



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21 **EXPEDIENTE No.**

06-42082

54 **TÍTULO**

**METODO PARA PREPARAR PARTÍCULAS SUBMICRÓNICAS
DE PACLITAXEL**

51 **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL**

A61K31/337, 4/133, A61P35/00

71 **SOLICITANTE**

BAXTER INTERNATIONAL INC

DOMICILIO

ILLIONS, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74 **APODERADO**

EMILIO FERRERO

C.C. 438,019 de Usaquén

22 **BOGOTÁ, D. C.,**

**Ces on
FN 07 06 2006**

FORMA P 10)

Complemento 11 Folios

08 05 2006

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad 06-042082 -00000-0000 For 2006-05-04 17 37 28
Dep 2020 NUJECREACIONES
Tra 11 PATENTEIYII Eyo 378 FASENACIONALI acción
Act 411 PRESENTACION Folios 145

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE**PCT****ENTRADA EN FASE NACIONAL**

07/06/06

SOLICITUD DE**1**☒ Patente de Invencion☐ Patente de Modelo de Utilidad☒ Capitulo I☐ Capitulo II**2****SOLICITANTE
(71)**

Nombre **BAXTER INTERNACIONAL INC**
sociedad constituida y existente bajo las
leyes del Estado de Delaware Estados
Unidos de América

Dirección One Baxter Parkway
Deerfield 60015
Illinois
Estados Unidos de América

Domicilio Deerfield 60015
Illinois
Estados Unidos de América

IDENTIFICACION

C C ☐ NIT ☐
C E ☐ Otro ☐
Cual _____
Numero _____

3**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre **EMILIO FERRERO**
Dirección Carrera 4ª No 72 35
Teléfono 347 36 11
Fax 211 86 50
E-mail clientes@camyp.com
Domicilio Bogotá Colombia

IDENTIFICACION

C C ☒ NIT ☐
C E ☐ Otro ☐
Cual _____
Numero 438 019 T P 31 929

4**INVENTOR (ES)
(72)**

1 Mahesh CHAUBAL
915 N Countryside Drive 203
Palatine 60067
Illinois
Estados Unidos de América

3 Barret E RABINOW
9119 Trapp Avenue
Skokie 60076
Illinois
Estados Unidos de América

2 Jane WERLING
605 South Highland Avenue
Arlington Heights 60005
Illinois
Estados Unidos de América

5**PCT (86)**Solicitud Internacional No PCT/US2004/036604Fecha 3 de noviembre de 2004Publicación Internacional No WO 2005/046671 A1Fecha 26 de mayo de 2005**6****Título (54)****METODO PARA PREPARAR PARTICULAS SUBMICRONICAS DE PACLITAXEL****7****Clasificación Internacional (51)** A61K 31/337, 91133, A61P 35/00**8****Prioridad**SI ☒ NO ☐

(33) Pais de Origen

US

(32) Fecha

7 de noviembre de 2003

(31) Numero de Solicitud

10/703.395**9****Comprobante de pago No** 06-30 914**Fecha** abril 24 de 2006

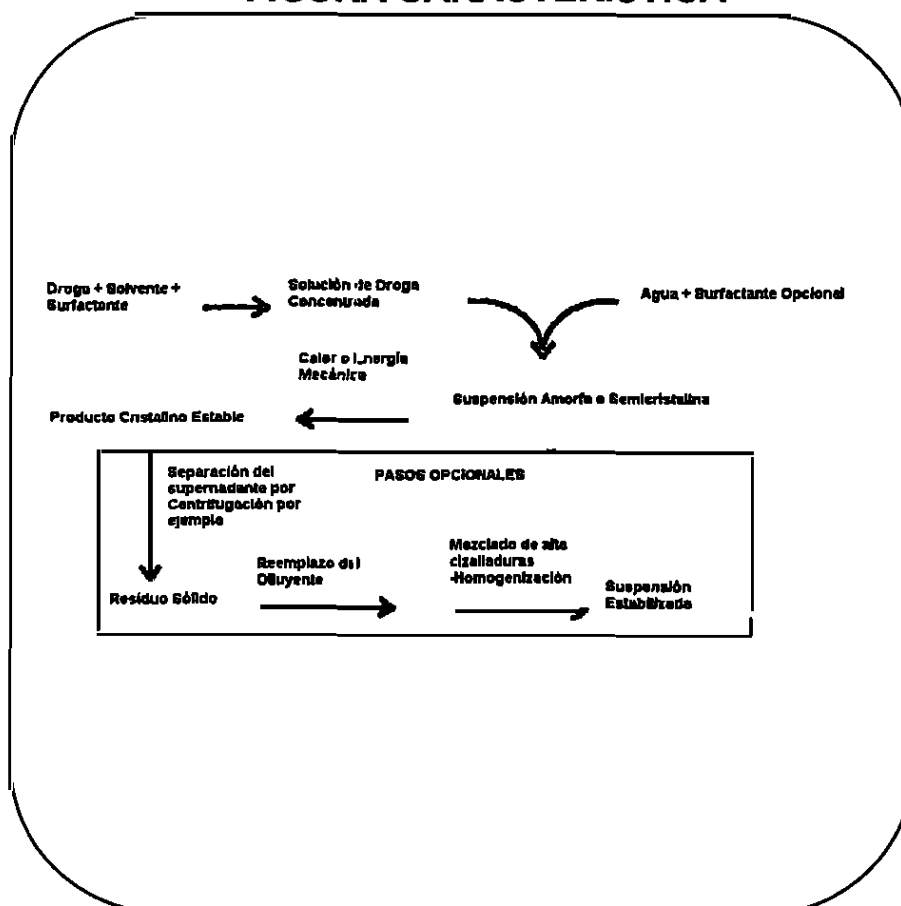
10

Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 463 000 oo
- ☐ Comprobante de pago por reivindicacion de prioridad
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional (Resumen, descripción reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción reivindicaciones dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso documento que acredite la licencia o autorizacion de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indigenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☒ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invencion de esta solicitud
- ☒ Otros VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesion de la patente

NOMBRE

EMILIO FERRERO

FIRMA

C C 438 019 de Usaquén T P 31 929

DOCUMENTOS ANEXOS

- 1 ☒ Publicación Internacional WO 2005/046671 A1
- 2 ☒ **Forma PCT/ISA/210** Informe de Búsqueda Internacional
- 3 ☒ Extracto de publicacion

05813
08613

COLOMBIA 13/11/93
Manasop - 7/11/93
31/01/2

PODER

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros) abajo firmado(s)
BAXTER INTERNATIONAL INC.

domiciliado(s) en
Deerfield, Illinois, E.E.U.U.

por el presente conferimos poder a
GERMAN CAVELIER tpa 832
GONZALO PERDOMO tpa 831
EMILIO FERRERO tpa 31929
LUZ CLEMENCIA DE PAEZ tpa 23555
Domiciliados en la Carrera 4a No 72-35,
Bogotá, Colombia

y para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial, a cuyo efecto autorizamos a los dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales, el registro de marcas de fábrica, colectivas y de servicio, el depósito de nombres comerciales y enseñas, su renovación traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria, y el registro de licencias de uso de esos derechos b) las acciones de oposición, cancelación, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias y en general los juicios civiles penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos acciones y juicios que promovamos o se nos promuevan, y c) para que en todos los asuntos arriba determinados puedan sustituir este mandato, transigir, desistir, cancelar, recibir renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extrajudiciales

Dado y firmado hoy Junio 16 de 1993
en Deerfield, Illinois 60015 E E U U

I (we), the undersigned BAXTER INTERNATIONAL INC ,

of Deerfield, United States of America,

hereby grant to Messrs Cavelier,
GERMAN CAVELIER, GONZALO PERDOMO,
EMILIO FERRERO, LUZ CLEMENCIA DE
PAEZ

Professional Cards Numbers 832, 831, 31929,
and 23555 respectively Domiciled at
Carrera 4a No 72-35, Bogotá, Colombia

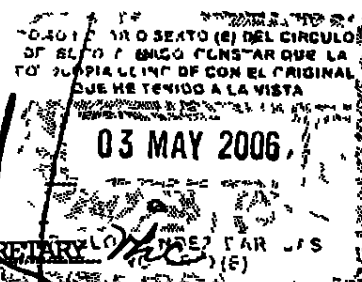
and to obtain the protection of my (our) industrial property for which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, in all matters concerning the following a) Obtainment of patents, models and designs, the registration of trademarks collective and service marks, the deposit of commercial names and ensigns, its renewal assignment change of name or domicile, voluntary cancellation and the registration of licenses of use of the above rights, b) actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights actions and suits instituted by me (us) or against me (us), and that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney compromise, desist, cancel, receive, renounce, accept notifications and appoint attorneys-in fact in or out of Court

Given and signed this JUNE 16, 1993
in DEERFIELD, ILLINOIS 60015 USA

BAXTER INTERNATIONAL INC.

A. Gerard Sieck
A. GERARD SIECK, ASSISTANT SECRETARY

Bernarda R de Martínez
Traductora e Interprete Oficial
Resolución 643 Minjusticia 1994



NOTA: EL CUAL DEBE SER
FIRMADO POR EL DUEÑO DEL CIRCULO
DE FUTBOL, QUE DEBE FIRMAR QUE LA
COPIA QUE SE DA CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A VISTA

03 MAY 2006

PABLO MENDEZ RAMOS
NOTARIO (E)



Consulado General de Colombia

122 SOUTH MICHIGAN AVENUE SUITE 1441
CHICAGO ILLINOIS 60603

TEL (312) 341 0658 FAX (312) 341 1980

No 1610, 93

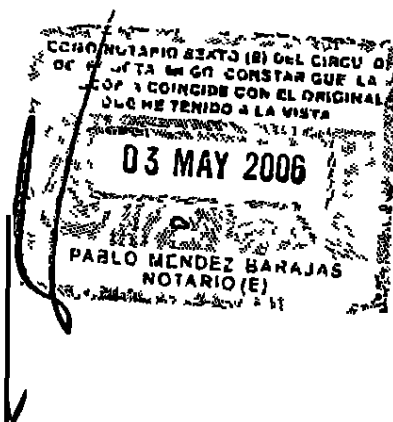
Chicago, JUN 29 1993

El suscrito Cónsul General de Colombia, CERTIFICA que el señor Juda Samy Hest quien autoriza el presente documento, ejerce legalmente, en la fecha allí expresada, las funciones de Secretaria del Consulado y que la firma y sello que en el documento aparecen como suyos son los que usa y acostumbra en sus actos oficiales, de acuerdo con el registro que se lleva en este consulado

El Cónsul no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE
US\$ 6.00 (Seis dólares)
PAGADO DEFICITARIO DE LA
FONDO FOMATARIO

Maria Teresa Gonzalez
MARIA TERESA GONZALEZ
Encargada de Funciones Consulares



Bernarda R de Martinez
Traductora e Interprete Oficial
Resolución 683 Minjusticia 1994

No. 481652

Martíresca González

05 AGO 1999

[Signature]



CERTIFICADO NOTARIAL (CORPORACION)

Estados Unidos de América
Condado de Lake
Estado de Illinois ss
May 16 de Junio de 19 93
compareció A. Gerard Sieck a quien
conozco quien debidamente juramentado declaro
que él es SubSecretaria
de BAXTER INTERNATIONAL INC.
la compañía nombrada en el documento que ante
esta una corporación organizada conforme a las
leyes del Estado de Delaware
domiciliado en la ciudad de Deerfield
Estado de Illinois, E.E.U.U. y
legalmente constituido para un periodo de dura-
cion que aun no ha terminado, que el declarante
esta autorizado por dicha compañía para conferir
este poder y que el sello estampado por él al pie de
al poder, en nombre y en representación de la ex-
presada compañía es el sello social de ella
El suscrito Notario ha visto los estatutos de incor-
poración firmados en Deerfield
Estado de Illinois con fecha
oct. 19/31 y certifica que de conformidad con
la legislación de dicho Estado la anterior declara-
ción juramentada es prueba suficiente de que los
hechos sobre que ella versa son ciertos o verdade-
ros de lo cual da fe

Notary Public (Notario Publico)

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

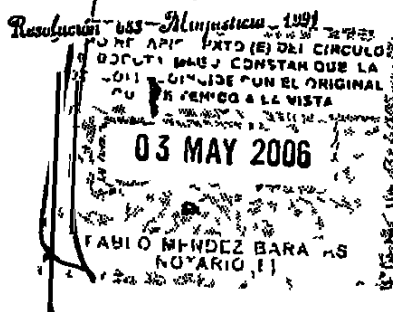
United States of America
State of ILLINOIS ss
County of LAKE
On this 16th day of June, 19 93
personally came A. GERARD SIECK
known to me who being by me duly sworn did de-
pose and say that he is the ASSISTANT SECRETARY
of BAXTER INTERNATIONAL INC.
the Company named within a Corporation orga-
nized under the laws of the State of DELAWARE
domiciled at the City of DEERFIELD
State of ILLINOIS
of USA and legally constituted for a period of te-
nure not yet expired, that the deponent is authori-
zed by said Company to confer this Power of
Attorney and that the seal affixed hereunto by the
deponent in the name and on behalf of said Cor-
poration is the Corporate seal thereof

The undersigned Notary Public has seen the Ar-
ticles of Incorporation of said Corporation executed
at DEERFIELD State of ILLINOIS
under date of OCT. 19, 1931 and hereby certifies
that under the laws of said State the foregoing ac-
nowledgment is a sufficient proof that the facts
therein contained are true, which the attests

Mary H. Cross
MARY H. CROSS, NOTARY PUBLIC



Bernardo R. de Martinez
Traductora e Interprete Oficial



TRADUCCION OFICIAL No 8 90 93 de un documento escrito en ingles el cual para su identificacion se sella con el sello del Traductor al mismo tiempo que la presente Esta traduccion ha sido preparada por Bernarda R de Martinez, Traductora Oficial debidamente reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores y aprobada por el Ministerio de Justicia de Colombia mediante Resolucion No 683 de 1991

(Se traducen sellos y legalizaciones que aparecen a continuacion de un Poder escrito en ingles y español otorgado por la sociedad **BAXTER INTERNATIONAL INC.**, a favor de los Doctores **GERMAN CAVELIER, GONZALO PERDOMO, EMILIO FERRERO Y LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**)

Dado y firmado hoy 16 de junio de 1993, en Deerfield, Illinois, Estados Unidos de America, por el señor **A GERARD SIECK, ASSISTANT SECRETARY**

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD) en ingles y español referente a la existencia y representacion de la sociedad **INTERNATIONAL INC.**, expedido en la Ciudad de Deerfield, Estado de Illinois, Estados Unidos de America, el 19 de octubre de 1993

(Firmado), **Mary H Cross, Notario Público**

(Sello Notarial en tinta que dice) "SELLO OFICIAL" **Mary Cross, Notario Publico, Estado de Illinois Mi Comision Expira 6/26/94**

NOTARIA CEXTA
BAXTER
BOGOTA
AUTENTICACIONES

CERTIFICACION

LINDA IANUZI HESS

RECIBI EN MI OFICINA EL LATO (B) DEL CIRCULO DE BUREAU DE LOS CONSTATOS DE LA FOTOCOPIA AC INCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
03 MAY 2006
PABLO MENDEZ BARRAJAS
NOTARIO (E)

ESCRIBANO DEL CONDADO LAKE

18 NORTH COUNTY STREET

WAUKEGAN, ILLINOIS 60085

Servicios Generales 708/360-3610 * Elecciones 708/360-6628 *

Prorrogas y Redenciones de impuestos 708/360-6657

ESTADO DE ILLINOIS)

) SS

CONDADO DE LAKE)

CERIFICADO DE AUTORIDAD

Yo, Linda Ianuzi Hess, Escribano de Condado del condado de Lake en el Estado de Illinois, cuya oficina es una oficina de registro que tiene un sello, certifico que Mary H. Cross quien ha notariado el documento anterior o adjunto, era el 26 de junio de 1990, Notario Público nombrado en y para el Condado de Lake, Estado de Illinois y como tal, todas sus certificaciones deben ser reconocidas En testimonio de lo cual he firmado y estampado el sello de esta oficina hoy junio 17 de 1993

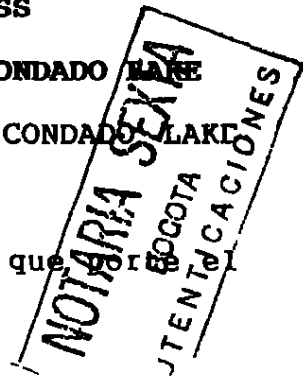
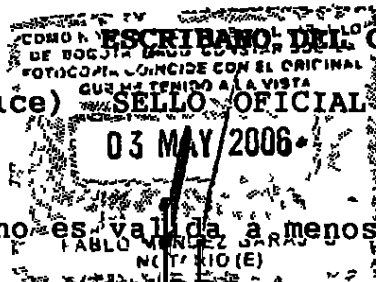
(Firmado) LINDA IANUZI HESS

(Sello seco en relieve que dice)
ILLINOIS

(Impreso) Esta certificacion no es valida a menos que se
sello del Condado Lake, Illinois

(Impreso) 113-208 12/89

(En español) Legalizacion de la firma que antecede hecha por el CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN CHICAGO, ILLINOIS, bajo el No. 1610/93, de fecha junio 29 de 1993, firmada por la señora Maria Teresa Gonzalez, Encargada de Funciones Consulares



Pagados Impuesto de Timbre y Derechos Consulares por valor de veintiun dolares

(Sello Consular en tinta que dice) CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA * CHICAGO *

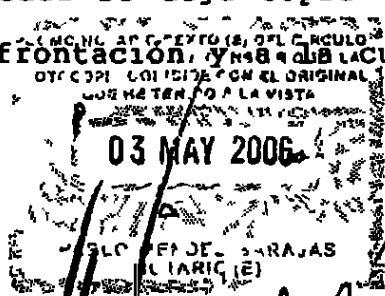
Legalizacion de la firma que antecede hecha por el MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE COLOMBIA bajo el No 481652 de fecha 5 de agosto de 1993, firmada por el señor Nelson Sanchez Torres, Jefe Legalizaciones

Es traduccion fiel y completa de la cual se deja copia en los archivos de esta oficina para su confrontación, y la cual me remito

Bogota, agosto 9 de 1993

COLO 5873-702-001-4

BRM-27



Bernarda R. de Martínez

Bernarda R. de Martínez
Traductora e Interprete Oficial
Resolución 683 Ministros 1991

NOTARIA SEXTA
BOGOTA
AUTENTICACIONES

No 487876
MINISTERIO RELACIONES EXTERIORES
AREA DE NEGOCIOS GENERALES
HACE CONSIAR
Que el señor (a)
BERNARDA R. DE MARTINEZ
Cuya firma aparece al 2º de presente documento descumpliera en esa fecha las funciones allí indicadas
Su sede de Bogotá, D.C.
12 AGO 1993
Firma de Jefe de Legalizaciones no es responsabilidad alguna por el contenido de este documento.
CHEZ TORRES
Jefe de Legalizaciones

COMO NOTARIO SEXTO ENCARGADO DE SANTAFE DE BOGOTA CERTIFICAR QUE LA FIRMA PUESTA EN ESTE DOCUMENTO
[Signature]
C No _____
con la registrada en esta Notaría.
SANTAFE DE BOGOTA D. C.
coincide



10 AGO. 1993

11

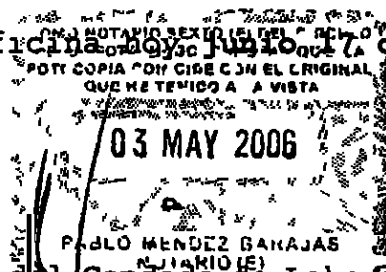
TRADUCCIÓN OFICIAL No 08 03/00 preparada por María Elvira Martelo, Traductora Oficial aprobada por el Ministerio de Justicia mediante Resolución 2879 de 1995 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores

MODIFICACIÓN A LA TRADUCCIÓN OFICIAL No 8 90 93 REALIZADA POR BERNARDA R DE MARTÍNEZ CON FECHA 9 DE AGOSTO DE 1993

Se modifica específicamente lo que se subraya en la siguiente transcripción de la parte de la traducción que corresponde al CERTIFICADO DE AUTORIDAD otorgado por el Escribano del Condado de Lake, la cual dice así "Yo, Linda Ianuzi Hess, Escribano de Condado del Condado de Lake en el Estado de Illinois, cuya oficina es una oficina de registro que tiene un sello, certifico que Mary H Cross quien ha notariado el documento anterior o adjunto, era el 26 de junio de 1990 Notario Público nombrado en y para todo el Condado de Lake, Estado de Illinois y como tal, todas sus certificaciones deben ser reconocidas En testimonio de lo cual, he firmado y estampado el sello de esta oficina hoy junio 17 de 1993"

PARA QUE AHORA SE LEA ASÍ

Yo, Linda Ianuzi Hess, Escribano de Condado del Condado de Lake en el Estado de Illinois, cuya oficina es una oficina de registro que tiene un sello, certifico que Mary H Cross, quien ha notariado el documento anterior o adjunto, fue nombrada el 26 de junio de 1990 un Notario Público en y para todo el Condado de Lake, Estado de Illinois y como tal, a todas sus certificaciones deben ser reconocidas En testimonio de lo cual, he firmado y estampado el sello de esta oficina hoy junio 17 de 1993

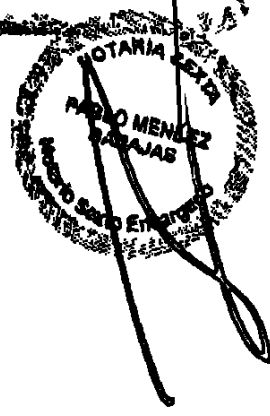


2

CONCORDIA DEL TERCIO SEXTO DEL CIRCULO
 DE LA NOTARIA, HAGO CONSTAR QUE LA FOLIA DE
 EL CIRCULO DE LA NOTARIA

CONCORDIA DEL TERCIO SEXTO DEL CIRCULO DE LA NOTARIA
 EL (14.03) EN ESTA NOTARIA

SANTAFÉ DE BOGOTÁ 14 MAR 2007



EXEMPLAR
 21.000 DE REF. VOTACION

3330

62 11 11 2007

CONCORDIA DEL TERCIO SEXTO DEL CIRCULO
 DE LA NOTARIA, HAGO CONSTAR QUE LA FOLIA DE
 EL CIRCULO DE LA NOTARIA
 QUE HE TENIDO A LA VISTA
 03 MAY 2016
 PABLO MENDEZ BARRIOS
 NOTARIO

TELEFAX (57) (1) 3358850
TELEX 45479 CAVE CO
(23) 740 2175 CAVE UC

CAVELIER

ABOGADOS

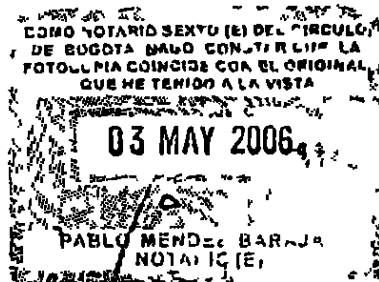
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4ª No 72 35
BOGOTA 8 COLOMBIA

CORREO ELECTRONICO MUNDIAL CAVE
TELEFONO (57) (1) 2120100
CABLES CAVELEYES

Señor Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E S D

Poderdante BAXTER INTERNATIONAL INC

Poder conferido el 16-06-93



Yo, GERMAN CAVELIER, obrando en mi calidad de apoderado principal del poderdante arriba mencionado atentamente manifiesto a Usted que sustituyo el poder conferido en el doctor EMILIO FERRERO, Abogado con Tarjeta Profesional No 31 929, con todas las facultades que me fueron conferidas

Hago la anterior sustitucion conforme al articulo 66 delCodigo de Procedimiento Civil ya que los otros sustitutos faltan en este momento

Señor Jefe,

GERMAN CAVELIER

T P A No 832

C C No 2 877 924 de Bogota

Acepto

EMILIO FERRERO

T P A No 31 929

C C No 438 019 de Usaquen

2e-780-2

NOTARIA SEXTA DE BOGOTA

Y PRESENTACION DE PERSONAS 07 ABR 1994

NOTARIO DE BOGOTA

PERSONAS

que

458019

287 927

democratico (n) en el p...
enter do del m...
En constancia se firma es a...

NOTARIA SEXTA
BOGOTA
AUTENTICACIONES

NOTARIO SEXTO (E) DEL CIRCULO
DE BOGOTA DAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA
03 MAY 2006
PABLO MENEZ BARAJAS
NOTARIO (E)

Emilio Ferrer



(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



INTERNATIONAL BUREAU OF PATENT COOPERATION
358, RUE DE LA PATENTE
CH-1202 GENEVE 2
SWITZERLAND
TEL: (41) 22 71 72 11
FAX: (41) 22 71 72 12
E-MAIL: PCT@WIPO.ORG

(43) International Publication Date
26 May 2005 (26 05 2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/046671 A1

(51) International Patent Classification⁷ A61K 31/337
9/133

(21) International Application Number
PCT/US2004/036604

(22) International Filing Date
3 November 2004 (03 11 2004)

(25) Filing Language English

(26) Publication Language English

(30) Priority Data
10/703 395 7 November 2003 (07 11 2003) US

(71) Applicant (for all designated States except US) BAXTER
INTERNATIONAL INC [US/US] One Baxter Parkway
Deerfield IL 60015 (US)

(72) Inventors and

(75) Inventors/Applicants (for US only) CHAUBAL, Ma
hesh [IN/US] 915 N Countryside Drive #203 Palatine IL
60067 (US) WERLING, Jane [US/US] 605 South High
land Avenue Arlington Heights IL 60005 (US) RABI
NOW, Barrett E. [US/US] 9119 Tripp Avenue Skokie
IL 60076 (US)

(74) Agents MAYO Michael C et al Baxter International
Inc One Baxter Parkway Deerfield IL 60015 (US)

(81) Designated States (unless otherwise indicated for every
kind of national protection available) AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW

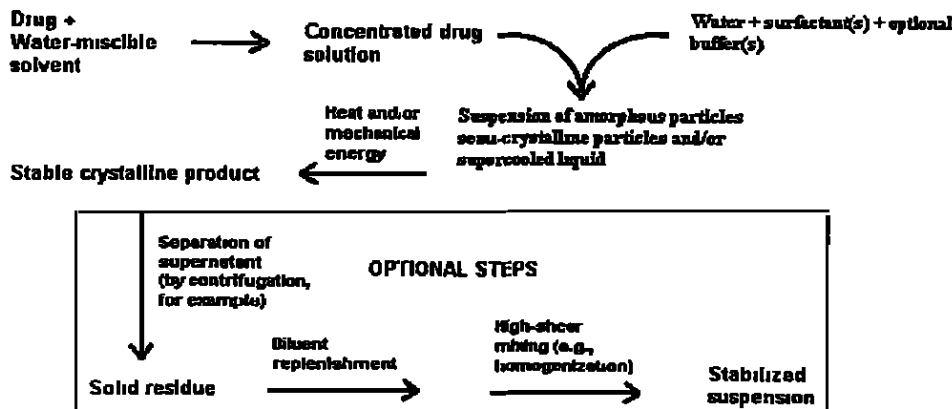
(84) Designated States (unless otherwise indicated for every
kind of regional protection available) ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CI, CG, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

Published

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

For two letter codes and other abbreviations refer to the *Guid
ance Notes on Codes and Abbreviations* appearing at the begin
ning of each regular issue of the *PCT Gazette*

(54) Title METHOD FOR PREPARING SUBMICRON PARTICLES OF PACLITAXEL



(57) Abstract The present invention is concerned with the formation of submicron particles of an antineoplastic agent, particularly paclitaxel, by precipitating the antineoplastic agent in an aqueous medium to form a pre suspension followed by homogenization. Surfactants with phospholipids conjugated with a water soluble or hydrophilic polymer such as PEG are used as coating for the particles. The particles produced generally have an average particle size of less than about 1000 nm and are not rapidly soluble.

WO 2005/046671 A1

15

METHOD FOR PREPARING SUBMICRON PARTICLES OF PACLITAXEL

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

This application is a continuation-in-part of application serial no 10/390,333 filed on March 17, 2003, which is a continuation-in-part of application serial no 10/246,802 filed on September 17, 2002, which is a continuation-in-part of application serial no 10/035,821 filed on October 19, 2001, which is a continuation-in-part of application serial no 09/953,979 filed September 17, 2001 which is a continuation-in-part of application serial no 09/874,637 filed on June 5, 2001, which claims priority from provisional application serial no 60/258,160 filed December 22, 2000. All of the above-mentioned applications are incorporated herein by reference and made a part hereof.

FEDERALLY SPONSORED RESEARCH OR DEVELOPMENT

Not Applicable

BACKGROUND OF THE INVENTION

Technical Field

The present invention is concerned with the formation of submicron particles of an antineoplastic agent, particularly paclitaxel or its derivative compounds, by precipitating the antineoplastic agent in an aqueous medium to form a pre-suspension followed by homogenization. Surfactants with phospholipids conjugated with a water soluble or hydrophilic polymer, such as polyethylene glycol (PEG), are used as coating for the particles. The particles produced generally have an average particle size of less than about 1000 nm and are not rapidly soluble.

Background Art

There are an ever-increasing number of organic compounds being formulated for therapeutic or diagnostic effects that are poorly soluble or insoluble in aqueous solutions. Such drugs provide challenges to delivering them by the administrative

routes detailed above. Compounds that are insoluble in water can have significant benefits when formulated as a stable suspension of sub-micron particles. Accurate control of particle size is essential for safe and efficacious use of these formulations. Particles must be less than seven microns in diameter to safely pass through capillaries without causing emboli (Allen et al, 1987, Davis and Taube, 1978, Schroeder et al, 1978, Yokel et al, 1981). One solution to this problem is the production of small particles of the insoluble drug candidate and the creation of a microparticulate or nanoparticulate suspension. In this way, drugs that were previously unable to be formulated in an aqueous based system can be made suitable for intravenous administration. Suitability for intravenous administration includes small particle size ($<7\text{ }\mu\text{m}$), low toxicity (as from toxic formulation components or residual solvents), and bioavailability of the drug particles after administration.

Preparations of small particles of water insoluble drugs may also be suitable for oral, pulmonary, topical, ophthalmic, nasal, buccal, rectal, vaginal, transdermal administration, or other routes of administration. The small size of the particles improves the dissolution rate of the drug, and hence improving its bioavailability and potentially its toxicity profiles. When administered by these routes, it may be desirable to have particle size in the range of 5 to 100 μm , depending on the route of administration, formulation, solubility, and bioavailability of the drug. For example, for oral administration, it is desirable to have a particle size of less than about 7 μm . For pulmonary administration, the particles are preferably less than about 10 μm in size.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention provides methods for preparing and compositions of submicron particles of an antineoplastic agent, particularly paclitaxel or its derivative compounds. The solubility of the antineoplastic agent is greater in a water-miscible first solvent than in a second solvent, which is aqueous. The methods include (i) mixing into the water-miscible first solvent or the second solvent or both the water-miscible first solvent and the second solvent a first surface modifier comprising a phospholipid conjugated with a water-soluble or hydrophilic polymer, (ii) dissolving the antineoplastic agent in the water-miscible first solvent to form a solution, (iii) mixing the solution with the second solvent to define a pre-suspension of particles, and

(iv) homogenizing the pre-suspension to form a suspension of particles having an average effective particle size of less than about 1 μm . Preferably, the particles have an average effective particle size of less than about 400 nm, more preferably less than 200 nm, and most preferably, less than about 150 nm.

5 In a preferred embodiment, the water-soluble or hydrophilic polymer conjugating to the phospholipid is polyethylene glycol (PEG). Optionally, a second surface modifier can be mixed into the water-miscible first solvent or the second solvent or both the water-miscible first solvent and the second solvent. A preferred second surface modifier is poloxamer.

10 In an embodiment the homogenization is carried out at about 30°C or greater.

The methods can further include removing the water-miscible first solvent or the entire liquid phase from the suspension. In a preferred embodiment, the water-miscible first solvent is removed simultaneously with homogenization.

The method can also further include sterilizing the composition.

15 In a preferred embodiment, the particles are not soluble.

In another preferred embodiment, the particles do not aggregate under stressed conditions or upon storage.

These and other aspects and attributes of the present invention will be discussed with reference to the following drawings and accompanying specification.

20 BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1 shows a diagrammatic representation of one method of the present invention,

FIG. 2 shows a diagrammatic representation of another method of the present invention,

25 FIG. 3 shows amorphous particles prior to homogenization,

FIG. 4 shows particles after annealing by homogenization,

FIG. 5 is an X-Ray diffractogram of microprecipitated itraconazole with polyethylene glycol-660 12-hydroxystearate before and after homogenization,

FIG. 6 shows Carbamazepine crystals before homogenization,

30 FIG. 7 shows Carbamazepine microparticulate after homogenization (Avestin C-50),

FIG 8 is a diagram illustrating the Microprecipitation Process for Prednisolone,

FIG 9 is a photomicrograph of prednisolone suspension before homogenization,

5 FIG 10 is a photomicrograph of prednisolone suspension after homogenization,

FIG 11 illustrates a comparison of size distributions of nanosuspensions (this invention) and a commercial fat emulsion,

FIG 12 shows the X-ray powder diffraction patterns for raw material itraconazole (top) and SMP-2-PRE (bottom) The raw material pattern has been shifted upward for clarity,

FIG 13a shows the DSC trace for raw material itraconazole,

FIG 13b shows the DSC trace for SMP-2-PRE,

FIG 14 illustrates the DSC trace for SMP-2-PRE showing the melt of the less stable polymorph upon heating to 160°C, a recrystallization event upon cooling, and the subsequent melting of the more stable polymorph upon reheating to 180°C,

FIG 15 illustrates a comparison of SMP-2-PRE samples after homogenization Solid line = sample seeded with raw material itraconazole Dashed line = unseeded sample The solid line has been shifted by 1 W/g for clarity,

20 FIG 16 illustrates the effect of seeding during precipitation Dashed line = unseeded sample, solid line = sample seeded with raw material itraconazole The unseeded trace (dashed line) has been shifted upward by 1.5 W/g for clarity, and

FIG 17 illustrates the effect of seeding the drug concentrate through aging Top x-ray diffraction pattern is for crystals prepared from fresh drug concentrate, and is consistent with the stable polymorph (see FIG 12, top) Bottom pattern is for crystals prepared from aged (seeded) drug concentrate, and is consistent with the metastable polymorph (see FIG 12, bottom) The top pattern has been shifted upward for clarity

FIG 18 shows that the dissolution of two formulations of submicron paclitaxel particles,

FIG 19 shows the effect of various stressed conditions on the particle size of submicron particles of paclitaxel, and

FIG 20 shows the effect of storage on the particle size of submicron particles of paclitaxel

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention is susceptible of embodiments in many different forms
5 Preferred embodiments of the invention are disclosed with the understanding that the present disclosure is to be considered as exemplifications of the principles of the invention and are not intended to limit the broad aspects of the invention to the embodiments illustrated

The present invention provides compositions and methods for forming small
10 particles of an organic compound. An organic compound for use in the process of this invention is any organic chemical entity whose solubility decreases from one solvent to another. This organic compound might be a pharmaceutically active compound, which can be selected from therapeutic agents, diagnostic agents, cosmetics, nutritional supplements, and pesticides

15 The therapeutic agents can be selected from a variety of known pharmaceuticals such as, but are not limited to analgesics anesthetics, analeptics, adrenergic agents, adrenergic blocking agents, adrenolytics, adrenocorticoids, adrenomimetics, anticholinergic agents, anticholinesterases, anticonvulsants, alkylating agents, alkaloids, allosteric inhibitors, anabolic steroids, anorexiant,
20 antacids, antidiarrheals, antidotes, antifolics, antipyretics, antirheumatic agents, psychotherapeutic agents, neural blocking agents, anti-inflammatory agents, antihelmintics, anti-arrhythmic agents, antibiotics, anticoagulants antidepressants, antidiabetic agents, antiepileptics, antifungals, antihistamines, antihypertensive agents, antimuscarinic agents, antimycobacterial agents, antimalarials, antiseptics,
25 antineoplastic agents, antiprotozoal agents, immunosuppressants, immunostimulants, antithyroid agents, antiviral agents, anxiolytic sedatives, astringents, beta-adrenoceptor blocking agents, contrast media, corticosteroids, cough suppressants, diagnostic agents, diagnostic imaging agents, diuretics, dopaminergics, hemostatics, hematological agents, hemoglobin modifiers, hormones, hypnotics, immunological
30 agents, antihyperlipidemic and other lipid regulating agents, muscarinics, muscle relaxants, parasympathomimetics, parathyroid calcitonin, prostaglandins, radio-pharmaceuticals sedatives, sex hormones, anti-allergic agents, stimulants,

sympathomimetics, thyroid agents, vasodilators, vaccines, vitamins, and xanthines. Antineoplastic, or anticancer agents, include but are not limited to paclitaxel and derivative compounds, and other antineoplastics selected from the group consisting of alkaloids, antimetabolites, enzyme inhibitors, alkylating agents and antibiotics. The therapeutic agent can also be a biologic, which includes but is not limited to proteins, polypeptides, carbohydrates, polynucleotides, and nucleic acids. The protein can be an antibody, which can be polyclonal or monoclonal.

Diagnostic agents include the x-ray imaging agents and contrast media. Examples of x-ray imaging agents include WIN-8883 (ethyl 3,5-diacetamido-2,4,6-triodobenzoate) also known as the ethyl ester of diatrizoic acid (EEDA), WIN 67722, i.e., (6-ethoxy-6-oxohexyl-3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoate, ethyl-2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodo-benzoyloxy) butyrate (WIN 16318), ethyl diatrizoxyacetate (WIN 12901), ethyl 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoyloxy)propionate (WIN 16923), N-ethyl 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoyloxy)acetamide (WIN 65312), isopropyl 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoyloxy)acetamide (WIN 12855), diethyl 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoyloxy)malonate (WIN 67721), ethyl 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoyloxy)phenylacetate (WIN 67585), propanedioic acid, [[3,5-bis(acetylamino)-2,4,5-triodobenzoyl]oxy]bis(1-methyl)ester (WIN 68165), and benzoic acid, 3,5-bis(acetylamino)-2,4,6-triodo-4-(ethyl-3-ethoxy-2-butenate) ester (WIN 68209). Preferred contrast agents include those that are expected to disintegrate relatively rapidly under physiological conditions, thus minimizing any particle associated inflammatory response. Disintegration may result from enzymatic hydrolysis, solubilization of carboxylic acids at physiological pH, or other mechanisms. Thus, poorly soluble iodinated carboxylic acids such as iodipamide, diatrizoic acid, and metrizoic acid, along with hydrolytically labile iodinated species such as WIN 67721, WIN 12901, WIN 68165, and WIN 68209 or others may be preferred.

Other contrast media include, but are not limited to, particulate preparations of magnetic resonance imaging aids such as gadolinium chelates, or other paramagnetic contrast agents. Examples of such compounds are gadopentetate dimeglumine (Magnevist®) and gadoteridol (Prohance®).

A description of these classes of therapeutic agents and diagnostic agents and a listing of species within each class can be found in Martindale The Extra Pharmacopoeia, Twenty-ninth Edition, The Pharmaceutical Press, London, 1989 which is incorporated herein by reference and made a part hereof The therapeutic agents and diagnostic agents are commercially available and/or can be prepared by techniques known in the art.

A cosmetic agent is any active ingredient capable of having a cosmetic activity Examples of these active ingredients can be, *inter alia*, emollients, humectants, free radical-inhibiting agents, anti-inflammatories, vitamins, depigmenting agents, anti-acne agents, antiseborrheics, keratolytics, slimming agents, skin coloring agents and sunscreen agents, and in particular linoleic acid, retinol, retinoic acid, ascorbic acid alkyl esters, polyunsaturated fatty acids, nicotinic esters, tocopherol nicotinate, unsaponifiables of rice, soybean or shea, ceramides, hydroxy acids such as glycolic acid, selenium derivatives, antioxidants, beta-carotene, gamma-oryzanol and stearyl glycerate The cosmetics are commercially available and/or can be prepared by techniques known in the art

Examples of nutritional supplements contemplated for use in the practice of the present invention include, but are not limited to, proteins, carbohydrates, water-soluble vitamins (e g , vitamin C, B-complex vitamins, and the like), fat-soluble vitamins (e g , vitamins A, D, E, K, and the like), and herbal extracts The nutritional supplements are commercially available and/or can be prepared by techniques known in the art

The term pesticide is understood to encompass herbicides, insecticides, acaricides, nematocides, ectoparasiticides and fungicides Examples of compound classes to which the pesticide in the present invention may belong include ureas, triazines, triazoles, carbamates, phosphoric acid esters, dinitroanilines, morpholines, acylalanines, pyrethroids, benzoic acid esters, diphenylethers and polycyclic halogenated hydrocarbons Specific examples of pesticides in each of these classes are listed in Pesticide Manual, 9th Edition, British Crop Protection Council The pesticides are commercially available and/or can be prepared by techniques known in the art

Preferably the organic compound or the pharmaceutically active compound is poorly water-soluble What is meant by "poorly water soluble" is a solubility of the

compound in water of less than about 10 mg/mL, and preferably less than 1 mg/mL. These poorly water-soluble agents are most suitable for aqueous suspension preparations since there are limited alternatives of formulating these agents in an aqueous medium.

5 The present invention can also be practiced with water-soluble pharmaceutically active compounds, by entrapping these compounds in a solid carrier matrix (for example, polylactide-polyglycolide copolymer, albumin, starch), or by encapsulating these compounds in a surrounding vesicle that is impermeable to the pharmaceutical compound. This encapsulating vesicle can be a polymeric coating
10 such as polyacrylate. Further, the small particles prepared from these water soluble pharmaceutical agents can be modified to improve chemical stability and control the pharmacokinetic properties of the agents by controlling the release of the agents from the particles. Examples of water-soluble pharmaceutical agents include, but are not limited to, simple organic compounds, proteins, peptides, nucleotides,
15 oligonucleotides, and carbohydrates.

 The particles of the present invention have an average effective particle size of generally less than about 100 μm as measured by dynamic light scattering methods, e.g., photocalibration spectroscopy, laser diffraction, low-angle laser light scattering (LALLS), medium-angle laser light scattering (MALLS), light obscuration methods
20 (Coulter method, for example), rheology, or microscopy (light or electron). However, the particles can be prepared in a wide range of sizes, such as from about 20 μm to about 10 nm, from about 10 μm to about 10 nm, from about 2 μm to about 10 nm, from about 1 μm to about 10 nm, from about 400 nm to about 50 nm, from about 200 nm to about 50 nm or any range or combination of ranges therein. The preferred
25 average effective particle size depends on factors such as the intended route of administration, formulation, solubility, toxicity and bioavailability of the compound.

 To be suitable for parenteral administration, the particles preferably have an average effective particle size of less than about 7 μm , and more preferably less than about 2 μm or any range or combination of ranges therein. Parenteral administration
30 includes intravenous, intra-arterial, intrathecal, intraperitoneal, intraocular, intra-articular, intradural, intraventricular, intrapericardial, intramuscular, intradermal or subcutaneous injection.

Particles sizes for oral dosage forms can be in excess of 2 μm . The particles can range in size up to about 100 μm , provided that the particles have sufficient bioavailability and other characteristics of an oral dosage form. Oral dosage forms include tablets, capsules, caplets, soft and hard gel capsules, or other delivery vehicle for delivering a drug by oral administration.

The present invention is further suitable for providing particles of the organic compound in a form suitable for pulmonary administration. Particles sizes for pulmonary dosage forms can be in excess of 500 nm and typically less than about 10 μm . The particles in the suspension can be aerosolized and administered by a nebulizer for pulmonary administration. Alternatively, the particles can be administered as dry powder by a dry powder inhaler after removing the liquid phase from the suspension, or the dry powder can be resuspended in a non-aqueous propellant for administration by a metered dose inhaler. An example of a suitable propellant is a hydrofluorocarbon (HFC) such as HFC-134a (1,1,1,2-tetrafluoroethane) and HFC-227ea (1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropane). Unlike chlorofluorocarbons (CFC's), HFC's exhibit little or no ozone depletion potential.

Dosage forms for other routes of delivery, such as nasal, topical, ophthalmic, nasal, buccal, rectal, vaginal, transdermal and the like can also be formulated from the particles made from the present invention.

The processes for preparing the particles can be separated into four general categories. Each of the categories of processes share the steps of (1) dissolving an organic compound in a water miscible first solvent to create a first solution, (2) mixing the first solution with a second solvent of water to precipitate the organic compound to create a pre-suspension, and (3) adding energy to the presuspension in the form of high-shear mixing or heat, or a combination of both, to provide a stable form of the organic compound having the desired size ranges defined above. The mixing steps and the adding energy step can be carried out in consecutive steps or simultaneously.

The categories of processes are distinguished based upon the physical properties of the organic compound as determined through x-ray diffraction studies, differential scanning calorimetry (DSC) studies, or other suitable study conducted prior to the energy-addition step and after the energy-addition step. In the first process category, prior to the energy-addition step the organic compound in the presuspension

takes an amorphous form, a semi-crystalline form or a supercooled liquid form and has an average effective particle size. After the energy-addition step the organic compound is in a crystalline form having an average effective particle size essentially the same or less than that of the presuspension.

5 In the second process category, prior to the energy-addition step the organic compound is in a crystalline form and has an average effective particle size. After the energy-addition step the organic compound is in a crystalline form having essentially the same average effective particle size as prior to the energy-addition step but the crystals after the energy-addition step are less likely to aggregate.

10 The lower tendency of the organic compound to aggregate is observed by laser dynamic light scattering and light microscopy.

In the third process category, prior to the energy-addition step the organic compound is in a crystalline form that is friable and has an average effective particle size. What is meant by the term "friable" is that the particles are fragile and are more easily broken down into smaller particles. After the energy-addition step the organic compound is in a crystalline form having an average effective particle size smaller than the crystals of the pre-suspension. By taking the steps necessary to place the organic compound in a crystalline form that is friable, the subsequent energy-addition step can be carried out more quickly and efficiently when compared to an organic compound in a less friable crystalline morphology.

20 In the fourth process category, the first solution and second solvent are simultaneously subjected to the energy-addition step. Thus, the physical properties of the organic compound before and after the energy addition step were not measured.

The energy-addition step can be carried out in any fashion wherein the presuspension or the first solution and second solvent are exposed to cavitation, shearing or impact forces. In one preferred form of the invention, the energy-addition step is an annealing step. Annealing is defined in this invention as the process of converting matter that is thermodynamically unstable into a more stable form by single or repeated application of energy (direct heat or mechanical stress), followed by thermal relaxation. This lowering of energy may be achieved by conversion of the solid form from a less ordered to a more ordered lattice structure. Alternatively, this

stabilization may occur by a reordering of the surfactant molecules at the solid-liquid interface

These four process categories will be discussed separately below. It should be understood, however, that the process conditions such as choice of surfactants or combination of surfactants, amount of surfactant used, temperature of reaction, rate of mixing of solutions, rate of precipitation and the like can be selected to allow for any drug to be processed under any one of the categories discussed next

The first process category, as well as the second, third, and fourth process categories, can be further divided into two subcategories, Method A and B, shown diagrammatically in FIGS 1 and 2

The first solvent according to the present invention is a solvent or mixture of solvents in which the organic compound of interest is relatively soluble and which is miscible with the second solvent. Such solvents include, but are not limited to water-miscible protic compounds, in which a hydrogen atom in the molecule is bound to an electronegative atom such as oxygen, nitrogen, or other Group VA, VIA and VII A in the Periodic Table of elements. Examples of such solvents include, but are not limited to, alcohols, amines (primary or secondary), oximes, hydroxamic acids, carboxylic acids, sulfonic acids, phosphonic acids, phosphoric acids, amides and ureas

Other examples of the first solvent also include aprotic organic solvents. Some of these aprotic solvents can form hydrogen bonds with water, but can only act as proton acceptors because they lack effective proton donating groups. One class of aprotic solvents is a dipolar aprotic solvent as defined by the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 2nd Ed., 1997)

A solvent with a comparatively high relative permittivity (or dielectric constant) greater than ca. 15 and a sizable permanent dipole moment, that cannot donate suitably labile hydrogen atoms to form strong hydrogen bonds, e.g. dimethyl sulfoxide

Dipolar aprotic solvents can be selected from the group consisting of amides (fully substituted, with nitrogen lacking attached hydrogen atoms), ureas (fully

substituted, with no hydrogen atoms attached to nitrogen), ethers, cyclic ethers, nitriles, ketones, sulfones, sulfoxides, fully substituted phosphates, phosphonate esters, phosphoramides, nitro compounds, and the like Dimethylsulfoxide (DMSO), N-methyl-2-pyrrolidinone (NMP), 2-pyrrolidinone, 1,3-dimethylimidazolidinone (DMI),
5 dimethylacetamide (DMA), dimethylformamide (DMF), dioxane, acetone, tetrahydrofuran (THF), tetramethylenesulfone (sulfolane), acetonitrile, and hexamethylphosphoramide (HMPA), nitromethane, among others, are members of this class

Solvents may also be chosen that are generally water-immiscible, but have
10 sufficient water solubility at low volumes (less than 10%) to act as a water-miscible first solvent at these reduced volumes Examples include aromatic hydrocarbons, alkenes, alkanes, and halogenated aromatics, halogenated alkenes and halogenated alkanes Aromatics include, but are not limited to, benzene (substituted or unsubstituted), and monocyclic or polycyclic arenes Examples of substituted
15 benzenes include, but are not limited to, xylenes (ortho, meta, or para), and toluene Examples of alkanes include but are not limited to hexane, neopentane heptane, isooctane, and cyclohexane Examples of halogenated aromatics include, but are not restricted to, chlorobenzene, bromobenzene, and chlorotoluene Examples of halogenated alkanes and alkenes include, but are not restricted to, trichloroethane,
20 methylene chloride, ethylenedichloride (EDC), and the like

Examples of the all of the above solvent classes include but are not limited to N-methyl-2-pyrrolidinone (also called N-methyl-2-pyrrolidone), 2-pyrrolidinone (also called 2-pyrrolidone), 1,3-dimethyl-2-imidazolidinone (DMI), dimethylsulfoxide, dimethylacetamide, acetic acid, lactic acid, methanol, ethanol, isopropanol, 3-pentanol,
25 n-propanol, benzyl alcohol, glycerol, butylene glycol (butanediol), ethylene glycol, propylene glycol, mono- and diacylated monoglycerides (such as glyceryl caprylate), dimethyl isosorbide, acetone, dimethylsulfone, dimethylformamide, 1,4-dioxane, tetramethylenesulfone (sulfolane), acetonitrile, nitromethane, tetramethylurea, hexamethylphosphoramide (HMPA) tetrahydrofuran (THF), dioxane, diethylether,
30 tert-butylmethyl ether (TBME), aromatic hydrocarbons, alkenes, alkanes, halogenated aromatics, halogenated alkenes, halogenated alkanes, xylene, toluene, benzene, substituted benzene, ethyl acetate, methyl acetate, butyl acetate, chlorobenzene,

bromobenzene, chlorotoluene, trichloroethane, methylene chloride, ethylenedichloride (EDC), hexane, neopentane, heptane, isooctane, cyclohexane, polyethylene glycol (PEG, for example, PEG-4, PEG-8, PEG-9, PEG-12, PEG-14, PEG-16, PEG-120, PEG-75, PEG-150), polyethylene glycol esters (examples such as PEG-4 dilaurate, PEG-20 dilaurate, PEG-6 isosteate, PEG-8 palmitostearate, PEG-150 palmitostearate), polyethylene glycol sorbitans (such as PEG-20 sorbitan isostearate), polyethylene glycol monoalkyl ethers (examples such as PEG-3 dimethyl ether, PEG-4 dimethyl ether), polypropylene glycol (PPG), polypropylene alginate, PPG-10 butanediol, PPG-10 methyl glucose ether, PPG-20 methyl glucose ether, PPG-15 stearyl ether, propylene glycol dicaprylate/dicaprate, propylene glycol laurate, and glycofurol (tetrahydrofurfuryl alcohol polyethylene glycol ether) A preferred first solvent is N-methyl-2-pyrrolidinone Another preferred first solvent is lactic acid

The second solvent is an aqueous solvent This aqueous solvent may be water by itself This solvent may also contain buffers, salts, surfactant(s), water-soluble polymers, and combinations of these excipients

Method A

In Method A (see FIG 1), the organic compound ("drug") is first dissolved in the first solvent to create a first solution. The organic compound can be added from about 0.1% (w/v) to about 50% (w/v) depending on the solubility of the organic compound in the first solvent Heating of the concentrate from about 30°C to about 100°C may be necessary to ensure total dissolution of the compound in the first solvent.

A second aqueous solvent is provided with one or more optional surface modifiers such as an anionic surfactant, a cationic surfactant, a nonionic surfactant or a biologically surface active molecule added thereto Suitable anionic surfactants include but are not limited to alkyl sulfonates, alkyl phosphates, alkyl phosphonates potassium laurate, triethanolamine stearate, sodium lauryl sulfate, sodium dodecylsulfate, alkyl polyoxyethylene sulfates, sodium alginate, dioctyl sodium sulfosuccinate, phosphatidyl choline, phosphatidyl glycerol, phosphatidyl inosine, phosphatidylserine, phosphatidic acid and their salts, glyceryl esters, sodium carboxymethylcellulose, cholic acid and other bile acids (e.g., cholic acid, deoxycholic acid, glycocholic acid, taurocholic acid, glycodeoxycholic acid) and salts thereof (e.g.,

sodium deoxycholate, etc) Suitable cationic surfactants include but are not limited to quaternary ammonium compounds, such as benzalkonium chloride, cetyltrimethylammonium bromide, chitosans, lauryldimethylbenzylammonium chloride, acyl carnitine hydrochlorides, or alkyl pyridinium halides As anionic surfactants, phospholipids may be used Suitable phospholipids include, for example phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, diacyl-glycerol-phosphoethanolamine (such as dimyristoyl-glycerol-phosphoethanolamine (DMPE), dipalmitoyl-glycerol-phosphoethanolamine (DPPE), distearoyl-glycerol-phosphoethanolamine (DSPE), and dioleoyl-glycerol-phosphoethanolamine (DOPE)), phosphatidylserine, phosphatidylinositol, phosphatidylglycerol, phosphatidic acid, lysophospholipids, egg or soybean phospholipid or a combination thereof. The phospholipid may be salted or desalted, hydrogenated or partially hydrogenated or natural semisynthetic or synthetic The phospholipid may also be conjugated with a water-soluble or hydrophilic polymer A preferred polymer is polyethylene glycol (PEG), which is also known as the monomethoxy polyethyleneglycol (mPEG) The molecule weights of the PEG can vary, for example, from 200 to 50,000 Some commonly used PEG's that are commercially available include PEG 350, PEG 550, PEG 750, PEG 1000, PEG 2000, PEG 3000, and PEG 5000 The phospholipid or the PEG-phospholipid conjugate may also incorporate a functional group which can covalently attach to a ligand including but not limited to proteins, peptides, carbohydrates, glycoproteins, antibodies, or pharmaceutically active agents These functional groups may conjugate with the ligands through, for example, amide bond formation, disulfide or thioether formation, or biotin/streptavidin binding Examples of the ligand-binding functional groups include but are not limited to hexanoylamine, dodecanylamine, 1,12-dodecanedicarboxylate, thioethanol, 4-(p-maleimidophenyl)butyramide (MPB), 4-(p-maleimidomethyl)cyclohexane-carboxamide (MCC), 3-(2-pyridyldithio)propionate (PDP), succinate, glutarate, dodecanoate, and biotin

Suitable nonionic surfactants include polyoxyethylene fatty alcohol ethers (Macrogol and Brij), polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters (Polysorbates), polyoxyethylene fatty acid esters (Myrij), sorbitan esters (Span), glycerol monostearate, polyethylene glycols, polypropylene glycols, cetyl alcohol, cetostearyl alcohol, stearyl alcohol, aryl alkyl polyether alcohols, polyoxyethylene-polyoxypropylene copolymers

(poloxamers), poloxamnes, methylcellulose, hydroxymethylcellulose, hydroxypropylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, noncrystalline cellulose, polysaccharides including starch and starch derivatives such as hydroxyethylstarch (HES), polyvinyl alcohol, and polyvinylpyrrolidone. In a preferred form of the invention, the nonionic surfactant is a polyoxyethylene and polyoxypropylene copolymer and preferably a block copolymer of propylene glycol and ethylene glycol. Such polymers are sold under the tradename POLOXAMER also sometimes referred to as PLURONIC®, and sold by several suppliers including Spectrum Chemical and Ruger. Among polyoxyethylene fatty acid esters is included those having short alkyl chains. One example of such a surfactant is SOLUTOL® HS 15, polyethylene-660-hydroxystearate, manufactured by BASF Aktiengesellschaft.

Surface-active biological molecules include such molecules as albumin, casein, hirudin or other appropriate proteins. Polysaccharide biologics are also included, and consist of but not limited to, starches, heparin and chitosans.

It may also be desirable to add a pH adjusting agent to the second solvent such as sodium hydroxide, hydrochloric acid, tris buffer or citrate, acetate, lactate, meglumine, or the like. The second solvent should have a pH within the range of from about 3 to about 11.

For oral dosage forms one or more of the following excipients may be utilized: gelatin, casein, lecithin (phosphatides), gum acacia, cholesterol, tragacanth, stearic acid, benzalkonium chloride, calcium stearate, glyceryl monostearate, cetostearyl alcohol, cetomacrogol emulsifying wax, sorbitan esters, polyoxyethylene alkyl ethers, e.g., macrogol ethers such as cetomacrogol 1000, polyoxyethylene castor oil derivatives, polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters, e.g., the commercially available Tweens™, polyethylene glycols, polyoxyethylene stearates, colloidal silicon dioxide, phosphates, sodium dodecylsulfate, carboxymethylcellulose calcium, carboxymethylcellulose sodium, methylcellulose, hydroxyethylcellulose, hydroxypropylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose phthalate, noncrystalline cellulose, magnesium aluminum silicate, triethanolamine, polyvinyl alcohol (PVA), and polyvinylpyrrolidone (PVP). Most of these excipients are described in detail in the Handbook of Pharmaceutical Excipients, published jointly by the American Pharmaceutical Association and The Pharmaceutical Society of Great Britain, the

Pharmaceutical Press, 1986 The surface modifiers are commercially available and/or can be prepared by techniques known in the art. Two or more surface modifiers can be used in combination

5 In a preferred form of the invention, the method for preparing small particles of an organic compound includes the steps of adding the first solution to the second solvent. The addition rate is dependent on the batch size, and precipitation kinetics for the organic compound. Typically, for a small-scale laboratory process (preparation of 1 liter), the addition rate is from about 0.05 cc per minute to about 10 cc per minute. During the addition, the solutions should be under constant agitation. It has been
10 observed using light microscopy that amorphous particles, semi-crystalline solids, or a supercooled liquid are formed to create a pre-suspension. The method further includes the step of subjecting the pre-suspension to an energy-addition step to convert the amorphous particles, supercooled liquid or semicrystalline solid to a more stable, crystalline solid state. The resulting particles will have an average effective particles
15 size as measured by dynamic light scattering methods (e.g., photocorrelation spectroscopy, laser diffraction, low-angle laser light scattering (LALLS), medium-angle laser light scattering (MALLS), light obscuration methods (Coulter method, for example), rheology, or microscopy (light or electron) within the ranges set forth above). In process category four, the first solution and the second solvent are
20 combined while simultaneously conducting the energy-addition step.

The energy-addition step involves adding energy through sonication, homogenization, countercurrent flow homogenization, microfluidization, or other methods of providing impact, shear or cavitation forces. The sample may be cooled or heated during this stage. In one preferred form of the invention, the energy-addition
25 step is effected by a piston gap homogenizer such as the one sold by Avestin Inc under the product designation EmulsiFlex-C160. In another preferred form of the invention, the energy-addition step may be accomplished by ultrasonication using an ultrasonic processor such as the Vibra-Cell Ultrasonic Processor (600W), manufactured by Sonics and Materials, Inc. In yet another preferred form of the
30 invention, the energy-addition step may be accomplished by use of an emulsification apparatus as described in U.S. Patent No. 5,720,551 which is incorporated herein by reference and made a part hereof.

Depending upon the rate of energy addition, it may be desirable to adjust the temperature of the processed sample to within the range of from approximately -30°C to 30°C . Alternatively, in order to effect a desired phase change in the processed solid, it may also be necessary to heat the pre-suspension to a temperature within the range of from about 30°C to about 100°C during the energy-addition step.

Method B

Method B differs from Method A in the following respects. The first difference is a surfactant or combination of surfactants is added to the first solution. The surfactants may be selected from the groups of anionic, nonionic, cationic surfactants, and surface-active biological modifiers set forth above.

Comparative Example of Method A and Method B and USPN 5,780,062

United States Patent No. 5,780,062 discloses a process for preparing small particles of an organic compound by first dissolving the compound in a suitable water-miscible first solvent. A second solution is prepared by dissolving a polymer and an amphiphile in aqueous solvent. The first solution is then added to the second solution to form a precipitate that consists of the organic compound and a polymer-amphiphile complex. The '062 Patent does not disclose utilizing the energy-addition step of this invention in Methods A and B. Lack of stability is typically evidenced by rapid aggregation and particle growth. In some instances, amorphous particles recrystallize as large crystals. Adding energy to the pre-suspension in the manner disclosed above typically affords particles that show decreased rates of particle aggregation and growth, as well as the absence of recrystallization upon product storage.

Methods A and B are further distinguished from the process of the '062 patent by the absence of a step of forming a polymer-amphiphile complex prior to precipitation. In Method A, such a complex cannot be formed as no polymer is added to the diluent (aqueous) phase. In Method B, the surfactant, which may also act as an amphiphile, or polymer, is dissolved with the organic compound in the first solvent. This precludes the formation of any amphiphile-polymer complexes prior to precipitation. In the '062 Patent, successful precipitation of small particles relies upon the formation of an amphiphile-polymer complex prior to precipitation. The '062 Patent discloses the amphiphile-polymer complex forms aggregates in the aqueous

second solution. The '062 Patent explains the hydrophobic organic compound interacts with the amphiphile-polymer complex, thereby reducing solubility of these aggregates and causing precipitation. In the present invention, it has been demonstrated that the inclusion of the surfactant or polymer in the first solvent (Method B) leads, upon subsequent addition to second solvent, to formation of a more uniform, finer particulate than is afforded by the process outlined by the '062 Patent

To this end, two formulations were prepared and analyzed. Each of the formulations has two solutions, a concentrate and an aqueous diluent, which are mixed together and then sonicated. The concentrate in each formulation has an organic compound (itraconazole), a water miscible solvent (N-methyl-2-pyrrolidinone or NMP) and possibly a polymer (poloxamer 188). The aqueous diluent has water, a tris buffer and possibly a polymer (poloxamer 188) and/or a surfactant (sodium deoxycholate). The average particle diameter of the organic particle is measured prior to sonication and after sonication.

The first formulation A has as the concentrate itraconazole and NMP. The aqueous diluent includes water, poloxamer 188, tris buffer and sodium deoxycholate. Thus the aqueous diluent includes a polymer (poloxamer 188), and an amphiphile (sodium deoxycholate), which may form a polymer/amphiphile complex, and, therefore, is in accordance with the disclosure of the '062 Patent. (However, again the '062 Patent does not disclose an energy addition step.)

The second formulation B has as the concentrate itraconazole, NMP and poloxamer 188. The aqueous diluent includes water, tris buffer and sodium deoxycholate. This formulation is made in accordance with the present invention. Since the aqueous diluent does not contain a combination of a polymer (poloxamer) and an amphiphile (sodium deoxycholate), a polymer/amphiphile complex cannot form prior to the mixing step.

Table 1 shows the average particle diameters measured by laser diffraction on three replicate suspension preparations. An initial size determination was made, after which the sample was sonicated for 1 minute. The size determination was then repeated. The large size reduction upon sonication of Method A was indicative of particle aggregation.

Table 1

Method	Concentrate	Aqueous Diluent	Average particle diameter (microns)	After sonication (1 minute)
A	itraconazole (18%),N-methyl 2 pyrrolidone (6 mL)	poloxamer 188	18.7	2.36
		(2.3%) sodium deoxycholate	10.7	2.46
		(0.3%)tris buffer (5 mM, pH 8)water (qs to 94 mL)	12.1	1.93
B	itraconazole (18%)poloxamer 188 (37%)N-methyl-2-pyrrolidinone (6 mL)	sodium deoxycholate	0.194	0.198
		(0.3%)tris buffer (5 mM, pH 8)water (qs to 94 mL)	0.178	0.179
			0.181	0.177

A drug suspension resulting from application of the processes described in this invention may be administered directly as an injectable solution, provided Water for Injection is used in formulation and an appropriate means for solution sterilization is applied. Sterilization may be accomplished by methods well known in the art such as steam or heat sterilization, gamma irradiation and the like. Other sterilization methods, especially for particles in which greater than 99% of the particles are less than 200 nm, would also include pre-filtration first through a 3.0 micron filter followed by filtration through a 0.45-micron particle filter, followed by steam or heat sterilization or sterile filtration through two redundant 0.2-micron membrane filters. Yet another means of sterilization is sterile filtration of the concentrate prepared from the first solvent containing drug and optional surfactant or surfactants and sterile filtration of the aqueous diluent. These are then combined in a sterile mixing container, preferably in an isolated, sterile environment. Mixing, homogenization, and further processing of the suspension are then carried out under aseptic conditions.

Yet another procedure for sterilization would consist of heat sterilization or autoclaving within the homogenizer itself, before, during, or subsequent to the homogenization step. Processing after this heat treatment would be carried out under aseptic conditions.

Optionally, a solvent-free suspension may be produced by solvent removal after precipitation. This can be accomplished by centrifugation, dialysis, diafiltration, force-field fractionation, high-pressure filtration, reverse osmosis, or other separation techniques well known in the art. Complete removal of N-methyl-2-pyrrolidinone was typically carried out by one to three successive centrifugation runs, after each centrifugation (18,000 rpm for 30 minutes) the supernatant was decanted and discarded. A fresh volume of the suspension vehicle without the organic solvent was

added to the remaining solids and the mixture was dispersed by homogenization. It will be recognized by those skilled in the art that other high-shear mixing techniques could be applied in this reconstitution step. Alternatively, the solvent-free particles can be formulated into various dosage forms as desired for a variety of administrative routes, such as oral pulmonary, nasal, topical, intramuscular, and the like.

Furthermore, any undesired excipients such as surfactants may be replaced by a more desirable excipient by use of the separation methods described in the above paragraph. The solvent and first excipient may be discarded with the supernatant after centrifugation or filtration. A fresh volume of the suspension vehicle without the solvent and without the first excipient may then be added. Alternatively, a new surfactant may be added. For example, a suspension consisting of drug, N-methyl-2-pyrrolidinone (solvent), poloxamer 188 (first excipient), sodium deoxycholate, glycerol and water may be replaced with phospholipids (new surfactant), glycerol and water after centrifugation and removal of the supernatant.

I First Process Category

The methods of the first process category generally include the step of dissolving the organic compound in a water miscible first solvent followed by the step of mixing this solution with an aqueous solvent to form a presuspension wherein the organic compound is in an amorphous form, a semicrystalline form or in a supercooled liquid form as determined by x-ray diffraction studies, DSC, light microscopy or other analytical techniques and has an average effective particle size within one of the effective particle size ranges set forth above. The mixing step is followed by an energy-addition step.

II Second Process Category

The methods of the second processes category include essentially the same steps as in the steps of the first processes category but differ in the following respect. An x-ray diffraction, DSC or other suitable analytical techniques of the presuspension shows the organic compound in a crystalline form and having an average effective particle size. The organic compound after the energy-addition step has essentially the same average effective particle size as prior to the energy-addition step but has less of a tendency to aggregate into larger particles when compared to that of the particles of

the presuspension Without being bound to a theory, it is believed the differences in the particle stability may be due to a reordering of the surfactant molecules at the solid-liquid interface

III Third Process Category

5 The methods of the third category modify the first two steps of those of the first and second processes categories to ensure the organic compound in the presuspension is in a friable form having an average effective particle size (e.g., such as slender needles and thin plates) Friable particles can be formed by selecting suitable solvents, surfactants or combination of surfactants, the temperature of the individual solutions, 10 the rate of mixing and rate of precipitation and the like Friability may also be enhanced by the introduction of lattice defects (e.g., cleavage planes) during the steps of mixing the first solution with the aqueous solvent This would arise by rapid crystallization such as that afforded in the precipitation step In the energy-addition step these friable crystals are converted to crystals that are kinetically stabilized and 15 having an average effective particle size smaller than those of the presuspension Kinetically stabilized means particles have a reduced tendency to aggregate when compared to particles that are not kinetically stabilized In such instance the energy-addition step results in a breaking up of the friable particles By ensuring the particles of the presuspension are in a friable state, the organic compound can more easily and 20 more quickly be prepared into a particle within the desired size ranges when compared to processing an organic compound where the steps have not been taken to render it in a friable form

IV Fourth Process Category

The methods of the fourth process category include the steps of the first 25 process category except that the mixing step is carried out simultaneously with the energy-addition step

Polymorph Control

The present invention further provides additional steps for controlling the crystal structure of an organic compound to ultimately produce a suspension of the 30 compound in the desired size range and a desired crystal structure What is meant by the term "crystal structure" is the arrangement of the atoms within the unit cell of the

crystal Compounds that can be crystallized into different crystal structures are said to be polymorphic Identification of polymorphs is important step in drug formulation since different polymorphs of the same drug can show differences in solubility, therapeutic activity, bioavailability, and suspension stability Accordingly, it is
5 important to control the polymorphic form of the compound for ensuring product purity and batch-to-batch reproducibility

The steps to control the polymorphic form of the compound includes seeding the first solution, the second solvent or the pre-suspension to ensure the formation of the desired polymorph Seeding includes using a seed compound or adding energy In
10 a preferred form of the invention the seed compound is a pharmaceutically-active compound in the desired polymorphic form Alternatively, the seed compound can also be an inert impurity, a compound unrelated in structure to the desired polymorph but with features that may lead to templating of a crystal nucleus, or an organic compound with a structure similar to that of the desired polymorph

The seed compound can be precipitated from the first solution This method includes the steps of adding the organic compound in sufficient quantity to exceed the solubility of the organic compound in the first solvent to create a supersaturated solution The supersaturated solution is treated to precipitate the organic compound in the desired polymorphic form Treating the supersaturated solution includes aging the
20 solution for a time period until the formation of a crystal or crystals is observed to create a seeding mixture It is also possible to add energy to the supersaturated solution to cause the organic compound to precipitate out of the solution in the desired polymorph The energy can be added in a variety of ways including the energy addition steps described above Further energy can be added by heating, or by
25 exposing the pre-suspension to electromagnetic energy, particle beam or electron beam sources The electromagnetic energy includes light energy (ultraviolet, visible, or infrared) or coherent radiation such as that provided by a laser, microwave energy such as that provided by a maser (microwave amplification by stimulated emission of radiation), dynamic electromagnetic energy, or other radiation sources It is further
30 contemplated utilizing ultrasound, a static electric field, or a static magnetic field, or combinations of these, as the energy-addition source

In a preferred form of the invention, the method for producing seed crystals from an aged supersaturated solution includes the steps of (i) adding a quantity of an organic compound to the first organic solvent to create a supersaturated solution, (ii) aging the supersaturated solution to form detectable crystals to create a seeding mixture, and (iii) mixing the seeding mixture with the second solvent to precipitate the organic compound to create a pre-suspension. The presuspension can then be further processed as described in detail above to provide an aqueous suspension of the organic compound in the desired polymorph and in the desired size range

Seeding can also be accomplished by adding energy to the first solution, the second solvent or the pre-suspension provided that the exposed liquid or liquids contain the organic compound or a seed material. The energy can be added in the same fashion as described above for the supersaturated solution

Accordingly, the present invention provides a composition of matter of an organic compound in a desired polymorphic form essentially free of the unspecified polymorph or polymorphs. In a preferred form of the present invention, the organic compound is a pharmaceutically active substance. One such example is set forth in example 16 below where seeding during microprecipitation provides a polymorph of itraconazole essentially free of the polymorph of the raw material. It is contemplated the methods of this invention can be used to selectively produce a desired polymorph for numerous pharmaceutically active compounds

Submicron suspensions of antineoplastic agents

The methods described previously in this application can be used to prepare formulations containing suspensions of submicron particles of water-insoluble antineoplastic agents, particularly paclitaxel or its derivative compounds, including, but are limited to, docetaxel and other paclitaxel analogs. These formulations generally permit high drug loading containing 1-20% w/v drug. Higher than 20% w/v drug loading can also be accomplished with these formulations. The same formulation can be administered by various routes, e.g., oral, parenteral, and pulmonary

The particles of the antineoplastic agent can be formulated both to remove cremophor as an excipient as well as to achieve a dosage form having the characteristic of long circulation time. Particles formulated with surface modifiers with polyethylene glycol (PEG) functionality can be used to avoid particle

opsonization and consequent reticuloendothelial system (RES) uptake. In addition, particles having particle size of less than 200 nm, and particularly less than 150 nm, can be used to aid long-circulation time as well as tumor targeting by permeation through fenestrated tumor vasculature

5 A preferred method of preparing the submicron particles of these antineoplastic agents consists of (i) mixing into the water-miscible first solvent or the second solvent or both the water-miscible first solvent and the second solvent a first surface modifier comprising a phospholipid conjugated with a water-soluble or hydrophilic polymer, (ii) dissolving the antineoplastic agent in the water-miscible first solvent to form a
10 solution, (iii) mixing the solution with the second solvent to define a pre-suspension of particles, and (iv) homogenizing the pre-suspension to form a suspension of particles having an average effective particle size of less than about 1 μ m. A preferred water-miscible first solvent is N-methyl-2-pyrrolidone. Preferably, the particles have an average effective particle size of less than about 400 nm, more preferably less than 200
15 nm, and most preferably, less than about 150 nm.

The phospholipid used can be natural or synthetic. Examples of suitable phospholipids include, but are not limited to, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, diacyl-glycero-phosphoethanolamine, phosphatidylserine, phosphatidylinositol, phosphatidylglycerol, phosphatidic acid, lysophospholipids, egg
20 or soybean phospholipid or a combination thereof. The diacyl-glycero-phosphoethanolamine can be selected from dimyristoyl-glycero-phosphoethanolamine (DMPE), dipalmitoyl-glycero-phosphoethanolamine (DPPE), distearoyl-glycero-phosphoethanolamine (DSPE), dioleoyl-glycero-phosphoethanolamine (DOPE) or the like.

25 In a preferred embodiment, the water-soluble or hydrophilic polymer conjugating to the phospholipid is polyethylene glycol (PEG), such as, but are not limited to, PEG 350, PEG 550, PEG 750, PEG 1000, PEG 2000, PEG 3000, and PEG 5000. Other hydrophilic polymer conjugates can also be used, e.g., dextran, hydroxypropyl methacrylate (HPMA), polyglutamate and the like.

30 Optionally, a second surface modifier can be mixed into the water-miscible first solvent or the second solvent or both the water-miscible first solvent and the second solvent. The second surface modifier may be needed to further stabilize the

particles. The second surface modifier can be selected from anionic surfactants, cationic surfactants, nonionic surfactants and surface active biological modifiers as described in detail previously in this application. A preferred second surface modifier is poloxamer, such as poloxamer 188.

5 The size of the particles produced can be controlled by the temperature at which the homogenization is carried out, as shown in the examples in Example 19. In an embodiment, the homogenization is carried out at about 30°C or greater, such as at about 40°C or about 70°C.

10 The methods can further include removing the water-miscible first solvent from the suspension to form an aqueous suspension of the particles which is essentially solvent free. In a preferred embodiment, the water-miscible first solvent is removed simultaneously with homogenization as described in detail in a co-pending and commonly assigned U.S. Patent Application Attorney Docket Number 113957-375.

15 The method can also further include removing the entire liquid phase of the suspension to form a dry powder of the particles. The dry powder can be administered to a subject by the pulmonary route, or it can be resuspended in an appropriate diluent, such as a diluent suitable for parenteral or oral administration. The particles can also be formulated for oral administration. Formulations for parenteral and oral administrations are well known for those skilled in the art. The same formulation is
20 can be used for administration to a subject by various routes, such as, but are not limited to, parenteral, oral, pulmonary, topical, ophthalmic, nasal, buccal, rectal, vaginal, and transdermal.

25 The method can also further include sterilizing the composition as previously described in this application. Methods for sterilizing pharmaceutical compositions include, but are not limited to filtration, heat sterilization, and gamma irradiation. Heat sterilization, may be effected by the heat within the homogenizer in which the homogenizer serves as a heating and pressurization source for sterilization.

30 In a preferred embodiment, the particles are not soluble. The particles can be tested for their solubility by dissolution kinetics using % transmission at 400 nm as a measure for dissolution. The particles are not soluble if % transmission does not return to 95% or more of the initial value.

In another preferred embodiment, the particles do not aggregate under stressed conditions or upon storage. Examples of stressed conditions include, but are not limited to, thermal cycling, repeated freeze-thaw cycling, agitation, and centrifugation. Stress testing methods for particles are well known in the art. Typical stress testing methods are described in detail in Novel Injectable Formulations of Insoluble Drugs, Pace et al, Pharm Tech, March 1999, pg 116-134. Aggregation can be estimated by measuring particle size before and after 1 minute sonication and comparing the difference via the following equation

$$\% \text{ Aggregation} = \frac{(P_{99} - P_{99S}) \times 100}{P_{99S}}$$

- 10 where P_{99} represents 99th percentile of the particle size distribution of the particles before sonication and P_{99S} represents 99th percentile of the particle size distribution of the particles after sonication

Examples

A Examples of Process Category 1

- 15 Example 1 Preparation of itraconazole suspension by use of Process Category 1.

Method A with homogenization.

- To a 3-L flask add 1680 mL of Water for Injection. Heat liquid to 60-65°C, and then slowly add 44 grams of Pluronic F-68 (poloxamer 188), and 12 grams of sodium deoxycholate, stirring after each addition to dissolve the solids. After addition of solids is complete, stir for another 15 minutes at 60-65°C to ensure complete dissolution. Prepare a 50 mM tris (tromethamine) buffer by dissolving 6.06 grams of tris in 800 mL of Water for Injection. Titrate this solution to pH 8.0 with 0.1 M hydrochloric acid. Dilute the resulting solution to 1 liter with additional Water for Injection. Add 200 mL of the tris buffer to the poloxamer/deoxycholate solution. Stir thoroughly to mix solutions.

- In a 150-mL beaker add 20 grams of itraconazole and 120 mL of N-methyl-2-pyrrolidinone. Heat mixture to 50-60°C, and stir to dissolve solids. After total dissolution is visually apparent, stir another 15 minutes to ensure complete dissolution. Cool itraconazole-NMP solution to room temperature.

- 30 Charge a syringe pump (two 60-mL glass syringes) with the 120-mL of itraconazole solution prepared previously. Meanwhile pour all of the surfactant

solution into a homogenizer hopper that has been cooled to 0-5°C (this may either be accomplished by use of a jacketed hopper through which refrigerant is circulated, or by surrounding the hopper with ice). Position a mechanical stirrer into the surfactant solution so that the blades are fully immersed. Using the syringe pump, slowly (1-3 mL/min) add all of the itraconazole solution to the stirred, cooled surfactant solution. A stirring rate of at least 700 rpm is recommended. An aliquot of the resulting suspension (Suspension A) is analyzed by light microscopy (Hoffman Modulation Contrast) and by laser diffraction (Horiba). Suspension A is observed by light microscopy to consist of roughly spherical amorphous particles (under 1 micron), either bound to each other in aggregates or freely moving by Brownian motion. See FIG 3. Dynamic light scattering measurements typically afford a bimodal distribution pattern signifying the presence of aggregates (10-100 microns in size) and the presence of single amorphous particles ranging 200-700 nm in median particle diameter.

The suspension is immediately homogenized (at 10,000 to 30,000 psi) for 10-30 minutes. At the end of homogenization, the temperature of the suspension in the hopper does not exceed 75°C. The homogenized suspension is collected in 500-mL bottles, which are cooled immediately in the refrigerator (2-8°C). This suspension (Suspension B) is analyzed by light microscopy and is found to consist of small elongated plates with a length of 0.5 to 2 microns and a width in the 0.2-1 micron range. See FIG 4. Dynamic light scattering measurements typically indicate a median diameter of 200-700 nm.

Stability of Suspension A ("Pre-suspension") (Example 1)

During microscopic examination of the aliquot of Suspension A, crystallization of the amorphous solid was directly observed. Suspension A was stored at 2-8°C for 12 hours and examined by light microscopy. Gross visual inspection of the sample revealed severe flocculation, with some of the contents settling to the bottom of the container. Microscopic examination indicated the presence of large, elongated, plate-like crystals over 10 microns in length.

Stability of Suspension B

As opposed to the instability of Suspension A, Suspension B was stable at 2-8°C for the duration of the preliminary stability study (1 month). Microscopy on the

aged sample clearly demonstrated that no significant change in the morphology or size of the particles had occurred. This was confirmed by light scattering measurement.

Example 2 Preparation of itraconazole suspension by use of Process Category 1.

Method A with ultrasonication.

5 To a 500-mL stainless steel vessel add 252 mL of Water for Injection. Heat liquid to 60-65°C, and then slowly add 6.6 grams of Pluronic F-68 (poloxamer 188), and 0.9 grams of sodium deoxycholate, stirring after each addition to dissolve the solids. After addition of solids is complete, stir for another 15 minutes at 60-65°C to ensure complete dissolution. Prepare a 50 mM tris (tromethamine) buffer by
10 dissolving 6.06 grams of tris in 800 mL of Water for Injection. Titrate this solution to pH 8.0 with 0.1 M hydrochloric acid. Dilute the resulting solution to 1 liter with additional Water for Injection. Add 30 mL of the tris buffer to the poloxamer/deoxycholate solution. Stir thoroughly to mix solutions.

In a 30-mL container add 3 grams of itraconazole and 18 mL of N-methyl-2-pyrrolidinone. Heat mixture to 50-60°C, and stir to dissolve solids. After total
15 dissolution is visually apparent, stir another 15 minutes to ensure complete dissolution. Cool itraconazole-NMP solution to room temperature.

Charge a syringe pump with 18-mL of itraconazole solution prepared in a previous step. Position a mechanical stirrer into the surfactant solution so that the
20 blades are fully immersed. Cool the container to 0-5°C by immersion in an ice bath. Using the syringe pump, slowly (1-3 mL/min) add all of the itraconazole solution to the stirred, cooled surfactant solution. A stirring rate of at least 700 rpm is recommended. Immerse an ultrasonicator horn in the resulting suspension so that the probe is approximately 1 cm above the bottom of the stainless steel vessel. Sonicate
25 (10,000 to 25,000 Hz, at least 400W) for 15 to 20 minutes in 5-minute intervals. After the first 5-minute sonication, remove the ice bath and proceed with further sonication. At the end of ultrasonication, the temperature of the suspension in the vessel does not exceed 75°C.

The suspension is collected in a 500-mL Type I glass bottle, which is cooled
30 immediately in the refrigerator (2-8°C). Characteristics of particle morphology of the suspension before and after sonication were very similar to that seen in Method A before and after homogenization (see Example 1).

Example 3. Preparation of itraconazole suspension by use of Process Category 1

Method B with homogenization

Prepare a 50 mM tris (tromethamine) buffer by dissolving 6.06 grams of tris in 800 mL of Water for Injection. Titrate this solution to pH 8.0 with 0.1 M hydrochloric acid. Dilute the resulting solution to 1 liter with additional Water for Injection. To a 3-L flask add 1680 mL of Water for Injection. Add 200 mL of the tris buffer to the 1680 mL of water. Stir thoroughly to mix solutions.

In a 150-mL beaker add 44 grams of Pluronic F-68 (poloxamer 188) and 12 grams of sodium deoxycholate to 120 mL of N-methyl-2-pyrrolidone. Heat the mixture to 50-60°C, and stir to dissolve solids. After total dissolution is visually apparent, stir another 15 minutes to ensure complete dissolution. To this solution, add 20 grams of itraconazole, and stir until totally dissolved. Cool the itraconazole-surfactant-NMP solution to room temperature.

Charge a syringe pump (two 60-mL glass syringes) with the 120-mL of the concentrated itraconazole solution prepared previously. Meanwhile pour the diluted tris buffer solution prepared above into a homogenizer hopper that has been cooled to 0-5°C (this may either be accomplished by use of a jacketed hopper through which refrigerant is circulated, or by surrounding the hopper with ice). Position a mechanical stirrer into the buffer solution so that the blades are fully immersed. Using the syringe pump, slowly (1-3 mL/min) add all of the itraconazole-surfactant concentrate to the stirred, cooled buffer solution. A stirring rate of at least 700 rpm is recommended. The resulting cooled suspension is immediately homogenized (at 10,000 to 30,000 psi) for 10-30 minutes. At the end of homogenization, the temperature of the suspension in the hopper does not exceed 75°C.

The homogenized suspension is collected in 500-mL bottles, which are cooled immediately in the refrigerator (2-8°C). Characteristics of particle morphology of the suspension before and after homogenization were very similar to that seen in Example 1, except that in process category 1 B, the pre-homogenized material tended to form fewer and smaller aggregates which resulted in a much smaller overall particle size as measured by laser diffraction. After homogenization, dynamic light scattering results were typically identical to those presented in Example 1.

Example 4. Preparation of itraconazole suspension by use of Process Category 1.

Method B with ultrasonication.

To a 500-mL flask add 252 mL of Water for Injection. Prepare a 50 mM tris (tromethamine) buffer by dissolving 6.06 grams of tris in 800 mL of Water for Injection. Titrate this solution to pH 8.0 with 0.1 M hydrochloric acid. Dilute the resulting solution to 1 liter with additional Water for Injection. Add 30 mL of the tris buffer to the water. Stir thoroughly to mix solutions.

In a 30-mL beaker add 6.6 grams of Pluronic F-68 (poloxamer 188) and 0.9 grams of sodium deoxycholate to 18 mL of N-methyl-2-pyrrolidinone. Heat the mixture to 50-60°C, and stir to dissolve solids. After total dissolution is visually apparent, stir another 15 minutes to ensure complete dissolution. To this solution, add 3.0 grams of itraconazole, and stir until totally dissolved. Cool the itraconazole-surfactant-NMP solution to room temperature.

Charge a syringe pump (one 30-mL glass syringe with the 18-mL of the concentrated itraconazole solution prepared previously). Position a mechanical stirrer into the buffer solution so that the blades are fully immersed. Cool the container to 0-5°C by immersion in an ice bath. Using the syringe pump, slowly (1-3 mL/min) add all of the itraconazole-surfactant concentrate to the stirred, cooled buffer solution. A stirring rate of at least 700 rpm is recommended. The resulting cooled suspension is immediately sonicated (10,000 to 25,000 Hz, at least 400 W) for 15-20 minutes, in 5-minute intervals. After the first 5-minute sonication, remove the ice bath and proceed with further sonication. At the end of ultrasonication, the temperature of the suspension in the hopper does not exceed 75°C.

The resultant suspension is collected in a 500-mL bottle, which is cooled immediately in the refrigerator (2-8°C). Characteristics of particle morphology of the suspension before and after sonication were very similar to that seen in Example 1, except that in Process Category 1, Method B, the pre-sonicated material tended to form fewer and smaller aggregates which resulted in a much smaller overall particle size as measured by laser diffraction. After ultrasonication, dynamic light scattering results were typically identical to those presented in Example 1.

B Examples of Process Category 2

Example 5 Preparation of itraconazole suspension (1%) with 0.75% Solutol® HR (PEG-660 12-hydroxystearate) Process: Category 2 Method B

Solutol (2.25 g) and itraconazole (3.0 g) were weighed into a beaker and 36 mL of filtered N-methyl-2-pyrrolidinone (NMP) was added. This mixture was stirred under low heat (up to 40°C) for approximately 15 minutes until the solution ingredients were dissolved. The solution was cooled to room temperature and was filtered through a 0.2-micron filter under vacuum. Two 60-mL syringes were filled with the filtered drug concentrate and were placed in a syringe pump. The pump was set to deliver approximately 1 mL/min of concentrate to a rapidly stirred (400 rpm) aqueous buffer solution. The buffer solution consisted of 22 g/L of glycerol in 5 mM tris buffer. Throughout concentrate addition, the buffer solution was kept in an ice bath at 2-3°C. At the end of the precipitation, after complete addition of concentrate to the buffer solution, about 100 mL of the suspension was centrifuged for 1 hour, the supernatant was discarded. The precipitate was resuspended in a 20% NMP solution in water, and again centrifuged for 1 hour. The material was dried overnight in a vacuum oven at 25°C. The dried material was transferred to a vial and analyzed by X-ray diffractometry using chromium radiation (see FIG. 5).

Another 100 mL-aliquot of the microprecipitated suspension was sonicated for 30 minutes at 20,000 Hz, 80% full amplitude (full amplitude = 600 W). The sonicated sample was homogenized in 3 equal aliquots each for 45 minutes (Avestin C5, 2-5°C, 15,000-20,000 psi). The combined fractions were centrifuged for about 3 hours, the supernatant removed, and the precipitate resuspended in 20% NMP. The resuspended mixture was centrifuged again (15,000 rpm at 5°C). The supernatant was decanted off and the precipitate was vacuum dried overnight at 25°C. The precipitate was submitted for analysis by X-ray diffractometry (see FIG. 5). As seen in FIG. 5, the X-ray diffraction patterns of processed samples, before and after homogenization, are essentially identical, yet show a significantly different pattern as compared with the starting raw material. The unhomogenized suspension is unstable and agglomerates upon storage at room temperature. The stabilization that occurs as a result of homogenization is believed to arise from rearrangement of surfactant on the surface of the particle. This rearrangement should result in a lower propensity for particle aggregation.

C Examples of Process Category

Example 6 Preparation of carbamazepine suspension by use of Process Category 3.

Method A with homogenization.

2.08 g of carbamazepine was dissolved into 10 mL of NMP. 1.0 mL of this concentrate was subsequently dripped at 0.1 mL/min into 20 mL of a stirred solution of 1.2% lecithin and 2.25% glycerin. The temperature of the lecithin system was held at 2-5°C during the entire addition. The predispersion was next homogenized cold (5-15°C) for 35 minutes at 15,000 psi. The pressure was increased to 23,000 psi and the homogenization was continued for another 20 minutes. The particles produced by the process had a mean diameter of 0.881 µm with 99% of the particles being less than 2.44 µm.

Example 7 Preparation of 1% carbamazepine suspension with 0.125% Solutol® by use of Process Category 3 Method B with homogenization.

A drug concentrate of 20% carbamazepine and 5% glycodeoxycholic acid (Sigma Chemical Co) in N-methyl-2-pyrrolidinone was prepared. The microprecipitation step involved adding the drug concentrate to the receiving solution (distilled water) at a rate of 0.1 mL/min. The receiving solution was stirred and maintained at approximately 5°C during precipitation. After precipitation, the final ingredient concentrations were 1% carbamazepine and 0.125% Solutol®. The drug crystals were examined under a light microscope using positive phase contrast (400X). The precipitate consisted of fine needles approximately 2 microns in diameter and ranging from 50 – 150 microns in length.

Homogenization (Avestin C-50 piston-gap homogenizer) at approximately 20,000 psi for approximately 15 minutes results in small particles, less than 1 micron in size and largely unaggregated. Laser diffraction analysis (Horiba) of the homogenized material showed that the particles had a mean size of 0.4 micron with 99% of the particles less than 0.8 micron. Low energy sonication, suitable for breaking agglomerated particles, but not with sufficient energy to cause a comminution of individual particles, of the sample before Horiba analysis had no effect on the results (numbers were the same with and without sonication). This result was consistent with the absence of particle agglomeration.

Samples prepared by the above process were centrifuged and the supernatant solutions replaced with a replacement solution consisting of 0.125% Solutol®. After centrifugation and supernatant replacement, the suspension ingredient concentrations were 1% carbamazepine and 0.125% Solutol®. The samples were re-homogenized by piston-gap homogenizer and stored at 5°C. After 4 weeks storage, the suspension had a mean particle size of 0.751 with 99% less than 1.729. Numbers reported are from Horiba analysis on unsonicated samples.

Example 8 Preparation of 1% carbamazepine suspension with 0.06% sodium glycodeoxycholate and 0.06% poloxamer 188 by use of Process Category 3, Method B with homogenization

A drug concentrate comprising 20% carbamazepine and 5% glycodeoxycholate in N-methyl-2-pyrrolidinone was prepared. The microprecipitation step involved adding the drug concentrate to the receiving solution (distilled water) at a rate of 0.1 mL/min. Thus the following examples demonstrate that adding a surfactant or other excipient to the aqueous precipitating solution in Methods A and B above is optional. The receiving solution was stirred and maintained at approximately 5°C during precipitation. After precipitation, the final ingredient concentrations were 1% carbamazepine and 0.125% Solutol®. The drug crystals were examined under a light microscope using positive phase contrast (400X). The precipitate consisted of fine needles approximately 2 microns in diameter and ranging from 50 – 150 microns in length. Comparison of the precipitate with the raw material before precipitation reveals that the precipitation step in the presence of surface modifier (glycodeoxycholic acid) results in very slender crystals that are much thinner than the starting raw material (see FIG. 6).

Homogenization (Avestin C 50 piston-gap homogenizer) at approximately 20,000 psi for approximately 15 minutes results in small particles, less than 1 micron in size and largely unaggregated. See FIG. 7. Laser diffraction analysis (Horiba) of the homogenized material showed that the particles had a mean size of 0.4 micron with 99% of the particles less than 0.8 micron. Sonication of the sample before Horiba analysis had no effect on the results (numbers were the same with and without sonication). This result was consistent with the absence of particle agglomeration.

Samples prepared by the above process were centrifuged and the supernatant solutions replaced with a replacement solution consisting of 0.06% glycodeoxycholic acid (Sigma Chemical Co) and 0.06% Poloxamer 188. The samples were re-homogenized by piston-gap homogenizer and stored at 5°C. After 2 weeks storage, the suspension had a mean particle size of 0.531 micron with 99% less than 1.14 micron. Numbers reported are from Horiba analysis on unsonicated samples.

Mathematical Analysis (Example 8) of force required to break precipitated particles as compared to force required to break particles of the starting raw material (carbamazepine)

The width of the largest crystals seen in the carbamazepine raw material (FIG 6, picture on left) are roughly 10-fold greater than the width of crystals in the microprecipitated material (FIG 6, picture on right). On the assumption that the ratio of crystal thickness (1/10) is proportional to the ratio of crystal width (1/10), then the moment of force required to cleave the larger crystal in the raw material should be approximately 1,000-times greater than the force needed to break the microprecipitated material, since

$$e_L = 6PL/(Ewx^3) \quad \text{Eq. 1}$$

1

where,

e_L = longitudinal strain required to break the crystal ("yield value")

P = load on beam

L = distance from load to fulcrum

E = elasticity modulus

w = width of crystal

x = thickness of crystal

Let us assume that L and E are the same for the raw material and the precipitated material. Additionally, let us assume that $w/w_0 = x/x_0 = 10$. Then,

$(e_L)_0 = 6P_0L/(Ew_0x_0^3)$, where the '0' subscripts refer to raw material

$e_L = 6PL/(Ewx^3)$, for the microprecipitate

Equating $(e_L)_0$ and e_L ,

$$6PL/(Ewx^3) = 6P_0L/(Ew_0x_0^3)$$

After simplification,

$$P = P_0 (w/w_0) (x/x_0)^2 = P_0 (0.1) (0.1)^2 = 0.001 P_0$$

Thus, the yield force, P , required to break the microprecipitated solid is one-thousandth the required force necessary to break the starting crystalline solid. If, because of rapid precipitation, lattice defects or amorphous properties are introduced, then the modulus (E) should decrease, making the microprecipitate even easier to cleave

Example 9 Preparation of 1.6% (w/v) prednisolone suspension with 0.05% sodium deoxycholate and 3% N-methyl-2-pyrrolidinone Process Category 3 Method B

A schematic of the overall manufacturing process is presented in FIG. 8. A concentrated solution of prednisolone and sodium deoxycholate was prepared. Prednisolone (32g) and sodium deoxycholate (1g) were added to a sufficient volume of 1-methyl-2-pyrrolidinone (NMP) to produce a final volume of 60 mL. The resulting prednisolone concentration was approximately 533.3 mg/mL and the sodium deoxycholate concentration was approximately 16.67 mg/mL. 60 mL of NMP concentrate was added to 2 L of water cooled to 5°C at an addition rate of 2.5 mL/min while stirring at approximately 400 rpm. The resulting suspension contained slender needle-shaped crystals less than 2 µm in width (FIG. 9). The concentration contained in the precipitated suspension was 1.6% (w/v) prednisolone, 0.05% sodium deoxycholate, and 3% NMP.

The precipitated suspension was pH adjusted to 7.5-8.5 using sodium hydroxide and hydrochloric acid then homogenized (Avestin C-50 piston-gap homogenizer) for 10 passes at 10,000 psi. The NMP was removed by performing 2 successive centrifugation steps replacing the supernatant each time with a fresh surfactant solution, which contained the desired concentrations of surfactants needed to stabilize the suspension (see Table 2). The suspension was homogenized for another 10 passes at 10,000 psi. The final suspension contained particles with a mean particle size of less than 1 µm, and 99% of particles less than 2 µm. FIG. 10 is a photomicrograph of the final prednisolone suspension after homogenization.

A variety of different surfactants at varying concentrations were used in the centrifugation/surfactant replacement step (see Table 2). Table 2 lists combinations of

surfactants that were stable with respect to particle size (mean < 1 µm, 99% < 2 µm), pH (6-8), drug concentration (less than 2% loss) and re-suspendability (resuspended in 60 seconds or less)

Notably this process allows for adding the active compound to an aqueous diluent without the presence of a surfactant or other additive This is a modification of process Method B in FIG 2

Table 2 List of stable prednisolone suspensions prepared by microprecipitation process of FIG 8 (Example 9)

			2 Weeks		2 Months						
	Initial		40°C		5°C		25°C		40°C		
Formulation	Mean	>99%	Mean	>99%	Mean	>99%	Mean	>99%	Mean	>99%	% Loss*
1 6% prednisolone, 0 6% phospholipids 0 5% sodium deoxycholate 5 mM TRIS 2 2% glycerol **	0 79	1 65	0 84	1 79	0 83	1 86	0 82	1 78	0 82	1 93	<2%
1 6% prednisolone, 0 6% Solutol®, 0 5% sodium deoxycholate 2 2% glycerol	0 77	1 52	0 79	1 67	0 805	1 763	0 796	1 693	0 81	1 633	<2%
1 6% prednisolone 0 1% poloxamer 188, 0 5% sodium deoxycholate 2.2% glycerol	0 64	1 16	0 82	1 78	0 696	1 385	0 758	1 698	0 719	1 473	<2%
1 6% prednisolone, 5% phospholipids, 5 mM TRIS 2 2% glycerol	0 824	1 77	0 87	1 93	0 88	1 95	0 869	1 778	0 909	1 993	<2%

* Difference in itraconazole concentration between samples stored for 2 months at 5 and 25°C

** Stable through at least 6 months

Particle sizes (by laser light scattering), in microns

5°C 0 80 (mean), 1 7 (99%)

25°C 0 90 (mean), 2 51 (99%)

40°C 0 99 (mean), 2 03 (99%)

Difference in itraconazole concentration between samples stored at 5 and 25°C <2%

Example 10 Preparation of prednisolone suspension by use of Process Category 3.

Method A with homogenization.

32 g of prednisolone was dissolved into 40 mL of NMP Gentle heating at 40-50°C was required to effect dissolution The drug NMP concentrate was subsequently

dropped at 2.5 mL/min into 2 liters of a stirred solution that consisted of 0.12% lecithin and 2.2% glycerin. No other surface modifiers were added. The surfactant system was buffered at pH = 8.0 with 5 mM tris buffer and the temperature was held at 0° to 5°C during the entire precipitation process. The post-precipitated dispersion was
 5 next homogenized cold (5-15 °C) for 20 passes at 10,000 psi. Following homogenization, the NMP was removed by centrifuging the suspension, removing the supernatant, and replacing the supernatant with fresh surfactant solution. This post-centrifuged suspension was then rehomogenized cold (5-15 °C) for another 20 passes at 10,000 psi. The particles produced by this process had a mean diameter of 0.927
 10 μm with 99% of the particles being less than 2.36 μm .

Example 11. Preparation of nabumetone suspension by use of Process Category 3

Method B with homogenization

Surfactant (2.2 g of poloxamer 188) was dissolved in 6 mL of N-methyl-2-pyrrolidinone. This solution was stirred at 45°C for 15 minutes, after which 1.0 g of
 15 nabumetone was added. The drug dissolved rapidly. Diluent was prepared which consisted of 5 mM tris buffer with 2.2% glycerol, and adjusted to pH 8. A 100-mL portion of diluent was cooled in an ice bath. The drug concentrate was slowly added (approximately 0.8 mL/min) to the diluent with vigorous stirring. This crude suspension was homogenized at 15,000 psi for 30 minutes and then at 20,000 psi for
 20 30 minutes (temperature = 5°C). The final nanosuspension was found to be 930 nm in effective mean diameter (analyzed by laser diffraction). 99% of the particles were less than approximately 2.6 microns.

Example 12. Preparation of nabumetone suspension by use of Process Category 3

Method B with homogenization and the use of Solutol® HS 15 as the surfactant

25 Replacement of supernatant liquid with a phospholipid medium

Nabumetone (0.987 grams) was dissolved in 8 mL of N-methyl-2-pyrrolidinone. To this solution was added 2.2 grams of Solutol® HS 15. This mixture was stirred until complete dissolution of the surfactant in the drug concentrate. Diluent was prepared, which consisted of 5 mM tris buffer with 2.2% glycerol, and
 30 which was adjusted to pH 8. The diluent was cooled in an ice bath, and the drug concentrate was slowly added (approximately 0.5 mL/min) to the diluent with

vigorous stirring. This crude suspension was homogenized for 20 minutes at 15,000 psi, and for 30 minutes at 20,000 psi.

The suspension was centrifuged at 15,000 rpm for 15 minutes and the supernatant was removed and discarded. The remaining solid pellet was resuspended in a diluent consisting of 1.2% phospholipids. This medium was equal in volume to the amount of supernatant removed in the previous step. The resulting suspension was then homogenized at approximately 21,000 psi for 30 minutes. The final suspension was analyzed by laser diffraction and was found to contain particles with a mean diameter of 542 nm, and a 99% cumulative particle distribution sized less than 1 micron.

Example 13 Preparation of 1% itraconazole suspension with poloxamer with particles of a mean diameter of approximately 220 nm

Itraconazole concentrate was prepared by dissolving 10.02 grams of itraconazole in 60 mL of N-methyl-2-pyrrolidinone. Heating to 70°C was required to dissolve the drug. The solution was then cooled to room temperature. A portion of 50 mM tris(hydroxymethyl)aminomethane buffer (tris buffer) was prepared and was pH adjusted to 8.0 with 5M hydrochloric acid. An aqueous surfactant solution was prepared by combining 22 g/L poloxamer 407, 3.0 g/L egg phosphatides, 22g/L glycerol, and 3.0 g/L sodium cholate dihydrate. 900 mL of the surfactant solution was mixed with 100 mL of the tris buffer to provide 1000 mL of aqueous diluent.

The aqueous diluent was added to the hopper of the homogenizer (APV Gaulin Model 15MR-8TA), which was cooled by using an ice jacket. The solution was rapidly stirred (4700 rpm) and the temperature was monitored. The itraconazole concentrate was slowly added, by use of a syringe pump, at a rate of approximately 2 mL/min. Addition was complete after approximately 30 minutes. The resulting suspension was stirred for another 30 minutes while the hopper was still being cooled in an ice jacket, and an aliquot was removed for analysis by light microscopy and dynamic light scattering. The remaining suspension was subsequently homogenized for 15 minutes at 10,000 psi. By the end of the homogenization the temperature had risen to 74°C. The homogenized suspension was collected in a 1-L Type I glass bottle and sealed with a rubber closure. The bottle containing suspension was stored in a refrigerator at 5°C.

A sample of the suspension before homogenization showed the sample to consist of both free particles, clumps of particles, and multilamellar lipid bodies. The free particles could not be clearly visualized due to Brownian motion, however, many of the aggregates appeared to consist of amorphous non-crystalline material.

5 The homogenized sample contained free submicron particles having excellent size homogeneity without visible lipid vesicles. Dynamic light scattering showed a monodisperse logarithmic size distribution with a median diameter of approximately 220 nm. The upper 99% cumulative size cutoff was approximately 500 nm. FIG. 11 shows a comparison of the size distribution of the prepared nanosuspension with that
10 of a typical parenteral fat emulsion product (10% Intralipid®, Pharmacia).

Example 14 Preparation of 1% itraconazole nanosuspension with hydroxyethylstarch

Preparation of Solution A: Hydroxyethylstarch (1 g, Ajinomoto) was dissolved in 3 mL of N-methyl-2-pyrrolidone (NMP). This solution was heated in a water bath to 70-80°C for 1 hour. In another container was added 1 g of itraconazole (Wyckoff).
15 Three mL of NMP were added and the mixture heated to 70-80°C to effect dissolution (approximately 30 minutes). Phospholipid (Lipoid S-100) was added to this hot solution. Heating was continued at 70-90°C for 30 minutes until all of the phospholipid was dissolved. The hydroxyethylstarch solution was combined with the itraconazole/ phospholipid solution. This mixture was heated for another 30 minutes
20 at 80-95°C to dissolve the mixture.

Addition of Solution A to Tris Buffer: Ninety-four (94) mL of 50 mM tris(hydroxymethyl)aminomethane buffer was cooled in an ice bath. As the tris solution was being rapidly stirred, the hot Solution A (see above) was slowly added dropwise (less than 2 cc/minute).

25 After complete addition, the resulting suspension was sonicated (Cole-Parmer Ultrasonic Processor - 20,000 Hz, 80% amplitude setting) while still being cooled in the ice bath. A one-inch solid probe was utilized. Sonication was continued for 5 minutes. The ice bath was removed, the probe was removed and retuned, and the probe was again immersed in the suspension. The suspension was sonicated again for
30 another 5 minutes without the ice bath. The sonicator probe was once again removed and retuned, and after immersion of the probe the sample was sonicated for another 5 minutes. At this point, the temperature of the suspension had risen to 82°C. The

suspension was quickly cooled again in an ice bath and when it was found to be below room temperature it was poured into a Type I glass bottle and sealed. Microscopic visualization of the particles indicated individual particle sizes on the order of one micron or less.

- 5 After one year of storage at room temperature, the suspension was reevaluated for particle size and found to have a mean diameter of approximately 300 nm.

Example 15 Prophetic example of Method A using HES

- 10 The present invention contemplates preparing a 1% itraconazole nanosuspension with hydroxyethylstarch utilizing Method A by following the steps of Example 14 with the exception the HES would be added to the tris buffer solution instead of to the NMP solution. The aqueous solution may have to be heated to dissolve the HES.

Example 16 Seeding during Homogenization to Convert a Mixture of Polymorphs to the More Stable Polymorph

- 15 Sample preparation An itraconazole nanosuspension was prepared by a microprecipitation-homogenization method as follows. Itraconazole (3g) and Solutol HR (2.25g) were dissolved in 36mL of N-methyl-2-pyrrolidinone (NMP) with low heat and stirring to form a drug concentrate solution. The solution was cooled to room temperature and filtered through a 0.2 µm nylon filter under vacuum to remove undissolved drug or particulate matter. The solution was viewed under polarized light to ensure that no crystalline material was present after filtering. The drug concentrate solution was then added at 1.0 mL/minute to approximately 264 mL of an aqueous buffer solution (22 g/L glycerol in 5 mM tris buffer). The aqueous solution was kept at 2-3°C and was continuously stirred at approximately 400 rpm during the drug concentrate addition. Approximately 100 mL of the resulting suspension was centrifuged and the solids resuspended in a pre-filtered solution of 20% NMP in water. This suspension was re-centrifuged and the solids were transferred to a vacuum oven for overnight drying at 25°C. The resulting solid sample was labeled SMP 2 PRE.

- 20 Sample characterization The sample SMP 2 PRE and a sample of the raw material itraconazole were analyzed using powder x-ray diffractometry. The measurements were performed using a Rigaku MiniFlex+ instrument with copper

radiation, a step size of 0.02° 2θ and scan speed of 0.25° 2θ /minute. The resulting powder diffraction patterns are shown in FIG. 12. The patterns show that SMP-2-PRE is significantly different from the raw material, suggesting the presence of a different polymorph or a pseudopolymorph.

5 Differential scanning calorimetry (DSC) traces for the samples are shown in FIGS. 13a and b. Both samples were heated at 2° /min to 180°C in hermetically sealed aluminum pans.

The trace for the raw material (itraconazole) (FIG. 13a) shows a sharp endotherm at approximately 165°C .

10 The trace for SMP 2 PRE (FIG. 13b) exhibits two endotherms at approximately 159°C and 153°C . This result, in combination with the powder x-ray diffraction patterns, suggests that SMP 2 PRE consists of a mixture of polymorphs, and that the predominant form is a polymorph that is less stable than polymorph present in the raw material.

15 Further evidence for this conclusion is provided by the DSC trace in FIG. 14, which shows that upon heating SMP 2 PRE through the first transition, then cooling and reheating, the less stable polymorph melts and recrystallizes to form the more stable polymorph.

Seeding A suspension was prepared by combining 0.2g of the solid SMP 2
20 PRE and 0.2g of raw material itraconazole with distilled water to a final volume of 20 mL (seeded sample). The suspension was stirred until all the solids were wetted. A second suspension was prepared in the same manner but without adding the raw material itraconazole (unseeded sample). Both suspensions were homogenized at approximately 18,000 psi for 30 minutes. Final temperature of the suspensions after
25 homogenization was approximately 30°C . The suspensions were then centrifuged and the solids dried for approximately 16 hours at 30°C .

FIG. 15 shows the DSC traces of the seeded and unseeded samples. The heating rate for both samples was 2° /min to 180°C in hermetically sealed aluminum pans. The trace for the unseeded sample shows two endotherms, indicating that a
30 mixture of polymorphs is still present after homogenization. The trace for the seeded sample shows that seeding and homogenization causes the conversion of the solids to

the stable polymorph. Therefore, seeding appears to influence the kinetics of the transition from the less stable to the more stable polymorphic form

Example 17 Seeding during Precipitation to Preferentially Form a Stable Polymorph

Sample preparation An itraconazole-NMP drug concentrate was prepared by dissolving 1.67 g of itraconazole in 10 mL of NMP with stirring and gentle heating. The solution was filtered twice using 0.2 µm syringe filters. Itraconazole nanosuspensions were then prepared by adding 1.2 mL of the drug concentrate to 20 mL of an aqueous receiving solution at approx. 3°C and stirring at approx. 500 rpm. A seeded nanosuspension was prepared by using a mixture of approx. 0.02 g of raw material itraconazole in distilled water as the receiving solution. An unseeded nanosuspension was prepared by using distilled water only as the receiving solution. Both suspensions were centrifuged, the supernatants decanted, and the solids dried in a vacuum oven at 30°C for approximately 16 hours.

Sample characterization FIG. 16 shows a comparison of the DSC traces for the solids from the seeded and unseeded suspensions. The samples were heated at 2°C/min to 180°C in hermetically sealed aluminum pans. The dashed line represents the unseeded sample, which shows two endotherms, indicating the presence of a polymorphic mixture.

The solid line represents the seeded sample, which shows only one endotherm near the expected melting temperature of the raw material, indicating that the seed material induced the exclusive formation of the more stable polymorph.

Example 18 Polymorph control by seeding the drug concentrate

Sample preparation The solubility of itraconazole in NMP at room temperature (approximately 22°C) was experimentally determined to be 0.16 g/mL. A 0.20 g/mL drug concentrate solution was prepared by dissolving 2.0 g of itraconazole and 0.2 g Poloxamer 188 in 10 mL NMP with heat and stirring. This solution was then allowed to cool to room temperature to yield a supersaturated solution. A microprecipitation experiment was immediately performed in which 1.5 mL of the drug concentrate was added to 30 mL of an aqueous solution containing 0.1% deoxycholate, 2.2% glycerol. The aqueous solution was maintained at ~2°C and a stir rate of 350 rpm during the addition step. The resulting presuspension was

homogenized at ~13,000 psi for approx 10 minutes at 50°C. The suspension was then centrifuged, the supernatant decanted, and the solid crystals dried in a vacuum oven at 30°C for 135 hours.

5 The supersaturated drug concentrate was subsequently aged by storing at room temperature in order to induce crystallization. After 12 days, the drug concentrate was hazy, indicating that crystal formation had occurred. An itraconazole suspension was prepared from the drug concentrate, in the same manner as in the first experiment, by adding 1.5 mL to 30 mL of an aqueous solution containing 0.1% deoxycholate, 2.2% glycerol. The aqueous solution was maintained at ~5°C and a stir rate of 350 rpm during the addition step. The resulting presuspension was homogenized at ~13,000 psi for approx 10 minutes at 50°C. The suspension was then centrifuged, the supernatant decanted, and the solid crystals dried in a vacuum oven at 30°C for 135 hours.

Sample characterization X-ray powder diffraction analysis was used to determine the morphology of the dried crystals. The resulting patterns are shown in FIG. 17. The crystals from the first experiment (using fresh drug concentrate) were determined to consist of the more stable polymorph. In contrast, the crystals from the second experiment (aged drug concentrate) were predominantly composed of the less stable polymorph, with a small amount of the more stable polymorph also present. Therefore, it is believed that aging induced the formation of crystals of the less stable polymorph in the drug concentrate, which then acted as seed material during the microprecipitation and homogenization steps such that the less stable polymorph was preferentially formed.

Example 19: Microprecipitation and Homogenization Processes for Making Paclitaxel Particles

25 Example A

A solution of paclitaxel in NMP was precipitated in a surfactant solution containing 0.5% poloxamer 188 and 0.05% mPEG-DSPE (with 2% glycerin as a tonicity agent), at low temperature (< 10°C). The total suspension volume was 10 mL, with a drug concentration of 1% (w/v). High pressure homogenization was carried out immediately after precipitation, at a pressure of ~25,000 psi at a temperature of 40°C.

After homogenization (20 minutes), particle size of the suspension was examined using light scattering. Mean particle size was 186 nm.

Example B

A solution of paclitaxel in NMP was precipitated in a surfactant solution containing 0.5% w/v poloxamer 188 and 0.05% w/v mPEG-DSPE (with 2% w/v glycerin as a tonicity agent), at low temperature (< 10°C). The total suspension volume was 20 mL, with a drug concentration of 1% (w/v). High pressure homogenization was carried out immediately after precipitation, at a pressure of ~ 25,000 psi at a temperature of 40°C. After 30 minutes homogenization, particle size of the suspension was examined using light scattering. Mean particle size was 204 nm.

Example C

A solution of paclitaxel in NMP was precipitated in a surfactant solution containing 0.5% poloxamer 188 and 0.05% mPEG-DSPE (with 2% glycerin as a tonicity agent), at low temperature (< 10°C). The total suspension volume was 10 mL, with a drug concentration of 1% (w/v). High pressure homogenization was carried out immediately after precipitation, at a pressure of ~ 25,000 psi at a temperature of 70°C. After homogenization, particle size of the suspension was examined using light scattering. Mean particle size was 158 nm. About 45% of particles were under 150 nm.

Example D

A solution of paclitaxel in NMP was precipitated in a surfactant solution containing 0.05% mPEG-DSPE (with 2% glycerin as a tonicity agent), at low temperature (< 10°C). The total suspension volume was 10 mL, with a drug concentration of 1% (w/v). High pressure homogenization was carried out immediately after precipitation, at a pressure of ~ 25,000 psi at a temperature of 40°C. After homogenization, particle size of the suspension was examined using light scattering. Mean particle size was 244 nm.

Example 20 Dissolution Characteristics of Paclitaxel Submicron Particles

One of the desirable characteristics of submicron formulations of antineoplastic drugs is that they do not dissolve in order to facilitate long circulation when

administered to a subject. Two formulations of paclitaxel particles prepared by the methods described in Example 19 were tested for their solubility by dissolution kinetics using % transmission at 400 nm as a measure for dissolution. The particles are not soluble if % transmission does not return to 100% after addition of suspension.

- 5 One formulation contains the surface modifiers poloxamer 188 (P188) and mPEG-DSPE. The other formulation contains the surface modifier of mPEG-DSPE only. The results are shown in FIG. 18. In both cases, % transmission did not rise after the initial drop to about 60%, indicating that the particles do not dissolve.

Example 21 Stability of Paclitaxel Submicron Particles Under Stressed Conditions and Upon Storage

- 10 Stability of the submicron paclitaxel particles prepared in Example A of Example 19 was tested using accelerated stress testing as well as storage at 5°C for one month. As shown in FIGs. 19 and 20, the mean particle size and the 99th percentile both remained virtually unchanged. No aggregation was observed for the formulation
15 either, even after all the stress tests. Aggregation was estimated by measuring particle size before and after 1 minute sonication and comparing the difference via the following equation:

$$\% \text{ Aggregation} = \frac{(P_{99} - P_{99S}) \times 100}{P_{99S}}$$

- where P_{99} represents 99th percentile of the particle size distribution before sonication,
20 and P_{99S} represents 99th percentile of the particle size distribution after sonication.

While specific embodiments have been illustrated and described, numerous modifications come to mind without departing from the spirit of the invention and the scope of protection is only limited by the scope of the accompanying claims.

CLAIMS

What is claimed is

1 A method for preparing a pharmaceutical composition of submicron particles of paclitaxel or its derivative compounds, the solubility of which is greater in a water-miscible first solvent than in a second solvent that is aqueous, the method comprising the steps of

(i) mixing into the water-miscible first solvent or the second solvent or both the water-miscible first solvent and the second solvent a first surface modifier comprising a phospholipid conjugated with a water-soluble or hydrophilic polymer,

(ii) dissolving paclitaxel or its derivative compounds in the water-miscible first solvent to form a solution,

(iii) mixing the solution with the second solvent to define a pre-suspension of particles, and

(iv) homogenizing the pre-suspension to form a suspension of small particles having an average effective particle size of less than about 1000 nm

2 The method of claim 1, wherein the phospholipid is natural or synthetic

3 The method of claim 1, wherein the phospholipid is phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, diacyl-glycero-phosphoethanolamine, phosphatidylserine, phosphatidylinositol, phosphatidylglycerol, phosphatidic acid, lysophospholipids, egg or soybean phospholipid or a combination thereof

4 The method of claim 3, wherein the diacyl-glycero-phosphoethanolamine is selected from the group consisting of dimyristoyl-glycero-phosphoethanolamine (DMPE), dipalmitoyl-glycero-phosphoethanolamine (DPPE), distearoyl-glycero-phosphoethanolamine (DSPE), and dioleoyl-glycero-phosphoethanolamine (DOPE)

5 The method of claim 1, wherein the soluble or hydrophilic polymer conjugating with the phospholipid is polyethylene glycol (PEG)

6 The method of claim 5, wherein the PEG is selected from the group consisting of PEG 350, PEG 550, PEG 750, PEG 1000, PEG 2000, PEG 3000, and PEG 5000

7 The method of claim 1, wherein the soluble or hydrophilic polymer conjugating with the phospholipid is selected from the group consisting of dextran, hydroxypropyl methacrylate (HPMA) and polyglutamate

8 The method of claim 1 further comprising mixing into the water-miscible first solvent or the second solvent or both the water-miscible first solvent and the second solvent a second surface modifier selected from the group consisting of anionic surfactant, cationic surfactant, anionic surfactants, cationic surfactants, nonionic surfactants and surface active biological modifiers

9 The method of claim 8, wherein the second surface modifier is a copolymer of oxyethylene and oxypropylene

10 The method of claim 9, wherein the copolymer of oxyethylene and oxypropylene is copolymer of oxyethylene and oxypropylene is a block copolymer

11 The method of claim 8, wherein the surface modifier is poloxamer

12 The method of claim 1, wherein the water-miscible first solvent is N-methyl-2-pyrrolidinone

13 The method of claim 1, wherein the homogenization is carried out at about 30°C or greater

14 The method of claim 1, wherein the small particles have an average effective particle size of less than about 400 nm

15 The method of claim 1, wherein the small particles have an average effective particle size of less than about 200 nm

16 The method of claim 1, wherein the small particles have an average effective particle size of less than 150 nm

- 17 The method of claim 1 further comprising sterilizing the composition
- 18 The method of claim 17, wherein the sterilizing of the composition comprises sterile filtering the solution and the second solvent before mixing and carrying out the subsequent steps under aseptic conditions
- 19 The method of claim 17, wherein the sterilizing of the composition comprises sterile filtering the particles
- 20 The method of claim 17, wherein the sterilizing comprises heat sterilization.
- 21 The method of claim 20, wherein the heat sterilization is effected by the heat within the homogenizer in which the homogenizer serves as a heating and pressurization source for sterilization
- 22 The method of claim 17, wherein sterilizing comprises gamma irradiation.
- 23 The method of claim 1 further comprising removing the water-miscible first solvent from the suspension
- 24 The method of claim 23, wherein the removing of the water-miscible first solvent is by the removal of the first solvent is by filtration
- 25 The method of claim 24, wherein the filtration is cross-flow ultrafiltration
- 26 The method of claim 23, wherein the removing of the water miscible first solvent is simultaneous with the homogenization
- 27 The method of claim 1 further comprising removing the liquid phase of the suspension to form a dry powder of the particles
- 28 The method of claim 27, wherein the removing of the liquid phase is selected from the group consisting of evaporation, rotary evaporation, lyophilization,

freeze-drying, diafiltration, centrifugation, force-field fractionation, high-pressure filtration, and reverse osmosis

29 The method of claim 27 further comprising adding a diluent to the dry powder

30 The method of claim 29, wherein the diluent is suitable for parenteral administration of the particles

31 The method of claim 1, wherein the composition is formulated for administration by a route selected from the group consisting of parenteral, oral, pulmonary, topical, ophthalmic, nasal, buccal, rectal, vaginal, and transdermal

32 The method of claim 1, wherein the particles are not soluble

33 The method of claim 1, wherein the particles do not aggregate under stressed conditions or upon storage

34 A pharmaceutical composition of submicron particles of paclitaxel or its derivative compounds prepared by the method of claim 1

FIG 1 Method A

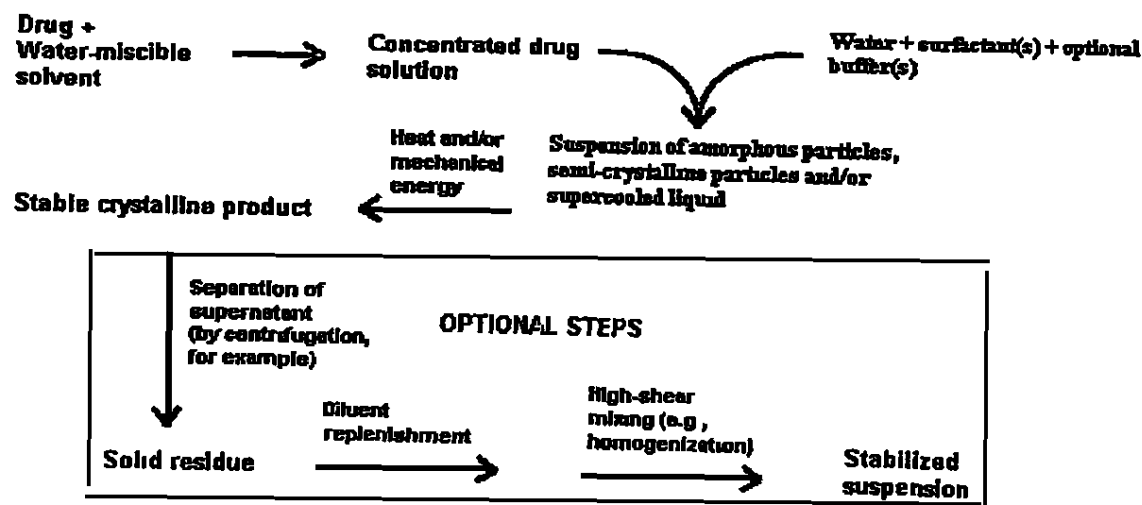
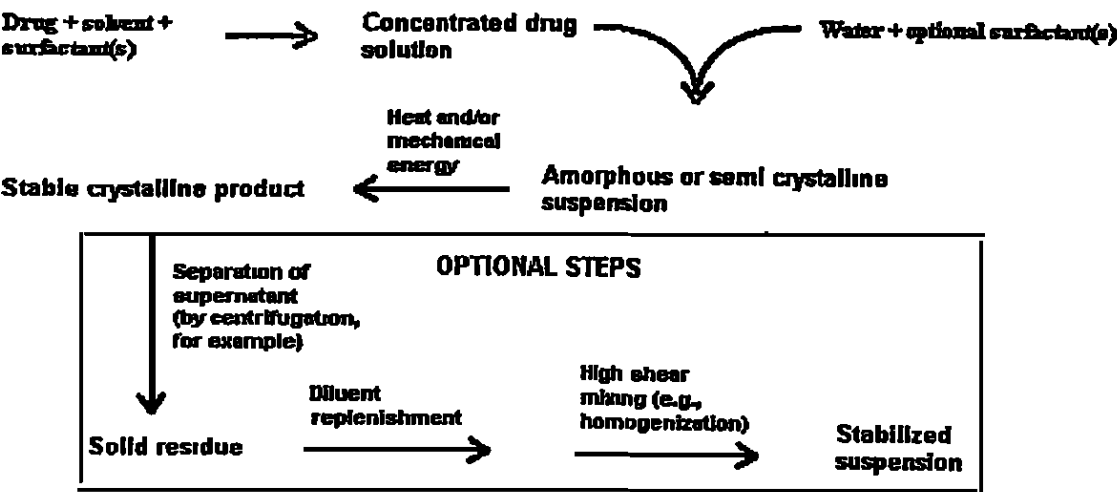
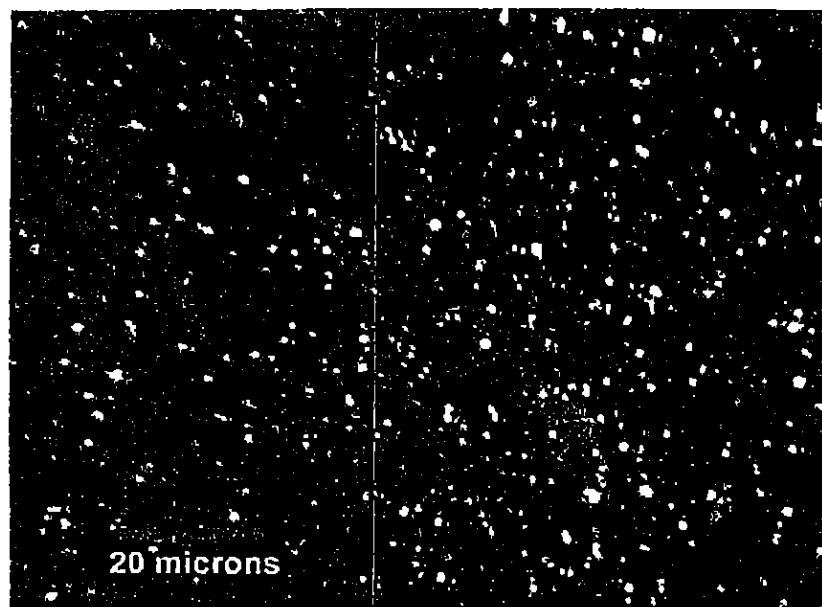


FIG 2 Method B



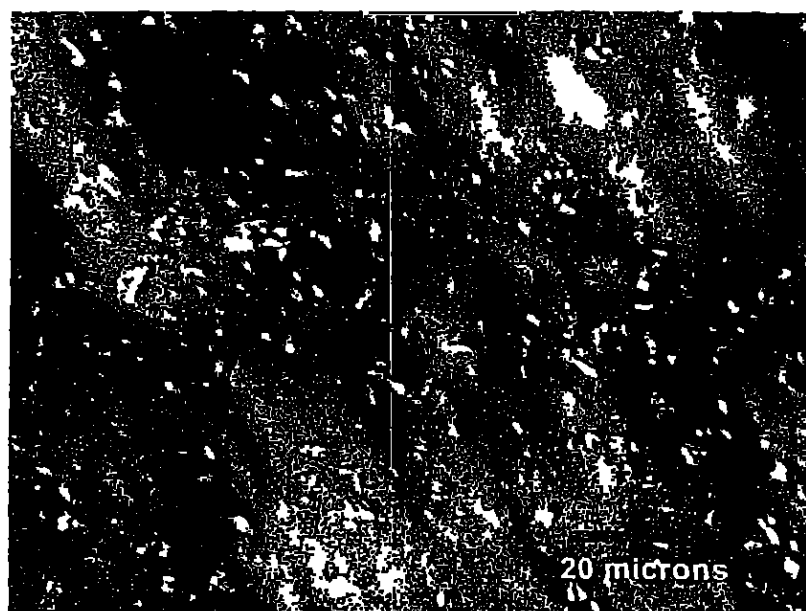
3/19

FIG 3 Amorphous particles prior to homogenization (Example 1)



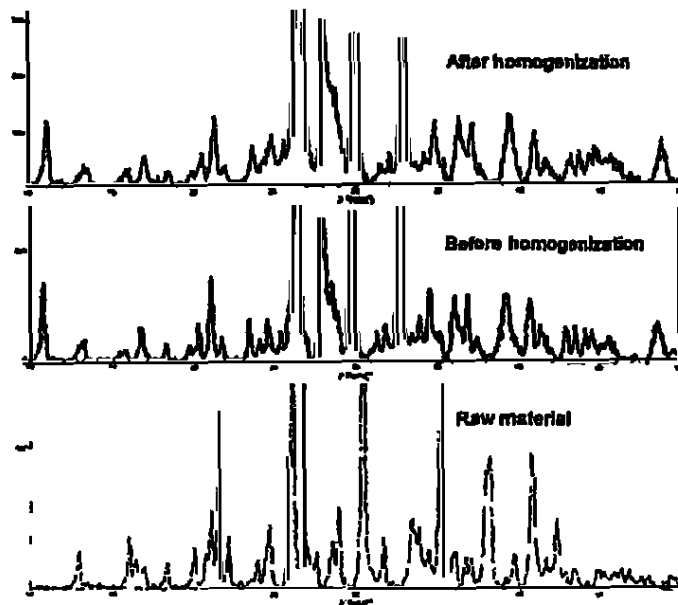
4/19

FIG 4 Particles after annealing by homogenization.

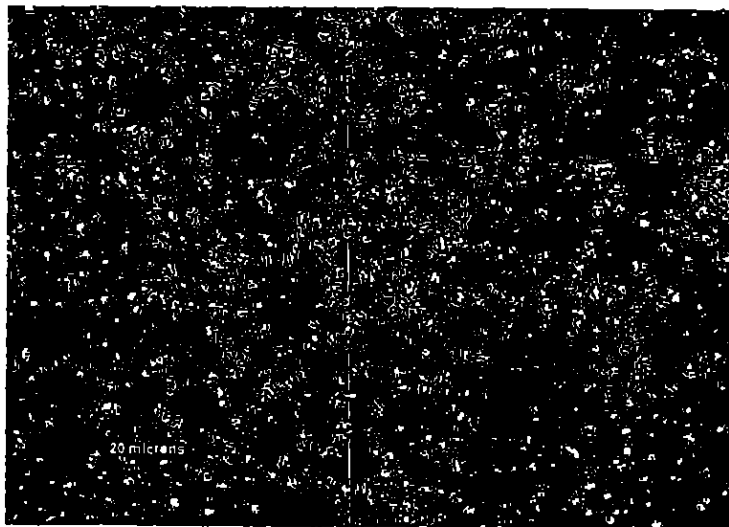


5/19

FIG 5 X-Ray diffractogram of microprecipitated itraconazole with polyethylene glycol-660 12-hydroxystearate before and after homogenization (Example 5)

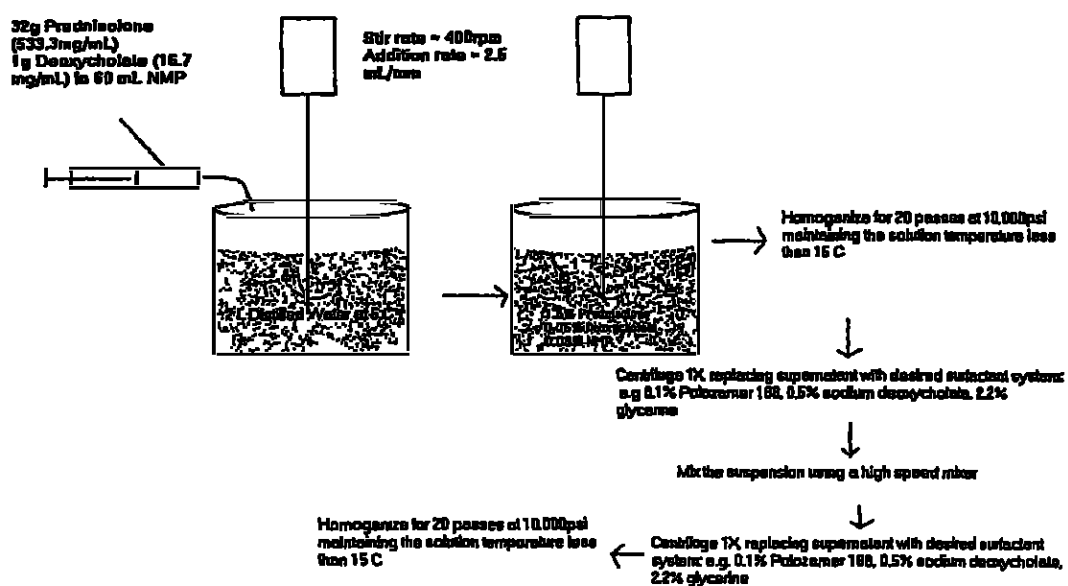


6/19

FIG 6 Carbamazepine crystals before homogenization (Example 6)**FIG 7 Carbamazepine microparticulate after homogenization (Avestin C-50)**

7/19

FIG 8 Diagram of Microprecipitation Process for Prednisolone (Examples 9-12)



8/19

FIG 9 Photomicrograph of prednisolone suspension before homogenization
(Hoffman Modulation Contrast, 1250X magnification)

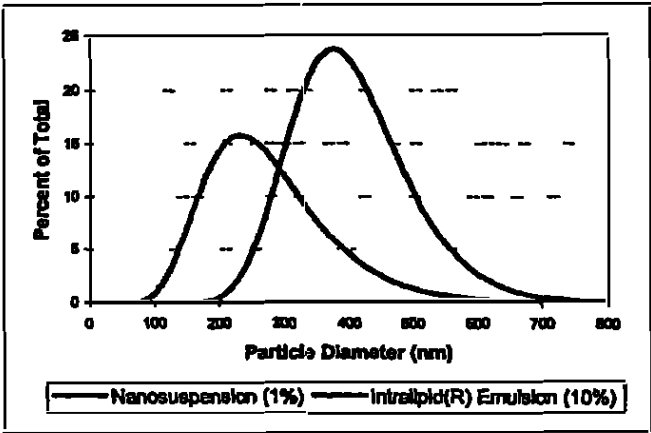


9/19

FIG 10 Photomicrograph of prednisolone suspension after homogenization
(Hoffman Modulation Contrast, 1250X magnification)

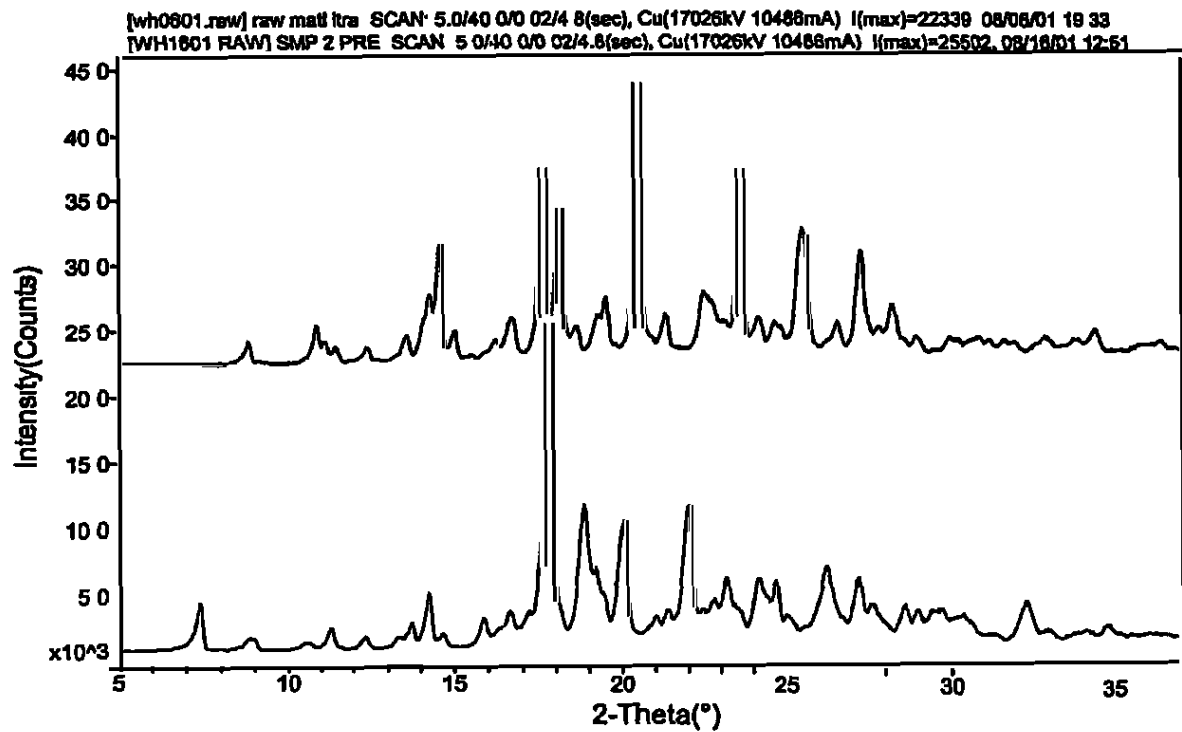


FIG 11 Comparison of size distributions of nanosuspensions (this invention) and commercial fat emulsion. (Example 13)



11/19

FIG 12 X-ray powder diffraction patterns for raw material itraconazole (top) and SMP-2-
PRE (bottom)
The raw material pattern has been shifted upward for clarity (Example 16)



12/19

FIG 13a. DSC trace for raw material itraconazole (Example 16)

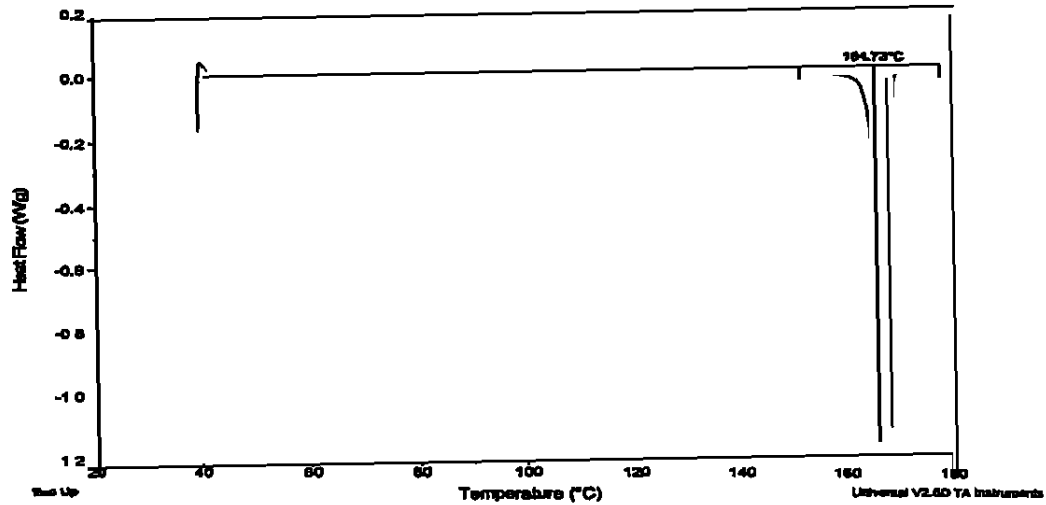


FIG 13b DSC trace for SMP-2-PRE (Example 16)

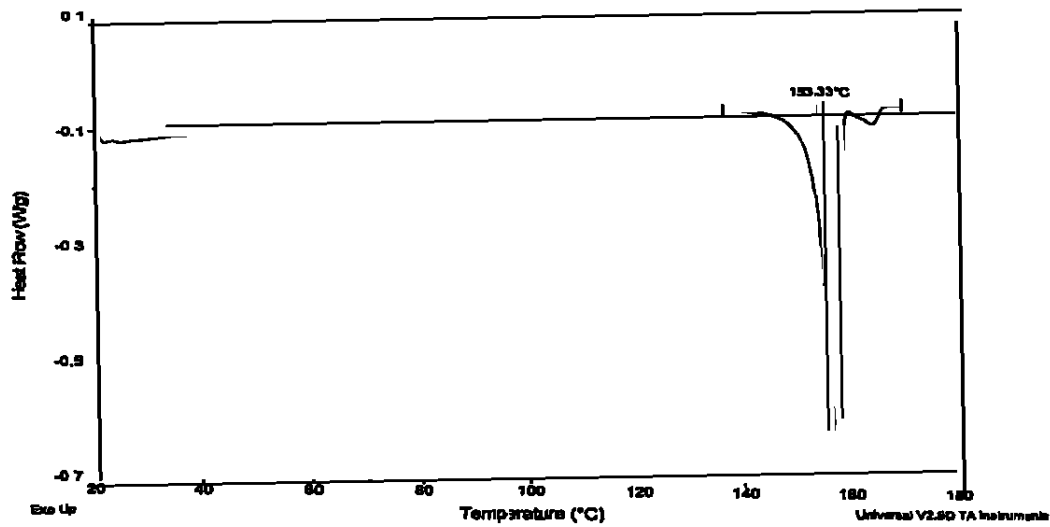
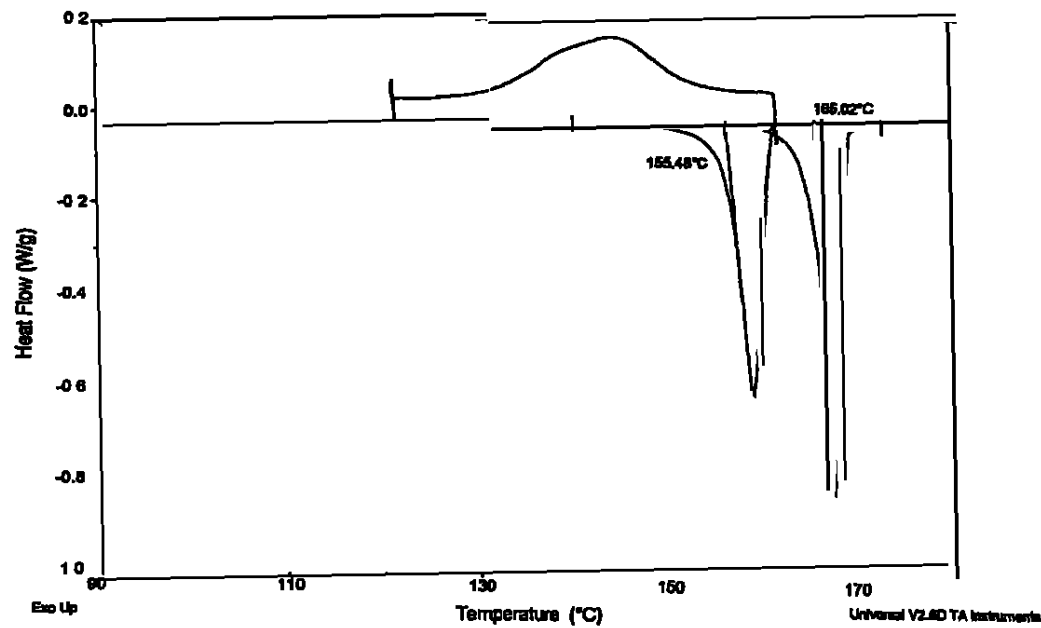
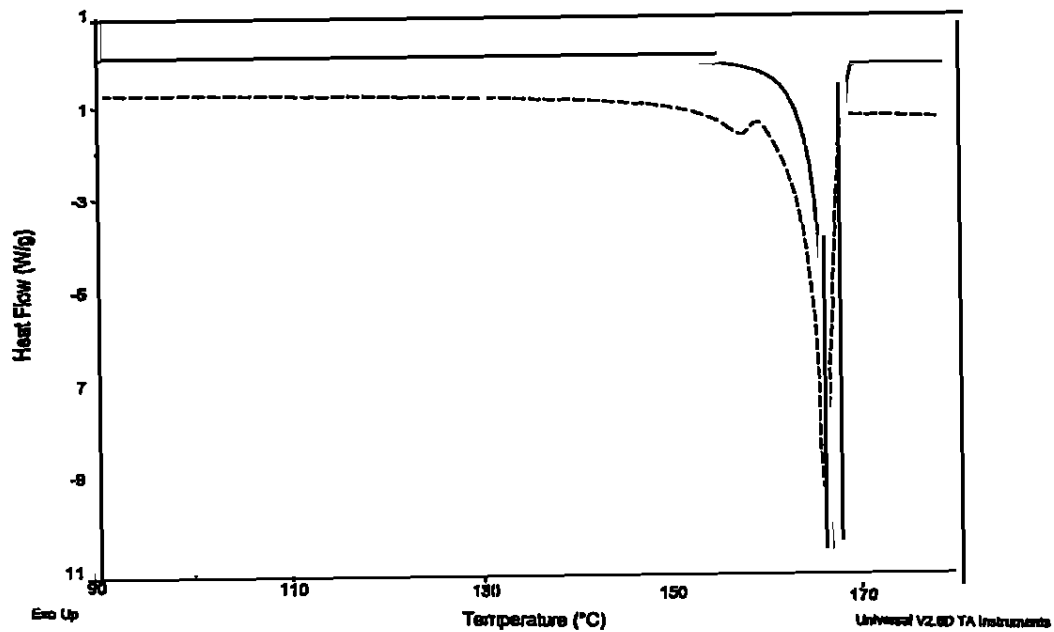


FIG 14 DSC trace for SMP-2-PRE showing the melt of the less stable polymorph upon heating to 160 °C, a recrystallization event upon cooling, and the subsequent melting of the more stable polymorph upon reheating to 180 °C (Example 16)



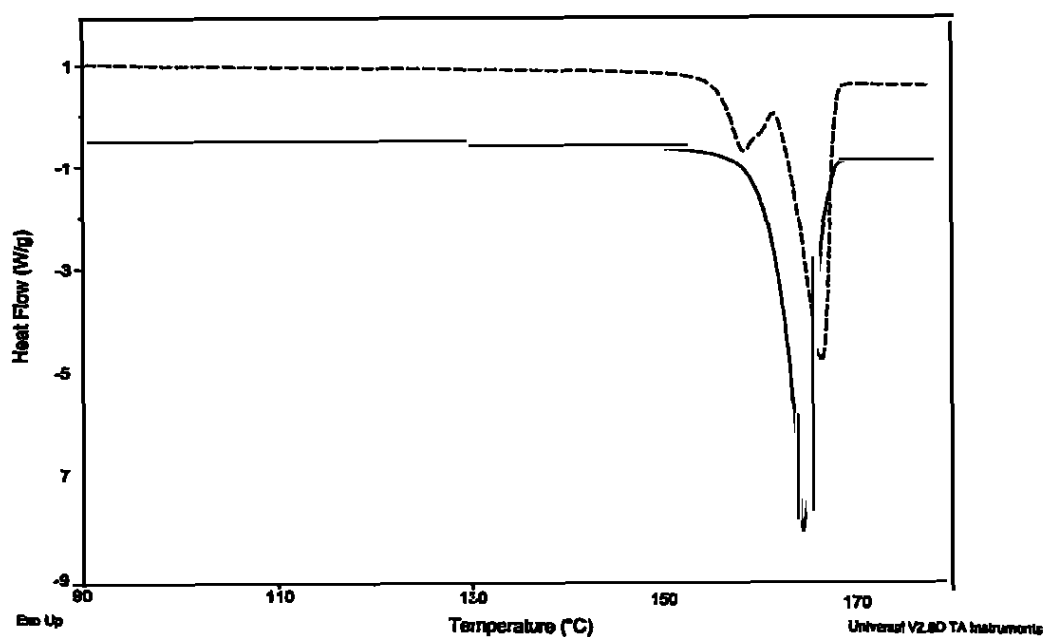
14/19

FIG 15 Comparison of SMP-2-PRB samples after homogenization. Solid line = sample seeded with raw material itraconazole. Dashed line = unseeded sample. The solid line has been shifted by 1 W/g for clarity (Example 16)



15/19

FIG 16 Effect of seeding during precipitation Dashed line = unseeded sample, solid line = sample seeded with raw material itraconazole The unseeded trace (dashed line) has been shifted upward by 1.5 W/g for clarity (Example 17)



16/19

FIG 17 Effect of seeding the drug concentrate through aging. Top x-ray diffraction pattern is for crystals prepared from fresh drug concentrate, and is consistent with the stable polymorph (see FIG 12, top) Bottom pattern is for crystals prepared from aged (seeded) drug concentrate, and is consistent with the metastable polymorph (see FIG 12, bottom) The top pattern has been shifted upward for clarity (Example 18)

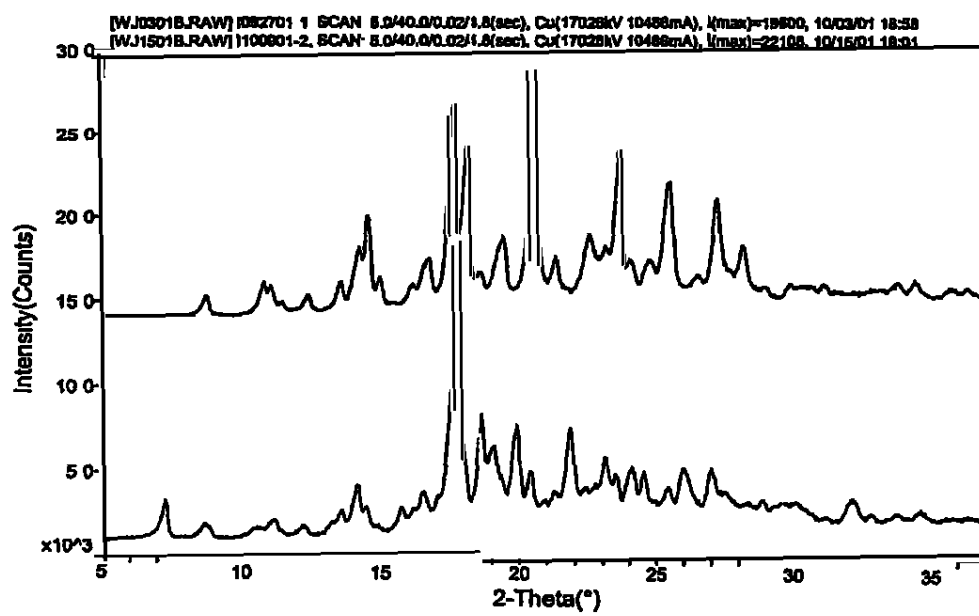


FIG 18 Dissolution of two formulations of submicron paclitaxel

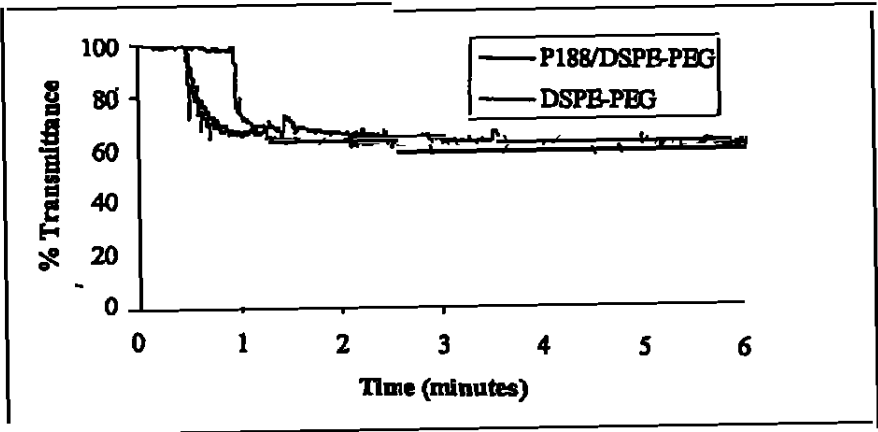


FIG 19 Effect of various stressed conditions on the particle size of submicron particles of paclitaxel

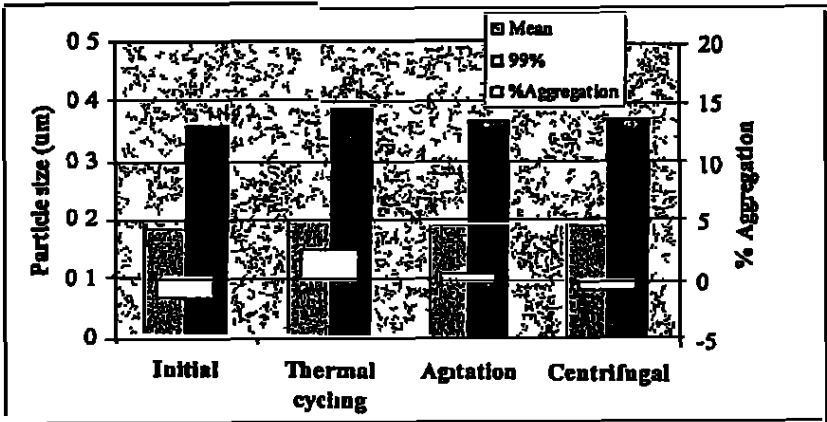
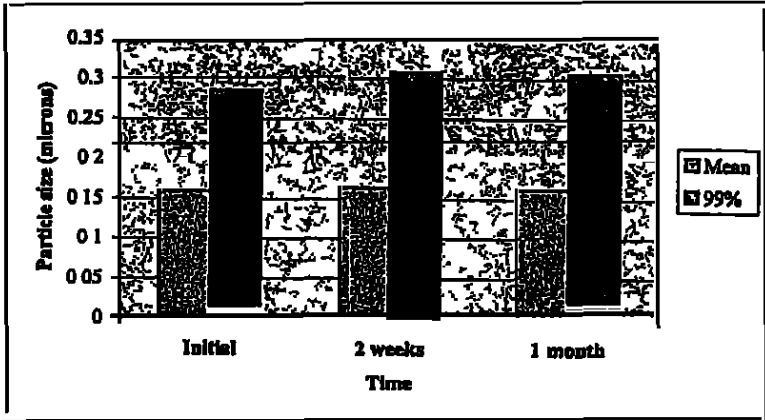


FIG 20 Effect of storage on the particle size of submicron particles of paclitaxel



METODO PARA PREPARAR PARTICULAS SUBMICRONICAS DE PACLITAXEL

CRUCE DE REFERENCIAS CON APLICACIONES RELACIONADAS

Esta aplicacion es una continuación en parte de la serie de aplicacion No 10/390,333 presentada en marzo 17, 2003, la cual es una continuación en parte de la serie de aplicación No 10/246,802 presentada en septiembre 17, 2002 la cual es una continuación en parte de la serie de aplicacion No 10/035,821 presentada en octubre 19, 2001, cual es una continuación en parte de la serie de aplicación No 09/953,979 presentada en septiembre 17 2001, cual es una continuacion en parte de la serie de aplicacion No 09/874,637 presentada en junio 5, 2001 la cual reivindica prioridad de la serie de aplicación provisional No 60/258,160 presentada en diciembre 22, 2000 Todas las aplicaciones mencionadas atrás están incorporadas aquí por referencia y hacen parte de esta

DESARROLLO O INVESTIGACION FEDERALMENTE PATROCINADA

No aplica

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo Técnico

La presente invención se relaciona con la formación de particulas submicronicas de un agente antineoplástico, particularmente paclitaxel o sus compuestos derivados, mediante la precipitación el agente antineoplástico en un medio acuoso para formar una presuspension seguido de una homogenización Surfactantes con fosfolípidos conjugados con un polímero hidrofílico o soluble en agua, tal como el polietileno glicol (PEG) son usados como recubrimiento de las particulas Las

partículas producidas generalmente tienen un tamaño de partícula promedio de menos de 1000 nm y no son rápidamente solubles

Arte Antecedente

Hay un número cada mes mayor de compuestos orgánicos que son formulados para propósitos diagnósticos o terapéuticos que son pobremente solubles o insolubles en soluciones acuosas. Tales drogas plantean retos para su suministro por las rutas de administración detalladas antes. Los compuestos que son insolubles en agua pueden tener beneficios importantes cuando se formulan como una suspensión estable de partículas submicrónicas. El control preciso del tamaño de las partículas es esencial para el uso seguro y eficaz de estas formulaciones. Las partículas deben ser de un diámetro menor siete micrones para pasar de manera segura a través de los capilares sin causar embolia (Allen et al, 1987, Davis and Taube, 1978, Shroeder et al, 1978, Yokel et al 1981). Una solución a este problema es la producción de pequeñas partículas de la droga candidata insoluble y la creación de una suspensión microparticulada o nanoparticulada. En esta forma, drogas que previamente no pudieron ser formuladas en un sistema de base acuosa pueden adecuarse para una administración intravenosa. La adecuación para la administración intravenosa incluye pequeño tamaño de partículas ($< 7 \mu\text{m}$), baja toxicidad (respecto de componentes tóxicos de la formulación o solventes residuales), y biodisponibilidad de las partículas de droga después de la administración.

Las preparaciones de drogas insolubles en agua de partículas pequeñas pueden ser también adecuadas para rutas de administración oral, pulmonar, tópica, oftálmica, nasal, bucal, rectal, vaginal, tras-dérmica y otras. El pequeño tamaño de las partículas mejora la tasa de disolución de la droga, y por consiguiente mejora su biodisponibilidad y potencialmente sus perfiles de toxicidad. Cuando se administra por estas vías, puede ser deseable tener tamaños de partículas en el

rango de 5 a 100 μm , dependiendo de la ruta de administración formulación solubilidad y biodisponibilidad de la droga. Por ejemplo, para administración oral es deseable tener un tamaño de partícula menor de 7 μm . Para administración pulmonar, las partículas son preferiblemente menores de 10 μm .

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención provee métodos para preparar y compuestos de partículas submicrónicas de un agente antineoplásico, particularmente paclitaxel o sus compuestos derivados. La solubilidad de un agente antineoplásico es mas grande en un primer solvente miscible en agua que en un segundo solvente que es acuoso. Los métodos incluyen (i) mezclar dentro del primer solvente miscible en agua o el segundo solvente o de ambos un primer modificador de superficie que incluye un fosfolípido conjugado con un polímero hidrofílico o soluble en agua, (ii) disolver el agente antineoplásico en el primer solvente miscible en agua para formar una solución, (iii) mezclar la solución con el segundo solvente para obtener una presuspensión de partículas y (iv) homogenizar la presuspensión para formar una suspensión que tiene un tamaño promedio efectivo de partícula menor de cerca de 1 μm . Preferiblemente, las partículas tienen un tamaño efectivo de partícula menor de 400 nm, mas preferiblemente menos de 200 nm, y mas preferiblemente, menos de cerca de 150 nm.

En una incorporación preferida, el polímero hidrofílico o soluble en agua que se conjuga con el fosfolípido es polietileno glicol (PEG). Opcionalmente, un segundo modificador de superficie puede ser mezclado dentro del primer solvente miscible en agua o el segundo solvente o en ambos. Un segundo modificador de superficie es poloxamer.

En una incorporación la homogenización es realizada a cerca de 30 °C o mas.

Los métodos pueden incluir además la remoción del primer solvente miscible en agua o la totalidad de la fase líquida de la suspensión. En una incorporación preferida, el primer solvente miscible en agua es removido simultáneamente con la homogenización.

El método puede además incluir la esterilización de la composición.

En una incorporación preferida, las partículas no son solubles.

En otra incorporación preferida, las partículas no se agregan bajo condiciones de esfuerzo o en almacenamiento.

Estos y otros aspectos y atributos de la presente invención serán discutidos con referencia a los siguientes dibujos y las especificaciones que los acompañan.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

FIG 1 muestra una representación diagramática de la presente invención.

FIG 2 muestra una representación diagramática de otro método de la presente invención,

FIG 3 muestra partículas amorfas antes de la homogenización.

FIG 4 muestra partículas después de templadas por homogenización.

FIG 5 es un difractograma de rayos X de itraconazola precipitada con polietileno glicol-660 12-hidroxiestereato antes y después de homogenización,

FIG 6 muestra cristales de Carbamazepina antes de homogenización,

FIG 7 muestra Carbamazepina microparticulada después de homogenización (Avestin C-50),

FIG 8 es un diagrama que ilustra un proceso de microprecipitación para Prednisolona,

FIG 9 es una fotografía de una imagen microscópica de una suspensión de prednisolona antes de homogenización,

FIG 10 es una fotografia de una imagen microscópica de una suspensión de prednisolona después de homogenización,

FIG 11 ilustra una comparación de las distribuciones de tamaño de nanosuspensiones (esta invencion) y una emulsión de grasa comercial

FIG 12 muestra patrones de difracción de polvo de rayos X para la materia prima de itraconazola (superior) y SMP-2-PRE (inferior) El patrón de la materia prima ha sido cambiado hacia arriba por claridad

FIG 13 a muestra la traza de DSC para materia crudo de itraconazola,

FIG 13 b muestra la traza de DSC para SMP-2-PRE,

FIG 14 ilustra la traza de DSC para SMP-2-PRE mostrando el derretido de las menos estables polimorfos con el calentamiento a 160-°C, un evento de recristalización con el enfriamiento y el derretido subsiguiente de las polimorfos mas estables con el recalentamiento a 180 °C,

FIG 15 ilustra una comparación de las muestra de SMP-2-PRE despues de homogenizacion Línea continua = muestra semillada con materia prima de itraconazola Línea a trazos = muestra no semillada La línea continua ha sido cambiada en 1 W/g para claridad,

FIG 16 ilustra el efecto del semillado durante la precipitación Línea a trazos = muestra no semillado , línea continua = muestra semillada con materia prima de itraconazola La traza no semillada (línea a trazos) ha sido movida hacia arriba en 1 W/g por claridad, y

FIG 17 ilustra los efectos de semillado del concentrado de droga a través del envejecimiento El patrón de rayos X superior es para cristales preparados de concentrado de droga frescos, y es consistente con la polimorfa estable (ver FIG 12 superior) El patrón inferior es para cristales preparados de concentrado de droga envejecido (semillado), y es consistente con la polimorfa metaestable (ver FIG 12 inferior) El patrón superior ha sido movido hacia arriba por claridad

FIG 18 muestra la disolución de las dos formulaciones de partículas submicronicas de paclitaxel,

FIG 19 muestra el efecto de varias condiciones de esfuerzo sobre el tamaño de las partículas submicrónicas de paclitaxel, y

FIG 20 muestra los efectos del almacenamiento sobre las partículas submicrónicas de paclitaxel

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención es susceptible de incorporaciones en muchas formas diferentes. Las incorporaciones preferidas de la invención son expuestas bajo el entendimiento que la exposición presente debe ser considerada como un ejemplo de los principios de la invención y no pretenden limitar los aspectos amplios de la invención a las incorporaciones ilustradas.

La presente invención provee compuestos y métodos para preparar pequeñas partículas de un compuesto orgánico. Un compuesto orgánico para usar en el proceso de esta invención es cualquier entidad química orgánica cuya solubilidad decrece de un solvente a otro. Este compuesto orgánico podría ser un compuesto activo farmacéuticamente el cual puede ser seleccionado de agentes terapéuticos, agentes de diagnóstico, cosméticos, suplementos nutricionales, y pesticidas.

Los agentes terapéuticos pueden ser seleccionados de una variedad de fármacos conocidos tales como, pero no limitados a: analgésicos, anestésicos, analépticos, agentes adrenergicos, agentes bloqueadores adrenergicos, adrenolíticos, adrenocorticoides, adrenomiméticos, agentes anticolinergicos, anticolinesterasicos, anticonvulsantes, agentes alquilantes, alcaloides, inhibidores alostéricos, esteroides anabólicos, anorexiantes, antiácidos, antidiarreicos, antidotos, antifólicos, antipiréticos, agentes antirreumáticos, agentes psicoterapéuticos, agentes bloqueadores neurales, agentes antiinflamatorios, antihelmínticos, agentes antiarrítmicos, antibióticos.

anticoagulantes, antidepresivos, agentes- antidiabéticos, antiepilépticos, anti hongos, antihistamínicos, agentes antihipertensivos, agentes antimuscarínicos, agentes antimicrobiana, antimalaria, antisépticos, agentes antineoplásticos, agentes antiprotistas, inmunosupresores, inmunoestimulantes, agentes antitiroideos, agentes antivirales, sedantes ansiolíticos, astringentes, agentes bloqueadores beta-adrenoreceptor, medios de contraste, corticosteroides, supresores de tos, agentes de diagnóstico con imágenes, diuréticos, dopaminérgicos, hemostáticos, agentes hematológicos, modificadores de hemoglobina, hormonas, hipnóticos, agentes inmunológicos, antihiperlipidémicos y otros agentes reguladores lipídicos, muscarínicos, relajantes musculares, parasimpaticomiméticos, calcitonina, paratiroides, prostaglandinas, radiofarmacéuticos, sedantes, hormonas sexuales, agentes anti alérgicos, estimulantes, simpaticomiméticos, agentes de tiroides, vasodilatadores, vacunas, vitaminas, y xantinas. Antineoplástico, o agentes anticáncer, incluido pero no limitado a paclitaxel y compuestos derivados, y otros antineoplásticos seleccionados de un grupo consistentes de alcaloides, antimetabolitos, inhibidores de enzimas, agentes alquilantes y antibióticos. El agente terapéutico puede también ser biológico, el cual incluye pero no se limita a proteínas, polipéptidos, carbohidratos, polinucleótidos, y ácidos nucleicos. La proteína puede ser un anticuerpo, el cual puede ser policlonal o monoclonal.

Los agentes de diagnóstico incluyen los agentes de imágenes de rayos X y medios de contraste. Los ejemplos de agentes de imágenes de rayos X incluyen WIN-883 (etil 3,5-diacetamino-2,4,6-triodobenzoato) también conocido como el etil ester de ácido diatrizoico (EEDA), WIN 67722, por ejemplo, (6-etoxi-6-oxohexil-3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoato, etil-2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoiloxi) butirato (WIN 16318), etil diatrizoxiacetato (WIN 12901), etil 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoiloxi)propionato (WIN 16923), N-etil 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoiloxi) acetamido (WIN 65312) isopropil 2-(3,5-

bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoiloxi) acetamido (WIN 12855), dietil 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoiloxi malonato (WIN 67721), etil 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triodobenzoiloxi) fenilacetato (WIN 67585), ácido propanedioico, [[3,5-bis (acetilamino)-2,4,5-triodobenzoil]oxi]bis(1-metil)ester (WIN 68165) y ácido benzoico, 3,5-bis (acetilamino)-2,4,6-triodo-4-(etil-3-etoxi-2-butenato) ester (WIN 68209) Los agentes de contraste preferidos incluyen esos que se espera que se desintegren relativamente rápido bajo condiciones fisiológicas, minimizando así cualquier respuestas inflamatorias asociada a las partículas. La desintegración puede resultar de hidrólisis enzimática, solubilización de ácido carboxílico a pH fisiológico, u otros mecanismos. Así, ácidos carboxílicos iodinados pobremente solubles tal como iodipamida, ácido diatrizoico y ácido metrizoico, junto con especies iodinadas removibles hidrolíticamente tales como WIN 67721, WIN 12901, WIN 68165 y WIN 68209 u otras pueden ser preferidos.

Otros medios de contraste incluyen, pero no se limitan a, preparaciones particuladas de ayudantes para imágenes de resonancia magnética como los quelatos de gadolinio, u otros agentes paramagnéticos de contraste. Ejemplos de tales compuestos son gadopentetato dimeglumina (Magnevist ®) y gadoteridol (Prohance ®).

Una descripción de estas clases de agentes terapéuticos y agentes de diagnóstico y un listado de especies dentro de cada clase pueden ser encontrada en Martindale, The Extra Pharmacopoeia, Twenty-ninth Edition, The Pharmaceutical Press, London, 1989 el cuales incorporado aquí por referencia y se hace parte de esta. Los agentes terapéuticos y de diagnóstico son disponibles comercialmente y/o pueden ser preparados por técnicas conocidas en el arte.

Un agente cosmético es cualquier ingrediente activo capaz de tener una actividad cosmética. Ejemplos de estos ingredientes activos pueden ser, *inter alia*,

emolientes humectantes, agentes inhibidores de radicales libres, anti inflamatorios, vitaminas, agentes despigmentadores, agentes anti acné, anti seborreicos, queratolíticos, agentes adelgazantes, agentes colorantes de la piel y agentes de protección solar, y en particular ácido linoleico, retinol, ácido retinoico, ácido ascórbico, alquil ésteres, ácidos grasos polinosaturados, ésteres nicotínicos nicotinato de tocoferol, no saponificables de arroz, soya o shea, ceramidas, hidroxí ácidos como ácido glicólico, derivados del selenio, antioxidantes, beta-caroteno, gamma-oryzanol y glicerato de estearil. Los cosméticos son disponibles comercialmente y/o pueden ser preparados por técnicas conocidas en el arte.

Ejemplos de suplementos nutricionales contemplados para usar en la práctica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, proteínas, carbohidratos, vitaminas solubles en agua (por ejemplo, vitamina C, complejo vitamínico B y similares), vitaminas solubles en grasa (por ejemplo vitamina A, D, E, K y similares) y los extractos de hierbas. Los suplementos nutricionales son disponibles comercialmente y/o pueden ser preparados por técnicas conocidas en el arte.

El término pesticida es entendido para cubrir herbicidas, insecticidas, acaricidas, nematocidas, ectoparasiticidas y fungicidas. Ejemplos de clases de compuestos a los cuales los pesticidas en la presente invención pueden pertenecer incluyen ureas, triazinas, triazolas, carbamatos, ésteres de ácido fosfórico, dinitroanilinas, morfolinás, acilalaninas, piretroides, ésteres de ácido bencílico, difenileters e hidrocarburos halogenados policíclicos. Ejemplos específicos de pesticidas en cada una de estas clases son listados en Pesticides Manual, 9th Edition, British Crop Protection Council. Los pesticidas son disponibles comercialmente y/o pueden ser preparados por técnicas conocidas en el arte.

Preferiblemente el compuesto orgánico o el compuesto activo farmacéuticamente es pobremente soluble en agua. Lo que se indica por "pobremente soluble en agua" es una solubilidad del compuesto en agua que es menor de cerca de 10 mg/mL, y preferiblemente menos de 1 mg/mL. Estos agentes pobremente solubles son los más adecuados para preparaciones de suspensiones acuosas puesto que hay alternativas limitadas de formular estas alternativas en una solución acuosa.

La presente invención puede ser también practicada -con- compuestos farmacéuticamente activos solubles en agua mediante el envoltimiento de estos compuestos en una matriz de vehículo sólida (por ejemplo, copolímero de polilactida-poliglicolido, albumina, almidón) o encapsulando estos compuestos en un vehículo envolvente que es impermeable al compuesto farmacéutico. Este vehículo encapsulante puede ser un recubrimiento polimérico tal como poliacrilato. Además, las pequeñas partículas preparadas de estos agentes farmacéuticos solubles en agua pueden ser modificadas para mejorar la estabilidad química y controlar las propiedades farmacocinéticas de los agentes al controlar la liberación de los agentes desde las partículas. Ejemplos de agentes farmacéuticos solubles en agua incluyen, pero no se limitan a, compuestos orgánicos simples, proteínas, péptidos, nucleótidos, oligonucleótidos, y carbohidratos.

Las partículas de la presente invención tienen un tamaño promedio efectivo de partícula menor de 100 μm medido por métodos dinámicos de dispersión de luz por ejemplo espectrografía de fotocorrelación, difracción láser, dispersión de rayos láser de ángulo bajo (LALLS), dispersión de rayos láser de ángulo medio (MALLS), métodos de oscurecimiento de luz (el método Coulter por ejemplo), reología, o microscopia (luz o electrón). Sin embargo, las partículas pueden ser preparadas en un amplio rango de tamaños, tal como de 20 μm a cerca de 10 nm, de cerca de 10 μm a cerca de 10 nm, de cerca de 2 μm a cerca de 10 nm, de

cerca de 1 μm a cerca de 10 nm, de cerca de 400 nm a cerca de 50 nm, de cerca de 200 nm a cerca de 50 nm o cualquier rango o combinación de esos rangos. El tamaño promedio de partícula preferido depende de factores tales como la ruta de administración pretendida, formulación, solubilidad, toxicidad y biodisponibilidad del compuesto.

Para ser adecuada para administración parenteral, las partículas preferiblemente tienen un tamaño promedio efectivo de menos de 7 μm , y más preferiblemente de menos de cerca de 2 μm o cualquier rango o combinación de esos rangos. La administración parenteral incluye inyección intravenosa, intra-arterial, intratecal, intrapentoneal, intraocular, intraarticular, intradural, intraventricular, intrapericardial, intramuscular, intradermal o subcutánea.

Los tamaños de partículas para formas de dosificación oral pueden ser mayores de 2 μm . Las partículas pueden variar en tamaño hasta cerca de 100 μm siempre que las partículas tengan suficiente biodisponibilidad y otras características de una forma de dosificación oral. Las formas de dosificación oral incluyen tabletas, cápsulas, comprimidos, cápsulas de gel duras y blandas u otro vehículo para suministrar la droga por vía oral.

La presente invención es además adecuada para proveer partículas de un componente orgánico en una forma adecuada para administración pulmonar. El tamaño de partículas para formas de dosificación pulmonar puede ser mayor de 500 nm y típicamente menos de 10 μm . Las partículas en suspensión pueden ser dispuestas en aerosol y administradas por un nebulizador para administración pulmonar. Alternativamente, las partículas pueden ser administradas como un polvo seco o por un inhalador de polvo seco después de remover la fase líquida de la suspensión, o el polvo seco puede ser resuspendido en un propulsante no acuoso para administración por un inhalador de dosis medida. Un ejemplo de un

propulsante adecuado es un hidrofluorocarbon (HFC) tal como HFC-134 a (1,1,1,2-tetrafluoroetano) y HFC-227ea (1,1,1,2,3,3,3-tetrafluoropropano) A diferencia de los clorofluorcarbonos (CFC's), los HFC's exhiben poca o ningun potencial de destrucción de ozono

Formas de dosificación para otras rutas de administración, tales como nasal, típica, oftálmica nasal, bucal, rectal vaginal, trasdermica y similares pueden también ser formuladas con las partículas hechas a través de la presente invención

El proceso de preparar las partículas puede ser separado en cuatro categorías generales Cada una de las categorías del proceso comparten los pasos de (1) disolver un compuesto organico en un primer solvente miscible en agua para crear una primera solución , (2) mezclar la primera solución con un segundo solvente de agua para precipitar el compuesto orgánica para crear una presuspensión (3) adicionar energía a la presuspension en la forma de un mezclado de alta cizalladura o calor, o combinacion de ambos, para proporcionar una forma estable del compuesto organico que tiene el tamaño deseado de partícula definido arriba Los pasos de mezclado y adición de energía pueden ser realizados de manera consecutiva o simultaneamente

Las categorías de proceso son distinguidas con base en las propiedades físicas del compuesto orgánico determinadas a traves de estudios de difraccion de rayos X, estudios de calorimetria de barrido diferencial (DSC) u otro estudio adecuado realizados antes del paso de adición de energía y despues del paso de adición de energía En la primera categoría de proceso, antes del paso de adición de energía el compuesto orgánico en la presuspension toma una forma amorfa, una forma semicristalina o una forma liquida superenfriada y tiene un tamaño de partícula efectivo promedio Después del paso de adición de energía el compuesto organico

esta en una forma cristalina que tiene un tamaño de partícula efectivo promedio esencialmente igual o menor que el de la presuspensión

En la segunda categoría de proceso, antes del paso de adición de energía el compuesto orgánico está en forma cristalina y tiene un tamaño de partícula efectivo promedio. Después del paso de adición de energía el compuesto orgánico está en una forma cristalina y tiene esencialmente el mismo tamaño de partícula efectivo promedio que antes del paso de adición de energía pero los cristales después del paso de adición de energía son menos agregables.

La menor tendencia del compuesto orgánico a agregarse es observada por dispersión de rayos láser dinámica y microscopia de luz.

En la tercera categoría de proceso, antes del paso de adición de energía el compuesto orgánico está en una forma cristalina que es friable y tiene un tamaño de partícula efectivo promedio. Lo que se quiere decir con 'friable' es que las partículas son frágiles y son más fáciles para ser fraccionadas en partículas más pequeñas. Después del paso de adición de energía el compuesto orgánico está en una forma cristalina y tiene esencialmente el mismo tamaño de partícula efectivo promedio menor que el de los cristales de la presuspensión. Tomando los pasos necesarios para colocar el compuesto orgánico en una forma cristalina que es friable, el paso subsiguiente de adición de energía puede ser realizado más rápidamente y eficientemente en comparación a un compuesto orgánico en una morfología cristalina menos friable.

En la cuarta categoría de proceso, la primera solución y el segundo solventes son simultáneamente sometidos a un paso de adición de energía. Así las propiedades físicas del compuesto orgánico antes y después del paso de adición de energía no fueron medidas.

El paso de adición de energía puede ser realizado en cualquier manera en que la presuspensión de la primera solución y el segundo solvente sean expuestos a cavitación, cizalladura o fuerzas de impacto. En una forma preferida de la invención, el paso de adición de energía es un paso de fijación. La Fijación es definida en esta invención como el proceso de convertir materia que es termodinámicamente inestable en una forma más estable por la aplicación singular o repetida de energía (calentamiento directo o esfuerzo mecánico) seguido de una relajación térmica. Esta disminución de energía puede ser alcanzada por conversión de la forma sólida de una estructura enrejada menos ordenada a una más ordenada. Alternativamente, esta estabilización puede ocurrir por un reordenamiento de las moléculas surfactantes en la interfase sólido-líquido.

Estas cuatro categorías de proceso serán discutidas separadamente más adelante. Debe entenderse, sin embargo, que las condiciones de proceso tal como la escogencia de surfactantes o la combinación de surfactantes, cantidad de surfactantes usados, temperatura de reacción, tasa de mezclado de soluciones, tasa de precipitación y similares pueden ser seleccionadas para permitir que cualquier droga pueda ser procesada bajo cualquiera de las categorías que se discuten a continuación.

La primera categoría de proceso, así como la segunda, tercera y cuarta categorías, pueden ser además divididas en dos subcategorías, Método A y B, mostrados diagramáticamente en las FIGS 1 y 2.

El primer solvente de acuerdo a la presente invención es un solvente o mezcla de solventes en el cual el compuesto orgánico de interés es relativamente soluble y el cual es miscible con el segundo solvente. Tales solventes incluyen, pero no se limitan a compuestos próticos miscibles en agua, en los cuales un átomo de hidrógeno en la molécula es enlazado a un átomo electronegativo tal como

oxígeno nitrógeno, u otro grupo VA, VI A y VIIA de la tabla periodica de los elementos Los ejemplos de tales solventes incluyen, pero no se limitan a, alcoholes, aminas (primaria o secundaria), oximas, ácidos hidroxámicos, ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, ácidos fosfónicos, ácidos fosforicos, amidas y ureas

Otros ejemplos del primer solvente también incluyen solventes orgánicos apróticos Algunos de estos solventes apróticos pueden formar enlaces hidrógeno con agua, pero pueden solo actuar como aceptadores de protones porque ellos carecen de grupos donadores de protones efectivos Una clase de solventes apróticos es un solvente aprotico dipolar, como lo define la Unión Internacional de Quimica Pura y Aplicada (IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 2 nd Ed , 1997)

Un solvente con una permitividad relativa (o constante dieléctrica) alta comparativamente, mas grande de ca 15, y un momento dipolar permanente significativo, que no puede donar adecuadamente átomos de hidrógeno removibles para formar enlaces de hidrogeno fuertes por ejemplo,-dimetil sulfóxido

Los solventes aproticos dipolares pueden ser seleccionados de un grupo consistentes de amidas (completamente sustituidas, con nitrogenos que carecen de átomos de hidrógeno anexos), ureas (completamente sustituidas, sin atomos de hidrogeno anexos a nitrógeno), éteres, éteres cíclicos, nitrilos, ketonas sulfonas, sulfoxidos, fosfatos completamente sustituidos esteres de fosfonato fosforamidas, compuestos de nitro y similares Dimetilsulfóxido (DMSO), N-metil-2-pirrolidinona (NMP), 2-pirrolidinona, 1,3-dimetilimidazolidinona (DMI) dimetilacetamida (DMA), dimetilformamida (DMF), dioxano, acetona tetrahidrofuran (THF), tetrametilenosulfona (sulfolona), acetonitrilo, y

hexametilfosforamida (HMPA), nitrometano, entre otros, son miembros de esta clase

Los solventes pueden también ser escogidos de los que en general son inmiscibles en agua, pero tiene suficiente solubilidad en agua a bajos volúmenes (menos del 10%) para actuar como un primer solvente miscible en agua a esos volúmenes reducidos. Los ejemplos incluyen hidrocarburos aromáticos, alquenos, alcanos y aromáticos halogenados, alquenos halogenados y alcanos halogenados. Los aromáticos incluyen, pero no se limitan a, benceno (sustituido o insustituido) y arenos policíclicos o monocíclicos. Los ejemplos de bencenos sustituidos incluyen, pero no se limitan a, xilenos (orto, meta, o para), y tolueno. Ejemplos de alcanos incluyen pero no se limitan a hexano, neopentano, heptano, isooctano, y ciclohexano. Los ejemplos de halógenos aromáticos incluyen, pero no se limitan a, clorobenceno, bromobenceno, y clorotolueno. Ejemplos de alcanos y alquenos halogenados incluyen, pero no se limitan a, tricloroetano, cloruro de metileno, etilendicloruro (EDC) y similares.

Ejemplos de todas las clases de solventes anteriores incluyen pero no se limitan a N-metil-pirrolidinona (también llamado N-metil-2-pirrolidinona), 3-pirrolidinona (también llamado 2-pirrolidinona), 1,3-dimetil-2-imidazolinona (DMI), dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, ácido acético, ácido láctico, metanol, etanol, isopropanol, 3-pentanol, n-propanol, alcohol bencil, glicerol, butileno glicol (butanediol), etileno glicol, propileno glicol, monoglicéridos mono y diacilados (tal como gliceril caprilato), isosorburo de dimetil, acetona, dimetilsulfona, dimetilformamida, 1,4-dioxano, tetrametilenosulfona (sulfolona), acetonitrilo, nitrometano, tetrametilurea, hexametilfosforamida (HMPA), tetrahidrofuran (THF), dioxano, dietileter, tert-butilmetil eter (TBME), hidrocarburos aromáticos, alquenos, alcanos, aromáticos halogenados, alquenos halogenados, alcanos halogenados, xileno, tolueno, benceno, benceno sustituido, acetato de etil, acetato de metil

acetato de butil, clorobenceno bromobenceno, clorotolueno, tricloroetano, cloruro de metileno etilenodichloruro (EDC), hexano, neopentano, heptano, isooctano, ciclohexano, polie PEG-4, tileno glicol (PEG, por ejemplo, PEG-4, PEG-8, PEG-9, PEG-12, PEG-14, PEG-16, PEG-120, PEG-75, PEG-150), esterres de polietileno glicol (ejemplos tales como dilaurato de PEG -4, dilaurato de PEG -20, isostearato de PEG-6, palmitostearato de PEG-8, palmitoestearato de PEG 150), sorbitans de polietileno glicol (tales como isoestearato de sorbitan de PEG 20) eterres monoalkil de polietileno glicol (ejemplos tales como éter de dimetil de PEG-3, éter de dimetil de PEG-4), propileno glicol (PPG), alginato de polipropileno butanediol de PEG -10, éter de glucosa de metil de PEG-10 éter de glucosa de metil de PEG-20, éter de estearil de PPg-15, dicaprato/dicapirato de propileno glicol, laurato de propileno glicol y gliocofurol (tetrahidrofurfuril alcohol polietileno glicol eter) Un primer solvente preferido e N-metil-2-pirrolidinona Otro primer solvente prefendo es el ácido láctico

El segundo solvente es una solvente acuoso Este solvente acuoso puede ser agua como tal Este solvente puede contener también amortiguadores, sales, surfactantes polimeros solubles en agua y combinacion de estos excipientes

Método A

En el Método A (ver FIG 1), el compuesto orgánico ("droga ") es primero disuelto en el primer solvente para crear una primera solución El compuesto organico puede ser adicionado de cerca de 0.1 % (w/v) a cerca de 50% (w/v) dependiendo de la solubilidad del compuesto orgánico en el primer solvente Calentamiento del concentrado de cerca de 30 °C a cerca de 100 °C puede ser necesario para asegurar una disolución completa del compuesto en el primer solvente

Un segundo solvente acuoso es provisto con uno o mas modificadores de superficie opcionales tales como un surfactante anionico, un surfactante catiónico

un surfactante no-ionico o una molecula de superficie activa biológicamente

Surfactantes anionico incluyen pero no se limitan a sulfonatos de alquil, fosfatos de alquil, fosfonatos de alquil, laurato de potasio, estereato de tnetanolamina, sulfato de lauri de sodio, dodecilsulfato de sodio, sulfatos de polioxiétileno alquil, alginato de sodio, sulfosuccinato de sodio dioctil fosfatidil colina, fosfatidil glicerol, fosfatidil inosina, fosfatidiserina, ácido fosfatidico y otras sales, esterres de gliceril, carboximetilcelulosa de sodio, ácido colico y otros ácidos de bilis (por ejemplo, ácido clico, ácido deoxicoólico, ácido glicocolico, ácido taurocolico ácido glicodeoxicolico) y sales de ellos (por ejemplo deoxicolato de sodio etc)

Surfactantes catiónicos adecuados incluyen pero no se limitan a compuestos de amonio cuaternarios, tales como cloruro de benzalconio bromuro de cetiltrimetilamonio, quitosanos, cloruro de laurildimetilbencilamonio clorhidratos de carnitina acil, o haluros de piridinio alquil Como surfactantes aniónicos los fosfolípidos pueden ser usados Los fosfolípidos adecuados incluyen, por ejemplo fosfatidicolina fosfatidiletanolamina, diacil-glicerol-fosfoetanolamina tal como dimiristoil-glicero-fosfoetanolamina (DMPE), dipalmitoil-glicero-fosfoetanolamina (DPPE), distearoil-glicero-fosfoetanolamina (DSPE), y dioleoil-glicero-fosfoetanolamina (DOPE) fosfatidiserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, ácido fosfatidico, lisofosfolípidos, fosfolípido de soya o huevo o combinaciones de ellos Los fosfolípidos pueden ser salados o desalados, hidrogenados o parcialmente hidrogenados o semi-sintéticos naturales o sintéticos El fosfolípido puede también ser conjugado con un polímero hidrofílico o soluble en agua Un polímero preferido es polietileno glicol (PEG), que también es conocido como el monometoxi polietilenoglicol (mPEG) Los pesos moleculares de PEG pueden variar, por ejemplo de 200 a 50 000 Algunos de los PEG comunmente usados que son disponibles comercialmente incluyen PEG-350, PEG-550, PEG-750, PEG-1000, PEG-2000, PEG-3000 y PEG 5000 El fosfolípido o el conjugado de fosfolípido-PEG puede también incorporar un grupo funcional el cual puede enlazarse covalentemente a un ligando que incluye pero no se limita a proteínas peptidos

carbohidratos, glicoproteínas, anticuerpos o agentes farmacéuticamente activos. Estos grupos funcionales pueden conjugarse con los ligandos a través por ejemplo, la formación de enlaces de amida, formación de disulfuro o trieter o enlace biotina/ estreptavidina. Ejemplos de grupos funcionales enlazadores de ligandos incluyen pero no se limitan a hexanoilamina, dodecanilamina, 1,12-dodecanodicarboxilato, tioetanol, 4-(p-maleimidofenil)butiramida (MPB), 4-(p-maleimidometil)ciclohexano-carboxamida (MCC), 3-(2-piridilditio)propionato (PDP), succinato, glutarato, dodecanoato, y biotina.

Los surfactantes no-iónicos adecuados incluyen éteres de alcohol graso de polioxietileno (Megcrogol an Brij), ésteres de ácidos grasos de sorbitan (Polisorbatos), ésteres de ácidos grasos de polioxietileno (Myrj), ésteres de sorbitan (Span), monostearato de glicerol, polietileno glicol, polipropilenos glicol, alcohol de cetil, alcohol de cetoestearil, alcohol de estearil, alcoholes de polieter alquil aril, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno (poloxameros), poloxaminas, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, polisacáridos que incluyen almidón y derivados de almidón tales como hidroxietilalmidón (HES), alcohol de polivinil, y polivinilpirrolidona. En una forma preferida de la invención, el surfactante no-ionico es un copolímero de polioxietileno y polioxipropileno y preferiblemente un copolímero en bloque de propileno glicol y etileno glicol. Tales polímeros son vendidos bajo la marca registrada POLOXAMER también referida como PLURONIC®, y es vendida por varios proveedores incluyendo Spectrum Chemical and Ruger. Entre los ésteres de ácido graso de polioxietileno están incluidos esos que tienen cadenas de alquil cortas. Un ejemplo de tales surfactantes es SOLUTOL® HS 15, polietileno-660-hidroxiestearato, manufacturado por BASF Aktiengesellschaft.

Las moléculas de superficie activa biológicamente incluyen moléculas de albumina, caseína, hirudina u otras proteínas apropiadas. Los polisacáridos biológicos están

también incluidos y consisten pero no se limitan a , almidones heparina y quitosanos

Puede ser también deseable adicionar un agente ajustador de pH al segundo solvente tal como hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, amortiguadora de Tris o citrato, acetato, lactato, meglumina o similares. El segundo solvente debe tener un pH dentro de un rango de cerca de 3 a alrededor de 11

Para formas de dosificación oral uno o mas de los siguientes excipientes puede ser utilizado: gelatina, caseína, lecitina (fosfatidos), goma de acacia, colesterol, tragacanth, ácido estearico, cloruro de benzalconio, estearato de calcio, monoestearato de gliceril, cetostearyl alcohol, cera emulsificante de cetomacrogol, esteres de sorbitan, éteres de alquil de polioxietileno, por ejemplo, éteres de macrogol tales como cetomacrogol 1000, derivados de aceite de risino de polioxietileno, esteres de ácido graso de sorbitan de polioxietileno por ejemplo los disponibles comercialmente Tweens™, glicoles de polietileno, estearatos de polioxietilenos, dióxido de silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hialato de hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa no cristalina, silicato de aluminio y magnesio, trietanolamina, polivinil alcohol (PVA) y polivinilpirrolidona (PVP). La mayoría de estos excipientes son descritos en detalle en el Handbook of Pharmaceutical Excipients, publicado conjuntamente por la American Pharmaceutical Association and The Pharmaceutical Society of Great Britain, The Pharmaceutical Press 1986. Los modificadores de superficie son disponibles comercialmente y/o pueden ser preparados por técnicas conocidas en el arte. Dos o mas modificadores de superficie pueden ser usados en combinación.

En una forma preferida de la invención, el metodo para preparar pequeñas particulas de un compuesto orgánico incluye los pasos de adicionar la primera solución a un segundo solvente. La rata de adición depende del tamaño de la cochada, y la cinética de precipitación del compuesto orgánico. Tipicamente, para un proceso de laboratorio a pequeña escala (preparación de 1 litro), la tasa de adición es de cerca de 0.05 cc por minuto a cerca de 10 cc por minuto. Durante la adición las soluciones deben estar bajo agitación constante. Se ha observado usando microscopia de luz que partículas amorfas, solidos semi cristalinos o un liquido super enfriado se forman para crear una pre-suspension. El método incluye además el paso de someter la pre-suspensión a un paso de adición de energia para convertir las partículas amorfas, el liquido super enfriado o el sólido semicristalino a un-estado solido cristalino mas estable. Las particulas resultantes tendrán un tamaño de particula efectivo promedio medido por los métodos de dispersión de luz dinámicos (por ejemplo espectroscopia de fotocorrelacion, difracción láser, dispersion de láser de ángulo bajo (LALLS), dispersión de laser de ángulo medio (MALLS), métodos de oscurecimiento de luz (método de Coulter por ejemplo) reología, o microscopia (luz o electrón) dentro de los rangos establecidos arriba. En la categoria de proceso cuatro, la primera solución y el segundo solvente son combinados a la vez que simultaneamente se conduce el paso de adición de energía.

El paso de adición de energia involucra la adición de energia a través de sonicacion, homogenización, homogenización por flujo en contracorriente, microfluidificacion u otros métodos para proveer fuerzas de impacto, cizalladura y cavitación. La muestra puede ser enfriada o calentada durante esta etapa. En una forma preferida de la invención, el paso de adición de energia es efectuado por un homogenizador de piston-abertura tal como el vendido por Avestin Inc, bajo la designación de producto EmulsiFlex-C160. En otra forma preferida de la invencion, el paso de adición de energia puede ser realizado por ultrasonication.

usando un procesador de ultrasonido tal como el Procesador Vibra-Cell Ultrasónico (600 W), manufacturado por Sonics and Materials, Inc. En otra forma preferida de la invención, el paso de adición de energía puede ser realizado mediante el uso de un aparato de emulsificación como se describe en la Patente U S No 5,720,551, la cual es incorporada aquí por referencia y hecha parte de esta

Dependiendo de la tasa de adición de energía, puede ser deseable ajustar la temperatura de la muestra procesada dentro del rango de aproximadamente -30 °C a 30 °C. Alternativamente, con el propósito de efectuar un cambio de fase deseado en el sólido procesado, puede también ser necesario calentar la presuspensión a una temperatura dentro del rango de cerca de 30 °C a alrededor de 100 °C durante el paso de adición de energía.

Método B

El Método B difiere del Método A en los siguientes aspectos. La primera diferencia es un surfactante o combinación de surfactantes es adicionado a la primera solución. Los surfactantes pueden ser seleccionados de un grupo de surfactantes aniónicos, catiónicos y no aniónicos, y los modificadores biológicos de superficie activa definidos antes.

Ejemplo Comparativo del Método A y el Método B y USPN 5 780 062

La patente de Estados Unidos No 5,780,062 describe un proceso para preparar pequeñas partículas de un compuesto orgánico mediante primero, disolver el compuesto en un primer solvente miscible en agua adecuado. Una segunda solución es preparada mediante la disolución de un polímero y un anfifilo en un solvente acuoso. La primera solución es luego adicionada a la segunda solución para formar un precipitado que consiste del compuesto orgánico y un complejo polímero-amfifila. La patente 062 no expone la utilización de el paso de adición de

energía de los Métodos A y B de esta invención. Carencia de estabilidad es típicamente evidenciada por una rápida agregación y crecimiento de partículas. En algunas instancias, las partículas amorfas recrystalizan como cristales grandes. La adición de energía a la pre-suspensión en la forma expuesta arriba, típicamente aporta partículas que muestran tasas decrecientes de agregación de partículas y crecimiento, así como la ausencia de recrystalización cuando el producto es almacenado.

Los Métodos A y B son además distinguidos del proceso de la patente 062 por la ausencia de un paso de formación de un complejo polímero-amfifilo antes de la precipitación. En el Método A, tal complejo no puede ser formado ya que ningún polímero es adicionado a la fase diluyente (acuosa). En el Método B, el surfactante, que puede también actuar como un amfifilo o polímero, es disuelto con el compuesto orgánico en el primer solvente. Esto impide la formación de cualquier complejo polímero-amfifilo antes de la precipitación. En la Patente 062, la precipitación exitosa de pequeñas partículas descansa en la formación del complejo amfifilo-polímero antes de la precipitación. La Patente 062 descubre que el complejo amfifilo-polímero forma agregados en la segunda solución. La Patente 062 explica que el compuesto orgánico hidrofóbico interactúa con el complejo amfifilo-polímero, de esta manera reduciendo la solubilidad de estos agregados y causando precipitación. En la presente invención se ha demostrado que la inclusión del surfactante o polímero en el primer solvente (Método B) conduce, una vez se adiciona al segundo solvente, a la formación de un particulado más fino y uniforme que el que se logra por el proceso establecido por la Patente 062.

Para este objeto, dos formulaciones fueron preparadas y analizadas. Cada una de las formulaciones tiene dos soluciones, un concentrado y un diluyente acuoso, los cuales son mezclados y luego sonicados. El concentrado en cada formulación tiene un compuesto orgánico (itraconazola), un solvente miscible en agua (N-metil-

2-pirrolidinona o NMP) y posiblemente un polímero (poloxamer 188) El diluyente acuoso tiene agua, un amortiguador de Tris y posiblemente un polímero (poloxamer 188) y/o un surfactante (deoxicolato de sodio) El diámetro promedio de partícula de la partícula orgánica es medido antes de la sonicación y después de esta

La primera formulación A tiene como concentrado itraconazola y NMP El diluyente acuoso incluye agua, poloxamer 188, amortiguador Tris y deoxicolato de sodio Así el diluyente acuoso incluye un polímero (poloxamer 188), y un anfifilo (deoxicolato de sodio), el cual puede formar un complejo polímero/amfifilo, y en consecuencia, esta de acuerdo con lo expuesto en la Patente 062 (Sin embargo una vez mas la Patente 062 no expone un paso de adición de energía)

La segunda formulación tiene como concentrado itraconazola, NMP y poloxamer 188 El diluyente acuoso incluye agua, amortiguador Tris y deoxicolato de sodio Esta formulación es preparada de acuerdo a la presente invención Puesto que el diluyente acuoso no contiene una combinación de un polímero (poloxamer) y un anfifilo (deoxicolato de sodio), un complejo polímero/amfifilo no se puede formar antes del paso de mezclado

La Tabla 1 muestra los diámetros de partícula promedios medidos por difracción de láser en tres replicas de las preparaciones de la suspensión Una determinación del tamaño inicial fue hecha, después de la cual la muestra fue sonicada por 1 minuto La determinación de tamaño fue luego repetida La gran reducción de tamaño con sonicación del Método A fue indicativa de la agregación de partículas

Tabla 1

Metodo	Concentrado	Diluyente Acuoso	Diametro de partícula promedio (micrones)	Después Sonicación (1 minuto)
A	Itraconazole (18%),N-metil-2-pirrolidinone (6 mL)	Poloxamer 188 (2.3 %), deoxicolato de sodio (0.3 %) amortiguador Tris (5mM, pH 8) agua (qs a 94 mL)	18.7 10.7 12.1	2.36 2.46 1.93
B	Itraconazole (18%),poloxamer (37%), N-metil-2-pirrolidinone (6 mL)	deoxicolato de sodio (0.3 %), amortiguador Tris (5mM, pH 8) agua (qs a 94 mL)	0.194 0.178 0.181	0.198 0.179 0.177

Una suspensión de droga resultante de la aplicación del proceso descrito en esta invención puede ser administrada directamente como una solución inyectable siempre que agua para inyección sea empleada en la formulación y medios apropiados para la esterilización de la solución sean aplicados. La esterilización puede ser realizada por métodos bien conocidos en el arte tales como vapor o esterilización por calor, radiaciones gamma y similares. Otros métodos de esterilización, especialmente para partículas en las cuales más del 99% de las partículas son menores de 200 nm, incluirían también prefiltración primero a través de un filtro de 3.0 micrones seguido de una filtración a través de un filtro de partículas de 0.45 micrones, seguido por esterilización con vapor o calor o filtración estéril a través de dos filtros de membranas de 0.2 micrones redundantes. Todavía otro medio de esterilización es filtración estéril del concentrado preparado del primer solvente que contiene y surfactante opcional o surfactantes y filtración estéril del diluyente acuoso. Estos son luego combinados en un contenedor de mezclado estéril, preferiblemente en un ambiente estéril aislado. Mezclado, homogenización y procesamiento adicional de la suspensión son luego realizados bajo condiciones asépticas.

Todavía otro procedimiento para la esterilización consistirá de la esterilización por calor o autoclave dentro del homogenizador mismo, antes, durante, o subsiguientemente al paso de homogenización. El procesamiento después de este tratamiento de calor será realizado bajo condiciones asépticas.

Opcionalmente, una suspensión libre de solvente puede ser producida por la remoción del solvente después de la precipitación. Esto puede ser realizado por centrifugación, diálisis, diafiltración, fraccionamiento por campo de fuerza, filtración de alta presión, ósmosis reversa y otras técnicas de separación conocidas en el arte. La remoción completa de N-metil-2-pirrolidinona fue típicamente realizada por una a tres carreras sucesivas de centrifugación, después de cada centrifugación (18 000 rpm por 30 minutos) el sobrenadante fue decantado y botado. Un volumen fresco de vehículo de suspensión sin el solvente orgánico fue adicionado a los sólidos remanentes y la mezcla fue dispersada por homogenización. Será reconocido por aquellos con habilidades en el arte que otras técnicas de mezcla de alto cizallamiento podría ser usada en el paso de reconstitución. Alternativamente, las partículas libres de solvente pueden ser formuladas en varias formas de dosificación como se desee para una variedad de rutas de administración, tales como oral, pulmonar, nasal, tópica, intramuscular y similares.

Más aun, cualquier excipiente no deseado tales como surfactantes pueden ser reemplazados por un excipiente más deseable mediante el uso de los métodos de separación descritos en el párrafo anterior. El solvente y primer excipiente pueden ser eliminados con el supernadante después de centrifugación o filtración. Un volumen fresco del vehículo de suspensión sin el solvente y sin el primer excipiente pueden ser luego adicionado. Alternativamente, un nuevo surfactante puede ser adicionado. Por ejemplo, una suspensión consistente de droga, N-metil-2-pirrolidinona (solvente), poloxamer 188 (primer excipiente), deoxicolato de

sodio, glicerol y agua puede ser reemplazada con fosfolipidos (nuevo surfactante), glicerol y agua después de centrifugación y remoción del supernadante

I Primera Categoría de Proceso

Los métodos de la primera categoría de proceso generalmente incluyen el paso de disolver el compuesto orgánico en un primer solvente miscible en agua seguido por el paso de mezclar esta solución con un solvente acuoso para formar una presuspensión donde el compuesto orgánico está en forma amorfa, una forma semicristalina o en la forma de un líquido superenfriado como se establece por estudios de difracción de rayos X, DSC, microscopia de luz u otra técnica analítica y tiene un tamaño de partícula efectivo promedio dentro de uno de los rangos de tamaño efectivo de partícula establecidos antes. El paso de mezclado es seguido por un paso de adición de energía.

II Segunda Categoría de Procesos

Los métodos de la segunda categoría de procesos incluyen esencialmente los mismos pasos de los procesos de la primera categoría pero difieren en los siguientes aspectos. Una difracción de rayos X, DSC u otra técnica analítica adecuada de la presuspensión muestra el compuesto orgánico en una forma cristalina y tiene un tamaño de partícula efectivo promedio. El compuesto orgánico después del paso de adición de energía tiene esencialmente el mismo tamaño de partícula efectivo promedio anterior al paso de adición de energía pero tiene una menor tendencia a agregarse en partículas más grandes cuando se compara al de las partículas de la presuspensión. Sin estar soportado por una teoría, se cree que las diferencias en la estabilidad de las partículas puede ser debida al reordenamiento de las moléculas de surfactante en la interfase sólido-líquido.

III Tercera Categoría de Procesos

Los métodos de la tercera categoría modifican los primeros dos pasos de la primera y segunda categoría de procesos para asegurar que el compuesto orgánico en la presuspensión esta en una forma friable que tiene un tamaño de partícula efectivo promedio (por ejemplo tal como una aguja delgada o pequeñas láminas) Las partículas friables pueden ser formadas seleccionando solventes adecuados, surfactantes o combinaciones de surfactantes, la temperatura de las soluciones individuales, la rata de mezclado y la tasa de precipitación y similares La friabilidad puede también ser aumentada por la introducción de defectos en la estructura (por ejemplo planos de clivaje) durante los pasos de mezclado de la primera solución con el solvente acuoso Esto surgirá por cristalización rápida tal como la lograda en el paso de precipitación En el paso de adición de energía estos cristales friables son convertidos a cristales que son cinemáticamente estabilizados y tienen un tamaño de partícula efectivo promedio menor que los de la presuspensión Cinemáticamente estabilizados significa partículas que tienen una menor energía para agregarse en comparación con las partículas que no están cinemáticamente estabilizadas En tal instancia el paso de adición de energía resulta en una rompimiento de las partículas friables Al asegurar que las partículas en la presuspensión estan en un estado friable, el compuesto organico puede ser mas fácil y rápidamente preparado en partículas con el rango de tamaños deseado cuando se compara con procesos de un compuestos orgánicos donde los pasos no se han dirigido a colocarlos en una forma friable

IV Cuarta Categoría de Procesos

Los métodos de la cuarta categoría de procesos incluye los pasos de la primera categoría de procesos excepto que el paso de mezclado es realizado simultáneamente con el paso de adición de energía

Control de Polimorfa

La presente invención provee además pasos adicionales para controlar la estructura cristalina de un compuesto orgánico para finalmente producir una suspensión del compuesto en el rango de tamaño deseado y con una estructura cristalina deseada. Lo que es significado con el término "estructura cristalina" es el arreglo de los átomos dentro de la célula unitaria del cristal. Los compuestos que pueden ser cristalizados en diferentes estructuras cristalinas se dice que son polimórficos. La identificación de polimorfos es un paso importante en la formulación de drogas puesto que diferentes polimorfos de la misma droga pueden presentar diferencias en solubilidad, actividad terapéutica, biodisponibilidad, y estabilidad de suspensión. En consecuencia, es importante controlar la forma polimórfica del compuesto para asegurar la pureza del producto y reproducibilidad cohada tras cohada.

Los pasos para controlar la forma polimórfica de un compuesto semillado de la primera solución, el segundo solvente o la presuspensión para asegurar la formación de la polimorfa deseada. El semillado incluye usar un compuesto semilla o adicionar energía. En una forma preferida de la invención el compuesto semilla es un compuesto farmacéuticamente activo en la forma polimórfica deseada. Alternativamente, el compuesto semilla puede ser también una impureza inerte, un compuesto no relacionado en estructura a la polimorfa deseada pero con rasgos que pueden llevar a plantillado de un núcleo del cristal, o un compuesto orgánico con una estructura similar a aquella de la polimorfa deseada.

El compuesto semilla puede ser precipitado de la primera solución. Este método incluye los pasos de adicionar el compuesto orgánico en una cantidad suficiente para exceder la solubilidad del compuesto orgánico en el primer solvente para crear una solución supersaturada. La solución supersaturada es tratada para precipitar el compuesto orgánico en la forma polimórfica deseada. El tratamiento de

la solución supersaturada incluye el envejecimiento de la solución por un período de tiempo hasta que la formación de un cristal o cristales es observada para crear una mezcla sembrada. Es posible también adicionar energía a la solución supersaturada para hacer que el compuesto orgánico se precipite de la solución en la polimorfa deseada. La energía puede ser aplicada en muchas maneras que incluyen los pasos de adición de energía descritos antes. Mas energía puede ser adicionada por calentamiento, o por exposición de la presuspensión a energía electromagnética, fuentes de rayos de electrones o partículas. La energía electromagnética incluye energía lumínica (ultravioleta visible o infrarroja) energía electromagnética dinámica, u otras formas de radiación. Se contempla además utilizar ultrasonido, un campo de energía estática, un campo magnético estático, o combinaciones de estos, como fuentes adicionales de energía.

En una forma preferida de la invención, el método para producir cristales semilla de una solución supersaturada envejecida incluye los pasos de (i) adicionar una cantidad de un compuesto orgánico al primer solvente orgánico para crear una solución supersaturada, (ii) envejecer la solución supersaturada para formar cristales detectables para crear una mezcla sembrada, y (iii) mezclar la mezcla sembrada con el segundo solvente para precipitar el compuesto orgánico para crear la presuspensión. La presuspensión puede luego ser mas procesada como se describió en detalla atrás para proveer una suspensión acuosa del compuesto orgánico en la polimorfa deseada y el rango de tamaño deseado.

El semillado puede también ser realizado adicionando energía a la primera solución, el segundo solvente o la presuspensión siempre que el líquido o líquidos expuestos contengan el compuesto orgánico o un material semilla. La energía puede ser adicionada en la misma forma como se describió para la solución supersaturada.

En consecuencia, la presente invención provee un compuesto de un compuesto orgánico en la forma polimórfica deseada esencialmente libre de polimorfa o polimorfos no especificadas. En una forma preferida de la invención el compuesto orgánico es una sustancia farmacéuticamente activa. Un ejemplo de ello es establecido en el ejemplo 16 mas adelante donde se describe durante microprecipitación provee una polimorfa de itraconazola esencialmente libre de la polimorfa de la materia prima. Se contempla que los métodos de esta invención puedan ser usados para producir selectivamente una polimorfa deseada para numerosos compuestos farmacéuticamente activos.

Suspensiones submicrónicas de agentes antineoplásicos

Los métodos descritos previamente en esta aplicación pueden ser usados para preparar formulaciones que contienen suspensiones de partículas submicrónicas de agentes antineoplásicos insolubles en agua, particularmente paclitaxel o sus compuestos derivados, incluyendo pero no limitado a, docetaxel y otros análogos de paclitaxel. Estas formulaciones generalmente permiten una alta carga de droga que contiene 1-20% w/v de droga. Una carga de droga mas alta de 20 % w/v puede ser lograda con estas formulaciones. La misma formulación puede ser administrada por varias vías, por ejemplo, oral, parenteral y pulmonar.

Las partículas del agente antineoplásico puede ser formuladas para ambos remover cremofor como un excipiente así como para lograr una forma de dosificación que tiene como característica un largo tiempo de circulación. Las partículas formuladas con modificadores de superficie con polietileno glicol (PEG) funcionalmente pueden ser usadas para evitar opsonización de partículas y la sobretoma del sistema reticuloendotelial (RES) consecuente. En adición, partículas que tienen tamaños menores de 200 nm, y particularmente menos de 150 nm pueden ser usadas para ayudar a un largo tiempo de circulación así como

para apuntar a los tumores al permear a través de la vasculatura del tumor fenestrado

Un método preferido de preparar las partículas submicrónicas de estos agentes antineoplásicos consiste de (i) mezclar dentro del primer solvente miscible en agua o el segundo solvente o en ambos el primer solvente miscible en agua y el segundo solvente un primer modificador de superficie que incluye un fosfolípido conjugado con un polímero soluble en agua o hidrofílico, (ii) disolver el agente antineoplásico en el primer solvente miscible en agua para formar una solución (iii) mezclar la solución con el segundo solvente para obtener una presuspensión de partículas, y (iv) homogenizar la presuspensión para formar una suspensión de partículas que tienen un tamaño de partícula efectivo promedio menor de cerca de 1 μm . Un primer solvente miscible en agua preferido es N-metil-2-pirrolidinona. Preferiblemente, las partículas tienen un tamaño de partícula efectivo promedio de menos de 400 nm, mas preferiblemente menos de 200 nm, y mas preferiblemente, menos de 150 nm.

El fosfolípido usado puede ser natural o sintético. Ejemplos de fosfolípidos adecuados incluyen pero no se limitan a, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, diacil-glicero-fosfoetanolamina, fosfatidilserrina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, lisofosfolípidos, fosfolípidos de huevo y soya o una combinación de ellos. El diacil-glicero-fosfoetanolamina puede ser seleccionado de dimiristoil-glicero-fosfoetanolamina (DMPE), dipalmitoil-glicero-fosfoetanolamina (DPPE), distearoil-glicero-fosfoetanolamina (DSPE), dioleoil-glicero-fosfoetanolamina (DOPE) o similares.

En una incorporación preferida, el polímero soluble en agua o hidrofílico conjugado al fosfolípido es un polietileno glicol (PEG) tal como, pero no limitado a, PEG-350, PEG-550, PEG-750, PEG-1000, PEG-2000, PEG-3000 y PEG 5000.

Otros conjugados polímeros hidrofílicos pueden ser usados, por ejemplo, dextran, metacrilato de hidroxipropil (HPMA), poliglutamato y similares

Opcionalmente, un segundo modificador de superficie puede ser mezclado en el primer solvente miscible en agua o el segundo solvente o ambos el primer solvente miscible en agua y el segundo solvente. El segundo modificador de superficie puede ser necesario para estabilizar mas las partículas. El segundo modificador de partículas puede ser seleccionado de surfactantes aniónicos, surfactantes catiónicos, surfactantes no aniónicos y modificadores biológicos de superficie activa como se describió en detalle previamente en esta aplicación. Un segundo modificador de superficie es poloxamer, tal como poloxamer 188.

El tamaño de las partículas producidas puede ser controlado por la temperatura a la cual la homogenización es realizada, como se muestra en el Ejemplo 19. En una incorporación, la homogenización es realizada a cerca de 30 °C o mas alta, tal como cerca de 40 °C o cerca de 70 °C.

Los métodos pueden incluir además la remoción del primer solvente miscible en agua de la suspensión para formar una suspensión acuosa de las partículas que esta esencialmente libre de solvente. En una incorporación preferida el primer solvente miscible en agua es removido simultáneamente con la homogenización como se describió en detalle en una co-pendiente y comunmente designada con registro de apoderado Aplicación de Patente US No 113957-375.

El método puede también incluir la remoción de la totalidad de la fase líquida de la suspensión para formar un polvo seco de las partículas. El polvo seco puede ser administrado a un paciente por vía pulmonar, o puede ser resuspendido en un diluyente apropiado, tal como un diluyente adecuado par administración parenteral u oral. Las partículas pueden ser formuladas para administración oral. Las

formulaciones para administración parenteral y oral son bien conocidas para aquellos hábiles en el arte. La misma formulación puede ser usada para la administración a un sujeto por varias vías, tales como, pero no limitadas a, parenteral, oral, pulmonar, tópica, oftálmica, nasal, bucal, rectal vaginal y transdérmica.

El método puede tan bien incluir además la esterilización de la composición como se describió previamente en esta aplicación. Los métodos para esterilizar composiciones farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a filtración, esterilización por calor, e irradiación gamma. La estabilización por calor, puede ser efectuada mediante calentamiento dentro del homogenizador en el cual el homogenizador sirve como una fuente de calentamiento y presurización para la esterilización.

En una incorporación preferida, las partículas no son solubles. La solubilidad de las partículas puede ser probada por cinética de disolución usando el % de transmisión a 400 nm como una medida para la disolución. Las partículas no son solubles si el % de transmisión no retorna a 95 % o más del valor inicial.

En otra incorporación preferida, las partículas no se agregan bajo condiciones de esfuerzo o al almacenarse. Ejemplos de condiciones de esfuerzos incluyen pero no se limitan a, ciclos térmicos, ciclos repetidos de congelamiento-descongelamiento, agitación, y centrifugación. Los métodos para pruebas de esfuerzo son bien conocidas en el arte. Métodos para pruebas de esfuerzo son descritos en detalle en Novel Injectable Formulations of Insoluble Drugs Pace et al, Pharm Tech, March 1999, pg 116-134. La agregación puede ser estimada midiendo el tamaño de partícula antes y después de 1 minuto de sonicación y comparando la diferencia a través de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Agregación} = (P_{99} - P_{99s}) \times 100 / P_{99s}$$

Donde P_{99} representa el percentil 99^{vo} de la distribución de tamaño de partícula antes de la sonicación y P_{99s} representa el 99^{vo} percentil de la distribución de tamaño de las partículas después de la sonicación

Ejemplos

A Ejemplos de Procesos Categoría-1

Ejemplo 1 Preparación de suspensión de itraconazola por medio del Proceso

Categoría 1

Método A con homogenización

A un matraz 3-L adicione 1680 mL de agua para inyección Caliente el líquido a 60-65 °C, y luego lentamente adicione 44 gramos de Plurónico F-68 (poloxamer 188), y 12 gramos de deoxicolato de sodio, revolver después de cada adición para disolver los sólidos Después de que la adición de los sólidos es completa, revuelva por otros 15 minutos a 60-65 °C para asegurar una completa disolución Prepare 50 mM de solución amortiguadora de Tris (trometamina) disolviendo 6.06 gramos de Tris en 800 mL de agua para inyección Titrar esta solución a pH 8.0 con ácido clorhídrico 0.1 M Diluir la solución resultante a 1 litro con agua para inyección adicional Adicionar 200 mL de solución amortiguadora de Tris a la solución poloxamer/deoxicolato Revolver rigurosamente para mezclar las soluciones

En un beaker de 150 mL adicione 20 gramos de itraconazola y 120 mL de N-metil-2-pirrolidinona Caliente la mezcla a 50-60 °C, y revuelva para disolver los sólidos Después de que la disolución total es visualmente aparente, revuelva por otros 15 minutos para asegurar una completa disolución Enfriar la solución itraconazola-NMP a temperatura ambiente

Cargue una bomba de jeringa (dos 60 mL jeringas de vidrio) con los 120 mL de solución de itraconazola preparado previamente Mientras tanto vierta toda la

solución surfactante dentro de la tolva de un homogenizador que ha sido enfriado a 0-5 °C (esto puede ser realizado mediante el uso de una tolva revestida a través del cual el refrigerante es circulado, o rodeando la tolva con hielo) Colocar un agitador mecánico dentro de la solución surfactante de tal forma que las paletas queden totalmente inmersas Usando una bomba de jeringa lentamente (1-3 mL/minuto) adicione toda la solución de itraconazola a la solución de surfactante agitada y enfriada Una tasa de agitación de al menos 700 rpm es recomendada Una alícuota de la suspensión resultante (Suspensión A) es analizada por microscopia de luz (Contraste de Modulación de Hoffman) y por difracción de láser (horiba) La suspensión A al observarse por microscopia de luz consiste de partículas amorfas aproximadamente esféricas (menores de 1 micron) o enlazadas entre sí en agregados o moviéndose libremente en movimientos Brownianos Ver FIG 3 Mediciones de dispersión de luz dinámica típicamente arroja un patrón de distribución bimodal que significa la presencia de agregados (de tamaños de 10 –100 micrones) y la presencia de partículas amorfas singulares variando en el diámetro de partícula medio de 200–700 nm

La suspensión es inmediatamente homogenizada (a 10,000 a 30,000 psi) durante 30 minutos Al final de la homogenización, la temperatura de la suspensión en la tolva no sobrepasa los 75 °C La suspensión homogenizada es recogida en botellas de 500 mL, que son enfriadas inmediatamente en el refrigerador (2-8 °C) Esta suspensión (suspensión B) es analizada por microscopia de luz y se observa que consiste de laminas alargadas pequeñas con una longitud de 0.5 a 2 micrones y un ancho de 0.1 –1 micrones Ver FIG 4 Las mediciones de dispersión de luz dinámica indican típicamente un diámetro medio de 200 –700 nm

Estabilidad de la Suspensión A ("presuspension") (Ejemplo 1)

Durante el examen microscópico de la alicota de la Suspensión A, la cristalización de los sólidos amorfos fue directamente observada. La Suspensión A fue almacenada a 2 –8 °C durante 12 horas y examinada mediante microscopia de luz. Una inspección visual gruesa de la muestra reveló floculación severa, con algo del contenido asentándose en el fondo de la tolva. El examen microscópico indicó la presencia de cristales laminares, alargados, grandes de más de 10 micrones de longitud.

Estabilidad de la Suspensión B

En oposición a la inestabilidad de la Suspensión A, la Suspensión B fue estable a 2 – 8 °C durante la duración del estudio preliminar de estabilidad (1 mes). Al microscopio la muestra envejecida claramente mostró que no había ocurrido un cambio significativo en la morfología o tamaño de las partículas. Esto fue confirmado con medidas de dispersión de luz.

Ejemplo 2 Preparación de suspensión de Itraconazola mediante el Proceso Categoría 1

Método A con ultrasonificación

A un recipiente de acero inoxidable de 500 mL adicionar 252 mL de agua para inyección. Caliente el líquido a 60-65 °C, y luego lentamente adicione 6.6 gramos de Plurónico F-68 (poloxamer 188), y 0.9 gramos de deoxicolato de sodio, agitar después de cada adición para disolver los sólidos. Después de que la adición de los sólidos es completa, agite por otros 15 minutos a 60-65 °C para asegurar una completa disolución. Prepare 50 mM de solución amortiguadora de Tris (trometamina) disolviendo 6.06 gramos de Tris en 800 mL de agua para inyección. Titrar esta solución a pH 8.0 con ácido clorhídrico 0.1 M. Diluir la solución resultante a 1 litro con agua para inyección adicional. Adicionar 30 mL de solución amortiguadora de Tris a la solución poloxamer/deoxicolato. Agitar rigurosamente para mezclar las soluciones.

En un contenedor de 30 mL adicione 3 gramos de itraconazola y 18 mL de N-metil-2-pirrolidinona. Caliente la mezcla a 50-60 °C, y agite para disolver los sólidos. Después de que la disolución total es visualmente aparente, revuelva por otros 15 minutos para asegurar una completa disolución. Enfriar la solución itraconazola-NMP a temperatura ambiente.

Cargue una bomba de jeringa con 18 mL de la solución de itraconazola preparada en el paso anterior. Coloque un agitador mecánico dentro de la solución surfactante de tal forma que las paletas queden totalmente inmersas. Enfríe la tolva a 0 –5 °C por inmersión en un baño de hielo. Usando una bomba de jeringa, lentamente (1 – 3 mL/minuto) adicione toda la solución de itraconazola a la solución surfactante agitada y enfriada. Una tasa de agitación de al menos 700 rpm es recomendada. Sumerja la corneta de un ultrasonificador en la suspensión resultante de tal forma que la sonda es aproximadamente 1 cm por encima del fondo del recipiente de acero inoxidable. Sonicar (10,000 a 25,000 Hz, al menos 400 W) por 15 a 20 minutos en intervalos de 5 minutos. Después de la primera sonicación de 5 minutos remueva el baño de hielo y proceda con mas sonicación. Al final de la ultrasonificación, la temperatura de la suspensión en el recipiente no excede los 75 °C.

La suspensión es recogida en un botella de vidrio Tipo I de 500 mL, la cual es enfriada inmediatamente en el refrigerador (2 –8 °C). Las características de la morfología de las partículas antes y después de la sonicación fueron muy similares a las vistas en el Método A antes y después de la homogenización (ver Ejemplo 1).

Ejemplo 3. Preparación de suspensión de Itraconazola mediante el Proceso

Categoría 1

Método B con homogenización

Preparar 50 mM de solución amortiguadora de Tris (trometamina) disolviendo 6.06 gramos de Tris en 800 mL de agua para inyección. Titrar esta solución a pH 8.0 con ácido clorhídrico 0.1 M. Diluir la solución resultante a 1 litro con agua para inyección adicional. A un matraz 3-L adicione 1680 mL de agua para inyección. Adicione 200 mL de la solución amortiguadora de Tris a los 1680 mL de agua. Agitar rigurosamente para mezclar las soluciones.

En un beaker de 150 mL adicione 44 gramos de Pluronic F-68 (poloxamer 188) y 12 gramos de deoxicolato de sodio a 120 mL de N-metil-2-pirrolidinona. Caliente la mezcla a 50-60 °C, y revuelva para disolver los sólidos. Después de que la disolución total es visualmente aparente, revuelva por otros 15 minutos para asegurar una completa disolución. Enfriar la solución itraconazola-surfactante-NMP a temperatura ambiente.

Cargue una bomba de jeringa (dos 60 mL jeringas de vidrio) con los 120 mL de solución de itraconazola preparada previamente. Mientras tanto vierta la solución amortiguadora de Tris preparada atrás dentro de la tolva de un homogenizador que ha sido enfriado a 0-5 °C (esto puede ser realizado mediante el uso de una tolva revestida a través del cual el refrigerante es circulado, o rodeando la tolva con hielo). Colocar un agitador mecánico dentro de la solución amortiguadora de tal forma que las paletas queden totalmente inmersas. Usando una bomba de jeringa, lentamente (1-3 mL/minuto) adicione todo el concentrado itraconazola-surfactante a la solución amortiguadora agitada y enfriada. Una tasa de agitación de al menos 700 rpm es recomendada. La suspensión resultante enfriada es inmediatamente homogenizada (a 10,000 a 30,000 psi) durante 10-30 minutos. Al final de la homogenización, la temperatura de la suspensión en la tolva no sobrepasa los 75 °C.

La suspensión homogenizada es recogida en botellas de 500 mL, que son enfriadas inmediatamente en el refrigerador (2-8 °C). Las características de la morfología de las partículas de la suspensión antes y después de la homogenización fueron muy similares a las vistas en el Ejemplo 1, excepto que en el Proceso Categoría 1 B, el material pre-homogenizado tiende a formar menos y más pequeños agregados que resultó en un tamaño general de partícula mucho más pequeño como se observó por difracción de láser. Después de la homogenización, los resultados de dispersión de luz dinámica fueron típicamente idénticos a esos presentados en el Ejemplo 1.

Ejemplo 4 Preparación de suspensión de Itraconazola mediante el Proceso Categoría 1

Método B con ultrasonificación

A un matraz de 500 mL adicionar 252 mL de agua para inyección. Prepare 50 mM de solución amortiguadora de Tris (trometamina) disolviendo 6.06 gramos de Tris en 800 mL de agua para inyección. Titrar esta solución a pH 8.0 con ácido clorhídrico 0.1 M. Diluir la solución resultante a 1 litro con agua para inyección adicional. Adicionar 30 mL de solución amortiguadora de Tris al agua. Agitar vigorosamente para mezclar las soluciones.

En un beaker de 30 mL adicione 6.6 gramos de Pluronic F-68 (poloxamer 188) y 0.9 gramos de deoxicolato de sodio a 18 mL de N-metil-2-pirrolidinona. Caliente la mezcla a 50-60 °C, y agite para disolver los sólidos. Después de que la disolución total es visualmente aparente, agite por otros 15 minutos para asegurar una completa disolución. A esta solución adicione 3.0 gramos de itraconazola y agite hasta que este totalmente disuelto. Enfriar la solución itraconazola-surfactante-NMP a temperatura ambiente.

Cargue una bomba de jeringa (una jeringa de vidrio de 30 mL con los 18 mL de la solución concentrada de itraconazola preparada previamente) Colocar un agitador mecánico dentro de la solución amortiguadora de tal forma que las paletas queden totalmente inmersas. Enfríe la tolva a 0 –5 °C por inmersión en un baño de hielo. Usando una bomba de jeringa, lentamente (1 – 3 mL/minuto) adicione todo el concentrado de itraconazola-surfactante a la solución amortiguadora agitada y enfriada. Una tasa de agitación de al menos 700 rpm es recomendada. La suspensión enfriada es inmediatamente sonicada (10,000 a 25,000 Hz, al menos 400 W) por 15 a 20 minutos en intervalos de 5 minutos. Después de la primera sonicación de 5 minutos, remueva el baño de hielo y proceda con mas sonicación. Al final de la ultrasonificación, la temperatura de la suspensión en el recipiente no excede los 75 °C.

La suspensión resultante es recogida en botellas de 500 mL que son enfriadas inmediatamente en el refrigerador (2-8 °C). Las características de la morfología de las partículas de la suspensión antes y después de la sonicación fueron muy similares a las vistas en el Ejemplo 1, excepto que en el Proceso Categoría 1 Método B, el material pre-sonicado tiende a formar menos y mas pequeños agregados que resultaron en un tamaño general de partícula mucho mas pequeño como se observó por difracción de láser. Después de la ultrasonificación, los resultados de dispersión de luz dinámica fueron típicamente idénticos a esos presentados en el Ejemplo 1.

B Ejemplos de Procesos Categoría 2

Ejemplo 5 Preparación de suspensión de Itraconazola (1%) con 0.75 % Solutol® HR (PEG-660 12-hidroxiestearato) Proceso Categoría 2 Método B

Solutol (2.25 g) e itraconazola (3.0 g) fueron pesados en un beaker y 46 mL de N-metil-2-pirrolidinona (NMP) filtrados fueron adicionados. La mezcla fue agitada bajo calor bajo (hasta 40 °C) por aproximadamente 15 minutos hasta que los

ingredientes de la solución fueron disueltos. La solución fue enfriada a temperatura ambiente y fue filtrada a través de un filtro de 0.2 micrones bajo vacío. Dos jeringas de 60 mL fueron llenadas con el concentrado de droga filtrado y fueron colocadas en una bomba de jeringa. La bomba fue arreglada para liberar aproximadamente 1 mL/minuto de concentrado a una solución amortiguadora acuosa agitada rápidamente (400 rpm). La solución amortiguadora consistió de 22 g/L de glicerol en 5 mM de amortiguador Tris. A través de la adición de concentrado, la solución amortiguadora fue mantenida en un baño de hielo a 2 – 3 °C. Al final de la precipitación, después de la total adición del concentrado a la solución amortiguadora, cerca de 100 mL de la suspensión fueron centrifugados por 1 hora, el supernadante fue eliminado. El precipitado fue resuspendido en una solución NMP al 20% en agua, y centrifugada otra vez por 1 hora. El material fue secado de un día a otro en un horno de vacío a 25 °C. El material seco fue transferido a un vial y analizado por difracción de rayos X usando radiación de cromo (ver FIG 5).

Otra alícuota de 100 mL de la suspensión microprecipitada fue sonicada durante 30 minutos a 20 000 Hz, 80% de amplitud completa (amplitud completa = 600 W). La muestra sonicada fue homogenizada en 3 alícuotas iguales durante 45 minutos (Avestina C5, 2 – 5 °C, 15,000 – 20,000 psi). Las fracciones combinadas fueron centrifugadas por cerca de 3 horas, el supernadante removido, y el precipitado resuspendido en NMP al 20%. La mezcla resuspendida fue centrifugada otra vez (15,000 rpm a 5 °C). El supernadante fue eliminado por decantado y el precipitado fue secado al vacío de un día a otro a 25 °C. El precipitado fue sometido a un análisis de difracción de rayos X (ver FIG 5). Como se ve en la FIG 5, los patrones de difracción de rayos X de las muestras procesadas antes y después de la homogenización, son esencialmente idénticas, sin embargo muestran un patrón significativamente diferente en comparación con la materia prima inicial. La suspensión no homogenizada es inestable y se aglomera al almacenarse a

temperatura ambiente La estabilización que ocurre como resultado de la homogenización se cree que se deriva del rearrreglo de los surfactantes sobre la superficie de la partícula Este rearrreglo debe resultar en una menor propensión de la partícula a agregarse

C Ejemplos de Categoría de Proceso

Ejemplo 6 Preparación de suspensión de carbamazapina mediante el Proceso

Categoría 3 Método A con homogenización

2.08 g de carbamazapina fueron disueltos en 10 mL de NMP 1.0 mL de este concentrado fue subsiguientemente goteado a 0.1 mL/minuto dentro de 20 mL de una solución agitada de 1.2 % lecitina y 2.25 % glicerina La temperatura del sistema de lecitina fue mantenida a 2 - 5 °C durante toda la adición La predispersión fue luego homogenizada en frío (5 – 15 °C) durante 35 minutos a 15,000 psi La presión fue incrementada a 23,000 psi y la homogenización fue continuada por otros 20 minutos Las partículas producidas por el proceso tenían un diámetro promedio de 0.881 µm con el 99% de las partículas menores de 2.44 µm

Ejemplo 7 Preparación de suspensión de 1 % carbamazapina con 0.125 % Solutol

@ mediante el Proceso Categoría 3. Método B con homogenización

Un concentrado de droga de 20% carbamazapina y 5 % ácido glicodeoxílico (Sigma Chemical Co) en N-metil-2-pirrolidinona fue preparado El paso de microprecipitación involucró la adición del concentrado de droga a una solución receptora (agua destilada) a una tasa de 0.1 mL/minuto La solución receptora fue agitada y mantenida a aproximadamente 5 °C durante la precipitación Después de la precipitación, las concentraciones final de ingredientes fueron 1 % carbamazapina y 0.125 % Solutol ® Los cristales de la droga fueron examinados bajo microscopio de luz usando contraste de fase positiva (400X) El precipitado

constitio de agujas finas de 2 micrones en diametro y variando entre 50 – 150 micrones de longitud

La homogenización (Avestina C-50 homogenizador de pistón-abertura) a aproximadamente 20,000 psi por aproximadamente 15 minutos resulta en pequeñas partículas, menores de 1 micron en tamaño y muy desagregadas. Análisis de difracción de láser (horiba) del material homogenizado mostró que las partículas tenían un tamaño medio de 0.4 micrones con 99% de las partículas menos de 0.8 micrones. Sonicación de baja energía, adecuada para romper las partículas aglomeradas, pero sin suficiente energía para causar una conminución de partículas individuales, de la muestra antes de los análisis Horiba no tuvieron efecto en los resultados (los numeros fueron los mismos con y sin sonicación). Este resultado fue consistente con la ausencia de aglomeración de partículas.

Muestra preparadas por el proceso anterior fueron centrifugada y las soluciones supernadantes reemplazadas con una solución reemplazo que consiste de 0.125 % Solutol ®. Después de la centrifugación y el reemplazo del supernadante la concentración de ingredientes fue 1 % carbamazapina y 0.125 % Solutol®. Las muestras fueron re-homogenizadas mediante homogenizadores de piston-abertura y almacenadas a 5 °C. Después de 4 semanas de almacenamiento, la suspension tenía un tamaño medio de partícula de 0.751 con 99% de las partículas menores de 1.729. Los numeros reportados son de análisis Horiba sobre muestras no sonicadas.

Ejemplo 8 Preparación de suspensión de 1 % carbamazapina con 0.06 % glicodeoxicolato de sodio y 0.06 % poloxamer 188 mediante el Proceso Categoría 3, Método B con homogenización

Un concentrado de droga que incluye 20% carbamazapina y 5 % glicodeoxicolato en N-metil-2-pirrolidinona fue preparado. El paso de microprecipitación involucró la adición del concentrado de droga a una solución receptora (agua destilada) a una tasa de 0.1 mL/minuto. Así los siguientes ejemplos demuestran que adicionar un surfactante u otro excipiente a las soluciones acuosas precipitantes en los Métodos A y B anteriores es opcional. La solución receptora fue agitada y mantenida a aproximadamente 5 °C durante la precipitación. Después de la precipitación, las concentraciones finales de ingredientes fueron 1 % carbamazapina y 0.125 % Solutol®. Los cristales de la droga fueron examinados bajo microscopio de luz usando contraste de fase (400X). El precipitado consistió de agujas finas de 2 micrones en diámetro y variando entre 50 – 150 micrones de longitud. La comparación del precipitado con la materia prima antes de la precipitación revela que el paso de la precipitación en presencia del modificador de superficie (ácido glicodeoxicolico) resulta en cristales muy delgados que son mucho menos gruesos que los cristales de la materia prima (ver FIG 6).

La homogenización (Avestina C 50 homogenizador de piston-abertura) a aproximadamente 20 000 psi por aproximadamente 15 minutos resulta en pequeñas partículas, menores de 1 micrón en tamaño y muy desagregadas. Ver FIG 7. Análisis de difracción de láser (Horiba) del material homogenizado mostró que las partículas tenían un tamaño medio de 0.4 micrones con 99% de las partículas menores de 0.8 micrones. Sonicación de la muestra antes de los análisis Horiba no tuvieron efecto en los resultados (los números fueron los mismos con y sin sonicación). Este resultado fue consistente con la ausencia de aglomeración de partículas.

Las muestras preparadas por los métodos anteriores fueron centrifugadas y las soluciones supernatantes reemplazadas con una solución de reemplazo consistente de 0.06 % ácido glicodeoxicolico (Sigma Chemical Co) y 0.06 %

p0loxamer 188 Las muestra fueron re-homogenizadas con homogenizadores de piston-abertura y almacenadas a 5 °C Después de 2 semanas de almacenamiento, la suspension tenia un tamaño medio de particula de 531 con 99% de las particulas menores de 1 14 Los numeros reportados son de analisis Honba sobre muestras no sonicadas

Analisis matemáticos (Ejemplo 8) de la fuerza requenda para romper las particulas precipitadas en comparación con la fuerza requerida para romper las particulas de la materia prima inicial (carbamazapina),

El ancho de los cristales mas grandes vistos en la materia prima de carbamazapina (FIG 6 fotografia de la izquierda) fueron aproximadamente 10 veces mas grandes que el ancho de los cristales en el material microprecipitado (FIG 6, fotografia de la derecha) Sobre la hipotesis que la relación de espesores de cristal (1 10) es proporcional a la relación de anchos de cristal (1 10), luego el momento de fuerza requerido para dividir los cristales mas grandes en la materia prima deberian ser aproximadamente 1000 veces mas grande que la fuerza necesaria para romper el material microprecipitado, puesto que

$$e_L = 6PL/(Ewx^2) \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde,

e_L = deformación longitudinal requerida para romper el cristal ("valor de fluencia")

P = carga sobre la viga

L = distancia de la carga al fulcro

E = módulo de elasticidad

W= ancho del cristal

x = espesor del cristal

Asumamos que L y E son los mismos para la materia prima y el material precipitado, Adicionalmente, asumamos que $w/w_0 = x/x_0 = 10$ Luego

$E_{L0} = 6P_0 L / (Ew_0 x_0^2)$ donde el sub-índice 0 se refiere a la materia prima

$E_L = 6PL / (Ewx^2)$ para el microprecipitado

Igualando E_{L0} y E_L

$$6PL / (Ewx^2) = 6P_0 L / (Ew_0 x_0^2)$$

Después de simplificación

$$P = P_0 (w/w_0) (x/x_0)^2 = P_0 (0.1)(0.1)^2 = 0.001 P_0$$

Así, la fuerza de fluencia, P , requerida para romper el sólido microprecipitado es una milésima, de la fuerza requerida para romper los sólidos cristalinos iniciales. Si, debido a precipitación rápida, defectos estructurales y propiedades amórficas son introducidas luego el módulo (E) debe disminuir haciendo que el microprecipitado sea más fácil de dividir.

Ejemplo 9 Preparación de suspensión de 1.6 % (w/v) de prednisolona con 0.05 % glicodeoxicolato de sodio y 3 % N-metil-2-pirrolidinona Proceso Categoría 3.
Método B

Un esquemático de todo el proceso de manufactura es presentado en la FIG 8. Una solución concentrada de prednisolona y deoxicolato de sodio fue preparada. Prednisolona (32 g) y el deoxicolato de sodio (1 g) fueron adicionados a un volumen suficiente de 1-metil-2-pirrolidinona (NMP) para producir un volumen final de 60 mL. La concentración resultante de prednisolona fue de aproximadamente 533.3 mg/mL y la concentración de deoxicolato de sodio fue aproximadamente 16.67 mg/mL. 60 mL de concentrado de NMP fueron adicionados a 2 L de agua enfriada a 5 °C a una tasa de adición de 2.5 mL/minuto mientras que se agitaba a aproximadamente 400 rpm. La suspensión resultante contenía cristales de forma de aguja delgados con un nacho menor de 2 µm (FIG 9). La concentración de la suspensión precipitada fue 1.6 % (w/v) prednisolona, 0.05 % deoxicolato de sodio y 3% NMP.

La suspensión precipitada fue ajustada en pH a 7.5-8.5 usando hidróxido de sodio y ácido clorhídrico luego homogenizada (Avestina C-50, homogenizador de piston-abertura) con 10 pasadas a 10,000 psi. El NMP fue removido mediante la realización de dos pasos de centrifugado sucesivos reemplazando el supernadante cada vez con una solución de surfactante fresca, la cual contenía la concentración deseada de surfactantes necesaria para estabilizar la suspensión (ver Tabla 2). La suspensión fue homogenizada con otras 10 pasadas a 10,000 psi. La suspensión final contenía partículas con un tamaño medio de partícula menor de 1 μm , y 99% de las partículas menos de 2 μm . La FIG 10 es una fotografía de microscopio de la suspensión final de prednisolona después de homogenización.

Una variedad de diferentes surfactantes a concentraciones variables fueron usados en el paso de reemplazo centrifugación/surfactante (ver Tabla 2). La Tabla 2 lista combinaciones de surfactantes que fueron estables con respecto al tamaño de partícula (promedio < 1 μm , 99% < 2 μm), pH (6 – 8), concentración de droga (menos de 2% de pérdidas) y capacidad de re-suspensión (resuspendido en 60 segundos o menos).

Notoriamente este proceso permite la adición del componente activo a un diluyente acuoso sin la presencia de un surfactante u otro aditivo. Esta es una modificación del Método B de proceso en la FIG 2.

Tabla 2 lista de suspensiones estables de prednisolona preparadas por el proceso de microprecipitación de la FIG 8 (Ejemplo 9)

			2 Semanas		2 Meses						
	Inicial		40 C		5 C		25 C		40 C		
Formulaciones	Prom	> 99%	Prom	> 99%	Prom	> 99%	Prom	> 99%	Prom	> 99%	% perdida
1 6 % Prednisolona 0 6 % fosfolípidos 0 5 % deoxicolato de sodio 5 nM Tris 2 2 % glicerol**	0 79	1 65	0 84	1 79	0 83	1 86	0 82	1 78	0 82	1 93	< 2%
1 6 % Prednisolona 0 6 % Solutol® 0 5 % deoxicolato de sodio 2 2 % glicerol	0 77	1 52	0 79	1 67	0 805	1 763	0 796	1 693	0 81	1 633	< 2%
1 6 % Prednisolona 0 1 % Poloxamer 188 0 5 % deoxicolato de sodio 2 2 % glicerol	0 64	1 16	0 82	1 78	0 696	1 385	0 758	1 698	0 719	1 473	< 2%
1 6 % Prednisolona 5 % fosfolípidos 2 2 % glicerol	0 824	1 77	0 87	1 93	0 88	0 88	0 869	1 778	0 909	1 993	< 2%

* Diferencia en concentracion de itraconzola entre muestras almacenadas por 2 meses a 5 y 25 °C

** Estable a través de al menos 6 mese

Tamaño de particulas (por dispersión de láser), en micrones

5 °C 0 80 (promedio), 1 7 (99%)

25 °C 0 90 (promedio), 2 51 (99%)

40 °C 0 99 (promedio), 2 03 (99%)

Diferencia en concentración de itraconazola ente muestras almacenadas a 5 y 25 °C < 2%

Ejemplo 10 Preparación de suspension de prednisolona mediante el uso del Proceso Categoría 3 Metodo A con homogenización

32 g de prednisolona fueron disueltos en 40 mL de NMP Calentamiento moderado a 40 – 50 °C fue requendo para efectuar la disolución El concentrado de NMP y droga fue subsiguientemente goteada a 2 5 mL/minuto en 2 litros de una solución agitada que consistía de 0 1 2% lecitina y 2 2 % glicenna Ningun otro modificador

de superficie fue utilizado. El sistema surfactante fue amortiguado a pH = 8.0 con un amortiguador de Tris 5 mM y la temperatura fue mantenida a 0 °C a 5 °C durante todo el proceso de precipitación. La dispersión post-precipitada fue luego homogenizada en frío (5-15 °C) con 10 pasadas a 10 000 psi. Luego de la homogenización, el NMP fue removido por centrifugación de la suspensión, removiendo el supernadante, y reemplazando el supernadante con solución de surfactante fresca. Esta suspensión pos-centrifugada fue luego re-homogenizada en frío (5-15 °C) con otras 20 pasadas a 10,000 psi. Las partículas producidas por este proceso tenían un diámetro promedio de 0.927 µm con 99% de las partículas menores de 2.36 µm.

Ejemplo 11. Preparación de una suspensión de nabumetona usando el Proceso

Categoría 3 Método B con homogenización

Surfactante (2.2 g de poloxamer 188) fue disuelto en 6 mL de N-metil-2-pirrolidinona. Esta solución fue agitada a 45 °C durante 15 minutos, después de los cuales 1.0 g de nabumetona fue adicionado. La droga se disolvió rápidamente. Diluyente fue preparado el cual consistió de amortiguadora de Tris 5 mM con 2.2 % de glicerol, y ajustada a un pH 8. Una porción de 100 mL del diluyente fue enfriado en un baño de hielo. El concentrado de droga fue lentamente adicionado (aproximadamente 0.8 mL/minuto) al diluyente con una agitación vigorosa. Esta suspensión cruda fue homogenizada a 15,000 psi durante 30 minutos y luego a 20,000 psi durante 30 minutos (temperatura = 5 °C). La suspensión final se encontró ser de 930 nm en diámetro promedio efectivo (analizada por difracción láser). 99 % de las partículas fueron menores de 2.6 micrones aproximadamente.

Ejemplo 12. Preparación de suspensión de nabumetona mediante el uso del

Proceso Categoría 3 Método B con homogenización y el uso de Solutol® HS 15 como el surfactante. Reemplazo del líquido supernadante con un medio fosfolípido

Nabumetona (0.987 gramos) fue disuelta en 8 mL de N-metil-2-pirrolidinona. A esta solución fueron adicionados 2.2 gramos de Solutol® HS 15. Esta mezcla fue agitada hasta la disolución completa del surfactante en el concentrado de droga. Un diluyente fue preparado el cual consistió de amortiguadora de Tris 5 mM con 2.2 % glicerol y, ajustada a un pH 8. El diluyente fue enfriado en un baño de hielo, y el concentrado de droga fue lentamente adicionado (aproximadamente 0.5 mL/minuto) al diluyente con agitación vigorosa. La suspensión cruda fue homogenizada durante 20 minutos a 15,000 psi, y durante 30 minutos a 20,000 psi.

La suspensión fue centrifugada a 15,000 rpm durante 15 minutos y el supernadante fue removido y eliminado. Las pelletas sólidas remanentes fueron resuspendidas en un diluyente consistente de 1.2 % fosfolípidos. Este medio fue igual en volumen a la cantidad de supernadante removido en el paso previo. La suspensión resultante fue homogenizada a aproximadamente 21,000 psi durante 30 minutos. La suspensión final fue analizada por difracción de láser y se encontró con partículas con un diámetro medio de 542 nm y un 99.5 % de la distribución de partículas acumulada con tamaños menores de 1 micrón.

Ejemplo 13 Preparación de suspensión de 1% itraconazola con poloxamer con partículas de diámetro medio de aproximadamente 220 nm

Concentrado de itraconazola fue preparado disolviendo 10.02 gramos de itraconazola en 60 mL de N-metil-2-pirrolidinona. Calentamiento a 70 °C fue requerido para disolver la droga. La solución fue luego enfriada a temperatura ambiente. Una porción de amortiguadora 50 mM de Tris (hidroximetil)aminometano fue preparada y ajustada a un pH 8 con ácido clorhídrico 5M. Una solución de surfactante acuosa fue preparada combinando 22 g/L de poloxamer 407, 3.0 g/L de fosfatidos de huevo, 22 g/L de glicerol, y 3.0 g/L de colato de sodio deshidratado. 900 mL de la solución surfactante fue mezclada

con 100 mL de la amortiguadora de Tris para proveer 1000 mL de diluyente acuoso

El diluyente acuoso fue adicionado a un contenedor de un homogenizador (APV Gaulin Model 15 MR-STA) el cual fue enfriado usando un revestimiento de hielo. La solución fue rápidamente agitada (4700 rpm) y la temperatura fue monitoreada. El concentrado de itraconazola fue lentamente adicionado, mediante el uso de una bomba de jeringa, a una tasa de aproximadamente 2 mL/minuto. La adición se completó después de aproximadamente 30 minutos. La suspensión resultante fue agitada por otros 30 minutos mientras que el recipiente era todavía enfriado con el revestimiento de hielo, y una alícuota fue removida para análisis por microscopía de luz y dispersión de luz dinámica. La suspensión remanente fue subsecuentemente homogenizada durante 15 minutos a 10,000 psi. Al final de la homogenización la temperatura se había elevado a 74 °C. La suspensión homogenizada fue recogida en botellas de vidrio Tipo I de 1 L y selladas con un cierre de caucho. La botella con la suspensión fue almacenada en un refrigerador a 5 °C.

Una muestra de la suspensión antes de la homogenización mostró que la muestra consistía de ambas, partículas libres y agregados de partículas, y cuerpos lípidos multilamelares. Las partículas libres no podían ser claramente visualizadas debido a los movimientos Brownianos. Sin embargo, muchos de los agregados parecían consistir de material amorfo, no cristalino.

La muestra homogenizada contenía partículas submicrónicas libres que tenían un excelente homogeneidad de tamaño sin vesículas de lípidos visibles. Dispersión de luz dinámica mostró una distribución de tamaño logarítmica monodispersa con un diámetro promedio de aproximadamente 220 nm. El tamaño acumulativo del 99% fue aproximadamente 50 nm. La FIG 11 muestra una comparación de las distribuciones de tamaño de la nanosuspensión preparada con esa del producto de emulsión grasa parenteral típica (10 % Intralipid®, Pharmacia).

Ejemplo 14 Preparación de nanosuspensión 1% itraconazola con hidroxietilalmidón ,

Preparación de Solucion A Hidroxietilalmidón (1 g Ajinomoto) fue disuelta en 3 mL de N-metil-2-pirrolidinona (NMP) Esta solución fue calentada en un baño de agua a 70 – 80 °C durante 1 hora En otro contenedor fue adicionado 1 g de itraconazola (Wyckoff) Tres mL de NMP fueron adicionados a la mezcla calentada a 70 – 80 °C para efectuar la disolución (aproximadamente 30 minutos) Fosfolípido (Lipoid S-100) fue adicionado a esta solución caliente El calentamiento fue continuado a 70 – 90 °C durante 30 minutos hasta que todo el fosfolípido fue disuelto La solución de hidroxietilalmidón fue combinada con la solución itraconazola/fosfolípido La mezcla fue calentada por otros 30 minutos a 80 – 95 °C para disolver la mezcla

Adicion de Solucion A a amortiguadora de Tris Noventa y cuatro (94) mL de amortiguadora de Tris(hidroxi metil)aminometano 50 mM fueron enfriados en un baño de hielo A medida que la solución de Tris esta rápidamente agitada, la solución A (ver arriba) fue exentamente adicionada por goteo (menos de 2 cc/minuto)

Despues de la adición total, la suspensión resultante fue sonicada (Procesador Ultrasonico Cole-Palmer – 20,000 Hz, 80% de ajuste de amplitud) mientras todavia se enfriaba en el baño de hielo Una sonda de una pulgada fue utilizada La sonicación fue continuada por 5 minutos El baño de agua fue removido la sonda fue removida y reafinada, y la sonda fue nuevamente inmersa en la suspensión La suspensión fue sonicada otra vez por 5 minutos sin el baño de hielo La sonda de sonicación fue una vez más removida y reafinada, y despues de inmersión de la sonda la muestra fue sonicada por otros 5 minutos En este punto, la temperatura de la suspensión habia ascendido a 82 °C La suspensión fue rapidamente enfriada en un baño de hielo y cuando se observó que estaba por

debajo de la temperatura ambiente fue vertida dentro de una botella de vidrio Tipo I y sellada. La visualización microscópica de las partículas indicó tamaños de partículas individuales en el orden de 1 micron o menores.

Después de un año de almacenamiento a temperatura ambiente, la suspensión fue reevaluada para el tamaño de las partículas y se encontró un diámetro medio de aproximadamente 300 nm.

Ejemplo 15 Ejemplo Profético del Método A usando HES

La presente invención contempla preparar una nanosuspensión de 1 % itraconizola con hidroxietilalmidon utilizando el método A siguiendo los pasos del Ejemplo 14 con la excepción de que HES sería adicionado a la solución amortiguadora de Tris en vez que a la solución NMP. La solución acuosa puede que tenga que ser calentada para disolver el HES.

Ejemplo 16 Semillado durante Homogenización para Convertir una Mezcla de Polimorfos a una Polimorfa mas Estable

Preparación de la muestra Una nanosuspensión de itraconazola fue preparada por un método homogenización-microprecipitación como sigue. Itraconazola (2g) y Solutol HR (2.25 g) fueron disueltos en 36 mL de N-metil-2-pirrolidinona (NMP) con bajo calor y agitación para formar una solución de concentrado de droga. La solución fue enfriada a temperatura ambiente y filtrada a través de un filtro de nylon de 0.2 µm bajo vacío para remover la droga no disuelta o materia particulada. La solución fue observada bajo luz polarizada para asegurar que el material cristalino estaba presente después del filtrado. La solución del concentrado de droga fue luego adicionada a 1.0 mL/minuto a aproximadamente 264 mL de una solución amortiguadora acuosa (2.2 g/L de glicerol en 5 mM de amortiguadora de Tris). La solución acuosa fue mantenida a 2 - 3 °C y fue continuamente agitada a aproximadamente 400 rpm durante la adición del

concentrado de droga. Aproximadamente 100 mL de la suspensión resultante fueron centrifugados y los sólidos resuspendidos en una solución pre-filtrada de 20% NMP en agua. Esta suspensión fue re-centrifugada y los sólidos fueron transferidos a un horno de vacío para secado de una día a otro a 25 °C. La muestra de sólido resultante fue marcada SMP 2 PRE.

Caracterización de la Muestra La muestra SMP 2 PRE y la muestra de la materia prima itraconazola fueron analizadas usando difracción de polvo de rayos X. Las mediciones fueron efectuadas usando el instrumento Rigaku MiniFlex+ con radiación de cobre, un tamaño de paso de 0.02° 2θ y una velocidad de barrido de 0.25° 2θ/minutos. Los patrones de difracción de polvo resultantes son mostrados en la FIG. 12. Los patrones muestran que SMP-2-PRE es significativamente diferente de la materia prima, sugiriendo la presencia de una polimorfa distinta o una pseudopolimorfa.

Trazas de calorimetría de barrido diferencial (DSC) para las muestras son mostradas en las FIG. 13 a y b. Ambas muestras fueron calentadas a 2 °/minuto a 180 °C en contenedores de aluminio herméticamente cerrados.

La traza para la materia prima de itraconazola (FIG. 13 a) muestra una aguda endoterma a aproximadamente 165 °C.

La traza para SMP 2 PRE (FIG. 13 b) exhibe dos endotermas a aproximadamente 159 °C y 153 °C. Este resultado, en combinación con los patrones de difracción de polvo de rayos X, sugiere que SMP 2 PRE consiste de una mezcla de polimorfos y que la forma predominante es una polimorfa que es menos estable que la polimorfa presente en la materia prima.

Evidencia adicional para esta conclusión es suministrada por la traza de DSC en la FIG 14, que muestra que al calentarse SMP 2 PRE a través de la primera transición, luego enfriar y volver a calentar, la polimorfa menos estable se derrite y recrystaliza para formar una polimorfa mas estable

Semillado Una suspensión fue preparad combinando 0.2 g del SMP 2 PRE sólido y 0.2 g de materia prima de itraconazola con agua destilada hasta un volumen final de 20 mL (muestra sembrada) La suspensión fue agitada hasta que todos los sólidos estaban húmedos Una segunda suspensión fue preparada en la misma manera sin adicionar materia prima de itraconazola (muestra no sembrada) Ambas suspensiones fueron homogenizadas a aproximadamente 18 000 psi durante 30 minutos La temperatura final de las suspensiones despues de la homogenización fue aproximadamente 30 °C Las suspensiones fueron luego centrifugadas y los sólidos secados durante aproximadamente 16 horas a 30 °C-

La FIG 15 muestra las trazas de DCS de muestras sembradas y no sembradas La tasa de calentamiento para ambas muestras fue 2 °/minuto hasta 180 °C en contenedores de aluminio herméticamente sellados La traza de las muestras no sembradas muestra dos endotermas, indicando que una mezcla de polimorfos esta todavia presente después de la homogenización La traza para la muestra sembrada muestra que el semillado y la homogenización producen la conversion de los sólidos a la polimorfa estable En consecuencia, el semillado parece influenciar la cinética de la transicion de una polimorfa menos estable a una mas estable

Ejemplo 17 Semillado durante Precipitación para Formar Preferencialmente una Polimorfa Estable

Preparación de la Muestra Un concentrado de droga itraconazola-NMP fue preparado disolviendo 1.67 g de itraconazola en 10 mL de NMP con agitación t calentamiento moderado La solución fue filtrada dos veces usando filtros de

jeringa de 0.2 µm. Nanosuspensiones fueron luego preparadas adicionando 1.2 mL de concentrado de droga a 20 mL de una solución acuosa receptora a aproximadamente 3 °C y agitando a aproximadamente 500 rpm. Una nanosuspensión sembrada fue preparada usando una mezcla de aproximadamente 0.02 g de materia prima de itraconazola en agua destilada como solución receptora. Una nanosuspensión no sembrada fue preparada usando agua destilada solo como solución receptora. Ambas suspensiones fueron centrifugadas, el supernadante decantado y los sólidos secados en horno de vacío a 30 °C durante aproximadamente 16 horas.

Caracterización de la Muestra La FIG 16 muestra una comparación de las trazas de DSC para los sólidos de las suspensiones sembrada y no sembrada. Las muestras fueron calentadas a 2 °/minuto hasta 180 °C en contenedores de aluminio herméticamente sellados. La línea a trazos representa la muestra no sembrada, la cual muestra dos endotermas, indicando la presencia de una mezcla de polimorfos.

La línea continua representa la muestra sembrada, que muestra solo una endoterma cerca de la temperatura de derretido esperada de la materia prima, indicando que el material sembrado indujo la formación exclusiva de una polimorfa más estable.

Ejemplo 18 Control de Polimorfo por Semillado del Concentrado de Droga

Preparación de la Muestra La solubilidad de itraconazola en NMP a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) se determinó experimentalmente en 0.16 g/mL. 0.20 g/mL de solución de concentrado de droga fue preparada disolviendo 2.0 g de itraconazola y 0.2 g de poloxamer 188 en 10 mL de NMP con calor y agitado. A esta solución se le permitió enfriar a temperatura ambiente para obtener

una solución supersaturada. Un experimento de microprecipitación fue inmediatamente realizado en el cual 1.5 mL del concentrado de droga fue adicionado a 30 mL de una solución acuosa que contiene 0.1 % de deoxicolato, 2.2 % de glicerol. La solución acuosa fue mantenida a -2°C y a una tasa de agitación de 350 rpm durante el paso de adición. La presuspensión resultante fue homogenizada a $\sim 13,000$ psi por aproximadamente 10 minutos a 50°C . La suspensión fue luego centrifugada, el supernadante decantado, los cristales sólidos secados en un horno de vacío a 30°C durante 135 horas.

El concentrado de droga supersaturado fue subsiguientemente envejecido mediante almacenamiento a temperatura ambiente para inducir cristalización. Después de 12 días, el concentrado de droga era neblinoso, indicando que la formación de los cristales había ocurrido. Una suspensión de itraconazola fue preparada de concentrado de droga, en la misma forma que en el primer experimento, adicionando 1.5 mL a 30 mL de una solución acuosa que contiene 0.1 % de deoxicolato, 2.2 % de glicerol. La solución acuosa fue mantenida a -5°C y a una tasa de agitación de 350 rpm durante el paso de adición. La presuspensión resultante fue homogenizada a $\sim 13,000$ psi por aproximadamente 10 minutos a 50°C . La suspensión fue luego centrifugada, el supernadante decantado, los cristales sólidos secados en un horno de vacío a 30°C durante 135 horas.

Caracterización de la Muestra. Análisis de difracción de polvo de rayos X fueron usados para determinar la morfología de los cristales secos. Los patrones resultantes se muestran en la FIG. 17. Los cristales del primer experimento (usando concentrado de droga fresco) consisten de una polimorfa más estable. En contraste, los cristales del segundo experimento (concentrado de droga envejecido) estaban compuesto de polimorfos menos estables, con una pequeña cantidad de las polimorfos más estables también presente. En consecuencia, se

cree que el envejecimiento indujo la formación de cristales de polimorfos menos estables en el concentrado de droga, que luego actuaron como material de semillado durante los pasos de microprecipitación y homogenización así que las polimorfos menos estables fueron preferencialmente formadas

Ejemplo 19 Procesos de Microprecipitación y Homogenización para hacer partículas de Paclitaxel

Ejemplo A

Una solución de paclitaxel en NMP es precipitada en una solución surfactante que contiene 0.5 % poloxamer 188 y 0.05% mPEG-DSPE (con 2% de glicerina como agente de tonicidad), a baja temperatura ($< 10^{\circ}\text{C}$). El volumen total de suspensión es 10 mL con una concentración de droga de 1 % (w/v). Homogenización de alta presión es realizada inmediatamente después de la precipitación a una presión de $\sim 25,000$ psi a una temperatura de 40°C . Después de la homogenización (20 minutos), el tamaño de las partículas de la suspensión es examinado usando dispersión de luz. El tamaño medio de partícula fue 186 nm.

Ejemplo B

Una solución de paclitaxel en NMP es precipitada en una solución surfactante que contiene 0.5 % w/v poloxamer 188 y 0.05% w/v mPEG-DSPE (con 2% w/v de glicerina como agente de tonicidad), a baja temperatura ($< 10^{\circ}\text{C}$). El volumen total de suspensión es 20 mL con una concentración de droga de 1 % (w/v). Homogenización de alta presión es realizada inmediatamente después de la precipitación, a una presión de $\sim 25,000$ psi a una temperatura de 40°C . Después de 30 minutos de homogenización, el tamaño de las partículas de la suspensión es examinado usando dispersión de luz. El tamaño medio de partícula fue 204 nm.

Ejemplo C

Una solución de paclitaxel en NMP es precipitada en una solución surfactante que contiene 0.5 % poloxamer 188 y 0.05% mPEG-DSPE (con 2% de glicerina como agente de tonicidad), a baja temperatura ($< 10^{\circ}\text{C}$). El volumen total de suspensión es 10 mL con una concentración de droga de 1 % (w/v). Homogenización de alta presión es realizada inmediatamente después de la precipitación a una presión de $\sim 25,000$ psi a una temperatura de 70°C . Después de la homogenización (20 minutos) el tamaño de las partículas de la suspensión es examinado usando dispersión de luz. El tamaño medio de partícula fue 158 nm. Cerca del 45 % de las partículas estaban por debajo de 150 nm.

Ejemplo D

Una solución de paclitaxel en NMP es precipitada en una solución surfactante que contiene 0.05% mPEG-DSPE (con 2% de glicerina como agente de tonicidad) a baja temperatura ($< 10^{\circ}\text{C}$). El volumen total de suspensión es 10 mL con una concentración de droga de 1 % (w/v). Homogenización de alta presión es realizada inmediatamente después de la precipitación, a una presión de $\sim 25,000$ psi a una temperatura de 40°C . Después de la homogenización, el tamaño de las partículas de la suspensión es examinado usando dispersión de luz. El tamaño medio de partícula fue 244 nm.

Ejemplo 20 Características de Disolución de las Partículas Sumicrónicas de Paclitaxel

Una de las características deseables de las formulaciones submicrónicas de drogas antineoplásticas es que ellas no se disuelvan con el propósito de facilitar larga circulación cuando se administran a un individuo. Dos formulaciones de partículas de paclitaxel preparadas por los métodos descritos en el Ejemplo 19 fueron ensayadas para su solubilidad por cinética de disolución usando % de transmisión a 400 nm como la medida de disolución. Las partículas no son solubles si % de transmisión no retorna a 100% después de la adición de la

suspension Una formulacion contiene los modificadores de superficie poloxamer 188 (P188) y mPEG-DSPE La otra formulación contiene modificadores de superficie de mPEG-DSPE solo Los resultados son mostrados en la FIG 18 En ambos casos % de transmisión no subió después de la gota inicial a cerca del 60 % indicando que las partículas no se disuelven

Ejemplo 21 Estabilidad de las Partículas Submicrónicas de Paclitaxel bajo condiciones de esfuerzo y con el almacenamiento

La estabilidad de las partículas submicrónicas preparadas en el Ejemplo A del Ejemplo 19 fueron ensayadas usando pruebas de esfuerzo acelerado así como almacenamiento a 5 °C durante 1 mes Como se muestra en las FIG 19 y 20, el tamaño medio de partícula y el 99^{vo} percentil permanecieron virtualmente sin cambio No se observó agregación de las formulaciones tampoco, aun después de todos los ensayos de esfuerzo La agregación fue estimada midiendo el tamaño de las partículas antes y después de 1 minuto de sonicación y comparando la diferencia a través de la siguiente ecuación

$$\% \text{ agregación} = (P_{99} - P_{99s}) \times 100 / P_{99s}$$

donde P_{99} representa el 99^{vo} percentil de la distribución de tamaño de partícula antes de la sonicación, P_{99s} representa el 99^{vo} percentil de la distribución de tamaño de partícula después de la sonicación

Mientras que incorporaciones específicas han sido ilustrada y descritas numerosos cambios vienen a la mente sin apartarse del espíritu de la invención y el alcance de la protección esta solo limitado por el alcance de las reivindicaciones acompañantes

REIVINDICACIONES

Los que es reivindicado es

- 1 Un método para preparar una composición farmacéutica de partículas submicronicas de paclitaxel o de sus compuestos derivados, al solubilidad de la cual es mayor en un primer solvente miscible en agua que en un segundo solvente que es acuoso, el método incluye los pasos de
 - (i) mezclar dentro del primer solvente miscible en agua o el segundo solvente o de ambos el primer solvente miscible en agua y el segundo solvente un primer modificador de superficie que incluye un fosfolípido conjugado con un polímero hidrofílico o soluble en agua,
 - (ii) disolver el agente antineoplástico o sus compuestos derivados en el primer solvente miscible en agua para formar una solución,
 - (iii) mezclar la solución con el segundo solvente para obtener una presuspensión de partículas, y
 - (iv) homogenizar la presuspensión para formar una suspension de pequeñas partículas que tienen un tamaño de particula efectivo promedio de menos de 1000 nm
- 2 El metodo de la reivindicación 1, donde el fosfolípido es natural o sintetico
- 3 El metodo de la reivindicación 1, donde el fosfolipido es fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, diacil-glicero-fosfoetanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, lisofosfolípidos fosfolípidos de huevo y soya o una combinacion de ellos
- 4 El metodo de la reivindicación 3, donde el diacil-glicero-fosfoetanolamina es seleccionado de un grupo consistente de dimiristoil-glicero-fosfoetanolamina (DMPE), dipalmitoil-glicero-fosfoetanolamina (DPPE) distearoil-glicero-fosfoetanolamina (DSPE), dioleoil-glicero-fosfoetanolamina (DOPE)

- 5 El método de la reivindicación 1, donde el polímero soluble o hidrofílico que se conjuga con el fosfolípido es polietileno glicol (PEG)
- 6 El método de la reivindicación 5, donde PEG es seleccionado de un grupo consistente de PEG 350, PEG 550 PEG 750, PEG 1000, PEG 2000, PEG-3000 y PEG 5000
- 7 El método de la reivindicación 1, donde el polímero soluble o hidrofílico que se conjuga con el fosfolípido es seleccionado de un grupo consistente de Dextran, hidroxipropil metacrilato (HPMA) y poliglutamato
- 8 El método de la reivindicación 1 incluyendo además mezclado del primer solvente miscible en agua o del segundo solvente o de ambos el primer solvente miscible en agua y el segundo solvente con un segundo modificador de superficie seleccionado de un grupo consistentes de surfactantes aniónicos, surfactantes cationicos, surfactantes no-iónicos y modificadores biológicos de superficie activa
- 9 El método de la reivindicación 8 donde el segundo modificador de superficie es un copolímero de oxietileno y oxipropileno
- 10 El método de la reivindicación 9 donde el copolímero de oxietileno y oxipropileno es copolímero de oxietileno y oxipropileno es un copolímero en bloque
- 11 El método de la reivindicación 8 donde el modificador de superficie es poloxamer

- 12 El método de la reivindicación 1 donde el primer solvente miscible en agua es N-metil-2-pirrolidinona
- 13 El método de la reivindicación 1 donde la homogenización es realizada a cerca de 30 °C o más
- 14 El método de la reivindicación 1 donde las pequeñas partículas tienen un tamaño de partícula efectivo promedio de menos de 400 nm
- 15 El método de la reivindicación 1 donde las pequeñas partículas tienen un tamaño de partícula efectivo promedio de menos de 200 nm
- 16 El método de la reivindicación 1 donde las pequeñas partículas tienen un tamaño de partícula efectivo promedio de menos de 150 nm
- 17 El método de la reivindicación 1 incluyendo además la esterilización del compuesto
- 18 El método de la reivindicación 17, donde la esterilización del compuesto incluye filtrado estéril de la solución y el segundo solvente antes del mezclado y la realización de los pasos subsiguientes bajo condiciones de asepsia
- 19 El método de la reivindicación 17, donde la esterilización incluye filtrado estéril de las partículas
- 20 El método de la reivindicación 17, donde la esterilización incluye esterilización por calor

- 21 El método de la reivindicación 20, donde la esterilización por calor es efectuada por calor dentro del homogenizador en el cual el homogenizador sirve como una fuente de calentamiento y presurización para la esterilización
- 22 El método de la reivindicación 17, donde la esterilización incluye radiaciones gamma
- 23 El método de la reivindicación 1 incluyendo además la remoción de la suspensión del primer solvente miscible en agua
- 24 El método de la reivindicación 23, donde la remoción del primer solvente miscible en agua es por la remoción del primer solvente por filtración
- 25 El método de la reivindicación 24, donde la filtración es ultrafiltración de flujo cruzado
- 26 El método de la reivindicación 23 donde la remoción del primer solvente miscible en agua es simultánea con la homogenización
- 27 El método de la reivindicación 1 incluyendo además la remoción de la fase líquida de la suspensión para formar un polvo seco de partículas
- 28 El método de la reivindicación 27, donde la remoción de la fase líquida es seleccionada de un grupo consistente de evaporación, evaporación rotativa, liofilización, secado-congelado, diafiltración, centrifugación, fraccionamiento de campo de fuerza, filtración de alta presión y ósmosis inversa

- 29 El método de la reivindicación 27 incluyendo además la adición de un diluyente al polvo seco
- 30 El método de la reivindicación 29 donde el diluyente es adecuado para administración parenteral
- 31 El método de la reivindicación 1 donde el compuesto es formulado para administración por una ruta seleccionada de un grupo consistente de parenteral, oral, pulmonar, tópica, oftálmica, nasal, bucal, rectal, vaginal y transdérmica
- 32 El método de la reivindicación 1 donde las partículas no son solubles
- 33 El método de la reivindicación 1 donde las partículas no se agregan bajo condiciones de esfuerzo o almacenamiento
- 34 Un compuesto farmacéutico de partículas submicrónicas de paclitaxel o sus compuestos derivados preparados por el método de la reivindicación 1

FIG. 1 Metodo A

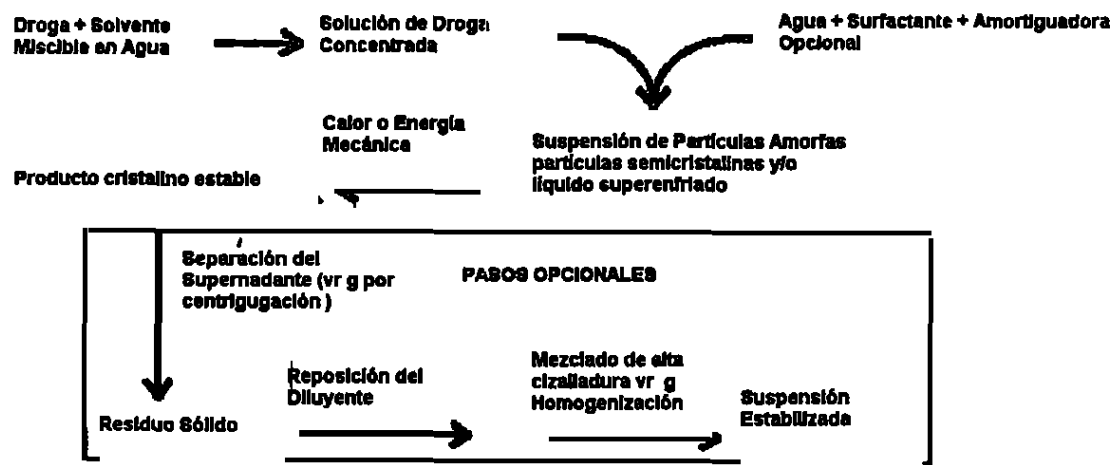


FIG. 2 Metodo B

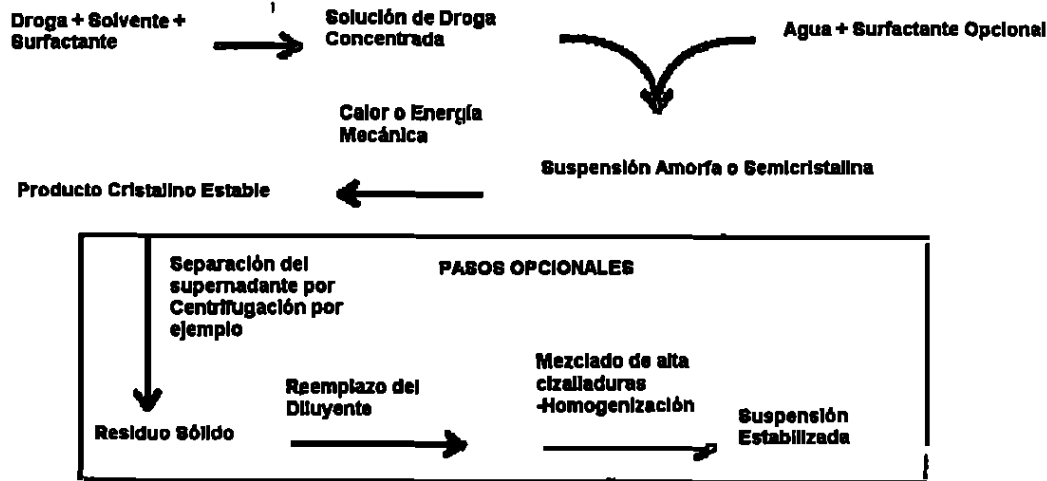


FIG 3 Particulas Amorfas antes de Homogenización (Ejemplo 1)

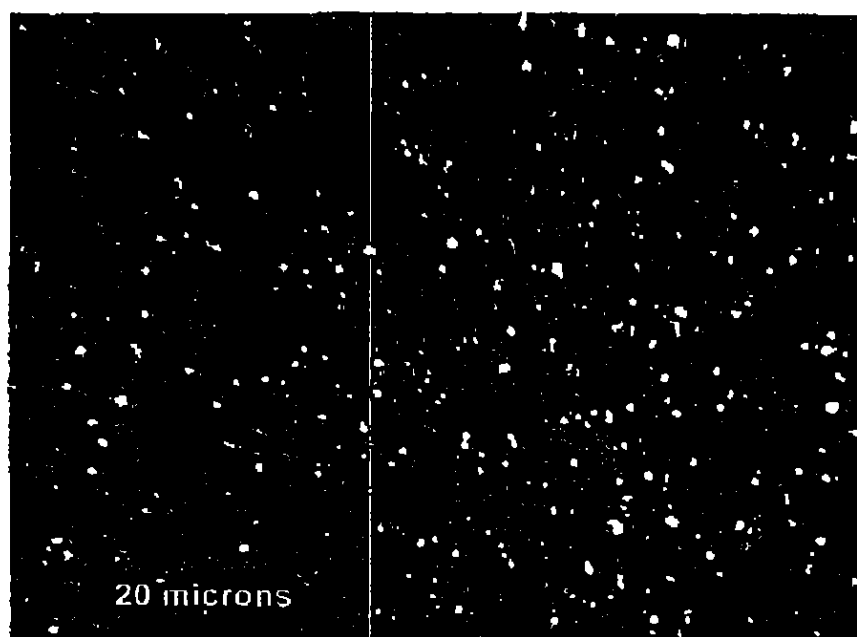


FIG. 4. Particulas Después de Templadas por Homogenizacion

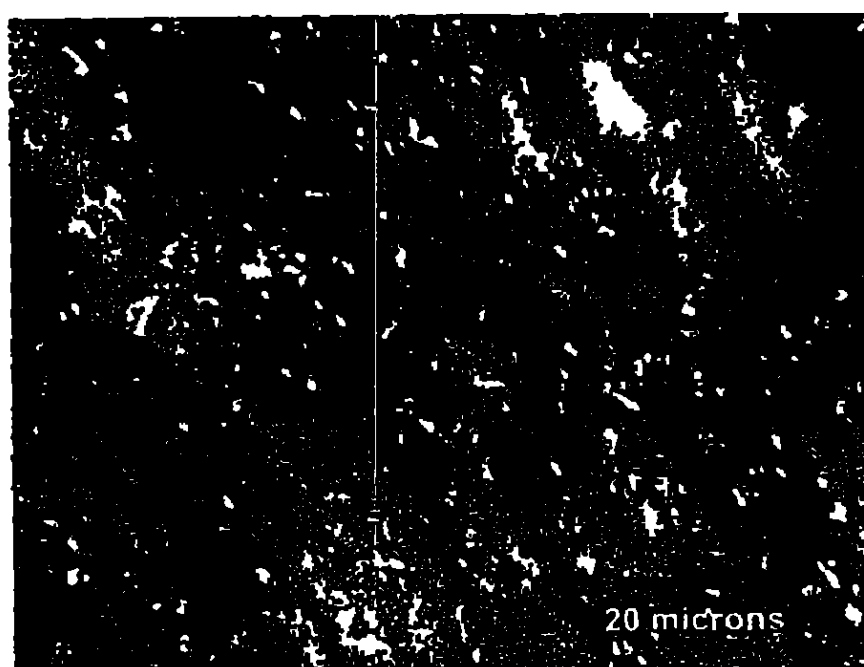


FIG. 5 Difractograma de Rayos X de Itaconazola Microprecipitada con polietileno glicol -660 12-hidroxiestearato Antes y Después de Homogenización (Ejemplo 5)

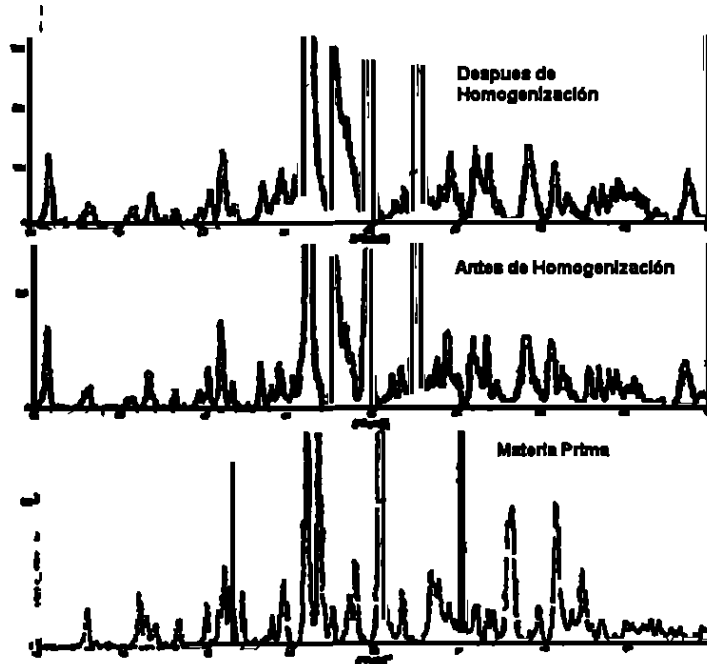


FIG. 6 Cristales de Carbamazepina Antes de Homogenización (Ejemplo 6)

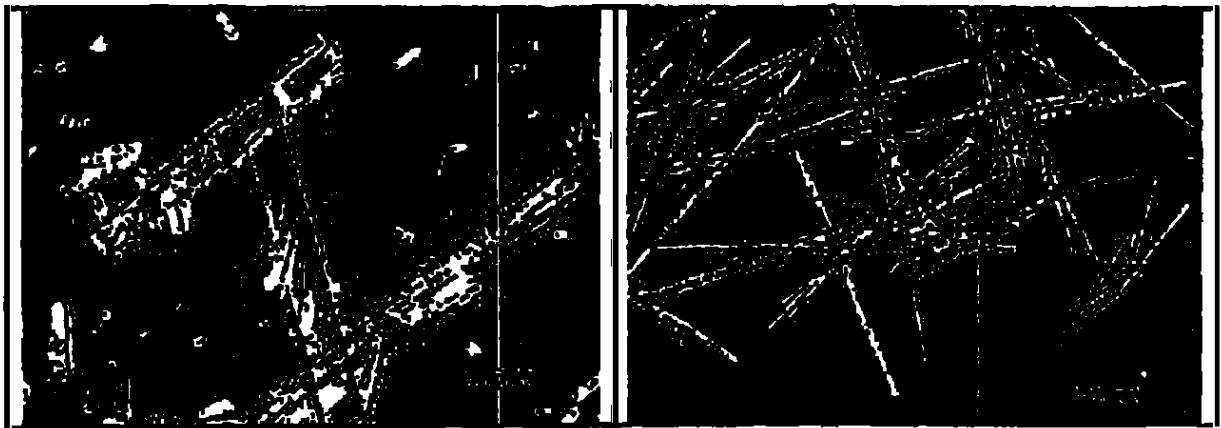


FIG. 7: Microparticulas de Carbamazapina Despues de Homogenizacion (Avestin C-50)

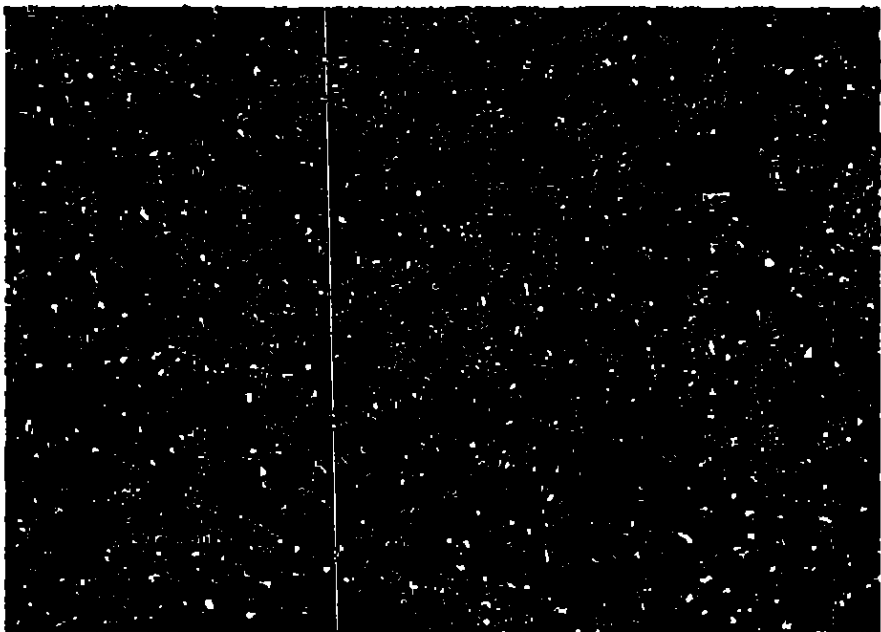


FIG 8: Diagrama del Proceso de Microprecipitacion para Prednisolona (Ejemplos 9 12)

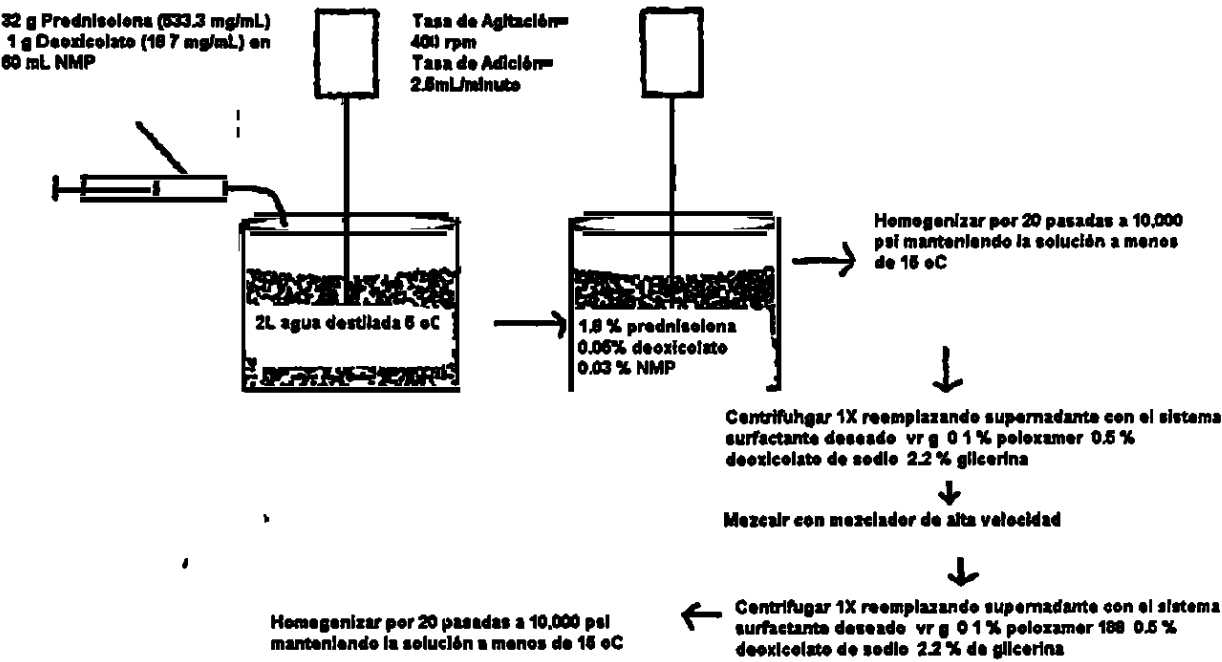


FIG. 9: **Fotografía de Imagen Microscopica de Suspension de Prednisolona antes de Homogenizacion**
(Contraste de Modulacion Hoffman, magnificacion 1250X)



FIG. 10: Fotografía de imagen microscópica de Suspensión de Prednisolona después de Homogenización (Contraste de Modulación Hoffman, magnificación 1250X)

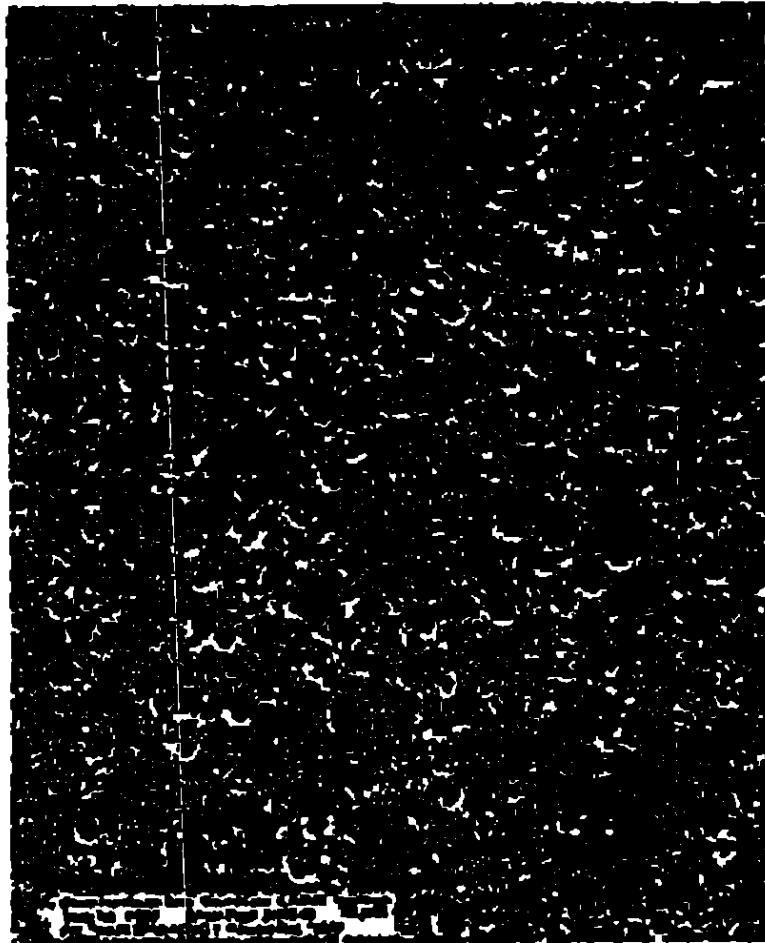


FIG. 11: Comparacion de las Distribuciones de Tamaño de una nanosuspension (esta invencion) y una emulsion grasa comercial (Ejemplo 13)

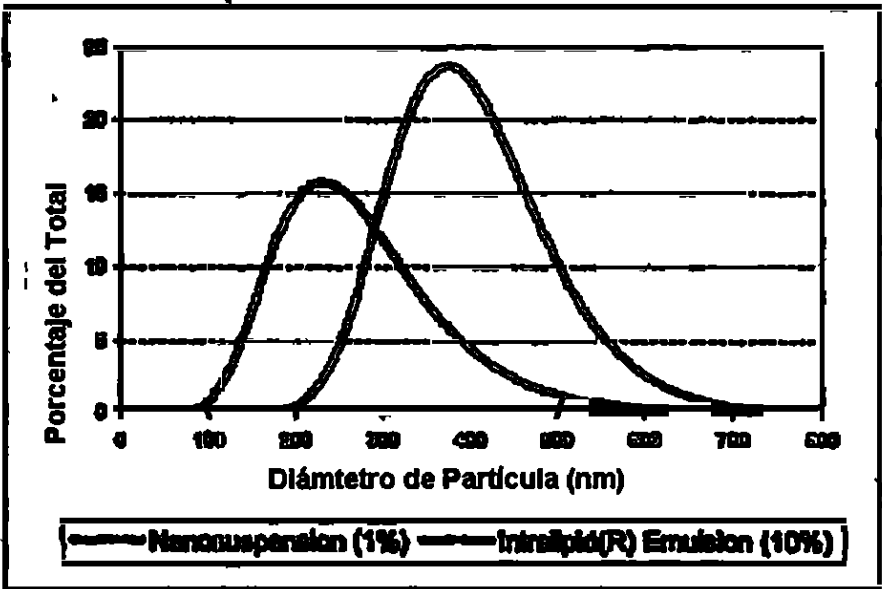


FIG 12: Patrones de Difracción de Polvo de Rayos X para la materia prima de itraconazola (superior) y SMP 2 PRE (Inferior)
El patron de materia prima ha sido movido hacia arriba por claridad (Ejemplo 16)

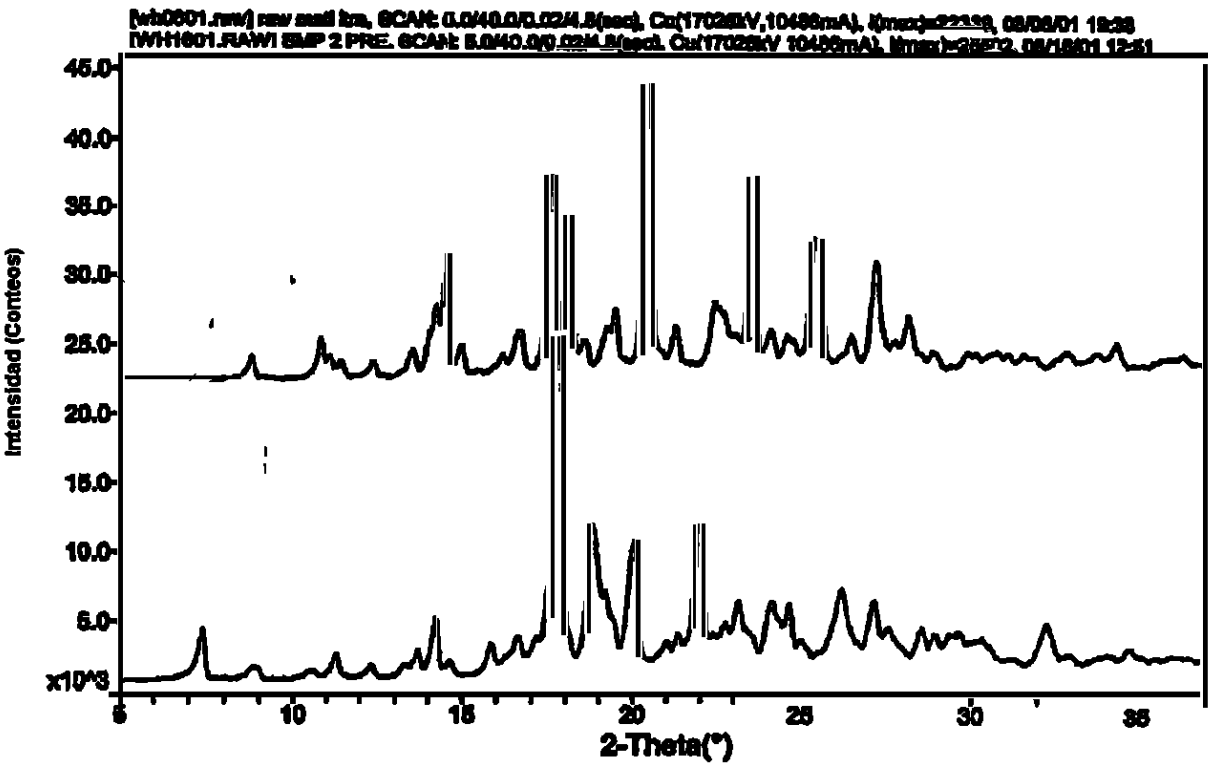


FIG. 13a. Traza de DSC para Materia Prima de Itraconazola (Ejemplo 16)

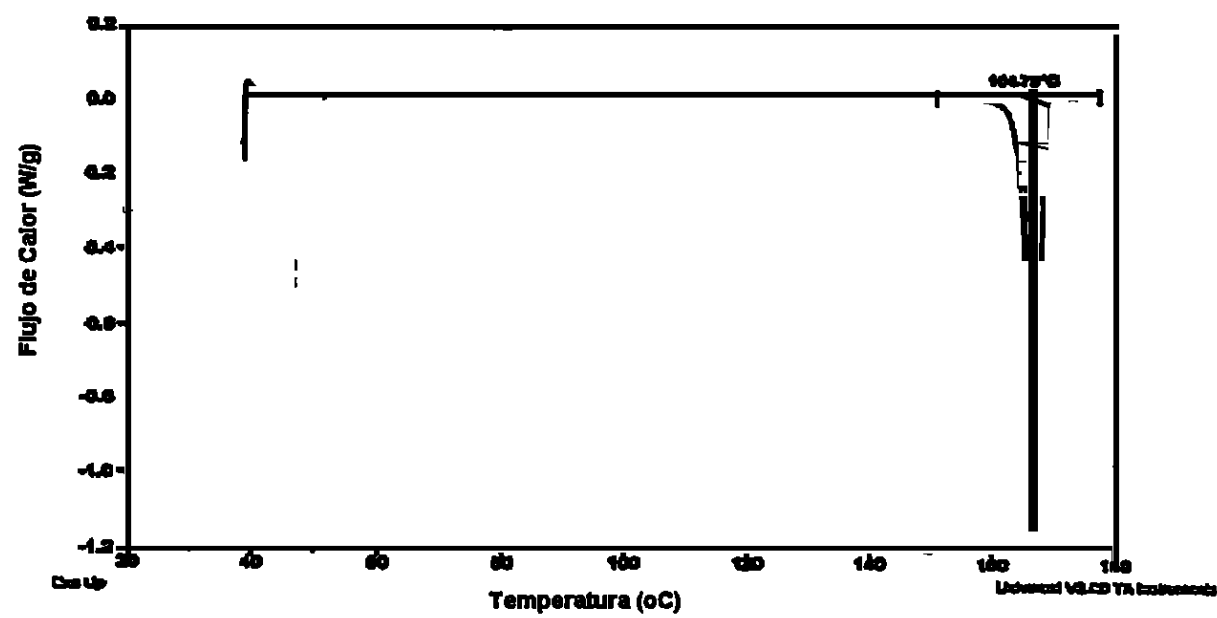


FIG. 13b: Traza de DSC para SMP-2-PRE (Ejemplo 16)

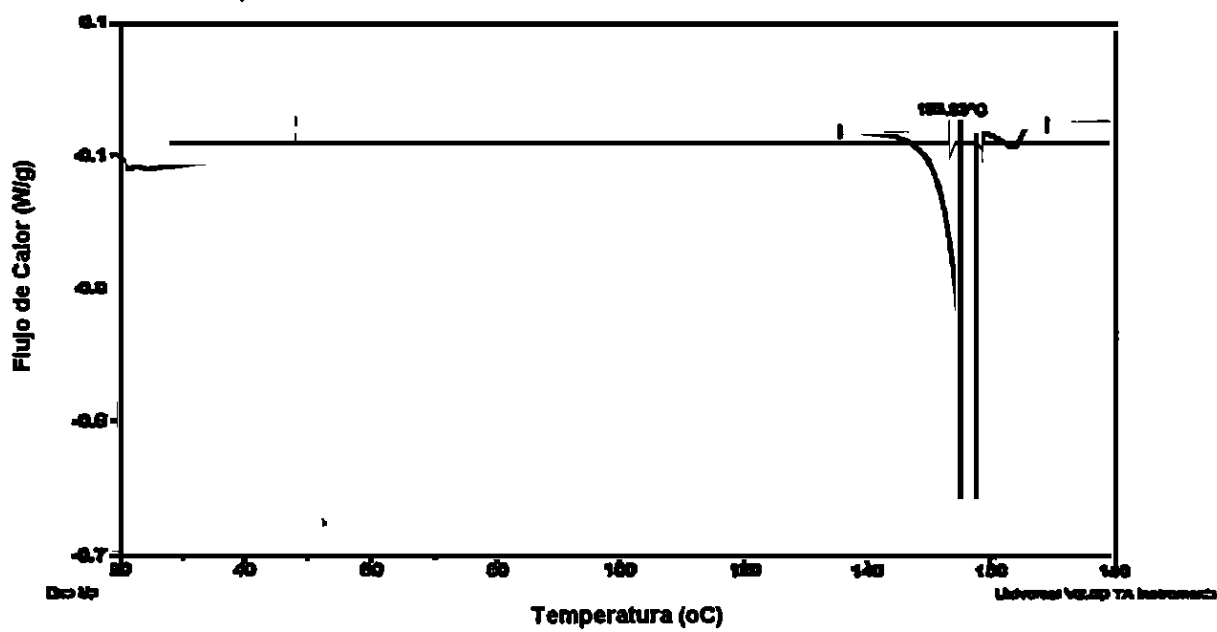


FIG. 14: Traza de DSC para SMP-2-PRE que muestra el derretimiento de las polimorfos menos estables al calentarse a 160 oC. Un evento de recristalización al enfriarse el sugsiguiente derretimiento de la polimorfa mas estable al recalentarse a 180 oC (Ejemplo 16)

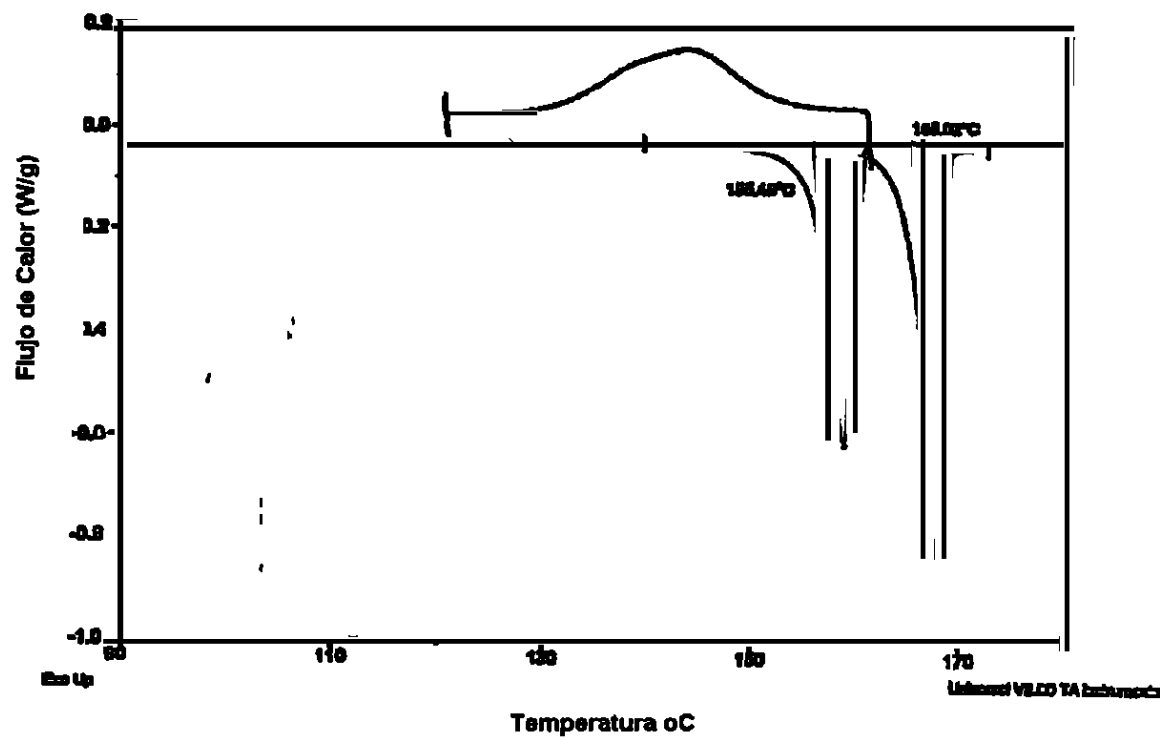


FIG 15 Comparación de muestra SMP-2 PRE despues de Homogenizacion
 Línea continua = muestra semillada con materia prima de Itraconazola. Línea de Trazos = muestra no semillada. La línea continua ha sido movida en 1 W7g por claridad (Ejemplo 16)

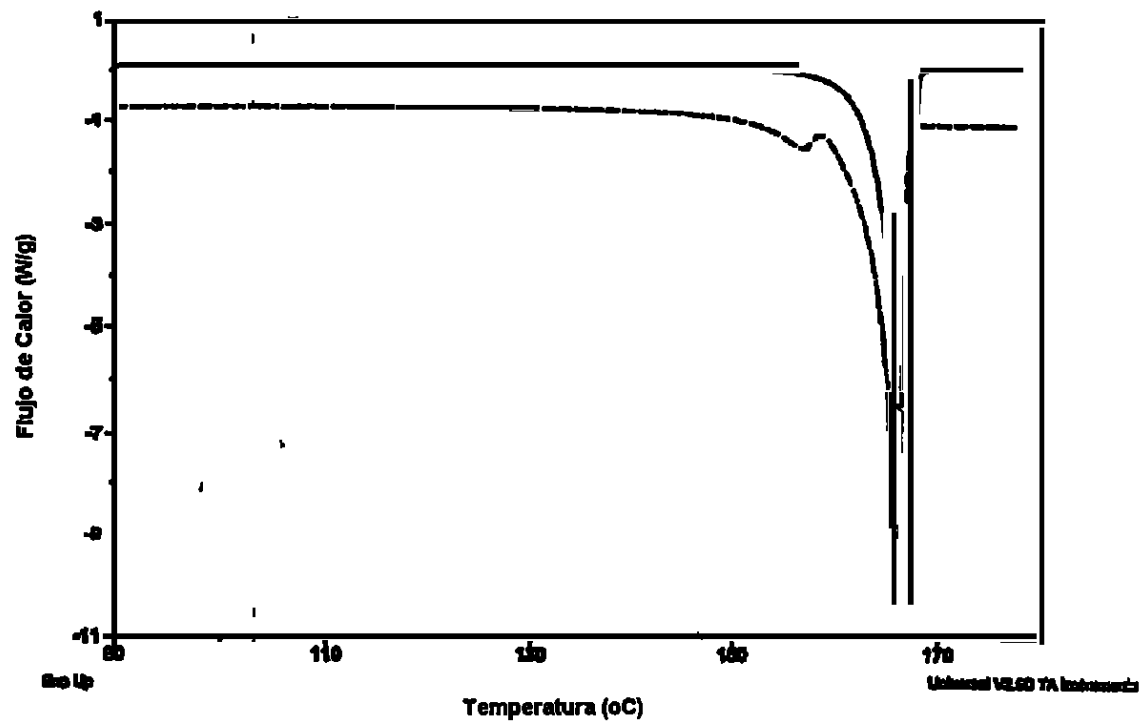


FIG. 16. Efecto del Semillado durante Precipitación

Línea a trazos = muestra no sembrada, línea continua = muestra sembrada con materia prima de itraconazola. La traza no sembrada (línea a trazos) ha sido movida hacia arriba en 1.5 W/g por claridad (Ejemplo 17)

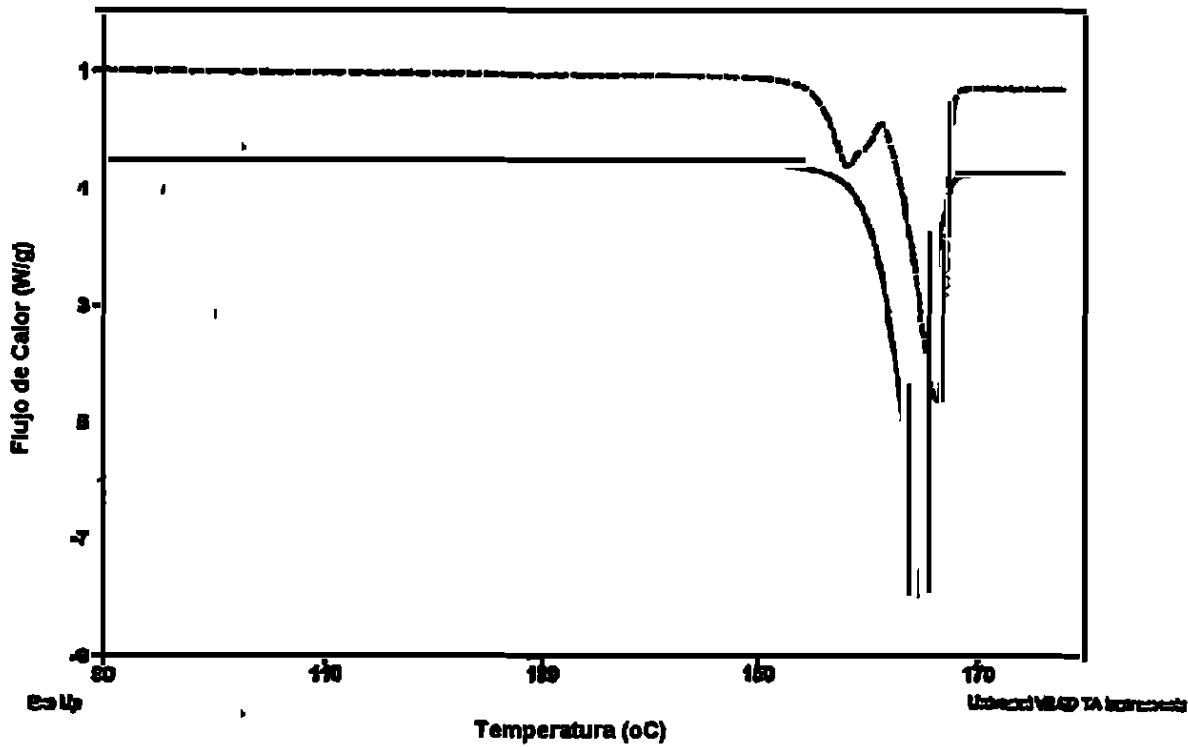


FIG. 17: Efecto del Semillado del Concentrado de Droga con el Envejecimiento

El patrón de difracción de Rayos X superior es para cristales preparados de concentrado de droga fresco y es consistente con la polimorfa estable (ver FIG 12 superior). El patrón inferior es para cristales preparados de concentrado de droga envejecido y es consistente con la polimorfa metastable (ver FIG 12 inferior). El patrón superior ha sido movido hacia arriba por claridad (Ejemplo 18)

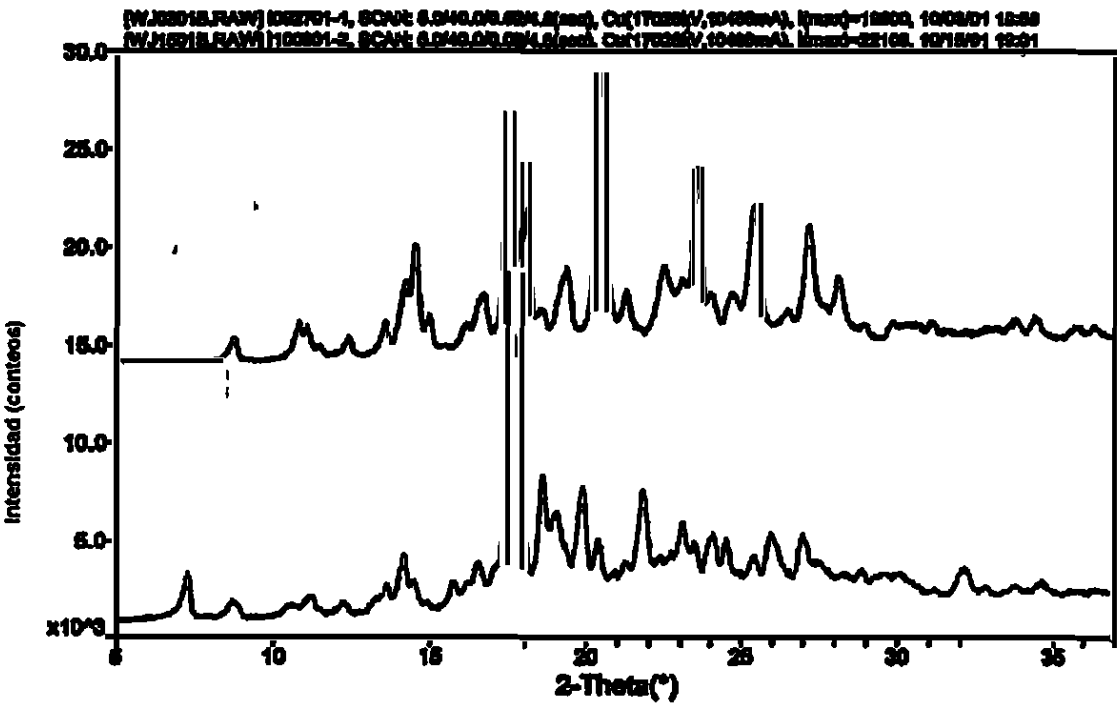


FIG. 19: Efecto de Varias condiciones de Esfuerzos sobre el Tamaño de las Partículas sumicrónicas de Paclitaxel

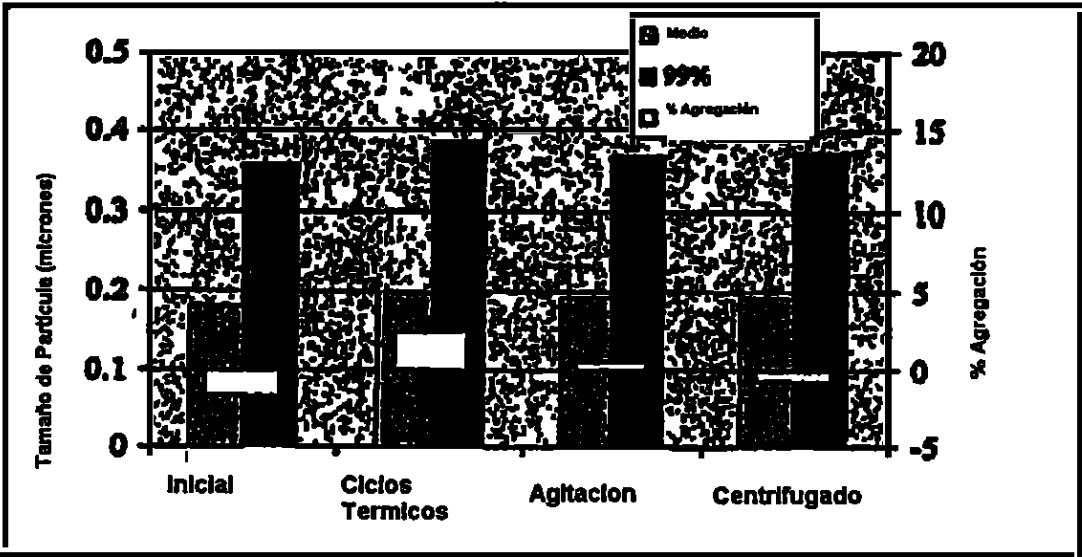
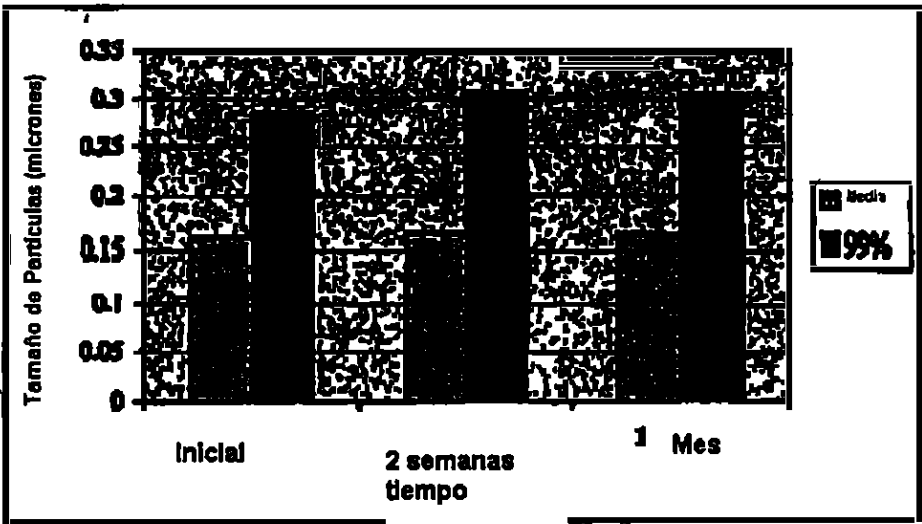


FIG. 20: Efecto del Almacenamiento en el Tamaño de las Partículas submicrónicas de Paclitaxel



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference IFT-5657A-A7	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as where applicable Item 5 below	
International application No PCT/US2004/036604	International filing date (day/month/year) 03/11/2004	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 07/11/2003
Applicant BAXTER INTERNATIONAL INC		
This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau. This International Search Report consists of a total of <u>5</u> sheets. ☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.		
1 Basis of the report a With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed unless otherwise indicated under this item. ☐ The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)). b ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application see Box No. I. 2 ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box II). 3 ☐ Unity of invention is lacking (see Box III). 4 With regard to the title ☐ the text is approved as submitted by the applicant. ☒ the text has been established by this Authority to read as follows: METHOD FOR PREPARING SUBMICRON PARTICLES OF PACLITAXEL 5 With regard to the abstract, ☒ the text is approved as submitted by the applicant. ☐ the text has been established according to Rule 38.2(b) by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority. 6 With regard to the drawings a the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. <u>1</u> ☒ as suggested by the applicant ☐ as selected by this Authority because the applicant failed to suggest a figure ☐ as selected by this Authority because this figure better characterizes the invention b ☐ none of the figures is to be published with the abstract.		

A CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/337 A61K9/133

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBASE

C DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document with indication where appropriate of the relevant passages	Relevant to claim No
X	WO 99/59550 A (THE LIPOSOME COMPANY, INC) 25 November 1999 (1999-11-25) page 12, line 13 - line 23 examples 1,5	1-6, 14-16, 27,28, 31-34
A		1-34
A	WO 03/045330 A (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF ILLINOIS, ONYUKSEL, HAYAT,) 5 June 2003 (2003-06-05) claims 1,2 example 23 page 26, line 16 - line 22	1-34
A	US 2003/170279 A1 (LAMBERT KAREL J ET AL) 11 September 2003 (2003-09-11) example 8	1-34
-/--		

☒ Further documents are listed in the continuation of box C

☒ Patent family members are listed in annex

* Special categories of cited documents

- A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
E earlier document but published on or after the international filing date
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
O* document referring to an oral disclosure use exhibition or other means
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
X document of particular relevance the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
Y* document of particular relevance the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 March 2005

Date of mailing of the international search report

22/03/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office P B 5018 Patentlaar 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040 Tx 31 651 epo nl
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sindel, U

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document with indication where appropriate of the relevant passages	Relevant to claim No
A	WO 02/055059 A (BAXTER INTERNATIONAL INC) 18 July 2002 (2002-07-18) claims 1-18	1-34
X,P	US 2004/022862 A1 (KIPP JAMES E ET AL) 5 February 2004 (2004-02-05) claims 193,212,231	1-34
E	WO 2004/103348 A (BAXTER INTERNATIONAL INC, BARRETT, RABINOW, E, WERLING, JANE, KONKEL,) 2 December 2004 (2004-12-02) page 4, line 14 - line 27 claims 1,10,11	1-34

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9959550	A	25-11-1999	AU 745015 B2	07-03-2002
			AU 4190699 A	06-12-1999
			BR 9911031 A	29-01-2002
			CA 2332545 A1	25-11-1999
			CN 1310612 A	29-08-2001
			EE 200000693 A	15-04-2002
			EP 1079812 A1	07-03-2001
			ID 28166 A	10-05-2001
			JP 2002535242 T	22-10-2002
			NO 20005832 A	18-01-2001
			PL 344327 A1	22-10-2001
			SK 17422000 A3	11-09-2001
			TR 200003435 T2	21-03-2001
			WO 9959550 A1	25-11-1999
			US 2002034536 A1	21-03-2002
WO 03045330	A	05-06-2003	US 2002115609 A1	22-08-2002
			AU 2002364704 A1	10-06-2003
			CA 2468582 A1	05-06-2003
			EP 1461000 A2	29-09-2004
			WO 03045330 A2	05-06-2003
			US 2005025819 A1	03-02-2005
US 2003170279	A1	11-09-2003	US 6667048 B1	23-12-2003
			US 6458373 B1	01-10-2002
			US 2003147959 A1	07-08-2003
			CA 2276730 A1	16-07-1998
			EP 0981328 A1	01-03-2000
			IN 183539 A1	05-02-2000
			JP 2001508445 T	26-06-2001
			TW 579297 B	11-03-2004
			WO 9830205 A1	16-07-1998
			US 2003027858 A1	06-02-2003
			US 2003104015 A1	05-06-2003
			US 2003109575 A1	12-06-2003
			US 2003105156 A1	05-06-2003
			US 2003087953 A1	08-05-2003
			US 2003087954 A1	08-05-2003
			US 6660286 B1	09-12-2003
			US 2004202712 A1	14-10-2004
			AU 5731498 A	03-08-1998
			ZA 9800098 A	08-07-1998
WO 02055059	A	18-07-2002	US 2002176935 A1	28-11-2002
			US 2002127278 A1	12-09-2002
			US 2002168402 A1	14-11-2002
			US 2003003155 A1	02-01-2003
			US 2003044433 A1	06-03-2003
			US 2003206959 A9	06-11-2003
			CA 2431705 A1	18-07-2002
			EP 1347747 A2	01-10-2003
			JP 2004538249 T	24-12-2004
			MX PA03005496 A	14-05-2004
			NO 20032860 A	21-08-2003
			WO 02055059 A2	18-07-2002
			US 2003031719 A1	13-02-2003
			US 2003100568 A1	29-05-2003
			US 2003096013 A1	22-05-2003

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02055059 A		US 2003072807 A1	17-04-2003
		US 2004022862 A1	05-02-2004
		US 2004256749 A1	23-12-2004
		US 2004245662 A1	09-12-2004
		ZA 200304742 A	24-08-2004
US 2004022862 A1	05-02-2004	US 2003096013 A1	22-05-2003
		US 2003044433 A1	06-03-2003
		US 2003003155 A1	02-01-2003
		US 2002127278 A1	12-09-2002
		US 2004256749 A1	23-12-2004
		US 2004245662 A1	09-12-2004
		WO 2004082659 A1	30-09-2004
		WO 2004054500 A2	01-07-2004
		US 2003072807 A1	17-04-2003
		CA 2431705 A1	18-07-2002
		EP 1347747 A2	01-10-2003
		JP 2004538249 T	24-12-2004
		MX PA03005496 A	14-05-2004
		NO 20032860 A	21-08-2003
		WO 02055059 A2	18-07-2002
		US 2003100568 A1	29-05-2003
		US 2003206959 A9	06-11-2003
		US 2003031719 A1	13-02-2003
		US 2002168402 A1	14-11-2002
		US 2002176935 A1	28-11-2002
		ZA 200304742 A	24-08-2004
WO 2004103348 A	02-12 2004	WO 2004103348 A2	02-12-2004

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US2004/036604

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/337 A61K9/133

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
X	WO 99/59550 A (THE LIPOSCOME COMPANY, INC) 25 November 1999 (1999-11-25) page 12, line 13 - line 23 examples 1,5	1-6, 14-16 27 28, 31-34
A		1-34
A	WO 03/045330 A (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF ILLINOIS, ONYUKSEL, HAYAT,) 5 June 2003 (2003-06-05) claims 1 2 example 23 page 26, line 16 - line 22	1-34
A	US 2003/170279 A1 (LAMBERT KAREL J ET AL) 11 September 2003 (2003-09-11) example 8	1-34
-/-		

☒ Further documents are listed in the continuation of box C

☒ Patent family members are listed in annex

Special categories of cited documents

- A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- E⁺ earlier document but published on or after the International filing date
- L⁺ document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- O⁺ document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- P⁺ document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- T⁺ later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- X⁺ document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- Y⁺ document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- Z⁺ document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 March 2005

Date of mailing of the international search report

22/03/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl
Fax. (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sindel, U

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US2004/036604

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02055059 A		US 2003072807 A1	17-04-2003
		US 2004022862 A1	05-02-2004
		US 2004256749 A1	23-12-2004
		US 2004245662 A1	09-12-2004
		ZA 200304742 A	24-08-2004
US 2004022862 A1	05-02-2004	US 2003096013 A1	22-05-2003
		US 2003044433 A1	06-03-2003
		US 2003003155 A1	02-01-2003
		US 2002127278 A1	12-09-2002
		US 2004256749 A1	23-12-2004
		US 2004245662 A1	09-12-2004
		WO 2004082659 A1	30-09-2004
		WO 2004054500 A2	01-07-2004
		US 2003072807 A1	17-04-2003
		CA 2431705 A1	18-07-2002
		EP 1347747 A2	01-10-2003
		JP 2004538249 T	24-12-2004
		MX PA03005496 A	14-05-2004
		NO 20032860 A	21-08-2003
		WO 02055059 A2	18-07-2002
		US 2003100568 A1	29-05-2003
		US 2003206959 A9	06-11-2003
		US 2003031719 A1	13-02-2003
		US 2002168402 A1	14-11-2002
		US 2002176935 A1	28-11-2002
		ZA 200304742 A	24-08-2004
WO 2004103348 A	02-12-2004	WO 2004103348 A2	02-12-2004

Folio 143
Extracto publicación.



FORMATO DE DIGITALIZACION
RELACION DE ANEXOS



143

Expediente No		06042082	No de Folio
Item		No de unidades	
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA	1	
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO		
10	OTROS		
Observaciones			
Arte final			

145
144

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA 06 - 30,914
FECHA ABRIL 24 DE 2006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad 06-042092-00000-0000 Fcc 2006-05-04 17 37 28
Dep 2020 NUECREACIONES
Tra 11 PATENTEIYII Eno 378 FASENACIONAL
Act 411 PRESENTACION Folios. 145

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No PAGO	FECHA PAGO	Vr PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	030-00110-6	54929894	24/04/2006	29,522,500 00

***** CONCEPTO *****

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL DE PATENTE DE IN	463,000 00
		TOTAL	\$ 463,000 00

SON CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE _____
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No _____

66 05873-841-020-6

**Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones**

**REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL
TRAMITE**

PCT
PATENTE DE INVENCION ☒ MODELO DE UTILIDAD () USUARIO () RADICADOR ()
Indicacion de que se solicita la concesion de una patente () (X)
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud () (X)
Descripción de la invencion () (X)
Dibujos de ser estos pertinentes () (X)
Comprobante de Pago de las tasas establecidas () (X)
COMPLETA () INCOMPLETA () () (X)

DISEÑO INDUSTRIAL ()

Indicacion de que se solicita el registro de Diseño Industrial () ()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud () ()
Representacion grafica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño () ()
Comprobante de Pago de las tasas establecidas () ()
COMPLETA () INCOMPLETA () () ()

ESQUEMA DE TRAZADO ()

Indicacion de que se solicita el registro de Diseño Industrial () ()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud () ()
Representacion grafica del Esquema Trazado () ()
Comprobante de Pago de las tasas establecidas () ()
COMPLETA () INCOMPLETA () () ()

FECHA

Fecha

Mayo 4/06

CAVELIER

ABOGADOS

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No 72 35
BOGOTA 8 COLOMBIA

Teléfono (57 1) 347 3611
Telefax (57 1) 211 8650
(57 1) 540 0860
Fax in U S A (1 305) 381 9660

Señora Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E S D

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad 06-042082 -00001 0000 Fec 2006-05-08 17:42:06
Dep 2020 NUECREACIONES
Tra 11 PATENTE/MI Evt 378 FASENACIONAL
AM 329 OTORINFORMACION Fec 11

Trámite 011
Evento 379
Actuación 329

Referencia Expediente No 06 042 082
Asunto Solicitud de patente para METODO PARA PREPARAR
PARTICULAS SUBMICRONICAS DE PACLITAXEL
Solicitante BAXTER INTERNATIONAL INC
Fecha de Solicitud 4 de mayo de 2006

Yo Emilio FERRERO obrando como apoderado del solicitante en el asunto
identificado en la referencia, atentamente presento junto con este escrito el siguiente documento

Documento de cesión mediante el cual los inventores ceden la invención METODO
PARA PREPARAR PARTICULAS SUBMICRONICAS DE PACLITAXEL a favor de BAXTER
INTERNATIONAL INC debidamente legalizado por Apostilla junto con su respectiva traducción
oficial

Atentamente solicito que se continúe con su tramitación

Bogotá 08 MAYC 2006
Señora Jefe


EMILIO FERRERO
T P A No 31 929

COLO 05873-841-020-6
JDF/JDF/ID-000527/WPCL5873

Pte. Ubicar
Original

133



SPRINGFIELD, ILLINOIS

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1 Country United States of America

This public document

2 has been signed by PATRICIA A KOPPELMAN

3 acting in the capacity of NOTARY PUBLIC, LAKE COUNTY

4 bears the seal/stamp of STATE OF ILLINOIS

Certified

5 Springfield, Illinois

6 APRIL 17 2006

7 by the Secretary of State, State of Illinois

8 No S06KL12915

9 Seal/Stamp

10 Signature

Jesse White

JESSE WHITE
SECRETARY OF STATE
STATE OF ILLINOIS



717 3/2/06
148

AFFIDAVIT OF MICHAEL C MAYO

I, Michael C Mayo, having been duly sworn, depose and state as follows

1 I am an attorney licensed to practice law in the State of Illinois and before the United States Patent and Trademark Office under Registration No 38,545

2 I am employed as an attorney by Baxter International Inc (Baxter")

3 One of my responsibilities at Baxter is the responsibility for the United States patent application identified below and all applications foreign to the United States based on the United States application identified below

Applicant	CHAUBAL, Mahesh, et al
U S Appln Serial No	10/703,395
U S Filing Date	7 November 2003
Title	METHOD FOR PREPARING SUBMICRON PARTICLES OF ANTINEOPLASTIC AGENTS
Atty Docket No	IFT-5657A-1A1C7

4 I have personally reviewed the original Assignment assigning to Baxter International Inc the above-identified United States application and all applications foreign to the United States based on the above-identified United States application

5 The photocopy attached hereto is a true and accurate reproduction of the original Assignment assigning to Baxter International Inc the above-identified United States application and all applications foreign to the United States

FURTHER AFFIANT SAYETH NOT

Date

2/23/06

By

Michael C Mayo

BAXTER INTERNATIONAL INC
One Baxter Parkway – DF3-2E
Deerfield, IL 60015

On this 23rd day of February, 2006, before me, a Notary Public, appeared Michael C Mayo, to me personally known to be the person signing this Affidavit, who, being duly sworn, deposes and states that he is the person whose signature appears above and he attests to the fact that the statements made above are true and complete to the best of his knowledge and belief

Seal

Patricia A Koppelman
Notary Public



Serial No 10/703 395

Filed November 7 2003

Atty Dkt No IFT 5657A 1A1C7
(BBL No 113857 443)

In consideration of ONE DOLLAR and other good and valuable considerations the receipt and sufficiency whereof are hereby acknowledged we hereby assign to BAXTER INTERNATIONAL INC One Baxter Parkway DF3 3E Deerfield Illinois 60015 (hereinafter referred to as assignee") a corporation of Delaware having a principal place of business at DEERFIELD ILLINOIS its successors legal representatives and assigns the entire right title and interest throughout the world in our invention or improvements in

METHOD FOR PREPARING SUBMICRON PARTICLES OF ANTINEOPLASTIC AGENTS

and in the application for Letters Patent of the United States therefor executed by each of us individually on the date(s) indicated below and any and all other United States applications and applications in any and all countries which we may file either solely or jointly with others on said invention or improvements and in any and all Letters Patent of the United States or of any other country which may be obtained on any of the said applications and in any reissue or extension thereof

We hereby authorize and request the Commissioner of Patents to issue said Letters Patent to said BAXTER INTERNATIONAL INC

We hereby authorize and request the attorneys of record in said application to insert in this assignment the date and serial number of said application when officially known

We warrant ourselves to be the owners of the interest herein assigned and to have the right to make this assignment and further warrant that there are no outstanding prior assignments licenses or other rights in the interest herein assigned

For said considerations we hereby agree upon the request and at the expense of said assignee its successors legal representatives and assigns to execute any and all divisional continuation and renewal applications for said invention or improvements and any necessary oath or supplemental oath or affidavit relating thereto and any application for the reissue or extension of any Letters Patent that may be granted upon said application that said assignee its successors legal representatives and assigns may deem necessary or expedient and for the said considerations we further agree upon the request of said assignee its successors legal representatives and assigns in the event of said application or any division thereof or Letters Patent issued thereon or any reissue or application for the reissue thereof becoming involved in interference to cooperate to the best of our ability with said assignee its successors legal representatives and assigns in the matters of preparing and executing the preliminary statement and giving and producing evidence in support thereof We further agree to perform upon such request any and all affirmative acts to obtain Letters Patent and vest all rights therein hereby conveyed in said assignee its successors legal representatives and assigns whereby said Letters Patent will be held and enjoyed by the said assignee its successors legal representatives and assigns to the end of the term for which said Letters Patent may be granted as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by us if this assignment and sale had not been made and for the said considerations we hereby also assign to said assignee its successors legal representatives and assigns the entire right title and interest in said invention or improvements for any and all foreign countries and the right of priority for patent and utility model applications in all countries arising under any applicable international convention for the protection of industrial property and/or any internal priority legislation of such countries and we further agree upon the request of said assignee its successors legal representatives and assigns to execute any and all documents that shall be required to be executed in connection with any and all applications for foreign Letters Patent therefor including the prosecution thereof and to execute any and all documents necessary to invest title in said foreign applications and patents in said assignee

WITNESS our hand and seal

Date 11/17/03
Signature *MAHESH CHAUBAL*
Name MAHESH CHAUBAL Inventor

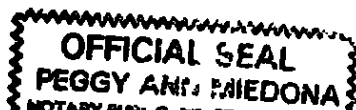
Date 11/17/03
Signature *JANE WERLING*
Name JANE WERLING Inventor

Subscribed and sworn before me
this 17 day of November 2003

Peggy Ann Miedona
Notary Public

Subscribed and sworn before me
this 17 day of November 2003

Peggy Ann Miedona
Notary Public



Serial No 10/703,395

Filed November 7 2003

Atty Dkt No IFT 5657A 1A1C7
(BBL No. 113957-443)

Date Nov 17, 2003
Signature Barrett Rabinow
Name BARRETT RABINOW Inventor

Date _____
Signature _____
Name _____ Inventor

Subscribed and sworn before me

this 17 day of November 2003

Peggy Ann Miedow
Notary Public

Subscribed and sworn before me

this 17 day of November 2003

Peggy Ann Miedow
Notary Public



152
151

TRADUCCION OFICIAL No 03/05 06 preparada por Maria Elvira Martelo, traductora
oficial aprobada por el Ministerio de Justicia mediante Resolucion No 2879 de 1995 y
reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores

BAXTER

Traspaso

(Inventores Conjuntos)

No Serie 10/703 395 Presentado 7 de noviembre de 2003

No en listado IFT 5657A1A1C7
(BBL No 113957-443)

Por una contraprestacion de UN DOLAR y por otras contraprestaciones
buenas y valiosas, cuyo recibo y suficiencia aqui se reconocen, por el presente
documento cedemos as BAXTER INTERNATIONAL INC One Baxter Parkway, DF3-
3E, Deerfield Illinois 60015 (en adelante el 'cesionario), una sociedad de Delaware
con domicilio comercial principal en DEERFIELD, ILLINOIS, sus sucesores,
representantes legales y cesionarios, todo derecho, titulo e interes que tengamos en
todo el mundo en nuestro invento o sus mejoras

METODO PARA PREPARAR PARTICULAS SUBMICRONICAS DE PACHITAXEL

y en la solicitud de patente norteamericana presentada para el mismo, ejecutada por
cada uno de nosotros individualmente en la(s) fecha(s) indicada(s) a continuacion, y
cualquier otra solicitud que podamos haber presentado en Estados Unidos y en todos
y cualquier oto pais, bien sea individualmente o conjuntamente con otros, para dicha
invención o mejoras, y toda y cualquier otra patente de Estados Unidos o de cualquier
otro pais que se pueda haber obtenido a partir de dichas solicitudes y cualquier
reexpedicion o extensión de la misma

153
152

Por el presente solicitamos y autorizamos al Comisionado de Patentes para que expida dicha Patente a BAXTER INTERNATIONAL INC

Por el presente autorizamos y solicitamos a los apoderados registrados en dicha solicitud que incluyan en este traspaso la fecha y numero de serie de dicha solicitud cuando se conozcan oficialmente

Garantizamos que somos los propietarios de los intereses que por el presente se traspasan y que tenemos derecho a efectuar el traspaso, y también garantizamos que no existen traspasos, licencias u otros derechos anteriores pendientes en los intereses que aquí se traspasan

Por dichas contraprestaciones, por el presente acordamos que, a solicitud de dicho cesionario, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, ejecutaremos toda y cualquier solicitud divisional, de continuacion y de renovacion de dicha invencion o mejoras y prestaremos cualquier juramento o juramento adicional o rendiremos cualquier declaración juramentada en relación con las mismas, y cualquier solicitud de reexpedicion de extension de cualquier patente que se pueda otorgar a partir de dicha solicitud y que dichos cesionario, sus sucesores representantes legales y cesionarios puedan considerar necesaria u oportuna, y por dichas contraprestaciones tambien acordamos que, a solicitud de dicho cesionario, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, en caso de que dicha solicitud o division de la misma, patente expedida a partir de la misma reexpedicion o solicitud de reexpedición se vea interferida por otros inventos, cooperaremos segun nuestras capacidades con dichos cesionario sus sucesores, representantes legales y cesionarios en la preparación y ejecucion de la declaracion preliminar y en la presentación de pruebas que la soporten También acordamos realizar a su solicitud

159
153

todo y cualquier acto afirmativo para obtener patentes e invertir todos los derechos que de ella se deriven, y que por el presente se traspasan, a dicho cesionario, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, quienes tendrán y disfrutaran dicha patente hasta que finalice el término por el cual dicha patente sea otorgada tan plenamente como si nosotros mismos la hubiéramos tenido y disfrutado si no se hubiera efectuado este traspaso y venta, y por dichas contraprestaciones por el presente tambien traspasamos a dicho cesionario, sus sucesores, representantes legales y cesionarios todo el derecho, titulo e interes que tengamos en dicho invento o mejoras en cualquiera y en todos los países extranjeros y el derecho de prioridad para solicitudes de patente y modelos de utilidad de todos los países que surja bajo cualquier convencion internacional aplicable para la proteccion de propiedad industrial y/o cualquier legislación interna que regule las prioridades en dichos países y tambien acordamos que, a solicitud de dicho cesionario, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, ejecutaremos todo y cualquier documento que se requiera en relacion con todas y cualquiera de las solicitudes de patentes extranjeras, incluyendo su tramite, y ejecutaremos todo y cualquier documento necesano para invertir el titulo de dichas solicitudes en patente en dicho cesionario

DAN FE nuestra firma y sello

Fecha 11/17/03
Firma [Ilegible]
Nombre MAHESH CHAUBAL Inventor

Fecha 11/17/03
Firma [Ilegible]
Nombre JANE WERLING Inventor

Suscrito y juramentado ante mi
Hoy 17 de noviembre de 2003
[Firma ilegible]
Notano Publico

Suscrito y juramentado ante mi
Hoy 17 de noviembre de 2003
[Firma ilegible]
Notano Publico

Fecha 17 de noviembre de 2003
Firma [ilegible]
Nombre BARRETT RABINOW, Inventor

Fecha [en blanco]
Firma [en blanco]
Nombre [en blanco], Inventor

Suscrito y juramentado ante mí
Hoy 17 de noviembre de 2003
[Firma ilegible]
Notario Publico

Suscrito y juramentado ante mí
Hoy 17 de noviembre de 2003
[Firma ilegible]
Notario Publico

Sello notarial "SELLO OFICIAL", PEGGY MIEDO(ILEGIBLE) Notario Publico, Estado
de Illinois, Mi comisión expira el (ilegible)/18/(ilegible)

DECLARACIÓN JURADA DE MICHAEL C MAYO

Yo, Michael C Mayo, habiendo prestado el debido juramento, declaro y digo lo
siguiente

- 1 Soy abogado licenciado para practicar el derecho en el Estado de Illinois y ante
la Oficina de Marcas y Patentes de Estados Unidos, con Registro No 38,545,
- 2 He sido empleado como abogado por Baxter International Inc ("Baxter")
- 3 Una de mis responsabilidades en Baxter es la responsabilidad por la solicitud
de patente norteamericana que se identifica a continuacion y de todas las solicitudes
presentadas fuera de Estados Unidos con base en la solicitud norteamericana que se
identifica a continuacion

Solicitante	CHAUBAL, Mahesh, et al
No de Serie de Solicitud Norteamericana	10/706,395
Fecha presentación en Estados Unidos	7 de noviembre de 2003
Titulo	METODO PARA PREPARAR PARTÍCULAS SUBMICRÓNICAS DE

156
155

PACHITAXEL

No en listado de casos

IFT-5657A-A1AC7

4 He revisado personalmente el Traspaso original mediante el cual se cede a Baxter la solicitud norteamericana arriba identificada y todas las solicitudes extranjeras basadas en la solicitud norteamericana arriba identificada

5 La fotocopia adjunta a la presente es una reproduccion fiel y correcta del Traspaso original que cede a Baxter International Inc la solicitud norteamericana arriba identificada y todas las solicitudes extranjeras

EL DECLARANTE NO TIENE NADA QUE AGREGAR

Fecha 2/23/06

Por (firma ilegible)

Michael C Mayo

BAXTER INTERNATIONAL INC

One Baxter Parkway, DF3-2E

Deerfield IL 60015 EUA

Hoy, 23 de febrero de 2006, ante mí, un Notario Publico, comparecio Michael C Mayo, reconocido personalmente por mí como la persona que firmo esta declaración juramentada, quien, habiendo prestado el debido juramento, declara y dice que es la persona cuya firma aparece arriba y que certifica que las declaraciones efectuadas son ciertas y completas, segun su leal saber y entender

[Firma ilegible], Notario Publico

Sello "SELLO OFICIAL", PATRICIA A KOPPELMAN, Notario Publico, Estado de Illinois Mi comisión expira el 8/29/06

187
156

ESTADO DE ILLINOIS
SECRETARIO DE ESTADO
SPRINGFIELD, ILLINOIS
APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1 Pais Estados Unidos de América

Este documento publico

2 Ha sido firmado por PATRICIA A KOPPELMAN

3 Actuando en su capacidad de NOTARIO PUBLICO, CONDADO DE LAKE

4 Lleva el sello/timbre de EL ESTADO DE ILLINOIS

CERTIFICADO

5 En Springfield Illinois

6

el 17 DE ABRIL DE 2006

7 Por el Secretario de Estado, Estado de Illinois

8 Certificado No S06KL 12915

9 Sello (sello seco) SELLO DEL ESTADO DE ILLINOIS, 26 de agosto de 1818

10 Firma (Firma) JESSE WHITE

SECRETARIO DE ESTADO

ESTADO DE ILLINOIS

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su
confrontación

COLO 05873-841-020-6

WPCL 5873 - ID 523

MAY 02/06

Maria E. Martelo
TRADUCCION No 05/0506
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interpretre Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No 2879 Min Justicia

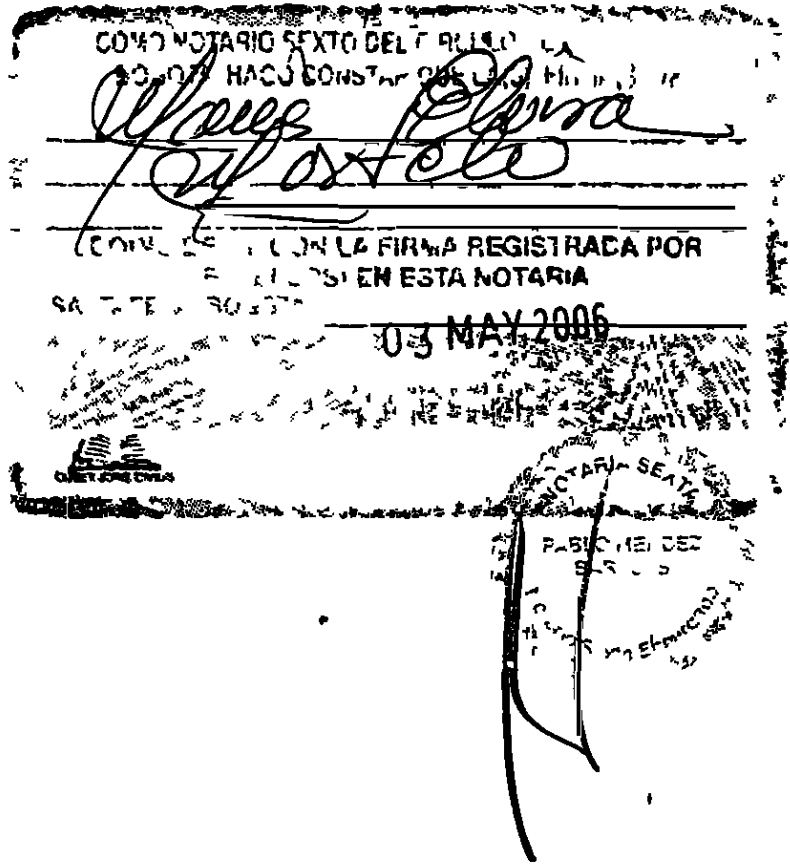
NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 MAY -3 P 1 57

WCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

Mano 9046999
cuyo FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPLEA
LAS FUNCIONES INDICADAS



157

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 158

2020
Bogotá D C ,

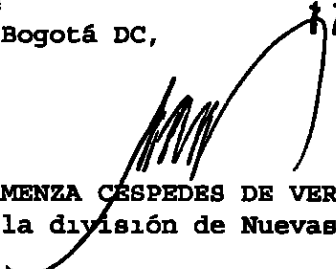
Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
BAXTER INTERNATIONAL INC

REFERENCIA	Radicación No	06 42082
	Solicitud internacional	PCT/US2004/036604
	Fecha inicio fase nacional	07/06/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No	1909
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial

Cúmplase
Dado en Bogotá DC,

17 NOV 2006


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

aalvarado

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RADICACIÓN EXPEDIENTE No 06-042082

EL EXTRACTO DE LA PRESENTE SOLICITUD DE **PATENTE DE INVENCION**

PCT FUE PUBLICADO EN LA GACETA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL No **573**

DE FECHA **28 DE FEBRERO DEL 2007**, EL TERMINO HABIL SEÑALADO

POR LA LEY EXPIRA EL **30 DE MAYO DEL 2007**

NOTA Dentro del plazo de los seis (6) meses siguientes a partir de la fecha de publicación en la gaceta de Propiedad Industrial, deberá solicitar y cancelar el examen de patentabilidad so pena de que la solicitud caiga en abandono, de acuerdo con lo establecido en el Artículo 44 de la Decisión 486/2000

SE PRESENTARON OPOSICIONES POR PARTE DE TERCEROS

SI ☒ NO ☐

Bogotá D C , Junio de 2007