente invención no se debería de limitar por ninguna de las realizaciones ejemplares descritas anteriormente, sino que se debería definir sólo según las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar micropartículas, que comprende:

- 5 (a) preparar una primera fase, comprendiendo la primera fase un compuesto nucleófilo seleccionado del grupo que consiste en risperidona, 9-hidroxisperidona, y sus sales farmacéuticamente aceptables, un polímero de poli(d,l-lactida-co-glucolida) que tiene un peso molecular de partida en el intervalo de 50 a 250 kDa, y un disolvente para el polímero;
- (b) mantener la primera fase a una temperatura de permanencia de 25°C durante un periodo de permanencia en el intervalo de 0,05 a 6 horas, para permitir que el peso molecular de partida del polímero se reduzca en el intervalo de 10 a 50%;
- 10 (c) combinar la primera fase con una segunda fase bajo la influencia de medios de mezcladura, para formar una emulsión;
- (d) combinar la emulsión y un medio de extracción, formando de ese modo micropartículas;
- (e) secar las micropartículas;
- (f) resuspender las micropartículas a una temperatura en el intervalo de 0-15°C;
- 15 (g) lavar las micropartículas con un segundo medio de extracción; y
- (h) secar finalmente las micropartículas.

2. El método de la reivindicación 1, en el que la temperatura de permanencia es 25°C.

3. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en el que el medio de mezcladura es una mezcladora estática.

4. El método de la reivindicación 1, 2 ó 3, en el que el disolvente comprende alcohol bencílico o acetato de etilo.

20 5. El método de cualquier reivindicación anterior, en el que el polímero es poli(d,l-lactida-co-glucolida) que tiene una relación molar de lactida a glucolida en el intervalo de 75:25..

6. El método de cualquier reivindicación anterior, que comprende además:

- (e) mezclar la primera fase durante el periodo de permanencia.

25 7. El método de cualquier reivindicación anterior, en el que el peso molecular del polímero en forma de micropartículas se reduce hasta el intervalo de 10 a 185,0 kD.

8. El método de cualquier reivindicación anterior, en el que la primera fase se prepara disolviendo el polímero y el compuesto nucleófilo en el disolvente.

9. El método de cualquier reivindicación anterior, que comprende además añadir a la primera fase un agente inactivo.

30

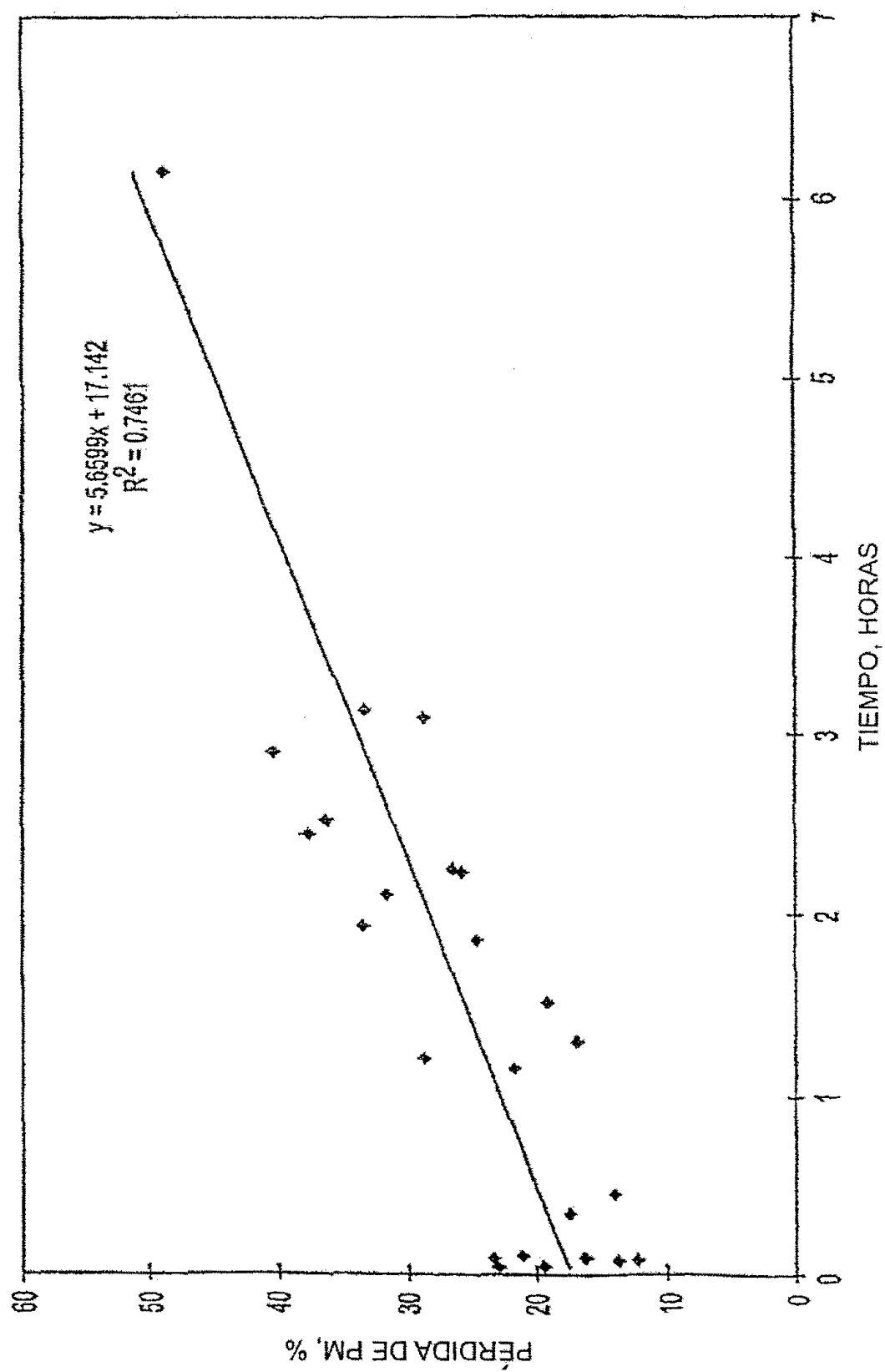


FIG. 1

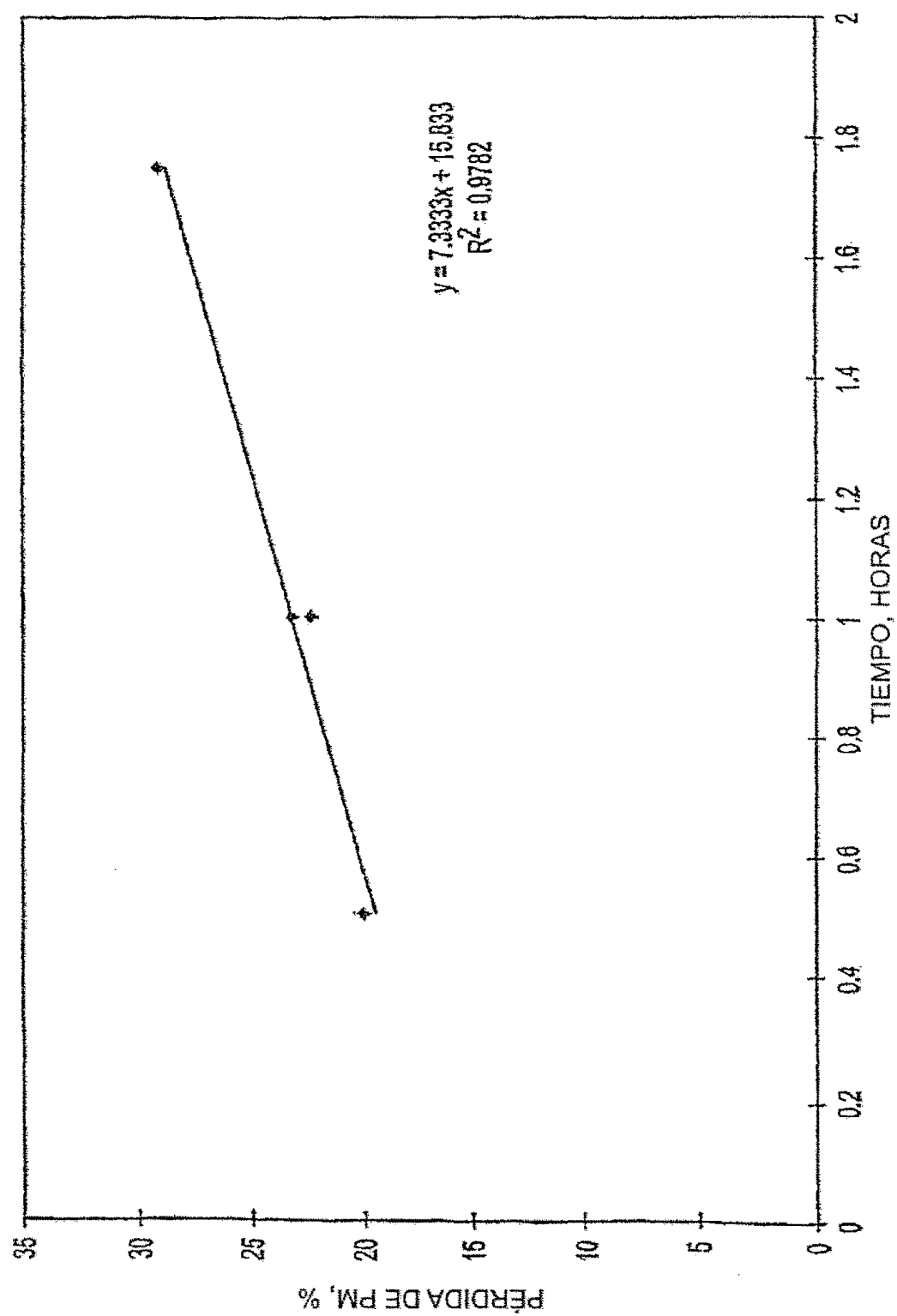


FIG. 2

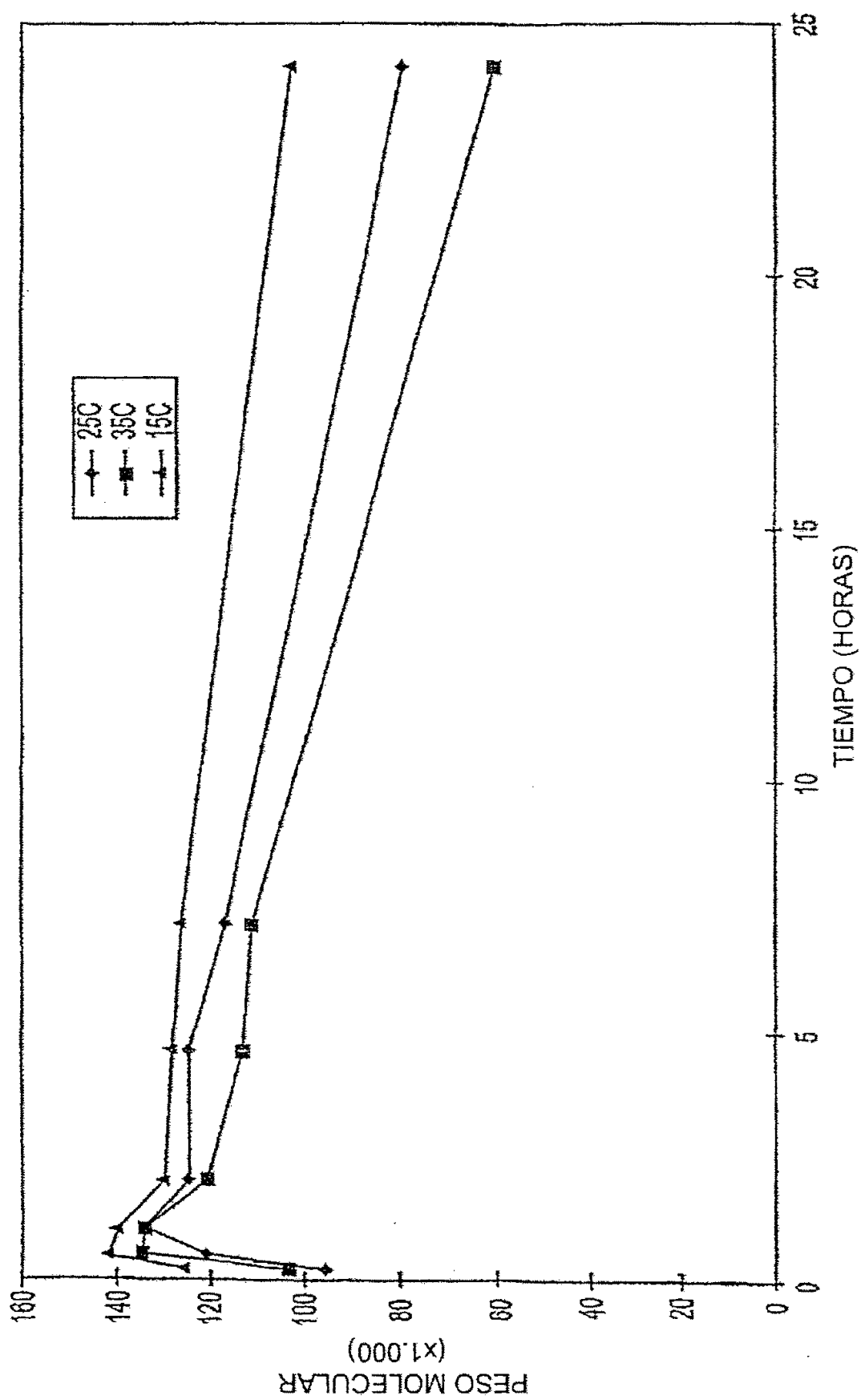


FIG. 3

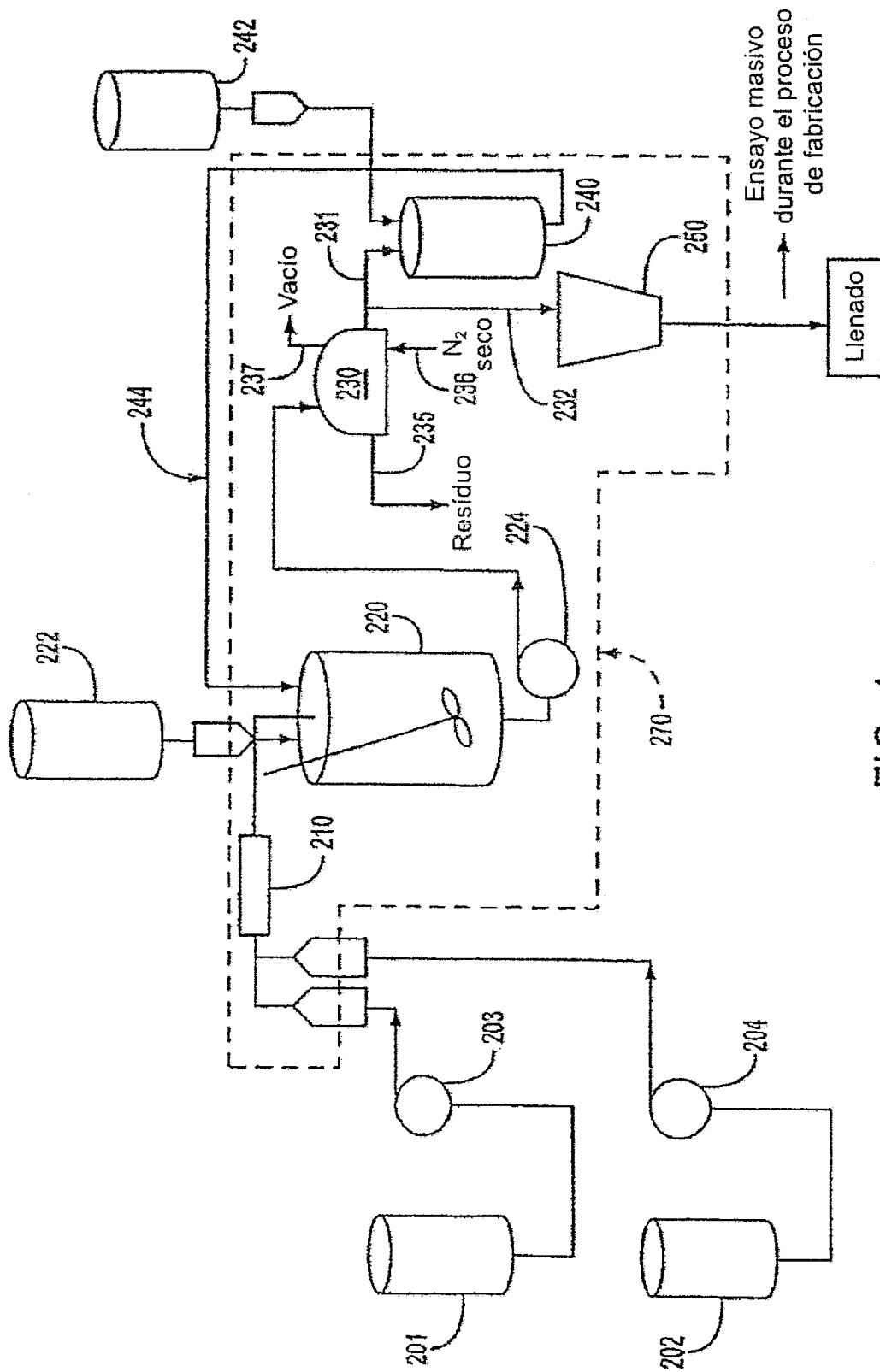


FIG. 4