

MÉTODO PARA PREPARAR MICROPARTÍCULAS SEGÚN LA TÉCNICA DE DOBLE EMULSIÓN

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un método para preparar micropartículas de tamaño uniforme con estrecha distribución del tamaño. La presente invención se refiere además a un método para preparar micropartículas utilizando una técnica de doble emulsión que combina una membrana y un microtamiz.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La encapsulación de agentes farmacológicamente activos en micropartículas de polímeros puede prolongar los niveles de fármacos terapéuticos en la sangre. La liberación de agentes activos puede extenderse por hasta varios meses, dependiendo del tipo de polímero y los agentes activos encapsulados.

Se han utilizado diferentes enfoques para encapsular agentes activos en micropartículas de polímeros para su liberación sostenida. La mayoría de ellos se basan en la separación por fases (patente de EE.UU. No 4.673.595, patente europea No 0.052.510), criopulverización por fusión en caliente (patentes de EE.UU. No. 5.134.122, 5.192.741, 5.225.205, 5.431.348, 5.439.688, 5.445.832 y 5.776.885) y evaporación por emulsión única (aceite/agua) (patentes de EE.UU. No 4.389.330 y 5.945.126).

Los fármacos poco solubles en agua o hidrofóbicos se retienen con éxito dentro de las micropartículas preparadas según los enfoques anteriores. Sin embargo, la encapsulación de fármacos solubles en agua o hidrófilos representa un desafío difícil debido a la baja eficiencia de encapsulación. El problema de la encapsulación ineficiente de los fármacos hidrófilos se puede superar mediante el uso de la técnica de doble emulsión.

La técnica de doble emulsión para la preparación de micropartículas implica la formación de múltiples emulsiones, tales como w/o/w, o/w/o, s/o/w, w/o/o y s/o/o etc. (w: agua, o: aceite, s: sólido). Este método se puede utilizar para encapsular fármacos hidrófilos e hidrófobos. En particular, el tipo técnica de doble emulsión agua-aceite-agua (w/o/w) se utiliza habitualmente para encapsular fármacos hidrófilos como péptidos, proteínas, vacunas y ácidos nucleicos en microesferas poliméricas a micro o nanoescala. El método w/o/w comienza con el uso de un disolvente orgánico volátil para disolver el polímero y formar una fase oleosa. La solución acuosa del fármaco (es decir, una fase acuosa) se dispersa en la fase oleosa para formar una emulsión primaria (w/o). A continuación, se añade la emulsión primaria resultante a una fase acuosa de mayor tamaño para preparar una emulsión secundaria (w/o/w). Luego, se agita la emulsión secundaria durante varias

horas, lo que permite que el disolvente orgánico se evapore y las micropartículas se endurezcan.

La patente de EE.UU. No 4.652.441 divulga un método w/o/w para producir una microcápsula de liberación prolongada, que comprende preparar una emulsión de agua en aceite (w/o), que a su vez comprende una capa acuosa interior que contiene un polipéptido biológicamente activo, una sustancia que retiene el fármaco seleccionado entre un miembro del grupo formado por gelatina, albúmina, pectina y agar y una capa oleosa que contiene una sustancia polimérica de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico o polímero de ácido láctico, luego espesar o solidificar dicha capa acuosa interior a una viscosidad no inferior a 5.000 centipoises y, finalmente, mezclar la emulsión resultante con una tercera capa acuosa para obtener una emulsión de capa ternaria de agua/aceite/agua (w/o/w) y desorber el disolvente en la capa oleosa. La emulsión de la capa acuosa interior, la capa oleosa y la tercera capa acuosa se puede llevar a cabo mediante técnicas de dispersión convencionales. Por ejemplo, se puede utilizar la agitación intermitente, la mezcla por medio de un mezclador de hélice, mezclador de turbina o similares, operación de molino coloidal, homogeneización mecánica, ultrasonido, etc.

Estas técnicas de dispersión convencionales tienen varias limitaciones. Por ejemplo, estas técnicas utilizan las condiciones de corriente turbulenta para preparar la emulsión creando diferentes áreas de turbulencia en el recipiente. Como resultado, algunas áreas del recipiente producen una mayor turbulencia (normalmente más cerca de las cuchillas y paredes), mientras que otras áreas producen una menor turbulencia (más lejos de las cuchillas y las paredes). Esta variación en las turbulencias dentro del recipiente tiene como resultado dificultades para controlar el tamaño de la emulsión primaria y de la emulsión secundaria resultantes y eventualmente conduce a distribuciones de tamaño significativas y variaciones de lote a lote en los tamaños de las micropartículas obtenidos. Dado que las distribuciones de tamaño y el tamaño de las micropartículas afectan directamente la velocidad de liberación del fármaco y la inyectabilidad, es importante que las distribuciones del tamaño de partícula y el tamaño sean relativamente estrechos y uniformes.

El uso de técnicas de dispersión convencionales también presenta problemas a la hora de preparar micropartículas que contienen ciertos agentes activos, como proteínas, péptidos y agentes biológicos que son muy sensibles a la turbulencia y a las altas fuerzas de corte. Las exposiciones de larga duración a altas fuerzas de corte pueden tener como resultado la desactivación (por ejemplo, el desplegamiento o agregación de las proteínas) y la degradación del agente activo.

Con el fin de superar tales limitaciones, la presente invención describe un método para preparar micropartículas mediante la utilización de condiciones de flujo laminar que minimizan la agitación mecánica y la turbulencia durante la mezcla de la fase acuosa y la fase oleosa. Gracias a la invención, es posible mejorar la reproducibilidad, el control sobre el tamaño del glóbulo de la emulsión y la estabilidad de la emulsión primaria, lo que proporciona de manera consistente un tamaño uniforme y estrechas distribuciones de tamaño para las micropartículas.

RESUMEN DE LA INVENCION

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar una emulsión primaria estable que comprende: a) preparar una primera fase que comprende un agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora, y c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una membrana para formar la emulsión primaria estable.

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar una emulsión primaria estable que comprende: a) preparar una primera fase que comprende un agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora, y c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una fibra entretejida para formar la emulsión primaria estable.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar una emulsión secundaria estable que comprende: a) preparar una primera fase que comprende un agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora, c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una membrana para formar una emulsión primaria, y (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar la emulsión secundaria.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: a) preparar una primera fase que comprende un agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora y un disolvente, (c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una membrana para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: a) preparar una primera fase que comprende un agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora y un disolvente, c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una fibra entretejida para formar una emulsión primaria, d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: (a) preparar una primera fase que comprende acetato de leuprolide como agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora y un disolvente, (c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una fibra entretejida para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: (a) preparar una primera fase que comprende acetato de leuprolide como agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende polímero poli(d,l-ácido láctico) y un disolvente, (c)

pasar la primera fase y la segunda fase a través de una fibra entretejida para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: (a) preparar una primera fase que comprende acetato de leuprolide como agente activo y agua, (b) preparar una segunda fase que comprende polímero poli(d,l-ácido láctico) y diclorometano, (c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una fibra entretejida para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el diclorometano para formar las micropartículas.

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: (a) preparar una primera fase que comprende acetato de leuprolide como agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende ácido poli(láctico-co-glicólico) y un disolvente, (c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una fibra entretejida para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: (a) preparar una primera fase que comprende un agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora y un disolvente, (c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una estructura celular abiertas para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: (a) preparar una primera fase que comprende un agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora y un disolvente, (c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de microtamiz para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar micropartículas que comprende: (a) preparar una primera fase que comprende un agente activo y un disolvente, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora, (c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una membrana para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

Un aspecto de la presente invención proporciona un agente activo microencapsulado y micropartículas preparadas con los métodos de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las figuras 1A-1C muestran una realización de una fibra entretejida (IWF), una estructura celular abiertas (OCS) y un microtamiz idóneos para preparar micropartículas según la presente invención.

La figura 2 representa un gráfico de distribución de tamaño de micropartículas preparadas utilizando únicamente el microtamiz, utilizando únicamente la IWF y utilizando la IWF y el microtamiz.

La figura 3 representa un gráfico de distribución de tamaño de tres lotes de micropartículas reproducibles.

La figura 4 muestra una configuración para realizar un método para preparar micropartículas de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Antes de divulgar y describir los presentes compuestos, composiciones, formulaciones, dispositivos, métodos o usos, debe entenderse que los aspectos descritos a continuación no se limitan a compuestos, composiciones, formulaciones, dispositivos, métodos o usos específicos ya que pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento tiene por objeto describir únicamente aspectos particulares y no pretende ser limitante.

Debe señalarse que, tal como se utiliza en la memoria descriptiva y las reivindicaciones anexas, los términos en singular “un” y “el” incluyen al plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Así, por ejemplo, la referencia a “un agente activo” incluye referencias a mezclas de dos o más agentes activos, etc.

La presente invención se refiere a un método para preparar micropartículas de tamaño uniforme con estrecha distribución del tamaño. La presente invención se refiere además a un método para preparar micropartículas utilizando una técnica de doble emulsión que combina una membrana y un microtamiz.

En una realización, la presente invención se refiere a un método para preparar micropartículas que comprende: a) preparar una primera fase que comprende un agente activo, (b) preparar una segunda fase que comprende una sustancia portadora y un disolvente, c) pasar la primera fase y la segunda fase a través de una membrana para formar una emulsión primaria, (d) pasar la emulsión primaria a través de un microtamiz en fase continua para formar una emulsión secundaria, y (e) retirar el disolvente para formar las micropartículas.

El término “micropartículas”, tal como se utiliza en el presente documento, es intercambiable con “partículas”, “microesferas” o “partículas microesféricas” y hace referencia a partículas que

comprenden una sustancia portadora que sirve como matriz o aglutinante para la partícula. Las micropartículas pueden contener un agente activo u otra sustancia dispersa o disuelta dentro de la matriz portadora. Las micropartículas se componen generalmente de partículas de forma esférica, aunque a veces las micropartículas pueden tener una forma irregular. El rango de tamaño (diámetro) de las micropartículas uniformes pueden ser desde submicrones a milímetros. En algunas realizaciones, se preparan micropartículas uniformes que tienen un diámetro medio de aproximadamente 0,1 μm a aproximadamente 300 μm , preferiblemente de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 200 μm , más preferiblemente de aproximadamente 2 μm a aproximadamente 150 μm , y aún más preferiblemente de aproximadamente 5 μm a aproximadamente 100 μm , por lo que la administración de las micropartículas a un paciente puede ser llevada a cabo con una aguja de calibre estándar.

El término “estrecha distribución del tamaño”, tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a las micropartículas que tienen una distribución del tamaño que es sustancialmente monodispersa. El coeficiente de variación (% CV) de las micropartículas que pueden obtenerse mediante un método de la invención instantánea es de aproximadamente <30%, preferiblemente de aproximadamente <20%, y más preferiblemente de aproximadamente <10%.

El término “agente activo”, tal como se utiliza en el presente documento, es intercambiable con “agente bioactivo”, “agente farmacológico”, o “fármaco” y se refiere a un agente que tiene actividad biológica y se utiliza para tratar, diagnosticar, curar, mitigar, prevenir (es decir, profilácticamente), mejorar, modular, o tener un efecto favorable sobre una enfermedad, trastorno, infección y similares. Los agentes activos también incluyen un profármaco que se vuelve bioactivo o más bioactivo después de que se ha colocado en un entorno fisiológico predeterminado.

Se pueden utilizar varias formas del agente activo, que pueden ser liberadas desde las micropartículas en tejidos adyacentes o fluidos. Para ello, se puede incorporar un agente activo líquido o sólido a las micropartículas descritas en la presente memoria descriptiva. Como tal, los agentes activos pueden ser sales ácidas, básicas o anfóteras. En algunas realizaciones, los agentes activos pueden ser moléculas no iónicas, moléculas polares o complejos moleculares capaces de formar enlaces de hidrógeno. El agente activo se puede incluir en las micropartículas en forma de, por ejemplo, una molécula sin carga, un complejo molecular, una sal, un éter, un éster, una amida, un conjugado de fármacos poliméricos u otra forma con el fin de proporcionar la actividad biológica o fisiológica eficaz.

Los ejemplos de una sal incluyen, en el caso en el que el agente activo tiene un grupo básico como un grupo amino, una sal con un ácido inorgánico (denominado también ácido inorgánico libre) (por ejemplo, ácido carbónico, ácido bicarbónico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido bórico, etc.), un ácido orgánico (denominado también ácido orgánico libre) (por ejemplo, ácido succínico, ácido acético, ácido propiónico, ácido trifluoroacético, etc.) o similares.

Los ejemplos de la sal incluyen, en el caso en los que el agente activo tiene un grupo ácido como un grupo carboxilo, una sal con una base inorgánica (denominada también base inorgánica libre) (por ejemplo, un metal alcalino como sodio y potasio, un metal alcalinotérreo como calcio y magnesio, etc.), una base orgánica (denominada también base orgánica libre) (por ejemplo, aminas orgánicas como la trietilamina, aminoácidos básicos como la arginina, etc.) o similares. Además los péptidos fisiológicamente activos pueden formar un compuesto metálico complejo (por ejemplo, un complejo de cobre, un complejo de zinc, etc.).

Los ejemplos de agentes activos que se pueden incorporar en micropartículas en la presente invención incluyen, sin limitación alguna, aminoácidos, péptidos incluyendo proteínas, hormonas, enzimas, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y similares, citoquinas, vacunas, porfirinas, polisacáridos, ácidos nucleicos como aptámeros, iARN, ADN, ARN, siARN, ARNi, aptámeros, ácido nucleico antisentido o similares, análogos de ácido nucleico antisentido o similares, virus, agente quimioterapéutico, antibióticos, agentes antipiréticos, analgésicos, agentes antiinflamatorios, expectorantes antitusivos, sedantes, hipnóticos, relajantes musculares neurolépticos, antiepilépticos, agentes antiulcerosos, antidepresivos, agentes antialérgicos, cardiotónicos, agentes antiarrítmicos, vasodilatadores, diuréticos hipotensores, antidiabéticos, agentes antihiperlipidémicos, anticoagulantes, hemolíticos, agentes antituberculosos, narcóticos antagonistas, supresores de resorción ósea, promotores de osteogénesis e inhibidores de angiogénesis.

Los ejemplos de péptidos incluyen uno que consiste en 2 o más aminoácidos, preferiblemente uno que consiste en 2 a 60 aminoácidos con un peso molecular de aproximadamente 200 a unos 80.000. El péptido es preferiblemente LH-RH (hormona liberadora de hormona luteinizante) o un análogo de la misma. Los ejemplos de análogos de LH-RH incluyen agonistas de LH-RH y antagonistas de LH-RH.

Ejemplos de otros péptidos incluyen insulina, somatostatina, derivado de somatostatina, octreótido o su sal farmacéuticamente aceptable, tal como acetato de octreótido, exenatida, hormonas de crecimiento, prolactina, hormona adrenocorticotrópica (ACTH), derivados de ACTH (p. ej., ebiratida), hormona estimulante de melanocitos (MSH), hormona liberadora de tiotropina [TRH] y las sales derivadas de la misma, hormona estimulante de la tiroides (TSH), hormona luteinizante (LH), hormona estimulante del folículo (FSH), vasopresina, derivado de la vasopresina [desmopresina], oxitocina, calcitonina, hormona paratiroidea (PTH), glucagón, gastrina, secretina, pancreozima, colecistoquinina, angiotensina, lactógeno placentario humano, gonadotropina coriónica humana (HCG), encefalina, derivados de la encefalina, endorfina, kiotorfina, interferones (p.ej., interferones α -, β - y γ), interleucinas (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12), tuftsina, timopoyetina, timosina, timoestimulina, factor humoral tímico (THF), factor tímico sanguíneo (FTS) y sus derivados, otros factores tímicos, factor de necrosis tumoral (TNF), factores estimulantes de colonias (p. ej., CSF, GCSF, GMCSF, MCSF), motilina, dinorfina, bombesina, neurotensina,

ceruleína, bradiquinina, uroquinasa, asparaginasa, calicreína, sustancia P, factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I, IGF-II), factor de crecimiento nervioso (NGF), factores de crecimiento celular (p. ej., EGF, TGF- α , TGF- β , PDGF, FGF ácido, FGF básico), factor morfogénico óseo (BMP), factores de nutrición nerviosa (p.ej., NT-3, NT-4, CNTF, GDNF, BDNF), factores de coagulación sanguínea VIII y IX, cloruro de lisozima, polimixina B, colistina, gramicidina, bacitracina, eritropoyetina (EPO), trombopoyetina (TPO), y péptidos antagonistas de endotelina.

Ejemplos de los agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes (por ejemplo, ciclofosfamida, ifosfamida, nimustina, ranimustina, carbocuna), antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 5-fluorouracilo, tegafur, carmofur, UFT, doxifluridina, citarabina, enocitabina, marcaptopurina, marcaptopurina ribosida, tioguanina), sustancias antibióticas anticancerígenas (por ejemplo mitomicina, adriamicina, daunorrubicina, epirubicina, pirarrubicina, idarubicina, bleomicina, peplomicina, antinomicina) y agentes anticancerígenos derivados de plantas (por ejemplo, vincristina, vinblastina, vindesina, etopósido, camptotecina, irinotecanina), cisplatina, carboplatino, nedaplatino, paclitaxel, docetaxel y estramustina.

Ejemplos de los antibióticos incluyen gentamicina, dibekacina, kanendomicina, lividomicina, tobramicina, amikacina, fradiomicina, sisomicina, clorhidrato de tetraciclina, clorhidrato de oxitetraciclina, rolitetraciclina, clorhidrato de doxiciclina, ampicilina, piperacilina, ticarcilina, cefalotina, cefaloridina, cefotiam, cefsulodin, cefmenoxima, cefmetazol, cefazolina, cefotaxima, cefoperazón, ceftitoxima, mochilasactama, tienamicina, sulfazecina y aztreonam.

Ejemplos de agentes antipiréticos, analgésicos y antiinflamatorios incluyen ácido salicílico, sulfirina, ácido flufenámico, diclofenaco, indometacina, morfina, hidrocloreto de petidina, tartrato de levorfanol y oximorfona.

Ejemplos de los expectorantes antitusígenos incluyen el clorhidrato de efedrina, clorhidrato de metilefedrina, clorhidrato de noscapina, fosfato de codeína, fosfato de dihidrocodeína, clorhidrato de alocramida, clorhidrato de clofedanol, clorhidrato de picoperidamina, cloperastina, clorhidrato de protoquilol, clorhidrato de isoproterenol, sulfato de sulbutamol y sulfato de terbutalina.

Ejemplos de los sedantes, hipnóticos y neurolépticos incluyen alprazolam, amilobarbitona, barbitona, bentazepam, bromazepam, bromperidol, brotizolam, butobarbitona, carbromal, clordiazepóxido, clormetiazol, clorpromazina, clobazam, clotiazepam, clozapina, diazepam, droperidol, etinamato, flunanisona, flunitrazepam, fluopromazina, decanoato de flupentixol, dactanoato de flufenazina, flurazepam, baloperidol, lorazepam, lormetazepam, medazepam, meprobamato, metacualona,

midazolam, nitrazepam, oxazepam, pentobarbitona, pimizida de perfenazina, proclorperazina, sulpirida, temazepam, tioridazina, triazolam, zopiclona.

Ejemplos de los relajantes musculares incluyen metanosulfonato de pridinol, cloruro de tubocurarina y bromuro de pancuronio.

Ejemplos de los antiepilépticos incluyen beclamida, carbamazepina, clonazepam, etotoína, metsuximida de metoína, metilfenobarbitona, oxcarbazepina, parametadiona, fenacemida, fenobarbitona, feniloína, fensuximida, primidona, sultiam, ácido valproico. Ejemplos de los agentes antiulcerosos incluyen metoclopramida y clorhidrato de histidina.

Ejemplos de los antidepresivos incluyen imipramina, clomipramina, maleato de trimipramina, noxiptilina, sulfato de fenerdina, amoxapina, maprotilina, mianserina, nortriptilina y trazodona.

Ejemplos de los agentes antialérgicos incluyen clorhidrato de difenhidramina, maleato de clorfeniramina, clorhidrato de tripelenamina, clorhidrato de metidilazina, clorhidrato de clemizol, clorhidrato de difenilpiralina y clorhidrato de metoxifenamina.

Ejemplos de los cardiotónicos incluyen trans-paioxocamfor, teofilol, aminofilina y clorhidrato de etilefrina.

Ejemplos de los agentes antiarítmicos incluyen propanol, alprenolol, bufetolol y oxprenolol.

Ejemplos de los vasodilatadores incluyen clorhidrato de oxifedrina, diltiazem, clorhidrato de tolazolina, hexobendina y sulfato de bamecán.

Ejemplos de los diuréticos hipotensores incluyen bromuro de hexametonio, pentolinio, clorhidrato de mecamilamina, clorhidrato de ecarazina y clonidina.

Ejemplos de los antidiabéticos incluyen sodio glimidina, glibenclamida, gliclazida, glipizida, clorhidrato de fenformina, clorhidrato de buformina y metformina.

Ejemplos de los agentes antihiperlipidémicos incluyen pravastatina sódica, simvastatina,

clínofibrato, clofibrato, simfibrato y bezafibrato.

Ejemplos de los anticoagulantes incluyen heparina sódica, dicoumarol, dipiridamol, nicumalona y fenindiona.

Ejemplos de los hemolíticos incluyen tromboplastina, trombina, sulfito hidrogenado de menadiona sódica, ecetomenaftona, ácido ϵ -aminocaproico, ácido tranexámico, sulfonato de carbazocromo sódico y metasulfonato de monoaminoguanidina adenocrómica.

Ejemplos de los agentes antituberculosos incluyen isoniazida, etambutol y ácido p-aminosalicílico.

Ejemplos de los antagonistas narcóticos incluyen tartrato de levalorfan, clorhidrato de nalorfina y clorhidrato de naloxona.

Ejemplos de los promotores de osteogénesis incluyen polipéptidos tales como BMP, PTH, TGF- β e IGF-1, y (2R,4S)-(-)-N-[4-(dietoxifosforilmetil)fenil]-1,2,4,5-tetrahidro-4-metil-7,8-metilendioxi-5-oxo-3-benzotiepina-2-carboxamida y ácido 2-(3-piridil)-etano-1,1-difosfónico.

Ejemplos de los supresores de angiogénesis incluyen esteroides supresores de angiogénesis, fumagilina y fumagilol.

En una realización, el agente activo puede ser hidrosoluble o dispersable en agua. En una realización, el agente activo puede ser soluble o dispersable en un disolvente tal como disolvente orgánico o inorgánico.

El agente activo hidrosoluble en la práctica de esta invención es un fármaco que es hidrófilo y que tiene una solubilidad en agua a temperatura ambiente (es decir, cerca de 25 °C) de más de 200 microgramos por ml.

En una realización, el agente activo es preferiblemente un péptido, más preferentemente LH-RH o un análogo del mismo, todavía más preferentemente leuprolide o su sal farmacéuticamente aceptable, tal como acetato de leuprolide.

En una realización, la primera fase es una fase acuosa que incluye un disolvente acuoso. El agente activo puede disolverse o dispersarse en el disolvente acuoso. Un ejemplo no limitativo del disolvente acuoso es el agua. En una realización, el agua se puede combinar con otro disolvente mezclable, por ejemplo, etanol, metanol, DMSO, DMF, alcohol isopropílico, entre muchos otros disolventes polares miscibles con agua. En una realización, la primera fase puede incluir además otros excipientes, tales como tampones, sales, azúcares, tensioactivos, emulsionantes y/o agentes modificadores de la viscosidad, o combinaciones de los mismos.

El agente activo puede estar presente en la primera fase en cualquier % p/p deseado. Por ejemplo, el agente activo puede estar presente en la primera fase en cerca del 1% a cerca del 90% p/p, incluyendo, sin limitaciones, cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, o 80% % p/p.

El término “vehículo” como se usa en el presente documento se refiere a un polímero biodegradable y biocompatible o a un lípido que captura, encapsula, une o de otra forma contiene al agente activo que se liberará allí mismo.

Los polímeros biodegradables adecuados incluyen, pero no se limitan a, poli (ácido glicólico), poli (d, ácido l-láctico), poli (ácido l-láctico), copolímeros de los anteriores, incluyendo poli (d, l-lactida-co-glicólido) (PLGA), poli (ácidos carboxílicos alifáticos), copolioxalatos, poli (caprolactona), poliortoésteres, poli (coprolactona-ácida glicólica), polianhídridos y polifosfazinas, o derivados de los mismos, o combinaciones de los mismos.

En una realización, el polímero biodegradable incluye copolímeros en bloque de polímeros hidrofílicos e hidrofóbicos.

En una realización, la viscosidad inherente del polímero biodegradable puede estar en el rango de cerca de 0,1 a cerca de 2,0 dL/g. En una realización, el rango puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1,0 dL/g.

En una realización, el peso molecular del polímero biodegradable está en el rango de aproximadamente 1,000 a aproximadamente 500,000 daltons, preferiblemente de aproximadamente 5,000 a aproximadamente 100,000 daltons, más preferiblemente de aproximadamente 10,000 a aproximadamente 50,000 daltons.

En una realización, el polímero biodegradable puede ser poli(d, ácido l-láctico) con una viscosidad inherente de aproximadamente 0,2 dL/g y un peso molecular de aproximadamente 17,000 daltons.

El producto adecuado disponible comercialmente es Purasorb[®] PDL 02A.

En una realización, el polímero biodegradable puede ser poli(d, l-lactida-co-glicólido) o PLGA. La relación molar de lactida a glicólido puede estar en el rango de aproximadamente (45-95):(5-55). En otra realización, la relación molar de lactida a glicólido puede ser 50:50, 65:35, 75:25 y 85:15.

Los lípidos adecuados incluyen, pero no están limitados a, fosfolípidos, diglicéridos, glicolípidos, lípidos individuales tales como esfingomielina y glicoesfingolípido, y colesterol, o derivados de los mismos, o combinaciones de los mismos.

En una realización, la segunda fase es una fase oleosa que incluye un disolvente orgánico. El vehículo puede disolverse o dispersarse en el disolvente. Generalmente, el disolvente orgánico puede seleccionarse basado en la solubilidad del vehículo, o en la dispersabilidad del polímero en ese disolvente. Los disolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a, diclorometano, cloroformo, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, benceno, acetato de butilo, tetracloruro de carbono, éter dietílico, heptano, hexano, methyl-t-butyl éter, metil etil cetona, pentano, tolueno, xileno, tricloroetileno, acetato de etilo, alcohol bencílico, acetato de isopropilo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, isopropanol, metanol, acetona, tolueno, acetato de pentilo, acetato de hexilo, formiato de propilo, formiato de isopropilo, propionato de metilo, acetato de propilo y etanol, o combinaciones de los mismos. En una realización, la segunda fase puede incluir, además, aditivos tales como codisolventes, tensioactivos, emulsificantes, o combinaciones de los mismos, entre otros aditivos.

El portador puede estar presente en la segunda fase en cualquier % p/p deseado. Por ejemplo, el portador puede estar presente en la segunda fase en aproximadamente 1% a aproximadamente 90% p/p, incluyendo, sin limitación, aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, u 80% % p/p.

La primera fase y la segunda fase se combinan para formar la emulsión w/o (es decir, la emulsión primaria). La emulsión w/o comprende la primera fase que comprende el agente activo como la fase interna, que está sustancialmente rodeada por la fase oleosa que incluye el portador. En una realización, la emulsión w/o puede prepararse pasando y recirculando la primera fase y la segunda fase a través de la membrana.

El término “membrana” como se utiliza aquí se refiere a una estructura multidimensional con un

tamaño de poro definido y hecha de un material seleccionado de un grupo que consiste en cerámica, metales, vidrio poroso y polímeros de alto peso molecular. En una realización, los metales comprenden, pero no se limitan a, acero inoxidable, monel, inconel, aluminio, titanio, níquel, platino, paladio, rodio, cobre, cromo, latón y aleaciones de los anteriores. En una realización, los polímeros incluyen, pero no se limitan a, resinas termoestables, politetrafluoroetileno (PTFE), poliéter éter cetona (PEEK), poli(carbonato), poli(propileno) y perfluoro-elastómero. La naturaleza de la membrana para uso de acuerdo con la invención puede variar dependiendo de la naturaleza de las micropartículas.

En una realización, la membrana tiene un diámetro de aproximadamente 40 mm a aproximadamente 60 mm y grosor de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 mm. Las dimensiones de la membrana para su uso de acuerdo con la invención se pueden ajustar con base en la escala de producción de micropartículas.

En una realización, la membrana tiene un tamaño de poro medio de aproximadamente 0,01 μm a aproximadamente 200 μm . En una realización, la membrana tiene un tamaño de poro promedio de aproximadamente 0,1 a μm to aproximadamente 80 μm , preferiblemente entre aproximadamente 1 μm a aproximadamente 50 μm , más preferiblemente de cerca de 8 μm a cerca de 21 μm . En una realización, la membrana tiene un tamaño de poro promedio de aproximadamente 21 μm a aproximadamente 50 μm .

En una realización, la membrana puede estar en cualquier forma incluyendo, pero sin limitarse a, una lámina, un tubo y una placa. En una realización, la membrana tiene una superficie hidrófila o hidrófoba.

En una realización, puede seleccionarse de un grupo que incluye, pero no se limita a, fibra entretejida (IWF), estructura celular abierta (OCS), micro-tamiz, estructura perforada y similares. Las Figuras 1A-1C muestran una realización de una fibra entretejida (IWF), una estructura celular abierta (OCS), y un micro-tamiz adecuado para preparar micropartículas de acuerdo con la presente invención.

El término “Fibra entretejida” (IWF) como se usa en el presente documento se refiere a una pluralidad de hilos entretejidos entrelazados que definen una cubierta de malla. En una realización, la fibra entretejida está hecha de acero inoxidable y tiene un diámetro de aproximadamente 47mm y un espesor de aproximadamente 0,1 mm.

El término “Estructura celular abierta” como se usa en el presente documento se refiere a un filtro de pantalla poroso simple. En una realización, la estructura celular abierta está hecha de

politetrafluoroetileno (PTFE) y tiene un diámetro de aproximadamente 47 mm y un espesor de aproximadamente 0,1 mm.

El término “micro-tamiz” como se usa en el presente documento se refiere a un dispositivo de microcanal que tiene poros o hendiduras estrictamente definidos fabricados por fotolitografía o técnicas similares como se aplican en p. ej. tecnología de semiconductores. En una realización, el micro-tamiz está hecho de silicona y tiene un diámetro de aproximadamente 47 mm y un espesor de aproximadamente 0,5 mm. Incorporaciones específicas de micro-tamiz que pueden emplearse se describen en la Patente Europea No. 1 755 773 por el solicitante que se incorpora aquí como referencia.

En una realización, la primera fase y la segunda fase se pasan a través de la membrana a un ritmo de flujo de aproximadamente $0,01 \text{ ml/min/cm}^2$ a aproximadamente 100 ml/min/cm^2 . En una realización, el ritmo de flujo es desde $0,05 \text{ ml/min/cm}^2$ a aproximadamente 50 ml/min/cm^2 . En una realización, el ritmo de flujo es desde aproximadamente 5 ml/min/cm^2 a aproximadamente 40 ml/min/cm^2 , preferiblemente de aproximadamente 10 ml/min/cm^2 a aproximadamente 30 ml/min/cm^2 , y más preferiblemente de aproximadamente $12,5 \text{ ml/min/cm}^2$ a aproximadamente $17,5 \text{ ml/min/cm}^2$.

En una realización, la primera fase y la segunda fase se pasan por medio de una bomba en una circulación cerrada aséptica para formar una emulsión primaria. Las bombas incluyen, pero no se limitan a, bomba peristáltica, bomba centrífuga, bomba de engranajes y bomba de pistón.

En una realización, la emulsión primaria que contiene microgotas que tienen un diámetro medio de aproximadamente $<100 \mu\text{m}$, preferiblemente un diámetro medio de aproximadamente $<40 \mu\text{m}$ y más preferiblemente un diámetro medio de aproximadamente $<20 \mu\text{m}$.

En una realización, el agente activo está presente en la emulsión primaria desde aproximadamente el 0,1% p/p hasta aproximadamente el 25% p/p de la emulsión primaria. En una realización, el agente activo está presente en la emulsión primaria desde aproximadamente el 0,5% p/p hasta aproximadamente el 10% p/p de la emulsión primaria. En una realización, el agente activo está presente en la emulsión primaria desde aproximadamente el 1% p/p hasta aproximadamente el 5% p/p de la emulsión primaria.

En una realización, el portador está presente en la emulsión primaria desde aproximadamente el 1% p/p hasta aproximadamente el 50% p/p de la emulsión primaria.

En una realización, se pueden seleccionar otros métodos para formar la emulsión primaria, que

incluyen, pero no se limitan a, mezclador estático, homogeneizador, hélice, impulsor, agitador y similares.

En una realización, la fase continua es una fase acuosa que comprende un disolvente acuoso. La fase acuosa puede comprender cualquier disolvente acuoso adecuado. Un ejemplo no limitante de un disolvente acuoso es el agua. En una realización, el agua puede mezclarse con otro disolvente miscible, por ejemplo, etanol, metanol, DMSO, DMF, alcohol isopropílico, entre muchos otros disolventes polares miscibles con agua. En una realización, la fase continua puede comprender, además, otros excipientes, tales como tampones, sales, azúcares, tensioactivos y/o agentes modificadores de la viscosidad, o combinaciones de los mismos.

Una vez que se forman las microgotas en la fase continua, es importante evitar que se junten. Con este fin, la fase continua comprende un estabilizante para evitar sustancialmente que las microgotas se junten. Como resultado, la naturaleza mono-dispersa de las microgotas se mantiene en la fase continua. En una realización, los estabilizantes pueden ser tensioactivos o coloides hidrofílicos que incluyen, pero no se limitan a, alcohol polivinílico, gelatina, polivinilpirrolidona, ésteres de sorbitán y sus etoxilatos tales como *span* y *tween*, celulosas y sus derivados tales como carboximetilcelulosa, y polietilenglicol, o combinaciones de los mismos. La concentración del estabilizante en la fase continua puede ser de 0,1% a aproximadamente 10% p/p de la fase continua, dependiendo del estabilizante, la emulsión primaria, y la fase continua utilizada. En una realización, la fase continua puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 p/p, más preferiblemente de aproximadamente 0,5% w/w a aproximadamente 5% p/p de una solución de alcohol polivinílico en agua.

La emulsión primaria y la fase continua se combinan para formar una doble emulsión w/o/w (es decir, la emulsión secundaria). La emulsión w/o/w comprende la primera fase que comprende el agente activo como la fase interna, que está sustancialmente rodeada por la segunda fase que comprende el vehículo, estando la segunda fase sustancialmente rodeada por la fase continua. En una realización, la emulsión w/o/w se puede preparar pasando la emulsión primaria a través del micro-tamiz en la fase continua.

En una realización, se pueden seleccionar otros métodos para formar la emulsión secundaria que incluyen, pero no se limitan a, mezclador estático, homogeneizador, hélice, impulsor, agitador y similares.

En una realización, la emulsión primaria y la fase continua se pasan por medio de una bomba en una circulación aséptica cerrada para formar una emulsión secundaria. Las bombas incluyen, pero no se

limitan a, bomba peristáltica, bomba centrífuga, bomba de engranajes y bomba de pistón.

Una vez que se forma la emulsión secundaria, típicamente pueden formarse micropartículas a partir de la emulsión secundaria al eliminar el disolvente orgánico. El disolvente orgánico se puede eliminar por cualquier método adecuado. En una realización, el disolvente orgánico puede ser retirado extrayendo el disolvente orgánico con un líquido de extracción, tal como agua. En una realización, el disolvente orgánico se puede eliminar mediante secado, tal como secado por aspersión, secado bajo presión reducida, evaporación del disolvente, liofilización o por combinaciones de los mismos. La eliminación del disolvente también puede efectuarse utilizando un proceso continuo tal como un proceso continuo de extracción de líquido.

En una realización, el disolvente orgánico se evapora para endurecer las micropartículas. La eliminación del disolvente por evaporación puede controlarse por temperatura, tiempo y presión. En una realización, la temperatura puede ser de aproximadamente 4 °C a aproximadamente 100 °C y el tiempo puede ser de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 24 horas.

En una realización, la emulsión secundaria puede ser una emulsión o/w/o. Por ejemplo, un agente activo puede disolverse o dispersarse en una fase oleosa, y un portador puede disolverse o dispersarse en una fase acuosa. Luego, se puede añadir una fase oleosa para formar una emulsión doble. Cualquiera de los pasos de proceso descritos anteriormente puede usarse para preparar una emulsión o/w/o doble.

En una realización, la emulsión primaria puede ser una emulsión w/o, una emulsión o/w, o cualquier emulsión adecuada. En una realización, la emulsión secundaria puede ser una emulsión w/o/w, una emulsión o/w/o, o cualquier emulsión adecuada.

La cantidad de agente activo incorporado en las micropartículas varía de aproximadamente 1 % p/p a aproximadamente 50 % p/p, preferiblemente de aproximadamente 5 % p/p a aproximadamente 25 % p/p, más preferiblemente de aproximadamente 8 % p/p a aproximadamente 15 % p/p de las micropartículas.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar incorporaciones particulares de la invención. Los versados en la materia apreciarían que las técnicas reveladas en los ejemplos que siguen representan

técnicas descubiertas por los inventores que funcionan bien en la práctica de la invención, y pueden así ser consideradas que constituyen modos preferidos para su práctica. Sin embargo, las personas versadas en la materia deberían, a la luz de la presente revelación, apreciar que se pueden realizar muchos cambios en las incorporaciones específicas que se revelan y aún así obtener un resultado parecido o similar sin apartarse del espíritu y el alcance de la invención.

EJEMPLO 1:

Se prepara una primera fase disolviendo un agente activo en un disolvente acuoso. Alternativamente, se puede preparar la primera fase dispersando un agente activo en un disolvente acuoso. En dicha dispersión, el agente activo es solo ligeramente soluble en el disolvente acuoso. La segunda fase se prepara disolviendo un portador en un disolvente orgánico. La primera fase y la segunda fase se pasan y recirculan a través de una membrana para formar una emulsión primaria. La emulsión primaria se pasa luego a través de un micro tamiz en una fase continua para formar una emulsión secundaria. El disolvente orgánico se elimina de la emulsión secundaria dando como resultado la formación de micropartículas endurecidas. Luego, las micropartículas se aíslan de la solución acuosa por cualquier medio de separación adecuado; se puede decantar el fluido de las micropartículas o se puede filtrar la suspensión de micropartículas o se puede usar una columna de tamiz. Se pueden utilizar otras combinaciones de técnicas de separación, si se desea. A continuación, las micropartículas se secan utilizando técnicas de secado convencionales, y se puede llevar a cabo, además, un aislamiento por tamaño.

EJEMPLO 2:

En la Figura 4 se ilustra una configuración para llevar a cabo un método para preparar micropartículas. Se prepara una primera fase (fase acuosa) que contiene 34% p/p de acetato de leuprolida disolviendo el acetato de leuprolida en agua. Se prepara una segunda fase (solución de polímero) que contiene 25% p/p de poli(d, ácido l-láctico) (Purasorb[®] PDL 02A) disolviendo el poli(d, ácido l-láctico) en diclorometano (DCM). Se prepara una fase continua que contiene 4% p/p de alcohol polivinílico disolviendo el alcohol polivinílico en agua.

La segunda fase se bombea a través de una línea de entrada (1) a un recipiente cerrado (3). La primera fase se bombea a través de a través de la línea de entrada (2). La primera fase y la segunda fase se pasan y recirculan por la bomba (4) a través de una fibra entretejida (5) que tiene un tamaño promedio de poro de 10 μm a 12 μm a una velocidad de flujo de 15 ml/min/cm² para formar la emulsión primaria. Se abre la válvula (6) y la emulsión primaria se pasa a una velocidad de flujo de

0,67 ml/min/cm² a través de un micro tamiz de 40 µm (8) en la fase continua circulada bajo el micro tamiz para producir la emulsión secundaria y luego se transfiere a un recipiente (9). La fase continua desde el depósito (9) circula por la bomba (10) a través de la línea de entrada (7) debajo del micro tamiz a una velocidad de flujo de 17 L/hora. Después de la producción de la emulsión secundaria se retira el DCM y se separan las micropartículas endurecidas. Las micropartículas se analizan por tamaño de partícula usando Coulter Counter Multisizer[®].

EJEMPLO 3:

El procedimiento del ejemplo 2 se repite utilizando solo el micro tamiz, utilizando solamente IWF y utilizando tanto IWF como el micro tamiz. La Tabla 1 y la Figura 2 demuestran que se obtienen micropartículas sustancialmente monodispersas utilizando IWF y el micro tamiz.

Tabla 1

No. de serie	Prueba	Diámetro medio de micropartícula (µm)	Coefficiente de variación (% CV)
1.	Solo IWF	65	54,1
2.	Solo Micro tamiz	41	24,3
3.	IWF y micro tamiz	61	8,5

EJEMPLO 4:

El procedimiento del ejemplo 2 se repite por triplicado. La Tabla 2 y la Figura 3 demuestran reproducibilidad de micropartículas sustancialmente monodispersas.

Tabla 2

No. de serie	Prueba	Diámetro medio de demicropartícula (µm)	Coefficiente de variación (% CV)
1.	Prueba 1	61	8,5
2.	Prueba 2	60	9,2
3.	Prueba 3	59	7

EJEMPLO 5:

Una primera fase (fase acuosa) que contiene 25% p/p de acetato de leuprolida se prepara disolviendo el acetato de leuprolida en agua. La segunda fase (solución de polímero) que contiene 20% p/p de

polímero de poli(d, l-lactida-co-glicólido) (relación de monómero: 75/25, peso mol. promedio: 17000, viscosidad: 0,2 dL/g) se prepara disolviendo el polímero en diclorometano (DCM). La fase continua que contiene 0,5% p/p de alcohol polivinílico se prepara disolviendo el alcohol polivinílico en agua.

La segunda fase se bombea a través de la línea de entrada (1) a un recipiente cerrado (3). La primera fase se bombea a través de la línea de entrada (2). La primera fase y la segunda fase se pasan y recirculan por la bomba (4) a través de la fibra entretejida (5) que tiene tamaño promedio de poro de 19 μm a 21 μm a una velocidad de flujo de 17 ml/min/cm² para formar la emulsión primaria. Se abre la válvula (6) y se pasa la emulsión primaria a una velocidad de flujo de 0,55 ml/min/cm² (7) a través de un micro tamiz de 30 μm (8) en la fase continua (7) circulada debajo del micro tamiz para producir la emulsión secundaria que se transfiere a un recipiente (9). La fase continua del depósito (9) se circula por la bomba (10) a través de la línea de entrada (7) debajo del micro tamiz a una velocidad de flujo de 15 L/hora. Después de la producción de la emulsión secundaria, se retira el DCM y se separan las micropartículas endurecidas.