



(10) **DE 11 2009 001 815 B4** 2017.03.16

(12) **Patentschrift**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **11 2009 001 815.7**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US2009/004273**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2010/014176**
(86) PCT-Anmeldetag: **23.07.2009**
(87) PCT-Veröffentlichungstag: **04.02.2010**
(43) Veröffentlichungstag der PCT Anmeldung
in deutscher Übersetzung: **12.01.2012**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **16.03.2017**

(51) Int Cl.: **A61K 9/16 (2006.01)**
A61K 38/09 (2006.01)
A61K 47/24 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

Innerhalb von neun Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(30) Unionspriorität:
12/221,096 **31.07.2008** **US**

(72) Erfinder:
Kim, Cherng-ju, Little Rock, Ark., US

(73) Patentinhaber:
**The Board of Trustees of the University of
Arkansas, Little Rock, Ark., US**

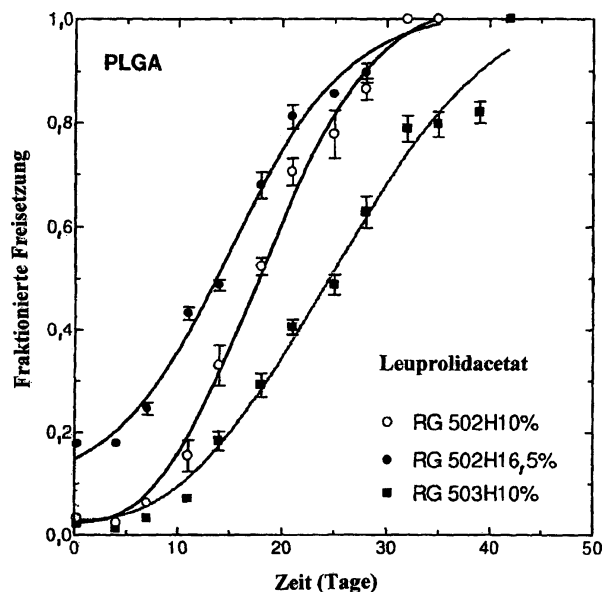
(56) Ermittelter Stand der Technik:

US 2004 / 0 105 878 A1
US 2006 / 0 024 377 A1
US 2007 / 0 009 605 A1
WO 2006/ 123 359 A2

(74) Vertreter:
**Fuchs Patentanwälte Partnerschaft mbB, 60327
Frankfurt, DE**

(54) Bezeichnung: **Herstellungsverfahren für bioabbaubare Mikropartikel, welche Arzneistoffe enthalten**

(57) Hauptanspruch: Verfahren zur Herstellung von Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikeln, umfassend:
das Lösen eines bioabbaubaren Polymers in organischem Lösungsmittel, wobei eine Polymerlösung gebildet wird;
das Lösen oder Dispergieren eines Arzneistoffes in der Polymerlösung, wobei eine Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase gebildet wird;
das Mischen der Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase mit einer wässrigen Suspension, welche ein anorganisches Gel umfasst, wobei eine Dispersion gebildet wird, welche Polymer-Arzneistoff-Tropfen umfasst, dispergiert in der wässrigen Suspension, wobei das anorganische Gel durch Säure gelöst werden kann;
das Abdampfen des organischen Lösungsmittels aus der Dispersion, wobei die Polymer-Arzneistoff-Tropfen in Arzneistoff-enthaltende Mikropartikel umgewandelt werden; und
das Gewinnen der Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel aus der Dispersion, wobei der Schritt des Gewinnens der Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel aus der Dispersion das Geben von Säure zu der Dispersion, um das anorganische Gel zu lösen, umfasst.



Beschreibung

Hintergrund

[0001] Eine Vielzahl von Dosierungsformen wurde für Arzneistoffe, welche Langzeitverabreichung erfordern, verwendet. Um die Anzahl der Dosen, welche gegeben werden muss, zu verringern und um einen stabilen Spiegel des Arzneistoffes im Körper bereit zu stellen, werden diese Arzneistoffe bevorzugt in einer Formulierung mit verlängerter Freisetzung gegeben. Ein Arzneistoffformulierungstyp mit verlängerter Freisetzung, der verwendet wurde, sind bioabbaubare Mikrokügelchen, welche Arzneistoff enthalten, der in dem Mikrokügelchen eingeschlossen ist. Ein solches Produkt ist LUPRON Depot, welches bioabbaubare Mikrokügelchen sind, die den Releasing-Faktor des luteinisierenden Hormons (Leuprolid oder LHRH) enthalten. Leuprolid wird zur Behandlung von Hormon-abhängigen Krebsarten, insbesondere Prostatakrebs, und vorzeitiger Pubertät verwendet.

[0002] Mikropartikel sind Partikel mit einem Durchmesser von ungefähr 1 bis 1000 Mikron. Für Injektionszwecke sind Mikropartikel, die kleiner als 125 Mikron sind, bevorzugt. Mikropartikel mit dieser Größe können mit einer Standardinjektionsnadel injiziert werden anstelle von chirurgischer Implantation. Ein Mikropartikeltyp besteht aus einem Netzwerk eines bioabbaubaren Polymers, das einen Arzneistoff einschließt. Wenn das Polymer im Körper biologisch abgebaut wird, wird der Arzneistoff freigesetzt. Die am stärksten gewöhnlich verwendeten bioabbaubaren Polymere sind Polymilchsäure und ein Copolymer von Milchsäure und Glycolsäure.

[0003] Die am häufigsten verwendeten Verfahren zur Herstellung von bioabbaubaren Mikropartikeln sind Phasentrennung, Sprühtrocknung und Lösungsmittelverdampfung. Phasentrennung, auch bekannt als Koazervation, verwendet eine Abnahme der Polymerlöslichkeit durch die Zugabe eines Nicht-Lösungsmittels. In einem typischen Verfahren wird bioabbaubares Polymer in einem organischen Lösungsmittel (z. B. Dichlormethan) gelöst. Lipophile Arzneistoffe werden in der Polymerlösung gelöst. Hydrophile Arzneistoffe werden in Wasser gelöst und dann in der Polymerlösung dispergiert (Wasser-in-Öl(w/o)-Emulsion) oder als ein festes Pulver dispergiert. Ein Nicht-Lösungsmittel (typischerweise Siliciumöl) wird nach und nach zugegeben. Zwei Phasen bilden sich: eine an Polymer reiche Siliciumölphase und eine an Polymer verarmte flüssige organische Lösungsmittelphase. Wenn die organische Phase extrahiert wird oder verdampft, verfestigen sich Polymermikropartikel mit eingeschlossenem Arzneistoff in der Siliciumölphase. Das Koazervat (Siliciumöl) adsorbiert an den Polymermikropartikeln.

[0004] Bei Sprühtrocknung wird das bioabbaubare Polymer in flüchtigem organischem Lösungsmittel, wie Dichlormethan, gelöst. Der Arzneistoff wird in der Polymerlösung gelöst oder dispergiert. Die Lösung oder Dispersion wird in erwärmte Luft gesprüht. Das Lösungsmittel verdampft, was in der Bildung von festen Mikropartikeln resultiert.

[0005] Lösungsmittelverdampfung ist das am stärksten gewöhnlich verwendete Verfahren zur Herstellung von Mikropartikeln. In diesem Verfahren wird eine Arzneistoff-enthaltende organische Polymerlösung in einem Dispersionsmedium, welches typischerweise wässrig ist, aber Öl sein kann, emulgiert. Die Verfahren können ferner in Öl-in-Wasser(o/w)-, Wasser-in-Öl-in-Wasser(w/o/w)- und Öl-in-Öl(o/o)-Emulsionsverfahren klassifiziert werden.

[0006] In einem o/w-Verfahren werden Arzneistoff und Polymer in einem organischen Lösungsmittel, wie Dichlormethan oder einem Methanol/Dichlormethan-Gemisch, gelöst. Die Arzneistoff-Polymer-organisches Lösungsmittel-Lösung wird in einer wässrigen Phase dispergiert. Ein Emulgiermittel, typischerweise Poly(vinylalkohol), wird in die wässrige Phase aufgenommen, um die Bildung von kleinen organischen Lösungsmitteltropfen in der wässrigen Phase zu unterstützen. Das organische Lösungsmittel verdampft mit Rühren und mit der Verdampfung verfestigen sich die Tropfen zu Polymermikropartikeln mit eingeschlossenem Arzneistoff.

[0007] In einer w/o/w-Doppelemulsion wird eine wässrige Arzneistofflösung hergestellt und in einer Lösung des Polymers in einem organischen Lösungsmittel dispergiert, wobei eine Wasser-in-Öl-Emulsion, die den Arzneistoff und das Polymer enthält, gebildet wird. Die w/o-Polymer-Arzneistoff-Emulsion wird dann in einer wässrigen Phase emulgiert, wobei eine w/o/w-Emulsion gebildet wird. Mit Rühren verdampft das organische Lösungsmittel, was ermöglicht, dass sich die Polymer-Arzneistoff-Tropfen in der Emulsion zu Mikropartikeln verfestigen.

[0008] In einem o/o-Emulsionsverfahren werden Arzneistoff und Polymer in einem mit Wasser mischbaren Lösungsmittel (z. B. Acetonitril) gelöst. Diese Lösung wird in einer öligen Phase in der Gegenwart eines Emulgiermittels wie SPAN 80 emulgiert, wobei eine Öl-in-Öl-Emulsion gebildet wird. Das organische Lösungsmittel wird durch das Öl extrahiert und Mikropartikel können durch Filtration geerntet werden.

[0009] Verfahren des Standes der Technik zur Bildung von bioabbaubaren Arzneistoff-enthaltenden Polymermikropartikeln weisen einige Nachteile auf. Emulgiermittel oder Öl kann an den Mikropartikeln anhaften und diese kontaminieren. Bei einigen Ver-

fahren ist es schwierig, sie im Maßstab zu vergrößern.

[0010] Neue Verfahren zur Bildung von bioabbaubaren Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikeln werden gebraucht.

Zusammenfassung

[0011] Der Erfinder hat neue Verfahren zur Bildung von Mikropartikeln gefunden. In einem Verfahren wird Leuprolid in Methanol gelöst und PLGA wird in Dichlormethan gelöst. Die Leuprolid- und PLGA-Lösungen werden gemischt, wobei eine Arzneistoff-Polymer-organisches Lösungsmittel-Lösung gebildet wird. Die Arzneistoff-Polymer-Lösung wird zu einer größeren wässrigen Phase, welche in situ-gebildetes Hydroxyapatit($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)-Gel enthält, gegeben. Das Hydroxyapatit-Gel scheint die organischen Tropfen zu überziehen, wobei eine kleine Tropfengröße beibehalten wird und Tropfenzusammenballung verhindert wird. Das organische Lösungsmittel verdampft genauso wie in einem Öl-in-Wasser-Emulsions-Standardverfahren unter Verwendung eines organischen Emulgiermittels, was verfestigte Polymermikropartikel mit eingeschlossenem Leuprolid zurücklässt. HCl wird dann zu der Suspension gegeben, welches das Hydroxyapatit löst. Die Mikropartikel können durch Zentrifugation oder Filtration von der ansonsten klaren Lösung gewonnen werden.

[0012] Eine Ausführungsform der Erfindung stellt ein Verfahren zur Herstellung von Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikeln bereit, umfassend: (a) das Lösen eines bioabbaubaren Polymers in organischem Lösungsmittel, wobei eine Polymerlösung gebildet wird; (b) das Lösen oder Dispergieren eines Arzneistoffes in der Polymerlösung, wobei eine Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase gebildet wird; (c) das Mischen der Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase mit einer wässrigen Suspension, welche ein anorganisches Gel umfasst, wobei eine Dispersion gebildet wird, die Polymer-Arzneistoff-Tropfen umfasst, welche in der wässrigen Suspension dispergiert sind; (d) das Abdampfen des organischen Lösungsmittels aus der Dispersion, wobei die Polymer-Arzneistoff-Tropfen in Arzneistoff-enthaltende Mikropartikel umgewandelt werden; und (e) das Gewinnen der Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel aus der Dispersion.

[0013] Bevorzugt kann das anorganische Gel durch Säure gelöst werden und der Schritt des Gewinnens der Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel aus der Dispersion umfasst das Geben von Säure zu der Dispersion, um das anorganische Gel zu lösen.

[0014] Andere Ausführungsformen der Erfindung stellen Arzneistoff-enthaltende Mikropartikel, welche durch die hier beschriebenen Verfahren hergestellt werden, bereit.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0015] Fig. 1 ist ein Graph der fraktionierten Freisetzung von Leuprolidacetat aus PLGA-Mikrokügelchen, welche wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt wurden, gegen die Zeit.

[0016] Fig. 2 ist ein Graph, der einen Vergleich des kinetischen Profils der Arzneistofffreisetzung von Leuprolidacetat von Fig. 1 unter Verwendung von 10% PLGA-Mikrokügelchen wie in Beispiel 1 hergestellt (o) und für den Vergleich das veröffentlichte Zeit-Freisetzungs-Profil von Leuprolidacetat von herkömmlich hergestellten Mikrokügelchen (•) zeigt (D'Souza SS et al., AAPS PHARM Sci. Tech. 6(4), E553–564, 2005).

Detaillierte Beschreibung

[0017] Diese Offenbarung stellt ein Verfahren zur Herstellung von Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikeln bereit, umfassend: (a) das Lösen eines bioabbaubaren Polymers in organischem Lösungsmittel, wobei eine Polymerlösung gebildet wird; (b) das Lösen oder Dispergieren eines Arzneistoffes in der Polymerlösung, wobei eine Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase gebildet wird; (c) das Mischen der Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase mit einer wässrigen Suspension, welche ein anorganisches Gel umfasst, wobei eine Dispersion gebildet wird, die Polymer-Arzneistoff-Tropfen umfasst, welche in der wässrigen Suspension dispergiert sind; (d) das Abdampfen des organischen Lösungsmittels aus der Dispersion, wobei die Polymer-Arzneistoff-Tropfen in Arzneistoff-enthaltende Mikropartikel umgewandelt werden; und (e) das Gewinnen der Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel aus der Dispersion.

[0018] Der Schritt des Lösens eines bioabbaubaren Polymers in organischem Lösungsmittel, wobei eine Polymerlösung gebildet wird, kann gleichzeitig mit dem Schritt des Lösens oder Dispergierens eines Arzneistoffes in der Polymerlösung, wobei eine Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase gebildet wird, stattfinden. Zum Beispiel kann ein hydrophober Arzneistoff in Dichlormethan gelöst werden und dann kann festes Polymer zu der Arzneistoff-Dichlormethan-Lösung gegeben werden. Wenn sich das Polymer löst, dispergiert der Arzneistoff natürlich in der Polymerlösung.

[0019] Dies ist analog zu einem Öl-in-Wasser-Emulsionsverfahren zum Bilden von Mikropartikeln, aber ohne den Bedarf für ein organisches Emulgiermittel. In einem traditionellen Verdampfungsverfahren unter Verwendung einer Öl-in-Wasser-Emulsion wird ein bioabbaubares Polymer in organischem Lösungsmittel gelöst und Arzneistoff wird entweder in dem gleichen Lösungsmittel in der Polymerlösung gelöst oder wird in der Polymerlösung dispergiert. Der Arznei-

stoff kann in einer wässrigen Lösung gelöst werden und die wässrige Lösung kann in der Polymer-organisches Lösungsmittel-Lösung dispergiert werden oder der Arzneistoff kann in der Form eines Trockenpulvers in der Polymerlösung dispergiert werden.

[0020] In einem herkömmlichen Öl-in-Wasser-Emulsionsverfahren wird die Arzneistoff-Polymeröl-Phase in einer wässrigen Lösung unter Zuhilfenahme eines grenzflächenaktiven Mittels oder Emulgiermittels dispergiert. Das grenzflächenaktive Mittel oder Emulgiermittel ist zum Kleinhalten der Tropfengröße und folglich der Mikropartikelgröße notwendig.

[0021] Der Erfinder hat gefunden, dass Hydroxyapatit-Gel auch Arzneistoff-Polymer-Phasentropfen vor Zusammenballung schützen kann, was konsistente und kleine Mikropartikel ergibt. Die Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel werden in guter Ausbeute mit hoher Einkapselungseffizienz des Arzneistoffes hergestellt. Die Partikelgröße ist konsistent. Da kein Poly(vinylalkohol) oder anderes Emulgiermittel verwendet werden muss, können die Mikropartikel so hergestellt werden, dass sie nicht mit anhaftendem Poly(vinylalkohol) kontaminiert sind. Das Verfahren verwendet kostengünstige Materialien und kann einfach im Maßstab vergrößert werden. Die verfestigten Mikropartikel können einfach durch Lösen des Hydroxyapatits mit Säure und dann Gewinnen der Mikropartikel durch Zentrifugation oder Filtration aus der klaren wässrigen Lösung gewonnen werden.

[0022] Das Verfahren kann zum Einschließen von Peptid-Arzneistoffen, Protein-Arzneistoffen und kleinen Molekül-Arzneistoffen verwendet werden. Sowohl kationische als auch anionische kleine Molekül-Arzneistoffe wurden unter Verwendung des Verfahrens erfolgreich in Mikropartikeln eingeschlossen.

[0023] Hydroxyapatit ist ein bevorzugtes anorganisches Gel zur Verwendung in dem Verfahren. Aber andere anorganische Gele können auch verwendet werden.

[0024] Bevorzugt kann das anorganische Gel durch Säure gelöst werden. Bevorzugt umfasst der Schritt des Gewinnens der Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel aus der Dispersion das Geben von Säure zu der Dispersion, um das anorganische Gel zu lösen.

[0025] Andere Apatite als Hydroxyapatit können auch als das anorganische Gel verwendet werden. In besonderen Ausführungsformen ist das anorganische Gel Fluorapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$), Chlorapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$), Iodapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{I}$) oder Carbapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$).

[0026] $\text{Mg}(\text{OH})_2$ und $\text{Al}(\text{OH})_3$ wurden auch getestet und zeigten als das anorganische Gel eine gute Leistung. In anderen speziellen Ausführungsfor-

men ist das anorganische Gel Dihydroxyaluminium-aminoacetat [ein basisches Salz von Aluminium und Glycin, $(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO})\text{Al}(\text{OH})_2$] oder Aluminiumphosphat (AlPO_4).

[0027] Aluminiumphosphat bildet sich durch Geben von Phosphorsäure zu einer Lösung von Aluminiumhydroxid. Es bildet ein Gel bei einem niedrigeren pH-Wert als dies Hydroxyapatit tut, speziell bei einem pH-Wert von etwa 6 bis 7. Es löst sich auch bei einem niedrigen pH-Wert von etwa pH 1 oder 2. Folglich ist es zur Einkapselung von anionischen Arzneistoffen bei niedrigen pH-Werten, wo Carboxylgruppen an den Arzneistoffen teilweise oder vollständig protoniert sind, geeignet.

[0028] In speziellen Ausführungsformen umfasst die Dispersion kein organisches grenzflächenaktives Mittel oder organisches Emulgiermittel, welche die Dispersion von Polymer-Arzneistoff-Tropfen in der wässrigen Suspension unterstützen. Ein grenzflächenaktives Mittel oder Emulgiermittel ist nicht notwendig, da das anorganische Gel die gleiche Funktion übernimmt. Darüber hinaus löst sich das anorganische Gel vollständig mit Säure und kann einfach von den Mikropartikeln abgetrennt werden. Hingegen wird gefunden, dass organische grenzflächenaktive Mittel und Emulgiermittel an den Mikropartikeln gebunden sind.

[0029] So umfasst in besonderen Ausführungsformen die Dispersion keinen Poly(vinylalkohol).

[0030] In einigen Ausführungsformen wird ein Antistatikum zu der Dispersion gegeben, vor der Zugabe von Säure, um das anorganische Gel zu lösen. Beispiele von geeigneten Antistatika sind Poly(vinylalkohol) und Poly(vinylpyrrolidon-co-vinylacetat). Das Antistatikum wird zugegeben, um Aggregation der Mikropartikel zu verhindern. Ohne das Antistatikum können die Mikropartikel aggregieren und sie werden am praktischsten oft durch Filtration gewonnen. Mit dem Antistatikum aggregieren die Mikropartikel nicht so stark, was bedeutet, dass die Mikropartikel kleiner sind. In diesem Fall werden die Mikropartikel am praktischsten normalerweise durch Zentrifugation gewonnen. Aggregation verändert die Größe der Mikropartikel nicht und die aggregierten Mikropartikel können durch physikalische Scherung, wie einige Male Passieren durch eine Injektionsnadel in wässriger Suspension, disaggregiert werden. Sie können auch durch wieder Suspendieren der Mikropartikel in einer wässrigen Lösung, welche ein grenzflächenaktives Mittel enthält, disaggregiert werden. Typischerweise wird ein Tween 20, Tween 40 oder Tween 80 in die Lösung, in welcher Mikropartikel wieder suspendiert werden für Injektion, aufgenommen. Mikropartikel werden auch durch Lyophilisation disaggregiert und typischerweise werden die geernteten Mikropartikel für Lagerung lyophilisiert.

[0031] Poly(vinylalkohol) und andere Polymere können entweder als Antistatika oder als Emulgiermittel dienen. Aber ein Emulgiermittel wird zu der wässrigen Suspension gegeben, vor dem Geben der Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase in herkömmliche Öl-in-Wasser-Emulsionen des Standes der Technik. Es muss vorhanden sein, um die Polymer-Arzneistoff-organisches Lösungsmittel-Tropfen zu emulgieren, bevor sie sich zu Mikropartikeln verfestigen. Hingegen kann ein Antistatikum zugegeben werden, nachdem sich die Mikropartikel gebildet haben, unmittelbar vor dem Ernten der Mikropartikel.

[0032] So umfasst die Dispersion in speziellen Ausführungsformen kein organisches grenzflächenaktives Mittel oder organisches Emulgiermittel, bevor die Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel gebildet werden (das heißt, bevor sich die Polymer-Arzneistoff-Tropfen mit Verdampfen des organischen Lösungsmittels zu Mikropartikeln verfestigen).

[0033] Die Menge von Poly(vinylalkohol), welche als Antistatikum verwendet wird, ist viel niedriger als als Emulgiermittel. In herkömmlichen Öl-in-Wasser-Emulsionen des Standes der Technik liegt Poly(vinylalkohol) in einer Konzentration von 0,25% bis 0,5% (w/v) in der wässrigen Suspension zur Verwendung als Emulgiermittel vor. Der Erfinder hat 0,025 Volumina von 0,5%iger (w/v) Poly(vinylalkohol)-Lösung zu der Dispersion gegeben, unmittelbar vor dem Zugeben von HCl, um das anorganische Gel zu lösen, wobei Poly(vinylalkohol) als ein Antistatikum verwendet wird. So beträgt die Endkonzentration von Poly(vinylalkohol) in der Dispersion in diesem Fall 0,0125%, was viel weniger ist als wenn es als ein Emulgiermittel verwendet wird.

[0034] So umfasst die Dispersion in speziellen Ausführungsformen nicht mehr als 0,05 Gew.-% oder nicht mehr als 0,02 Gew.-% organisches grenzflächenaktives Mittel, organisches Emulgiermittel oder organisches Antistatikum.

[0035] Zwei bevorzugte bioabbaubare Polymere zur Verwendung in den Verfahren der Erfindung sind Polymilchsäure (PLA) und Polymilchsäure-co-glycolsäure (PLGA). In anderen Ausführungsformen ist das bioabbaubare Polymer Polyglycolsäure. In speziellen Ausführungsformen ist das bioabbaubare Polymer ein Polyanhydrid oder ein Poly-ortho-ester.

[0036] Das Verfahren ist sowohl mit hydrophoben als auch hydrophilen Arzneistoffen wirksam. Hydrophobe Arzneistoffe können mit dem Polymer in dem organischen Lösungsmittel co-gelöst werden. Hydrophile Arzneistoffe können zuerst in einem stärker polaren organischen Lösungsmittel, wie Methanol, gelöst werden und dann mit dem Polymer, gelöst in einem weniger polaren Lösungsmittel, wie Dichlormethan, gemischt werden. Alternativ können hydrophi-

le Arzneistoffe in einer wässrigen Lösung gelöst werden, und die wässrige Arzneistoff-Lösung kann in einer organischen Lösungsmittel-Lösung, welche das Polymer enthält, dispergiert werden. Dies bildet eine Wasser-in-Öl-Dispersion für die Arzneistoff-Polymer-Phase. Hydrophile Arzneistoffe können auch direkt als ein festes Pulver in einer Polymerlösung in einem organischen Lösungsmittel dispergiert werden.

[0037] Jedwedes geeignete organische Lösungsmittel kann für die Polymer-Arzneistoff-Phase verwendet werden. Diese schließen Dichlormethan, Ethylacetat, Acetonitril und Methanol und Gemische davon ein. Das organische Lösungsmittel sollte mindestens ein organisches Lösungsmittel, welches mit Wasser nicht mischbar ist, wie Dichlormethan oder Ethylacetat, einschließen. Mit Wasser mischbare Lösungsmittel wie Methanol oder Acetonitril können mit dem nicht mit Wasser mischbaren Lösungsmittel gemischt werden. Ein mit Wasser mischbares Lösungsmittel kann verwendet werden, um das Lösen von hydrophilen Arzneistoffen zu unterstützen, um den Arzneistoff in die Ölphase in der Dispersion zu bringen.

[0038] Der Erfinder hat gefunden, dass die beste Einkapselungseffizienz und Mikropartikelausbeute mit basischem Amin-enthaltenden Arzneistoffen, einschließlich Leuprolid und Verapamil-HCl, Nicardipin-HCl, bei einem pH-Wert von etwa 9,0 bis 10,0 erreicht wird. Über einem pH-Wert von 10 beginnen die PLA- und PLGA-Polymere zu hydrolysieren und als Lösungsvermittler zu wirken. Dies erniedrigt die Mikropartikelausbeute. Die basischen Arzneistoffe liegen bei einem pH-Wert von 9 bis 10 in einem weniger ionisierten Zustand vor als sie bei niedrigeren pH-Werten vorliegen, und man nimmt an, dass dies verursacht, dass sie mit den Polymeren besser assoziiert bleiben. Aber sogar bei einem pH-Wert von 7,0 war die Einkapselungseffizienz für Leuprolid 90%. So kann eine Vielzahl von pH-Werten der wässrigen Suspension verwendet werden.

[0039] Bei sauren Carboxyl-enthaltenden Arzneistoffen, einschließlich Piroxicam, Naproxensäure und Salicylsäure, hat der Erfinder gefunden, dass die beste Einkapselungseffizienz bei einem pH-Wert von etwa 5,0 erhalten wird. Man nimmt an, dass dies so ist, weil bei stärker sauren pH-Werten die Säure-Arzneistoffe weniger ionisiert vorliegen, und in dem nicht-ionisierten Zustand assoziieren sie besser mit den Polymeren und neigen nicht so stark zum Abtrennen in die wässrige Phase.

[0040] Unter einem pH-Wert von etwa 5 kristallisiert Hydroxyapatit und in der Kristallform verliert es sein Vermögen, die Zusammenballung der Arzneistoff-Polymer-Phasentropfen zu verhindern. So liegt mit Hydroxyapatit mindestens die wässrige Suspension bevorzugt bei einem pH-Wert von etwa 5 oder höher vor.

[0041] Im Beispiel nachstehend wurden 2 oder 3 mL Arzneistoff-Polymer-Lösung, welche 20% PLGA und 10% Leuprolidacetat enthielt, mit 400 mL wässriger Suspension, welche Hydroxyapatit enthielt, hergestellt mit 6 g CaO, gemischt. Höhere Mengen von Arzneistoff-Polymer-Lösung können mit der wässrigen anorganischen Gel-Suspension gemischt werden, aber höhere Konzentrationen von anorganischem Gel müssen auch verwendet werden. Der Erfinder hat bis zu 100 mL Arzneistoff-Polymer-Lösung, gemischt mit 400 mL wässriger Suspension, welche höhere Mengen von Hydroxyapatit enthielt, verwendet.

[0042] Beim Mischen der Arzneistoff-Polymer-Phase mit der wässrigen Suspension wird anfänglich eine höhere Mischungsgeschwindigkeit verwendet, um kleine Tropfen zu bilden. Im Beispiel nachstehend wurden 5.000 UpM oder mehr für 5 Minuten verwendet. Nach dieser kurzen Zeit von schnellem Mischen, wobei eine Dispersion mit kleinen Arzneistoff-Polymer-Tropfen gebildet wird, wird die Rührgeschwindigkeit erniedrigt auf z. B. 600 UpM. Das Rühren wird für einen längeren Zeitraum, typischerweise eine Stunde oder länger, fortgeführt, um ein Verdampfen des organischen Lösungsmittels zu ermöglichen. Während dieser Zeit bilden sich verfestigte Mikropartikel, wenn das Lösungsmittel verdampft.

[0043] Die Mikropartikelgröße kann durch auf dem Fachgebiet bekannte Verfahren variiert werden. Eine höhere Rührgeschwindigkeit während der Mischungsphase des Mischens der Arzneistoff-Polymer-Phase mit der wässrigen Suspension erzeugt kleinere Tropfen und so kleinere Mikropartikel. Eine niedrigere Polymerkonzentration in der Arzneistoff-Polymer-Phase erzeugt kleinere Partikel, da die niedrigere Polymerkonzentration eine niedriger-viskose Lösung erzeugt, welche zum Bilden von kleineren Tropfen neigt. Längere Polymere werden eine höher-viskose Lösung erzeugen als kürzere Polymere bei der gleichen Konzentration, und so werden längere Polymere zum Herstellen von größeren Mikropartikeln neigen. Das organische Lösungsmittel beeinflusst auch die Mikropartikelgröße. Wenn das Polymer stark in dem Lösungsmittel löslich ist, wird die Arzneistoff-Polymer-Phase niedriger-viskos sein und kleinere Mikropartikel werden gebildet werden. Wenn das Polymer in dem organischen Lösungsmittel weniger löslich ist, werden größere Mikropartikel gebildet werden.

[0044] Jedweder geeignete Arzneistoff kann zu diesen Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikeln formuliert werden. In einer Ausführungsform ist der Arzneistoff ein Protein. In einer anderen Ausführungsform ist der Arzneistoff ein Peptid (z. B. ein Peptid mit 2 bis 50 Aminosäuren in der Länge). In einer anderen Ausführungsform ist der Arzneistoff ein kleines Molekül, z. B. ein Molekül mit einem Molekulargewicht von we-

niger als 1000 oder weniger als 500. In einigen Ausführungsformen ist das kleine Molekül Nicht-Peptidyl.

[0045] In einer Ausführungsform ist der Arzneistoff ein Peptidanalogen des Releasing-Faktors des luteininsierenden Hormons (LHRH). Beispiele von geeigneten LHRH-Peptidanaloga sind Leuprolid, Triptorelin und Goserelin und pharmazeutisch verträgliche Salze davon.

[0046] In speziellen Ausführungsformen ist der Arzneistoff Risperidon, Octreotid, Somatostatin, humaner Wachstumsfaktor, Deslorelin, Buserelin, Felypressin, Gondorelin, Oxytocin, Vasopressin, Fertirelin, Histrelin, Nafarelin, Sincalid, Thymopentinacetat, Naltrexon oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon.

[0047] In anderen Ausführungsformen ist der Arzneistoff Verapamil, Nicardipin, Piroxicam, Naproxensäure, Salicylsäure oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon.

Beispiel

Materialien und Verfahren:

[0048] Leuprolidacetat und Polymilchsäure-co-glycolsäure (PLGA) RG502H oder PLA R202H wurden in einem 24/76(v/v)-Methanol/Dichlormethan-Gemisch bei einer Konzentration von 20% Polymer und 10% Leuprolid (w/v) gelöst, um eine Polymer-Arzneistoff-Lösung herzustellen. Eine wässrige Suspension von Hydroxyapatit wurde durch Lösen von 6 g CaO in 400 mL Wasser hergestellt. Dann wurde Phosphorsäure zugegeben, um den pH-Wert der wässrigen Suspension auf zwischen 9,0 und 10,0 einzustellen. Hydroxyapatit-Gel wurde in situ in der wässrigen Suspension unter diesen Bedingungen durch die Umsetzung $10 \text{ CaO} + 6 \text{ H}_3\text{PO}_4 = \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 8\text{H}_2\text{O}$ gebildet. Die Arzneistoff/Polymer-Lösung (2 oder 3 mL) wurde in dem wässrigen Suspensionsmedium dispergiert. Die Dispersion wurde anfänglich durch eine Mischvorrichtung mit hoher Scherung bei 5.000 UpM oder höher für 5 Minuten homogenisiert. Die Lösungsmittel wurden dann durch Rühren bei 600 UpM für 1 Stunde oder länger abgedampft. Dann wurde langsam konzentrierte HCl zugegeben, bis sich das Hydroxyapatit löste und sich die Suspension klärte. Hydroxyapatit wird durch die Umsetzung $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{HCl} = 10\text{CaCl}_2 + 6\text{H}_3\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ gelöst. Die verfestigten Mikropartikel wurden durch Zentrifugation und Filtration gewonnen.

Ergebnisse und Diskussion:

[0049] Die PLA- und PLGA-Mikropartikel wurden untersucht und mikroskopisch fotografiert (Daten nicht gezeigt). Es wurde gefunden, dass die meisten Mi-

kropartikel im Größenbereich von 10 bis 20 Mikron lagen, was eine Größe ist, die für Injektion geeignet ist.

[0050] Die Einkapselungseffizienz von Leuprolidacetat war 95% oder höher, als der pH-Wert des Suspendiermediums pH 9 bis pH 10 war. Einkapselungseffizienz betrifft die Masse des Arzneistoffes, die in Mikropartikeln wiedergewonnen wird, dividiert durch die Ausgangsmasse des Arzneistoffes in der Polymer-Arzneistoff-Phase. Zur Quantifizierung des Arzneistoffes in Mikropartikeln wurden die Mikropartikel zuerst in einem Ethanol/Dichlorethan(28/72 v/v)-Gemisch gelöst. Der Arzneistoffgehalt der Lösung wurde dann durch Ultraviolett-Absorption gemessen.

[0051] In anderen Experimenten wurde der pH-Wert des Suspendiermediums variiert. Die Einkapselungseffizienz von Leuprolidacetat erniedrigte sich bei einem pH-Wert von 7,0 auf 90% und erniedrigte sich weiter bei niedrigeren pH-Werten. Kleine anionische und kleine kationische Molekül-Arzneistoffe (small molecule drugs) wurden auch getestet. Die Einkapselung von Amin-enthaltenden kationischen Arzneistoffen war bei einem pH-Wert von ungefähr 9,0 bis 10,0 am höchsten. Man nimmt an, dass dies so ist, weil die Aminreste bei erhöhtem pH-Wert größtenteils nicht protoniert sind. Bei niedrigeren pH-Werten, wo die Arzneistoff-Aminreste protoniert sind, sind die Arzneistoffe stärker wasserlöslich und trennen sich so stärker von den Polymer-Arzneistoff-Tropfen ab. Bei anionischen Arzneistoffen, welche Carboxylgruppen enthalten, ist die pH-Wert-Beziehung umgekehrt. Die Carboxylgruppen sind bei niedrigeren pH-Werten nicht ionisiert und deshalb sind diese Arzneistoffe bei niedrigen pH-Werten weniger wasserlöslich. So wurde gefunden, dass die anionischen Arzneistoffe eine bessere Einkapselungseffizienz bei niedrigeren pH-Werten, z. B. bei einem pH-Wert von etwa 5,0, aufweisen. Verapamil-HCl und Nifedipin-HCl waren die getesteten Amin-enthaltenden kleinen Molekül-Arzneistoffe. Piroxicam, Lidocain und Salicylsäure waren die getesteten anionischen kleinen Molekül-Arzneistoffe.

[0052] Über einem pH-Wert von 10 werden PLA- und PLGA-Polymere bis zu einem gewissen Ausmaß hydrolysiert und dies erniedrigt die Ausbeute der Mikropartikel. Ausbeute ist hier definiert als die zurückgewonnene Masse der Mikropartikel dividiert durch die Ausgangsmasse von (Polymer plus Arzneistoff). Bei pH-Werten von unter etwa 5 kristallisiert Hydroxyapatit anstatt ein Gel zu bilden. Ohne das Hydroxyapatit-Gel ballen sich die Polymer-Arzneistoff-Tropfen zusammen und die gebildeten festen Partikel sind zu groß.

[0053] Die Freisetzungskinetiken von Leuprolidacetat aus den PLGA-Mikropartikeln, welche wie hier beschrieben hergestellt wurden, wurden bestimmt und die Ergebnisse sind in **Fig. 1** gezeigt. Die Konzentra-

tion des Arzneistoffes im Überstand wurde durch Ultraviolett-Absorption gemessen. Die Freisetzung von Leuprolidacetat aus PLGA-Mikropartikeln zeigt eine typische Dreiphasen. Eine anfängliche starke Freisetzung tritt aufgrund des schnellen Lösens des Peptids, welches auf der Mikropartikeloberfläche lokalisiert ist, auf, gefolgt von einer zeitlichen Verzögerung von 4 bis 5 Tagen. Nach 4 bis 5 Tagen sind die Mikropartikel im Wesentlichen hydriert und erodieren dann aufgrund des Abbaus des Polymers. Während dem Mittelteil der Kurve findet die Peptidfreisetzung mit nahezu konstanter Geschwindigkeit statt.

[0054] **Fig. 2** vergleicht die Freisetzungskurve von **Fig. 1** für 10% RG 502H mit einer veröffentlichten Freisetzungskurve für Leuprolidacetat aus Mikropartikeln, welche durch eine herkömmliche Öl-in-Wasser-Emulsion mit Poly(vinylalkohol) als Emulgiermittel gebildet wurden (D'Souza et al., 2005, AAPS PHARM. Sci. Tech. 6(4), E553). Die Freisetzungskurven sind nahezu identisch.

[0055] Alle aufgeführten Patente, Patentdokumente und anderen Veröffentlichungen werden hiermit durch Bezugnahme aufgenommen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikeln, umfassend:
 - das Lösen eines bioabbaubaren Polymers in organischem Lösungsmittel, wobei eine Polymerlösung gebildet wird;
 - das Lösen oder Dispergieren eines Arzneistoffes in der Polymerlösung, wobei eine Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase gebildet wird;
 - das Mischen der Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase mit einer wässrigen Suspension, welche ein anorganisches Gel umfasst, wobei eine Dispersion gebildet wird, welche Polymer-Arzneistoff-Tropfen umfasst, dispergiert in der wässrigen Suspension, wobei das anorganische Gel durch Säure gelöst werden kann;
 - das Abdampfen des organischen Lösungsmittels aus der Dispersion, wobei die Polymer-Arzneistoff-Tropfen in Arzneistoff-enthaltende Mikropartikel umgewandelt werden; und
 - das Gewinnen der Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel aus der Dispersion, wobei der Schritt des Gewinnens der Arzneistoff-enthaltenden Mikropartikel aus der Dispersion das Geben von Säure zu der Dispersion, um das anorganische Gel zu lösen, umfasst.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das organische Lösungsmittel ein Gemisch von organischen Lösungsmitteln ist.

3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das organische Lösungsmittel Methanol und Dichlormethan umfasst.

4. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Arzneistoff hydrophob ist.

5. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Arzneistoff hydrophil ist.

6. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Arzneistoff ein Peptid oder Polypeptid ist.

7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei der Arzneistoff Leuprolid ist.

8. Verfahren nach Anspruch 5, wobei der Arzneistoff in einer wässrigen Lösung gelöst wird und die Arzneistoff-enthaltende wässrige Lösung in der Polymerlösung dispergiert wird, um die Polymer-Arzneistoff-Lösungsmittel-Phase zu bilden.

9. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das anorganische Gel ein Apatit ist.

10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei das Apatit Hydroxyapatit ist.

11. Verfahren nach Anspruch 9, wobei das Apatit Carbapatit, Fluorapatit oder Chlorapatit ist.

12. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das anorganische Gel Dihydroxyaluminiumaminoacetat, $\text{Al}(\text{OH})_3$, AlPO_4 oder $\text{Mg}(\text{OH})_3$ ist.

13. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Dispersion kein organisches grenzflächenaktives Mittel oder organisches Emulgiermittel, das die Dispersion von Polymer-Arzneistoff-Tropfen in der wässrigen Suspension unterstützt, umfasst.

14. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Dispersion keinen Poly(vinylalkohol) umfasst.

15. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Dispersion nicht mehr als 0,05 Gew.-% organisches grenzflächenaktives Mittel, organisches Emulgiermittel oder organisches Antistatikum umfasst.

16. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das bioabbaubare Polymer Polymilchsäure oder Polyglycolsäure oder Polymilchsäure-co-glycolsäure) ist.

17. Arzneistoff-enthaltende Mikropartikel, hergestellt durch das Verfahren nach Anspruch 1.

18. Arzneistoff-enthaltende Mikropartikel nach Anspruch 17, wobei die Dispersion kein organisches grenzflächenaktives Mittel oder organisches Emulgiermittel, das die Dispersion von Polymer-Arzneistoff-Tropfen in der wässrigen Suspension unterstützt, umfasst.

stoff-Tropfen in der wässrigen Suspension unterstützt, umfasst.

19. Arzneistoff-enthaltende Mikropartikel nach Anspruch 17, wobei die Dispersion nicht mehr als 0,05 Gew.-% organisches grenzflächenaktives Mittel, organisches Emulgiermittel oder organisches Antistatikum umfasst.

Es folgen 2 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

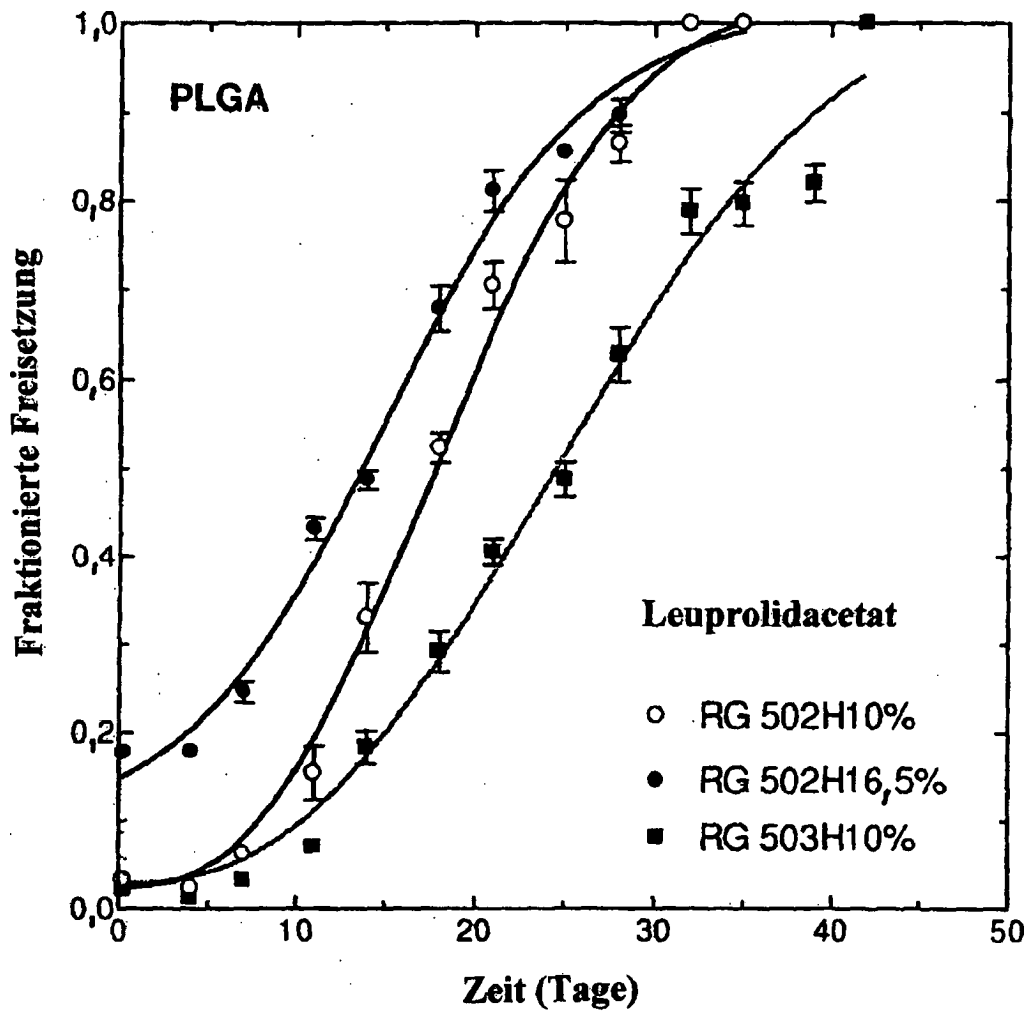


FIG. 1

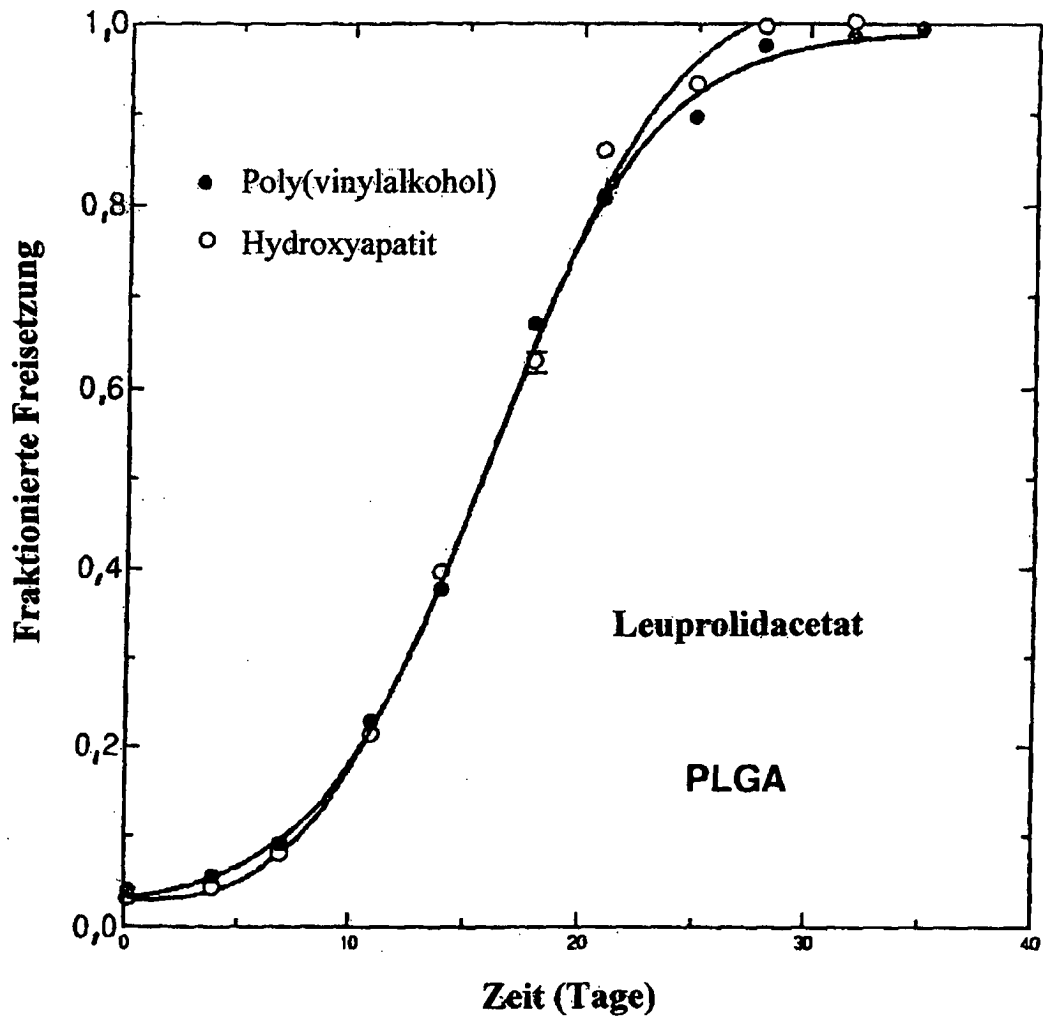


FIG. 2