

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: <b>2014.06.18</b>	(73) Titular(es): <b>PHARMATHEN S.A.</b> <b>6, DERVENAKION STR. 15351 PALLINI ATTIKIS</b> <b>GR</b>
(30) Prioridade(s): <b>2013.06.20 WO</b> <b>PCT/EP2013/001821</b>	
(43) Data de publicação do pedido: <b>2016.04.27</b>	(72) Inventor(es): <b>EVANGELOS KARAVAS</b> GR <b>EFTHYMIOS KOUTRIS</b> GR <b>SOTIRIA HAITIDOU</b> GR <b>THEOFANIS MANTOURLIAS</b> GR <b>GEORGIA PAPANIKOLAOU</b> GR
(45) Data e BPI da concessão: <b>2017.07.26</b> <b>172/2017</b>	(74) Mandatário: <b>VASCO STILLWELL DE ANDRADE</b> <b>RUA CASTILHO, 165 1070-050 LISBOA</b> <b>PT</b>

(54) Epígrafe: **PREPARAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS POLILACTIDA-POLIGLICOLIDA COM UM PERFIL DE LIBERTAÇÃO SIGMOIDE**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO RELACIONA-SE COM A PREPARAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS BIODEGRADÁVEIS FORMADAS A PARTIR DE POLÍMERO DE COPOLÍMEROS POLILACTIDA-POLIGLICOLIDA (PLGA) E COM A FORMA DE ALCANÇAR A LIBERTAÇÃO SIGMOIDE DO COMPOSTO FARMACÊUTICO ATIVO A PARTIR DAS MICROPARTÍCULAS. EM PARTICULAR, A PRESENTE INVENÇÃO RELACIONA-SE COM A EMULSIFICAÇÃO DE UMA FASE OLEOSA/INTERIOR PARA UMA FASE AQUOSA/EXTERIOR SEGUIDA POR ARREFECIMENTO E UMA ÚNICA ETAPA DE SECAGEM PARA A PREPARAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS COM UM PERFIL DE LIBERTAÇÃO PREFERIDO DE, PREFERENCIALMENTE, COMPOSTOS BÁSICOS/NUCLEOFÍLICOS, TAL COMO RISPERIDONA. EM ALTERNATIVA, A PRESENTE INVENÇÃO É IGUALMENTE ADEQUADA PARA COMPOSTOS HIDROFÓBICOS QUE TÊM FRACA SOLUBILIDADE EM ÁGUA E QUANDO É NECESSÁRIO UM ELEVADO CARREGAMENTO DE FÁRMACO DE >20 % EM PESO. O PERFIL DE LIBERTAÇÃO PODE SER CONTROLADO ATRAVÉS DO AJUSTE DO GRAU DE SATURAÇÃO DA FASE AQUOSA/EXTERIOR COM O SOLVENTE ORGÂNICO UTILIZADO NA FASE OLEOSA/INTERIOR, A CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO DA FASE OLEOSA/INTERIOR E A TEMPERATURA NA ETAPA DE ARREFECIMENTO. EM PARTICULAR, UMA FASE DE LATÊNCIA INICIAL E UM PERFIL DE LIBERTAÇÃO SUBSTANCIALMENTE SIGMOIDE SÃO ALCANÇADOS UTILIZANDO UMA FASE AQUOSA EXTERIOR SUPERSATURADA COM O SOLVENTE UTILIZADO NA FASE INTERIOR NA ETAPA DE EMULSIFICAÇÃO, EM CONJUNTO COM UMA BAIXA TEMPERATURA DURANTE O ARREFECIMENTO.

## RESUMO

**PREPARAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS POLILACTIDA-POLIGLICOLIDA COM UM PERFIL DE LIBERTAÇÃO SIGMOIDE**

A presente invenção relaciona-se com a preparação de micropartículas biodegradáveis formadas a partir de polímero de copolímeros polilactida-poliglicolida (PLGA) e com a forma de alcançar a liberação sigmoide do composto farmacêutico ativo a partir das micropartículas. Em particular, a presente invenção relaciona-se com a emulsificação de uma fase oleosa/interior para uma fase aquosa/exterior seguida por arrefecimento e uma única etapa de secagem para a preparação de micropartículas com um perfil de liberação preferido de, preferencialmente, compostos básicos/nucleofílicos, tal como risperidona. Em alternativa, a presente invenção é igualmente adequada para compostos hidrofóbicos que têm fraca solubilidade em água e quando é necessário um elevado carregamento de fármaco de >20 % em peso. O perfil de liberação pode ser controlado através do ajuste do grau de saturação da fase aquosa/exterior com o solvente orgânico utilizado na fase oleosa/interior, a concentração de polímero da fase oleosa/interior e a temperatura na etapa de arrefecimento. Em particular, uma fase de latência inicial e um perfil de liberação substancialmente sigmoide são alcançados utilizando uma fase aquosa exterior supersaturada com o solvente utilizado na fase interior na etapa de emulsificação, em conjunto com uma baixa temperatura durante o arrefecimento.

## DESCRIÇÃO

### PREPARAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS POLILACTIDA-POLIGLICOLIDA COM UM PERFIL DE LIBERTAÇÃO SIGMOIDE

#### CAMPO TÉCNICO DA INVENÇÃO

A presente invenção relaciona-se com a preparação de micropartículas biodegradáveis formadas a partir de polímero poli(D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) e com a forma de alcançar a liberação sigmoide de compostos farmacêuticos ativos a partir das micropartículas. Em particular, a presente invenção relaciona-se com a emulsificação de uma fase oleosa/interior para uma fase aquosa/exterior seguida por arrefecimento e uma única etapa de secagem para a preparação de micropartículas com um perfil de liberação preferido de, preferencialmente, compostos básicos/nucleofílicos, tal como risperidona. Em alternativa, a presente invenção é igualmente adequada para compostos hidrofóbicos que têm fraca solubilidade em água e quando é necessário um elevado carregamento de fármaco de >20 % em peso. O perfil de liberação pode ser controlado através do ajuste do grau de saturação da fase aquosa/exterior com o solvente orgânico utilizado na fase oleosa/interior e da temperatura na etapa de arrefecimento. Em particular, uma fase de latência inicial e um perfil de liberação substancialmente sigmoide são alcançados utilizando uma fase aquosa exterior supersaturada com o solvente utilizado na fase interior na etapa de emulsificação, em conjunto com uma baixa temperatura durante o arrefecimento.

#### ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Apesar de a literatura se focar nos desafios consideráveis com depósitos injetáveis para biomacromoléculas, os compostos hidrofóbicos são uma classe extremamente significativa de substâncias de fármaco e

representam desafios únicos por direito próprio. Estima-se que até 40 % de todas as novas entidades químicas mostrem fraca solubilidade. O termo "composto hidrofóbico" descreve aproximadamente um grupo heterogêneo de pequenas moléculas (menos de 1300) que apresentam uma fraca solubilidade em água, mas que são habitualmente, mas certamente não sempre, solúveis em vários solventes orgânicos. Muitas vezes, os termos ligeiramente solúveis (1 a 10 mg/ml), muito ligeiramente solúveis (0,1 a 1 mg/ml) e praticamente insolúveis (<0,1 mg/ml) são utilizados para categorizar esses compostos. Adicionalmente, "composto básico" significa que quando o composto é dissolvido em água, o mesmo fornece uma solução com atividade de íão de hidrogênio superior à da água pura e um pH de mais de 7,0. O composto básico pode igualmente ser um composto hidrofóbico.

As formas de dosagem de libertação controlada melhoram a eficácia da terapia com fármacos aumentando a atividade terapêutica ao mesmo tempo que reduzem a intensidade dos efeitos secundários e o número de administração de fármacos necessário durante o tratamento. Para determinados fármacos que (i) têm uma vasta janela terapêutica, (ii) necessitam de uma baixa dose diária e (iii) irão ser utilizados para o tratamento a longo prazo da doença, os depósitos de libertação controlada injetáveis, tais como micropartículas de polímero biodegradáveis carregadas de fármaco, podem fornecer essa estratégia de entrega alternativa, potencialmente libertando um fármaco que de outro modo não pode ser entregue.

As micropartículas biodegradáveis (microcápsulas e microesferas) com um diâmetro que varia entre cerca de 10 e 125  $\mu\text{m}$  podem servir satisfatoriamente como sistemas de entrega de fármaco de libertação prolongada. As micropartículas compreendidas por determinados agentes terapêuticos e matrizes biodegradáveis adequadas podem ser

suspensas num diluente viscoso e injetadas de forma intramuscular (IM) ou subcutânea.

Vários polímeros biodegradáveis foram utilizados para a libertação controlada de fármacos diferentes. A seleção e a conceção de um polímero biodegradável adequado é a primeira etapa desafiante para o desenvolvimento de um sistema de entrega de fármaco parentérica. Foram propostas diversas classes de polímeros sintéticos, que incluem poli(éster)es, poli(anidrido)s, poli(carbonato)s, poli(aminoácido)s, poli(amida)s, poli(uretano)s, poli(orto-éster)es, poli(iminocarbonato)s e poli(fosfazeno)s.

É conhecida uma variedade de métodos através dos quais os compostos hidrofóbicos podem ser encapsulados na forma de micropartículas (Christian Wischke e Steven P. Schwendeman, "Principles of encapsulating hydrophobic compounds in PLA/PLGA microparticles", *International Journal of Pharmaceutics* 364 (2008) 298 a 327). Os mais bem estabelecidos são resumidos abaixo:

- técnica de emulsão o/w (oil-in-water - óleo em água) (extração e/ou evaporação de solvente)

Uma vez que um número considerável de compostos hidrofóbicos são solúveis em vários solventes orgânicos imiscíveis em água e, obviamente, são insuficientemente solúveis em água, um dos métodos mais simples para encapsular esses fármacos em polímeros biodegradáveis é através da técnica de extração e/ou evaporação de solvente/emulsão de óleo em água (o/w). O processo o/w envolve a dissolução do polímero (na maioria dos casos PLGA) num solvente orgânico volátil imiscível em água (tal como diclorometano (DCM), tetrahidrofurano (THF) e acetato de etilo) e, em seguida, a dissolução do composto na solução preparada ou a dissolução alternativa do composto num cossolvente miscível e a mistura. Os cossolventes são geralmente utilizados para fármacos que não mostram uma elevada solubilidade no solvente orgânico primário. A fase

oleosa orgânica resultante é depois emulsionada numa solução aquosa (fase contínua) que contém um emulsionante apropriado. Os emulsionantes incluídos na fase aquosa funcionam como estabilizadores para a emulsão de óleo em água. A emulsão é depois submetida à remoção de solvente através do processo de evaporação ou extração para solidificar as gotículas de óleo. Em geral, os solventes voláteis podem ser removidos dessas emulsões por evaporação até uma fase gasosa ou em qualquer caso por extração até à fase contínua. No caso anterior, a emulsão é mantida em pressão reduzida ou em pressão atmosférica e a taxa de agitação é reduzida enquanto a temperatura é aumentada para permitir a evaporação do solvente volátil. No último caso, a emulsão é transferida para uma grande quantidade de água (com ou sem tensioativo) ou outro meio de arrefecimento, no qual o solvente associado às gotículas de óleo é difundido. A combinação de extração e evaporação de solvente é igualmente aplicável. As microesferas sólidas assim obtidas são depois lavadas e recolhidas mediante crivagem. Em seguida, estas são secas numa condição apropriada, tal como secagem por vácuo, ou liofilizadas.

- técnica de emulsão s/o/w (solid-in-oil-in-water - sólido em óleo em água)

Esta técnica é habitualmente utilizada quando o fármaco não pode ser dissolvido num solvente de portador ou numa mistura de solventes, ou não é possível evitar a perda de fármaco extensa até à fase contínua ao empregar sistemas de cossolvente. Neste método, a substância de fármaco é dispersada na fase oleosa que consiste no solvente orgânico ou na mistura de solventes e no polímero dissolvido nesta fase. Devido a uma baixa, mas distinta, solubilidade de determinados agentes ativos no solvente orgânico, uma determinada porção do fármaco poderá igualmente encontrar-se na solução em formulações s/o/w. O método s/o/w necessita de um tamanho de partículas de fármaco muito

baixo de modo a permitir um encapsulamento completo dos cristais de fármaco. Além da necessidade de material de fármaco de tamanho pequeno, outras desvantagens da técnica s/o/w poderão ser a tendência do fármaco para mostrar sedimentação (densidade superior em comparação com o meio de suspensão) ou flutuação (causada por aderência de bolhas de gás à superfície hidrofóbica devido a baixa capacidade de humidificação) durante o processo de encapsulamento e, nos últimos estádios do desenvolvimento do produto, podem igualmente esperar-se dificuldades durante o aumento do fabrico em grande escala. É esperado que as alterações, que poderão resultar de mudanças na síntese do fármaco, p. ex., na estrutura de cristais do fármaco ou no comportamento de humidificação, afetem o perfil de libertação das partículas s/o/w. Além disso, poderão aparecer diferenças na libertação em comparação com as microesferas densas que foram preparadas através da técnica o/w, e as diferenças mostram uma distribuição de fármaco homogénea.

- método o/o (ore/oil - minério/óleo)

Embora sejam classificadas como compostos hidrofóbicos, algumas substâncias ativas apresentam uma solubilidade considerável em meios aquosos como as fases aquosas externas. Por conseguinte, espera-se que os métodos o/w resultem em eficiências de baixo encapsulamento devido a um fluxo do agente ativo desde a fase dispersada até ao volume maior da fase contínua durante o processo de encapsulamento. Para superar este problema, é possível utilizar métodos de emulsão o1/o2. A substância de fármaco e o polímero são dissolvidos num solvente orgânico (p. ex., acetonitrilo) e, em seguida, a solução é emulsionada numa fase contínua que consiste numa solução de um emulsionante (HLB habitualmente <8) em óleo, p. ex., óleo de algodão ou óleo mineral. O solvente de fase o1 (isto é, acetonitrilo) é extraído na fase oleosa externa (solubilidade de acetonitrilo em 10 % de óleo de algodão) que deveria ser um

não solvente tanto para o polímero como para o fármaco. Os métodos alternativos dizem respeito à técnica s/o/o que combina os conceitos das metodologias s/o/w e o/o. Contudo, relativamente aos métodos realizados em óleo, a remoção da fase contínua necessita de um tratamento especial, p. ex., a lavagem das partículas com hexano ou éter de petróleo. O processo de emulsificação pode ser alcançado através da agitação mecânica, misturadores de alto cisalhamento e/ou misturadores estáticos.

- Secagem por pulverização

As micropartículas são obtidas através de pulverização de uma solução ou suspensão de um fármaco numa solução orgânica do polímero. A secagem por pulverização é definida como a transformação de uma alimentação de um estado fluido (solução ou dispersão) numa forma de partículas secas através da pulverização da alimentação num meio de secagem gasosa quente (p. ex., ar quente). Trata-se de uma operação de processamento de etapa única contínua na qual podem distinguir-se quatro fases diferentes, nomeadamente: atomização da alimentação, mistura de pulverização e ar, evaporação de solvente e separação do produto. Vários sistemas de atomização estão disponíveis, que podem ser classificados de acordo com a conceção do bocal como atomização centrífuga, atomização por pressão e atomização de dois fluidos. A técnica de secagem por pulverização pode superar o problema de grandes volumes da fase aquosa contaminada por solvente que resultam dos métodos de encapsulamento baseados na emulsão, apesar de enfrentar problemas de escalabilidade relacionados com a transferência de tecnologia de produção em escala pequena para grande.

Existe um conjunto de provas substancial que suporta a hipótese de a libertação do fármaco a partir de sistemas parentéricos de libertação constante ser predominantemente controlada pelas características do sistema de entrega e

dependente essencialmente de uma combinação de difusão (fase inicial) e erosão hidrolítica (última fase) (Cheng-ju Kim, "Controlled Release Dosage Form Design", publicações TECHNOMIC publications; Xiaoling Li, Bhaskara R. Jasti, "Design of Controlled Release Drug Delivery Systems", McGraw-Hill). Os perfis de libertação são habitualmente ilustrados como a libertação cumulativa, expressada como uma percentagem da quantidade total de agente ativo presente nas micropartículas, como uma função de tempo. As aplicações clínicas diferentes, e/ou diferentes agentes ativos, podem necessitar de diferentes tipos de perfis de libertação. Por exemplo, um tipo de perfil de libertação inclui um perfil de libertação substancialmente linear ao longo do tempo. Outro tipo de perfil de libertação é um perfil de libertação sigmoide caracterizado por uma fase de latência inicial, uma fase de libertação intermédia abrupta e uma fase de libertação final uniforme.

O mecanismo de libertação de fármaco a partir de micropartículas PLGA mostrou ser uma combinação de erosão de polímero e difusão de fármaco (N. Faisant *et al.*, "PLGA-based microparticles: elucidation of mechanism and a new, simple mathematical model quantifying drug release", *Eur. J. Pharm. Ací.*, 15 (2002) 355 a 366). Uma variável crítica que afeta o perfil de libertação do produto de micropartículas biodegradáveis corresponde ao peso molecular do material de matriz de polímeros ou polimérica no produto de micropartículas final. O peso molecular de um polímero influencia a taxa de biodegradação do polímero. Para um mecanismo de difusão de libertação de agente ativo (controlado por difusão), o polímero deve permanecer intacto até todo o agente ativo ser libertado das micropartículas, e depois degrada-se. O agente ativo pode igualmente ser libertado das micropartículas à medida que o material de matriz polimérica se corrói microbiologicamente (controlado por degradação). Através de uma seleção

apropriada de materiais poliméricos, é possível efetuar uma formulação de micropartículas na qual as micropartículas resultantes apresentam propriedades tanto de libertação por difusão como de libertação por biodegradação.

A libertação de fármacos a partir de micropartículas PLGA biodegradáveis de tamanho de partícula  $>10 \mu\text{m}$  é controlada por erosão em massa/matriz e estes sistemas são selecionados quando são necessários perfis de libertação sigmoide (M. Körber, "PLGA Erosion: Solubility- or Diffusion-Controlled?", *Pharm Res* (2010) 27:2414 a 2420). A cadeia de polímeros de polímero insolúvel em água é decomposta em moléculas mais pequenas solúveis em água através da hidrólise de ligações éster lábeis na estrutura polimérica. Em seguida, o fármaco dispersado fisicamente nos intervalos da matriz de polímeros é libertado. Os subprodutos da degradação de polímeros são ácidos lácticos e glicólicos, que se encontram geralmente em ciclos metabólicos no corpo. Espera-se que a libertação de fármaco comece após um tempo de atraso quando o polímero  $M_w$  desce abaixo de um valor crítico onde pode ocorrer a perda de massa. Diferentes tipos de polímero são conhecidos por necessitarem de diferentes tempos para a degradação completa, com maior peso molecular e um teor de lactida particularmente mais elevado e, no caso de l- ou d-PLA, estruturas cristalinas em vez de amorfas, resultando numa degradação mais lenta e numa libertação mais lenta esperada. Em general, a libertação de fármaco a partir de um sistema controlado por matriz não fornece cinética de ordem zero, salvo se forem utilizados processos de fabricação intrincados no fabrico (p. ex., distribuição de concentração não uniforme, modificação de geometria, etc.).

Os perfis de libertação inesperada antecipada e/ou quase linear a partir de micropartículas PLGA foram observados relativamente a substâncias de fármaco básicas/nucleofílicas (p. ex., composto transportando

grupos amino terciários) (H.V. Maulding et al., "Biodegradable microcapsules: acceleration of polymeric excipient hydrolytic rate by incorporation of a basic medicament", *Journal of Controlled Release* 3 (1986) 103 a 117; Y. Chsn e C.G. Pitt, "The acceleration of degradation-controlled drug delivery form polyester microspheres", *Journal of Controlled Release* 8 (1989) 259 a 265). A libertação de fármaco muito rápida (observada tanto *in vitro* como *in vivo*) é atribuída à aceleração da degradação hidrolítica da matriz de polímeros (clivagem hidrolítica das ligações éster de cadeia de polímeros) causada pelas substâncias de fármacos básicas (hidrólise catalisada por base). Os exemplos dessas substâncias de fármaco que induzem a hidrólise dos polímeros PLGA incluem, mas não se limitam a, cloridrato de tioridazina, cetotifeno, cinarizina, indenorol, clonidina, naltrexona, merepidina, metadona, prometazina e risperidona. Foi provado que a acessibilidade estérica do nitrogénio de amina não solvatado do composto definiu a respetiva eficácia catalítica, e o grau de aceleração de cisão de cadeia de polímeros foi proporcional à concentração inicial da base (% de carregamento de fármaco) na matriz de polímeros. Em particular, foi incorporada tioridazina HCl nas microesferas PLGA resultando na ocorrência de uma libertação quase imediata tanto *in vitro* como *in vivo* contrariamente aos resultados esperados com um polímero como PLGA que se degrada em cerca de um ano e liberta fármacos durante semanas a meses. Outra amina, cetotifeno, foi empregue na criação de microesferas com PLGA, e foram observados resultados de libertação *in vitro* análogos. As taxas de degradação acelerada relacionadas com a libertação rápida foram igualmente observadas relativamente a micropartículas que contêm meredipina, metadona e prometazina.

Outro composto ativo que induz a hidrólise de

estruturas de poliésteres, tais como polímeros PLGA, corresponde a Risperidona. A risperidona (igualmente conhecida como 4-[2-[4-(6-fluorobenzo[d]isoxazol-3-il)-1-piperidil]etil]-3-metil-2,6-diazabicyclo[4.4.0]deca-1,3-dien-5-ona e comercializada com o nome RISPERDAL®) é uma medicação antipsicótica atípica indicada para o tratamento de esquizofrenia. O produto risperidona encontra-se igualmente disponível no mercado como depósito parentérico de libertação constante com o nome comercial RISPERDAL CONSTA. O produto risperdal consta consiste num frasco que contém as microesferas para suspensão de depósito e numa seringa previamente cheia que contém um solvente adequado para suspensão. O pó sólido de micropartículas é misturado com diluente para se tornar uma suspensão que é fornecida de duas em duas semanas de forma intramuscular. O perfil de libertação *in vivo* de Risperdal consta é conforme apresentado em seguida: padrão de libertação trifásico clássico com um baixo efeito de rebentamento ( $\leq 3,5\%$ ), um período latente de 4 semanas sem nenhuma libertação, e a libertação de fármaco preponderante entre as semanas 4 e 6.

Os estudos de degradação de micropartículas PLGA que contém risperidona em comparação com micropartículas de placebo (sem risperidona) revelaram que a presença de risperidona acelera a taxa de degradação de polímeros PLGA (F. Selmin, P. Blasi e P. P. DeLuca, "Accelerated Polymer Biodegradation of Risperidone Poly(D, L-Lactide-Co-Glycolide) Microspheres", *AAPS PharmSciTech*, Vol. 13, N.º 4 (2012) 1465 a 1472). O efeito hidrolítico da risperidona foi igualmente observado durante a preparação de micropartículas quando a risperidona e o polímero PLGA são codissolvidos em solvente orgânico para preparar a fase oleosa a ser emulsionada na fase contínua aquosa. A Patente EP1282404 fornece um método para o controlo do peso molecular de um polímero que forma micropartículas que contém um composto nucleofílico através do ajuste do tempo

de retenção e da temperatura da solução de polímeros/composto nucleofílico durante o processo de fabrico. A aceleração da matriz polimérica de micropartículas através da presença da substância risperidona resulta numa rápida libertação de fármaco e muitas vezes em perfis de libertação lineares indesejados.

Deste modo, existe uma necessidade na técnica de um método melhorado para o controlo do perfil de libertação no produto de micropartículas acabado que contém compostos nucleofílicos/básicos, tal como risperidona. Em alternativa, a presente invenção é igualmente adequada para compostos hidrofóbicos que têm fraca solubilidade em água e quando é necessário um elevado carregamento de fármaco de >20 % em peso. A Patente EP-B-1140029 reivindica um método para a preparação de micropartículas PLGA que contém risperidona com um perfil de libertação de formato em "s" através do ajuste do grau de secagem que é efetuado durante a preparação das micropartículas. Em particular, a patente divulga que as etapas de secagem intermédias adicionais das partículas podem fornecer um perfil de libertação sigmoide. Contudo, este método aumenta o número das etapas de processamento e complica o fabrico e aumenta os riscos quando os produtos de micropartículas se destinam à utilização humana e a produção deve ocorrer em condições assépticas.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção relaciona-se com a preparação de micropartículas poliméricas biodegradáveis que apresentam perfis de libertação desejados de Risperidona que tendem a acelerar a taxa de degradação da matriz de polímeros que causa libertação de fármaco linear e/ou antecipada descontrolada. Em alternativa, a presente invenção é igualmente adequada quando é necessário um elevado carregamento de Risperidona de >20 % em peso. Mais particularmente, a presente invenção relaciona-se com a

preparação de micropartículas PLGA que contêm risperidona, que seguem um perfil de libertação sigmoide caracterizado por uma fase de latência inicial, uma fase de libertação intermédia abrupta e uma fase de libertação final uniforme. Num outro aspeto, a presente invenção relaciona-se com a preparação de micropartículas carregadas com risperidona que libertam menos de 10 % de substância de fármaco em 20 dias, 50 % no dia 30 e no dia 35 e mais de 80 % até ao dia 40 quando a dissolução é efetuada a 37 °C (condições normais). Num aspeto, a presente invenção compreende um processo para a preparação de micropartículas biodegradáveis de polímero poli(D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) tendo um perfil de libertação sigmoide de Risperidona, contido dentro das micropartículas, compreendendo as seguintes etapas:

- a. preparação de uma fase oleosa interior através da dissolução do polímero PLGA e da Risperidona num solvente orgânico, em que a concentração de polímero da fase oleosa interior varia entre 5 e 8 % em peso;
- b. preparação de uma fase aquosa exterior que consiste em água, álcool polivinílico (PVA), opcionalmente uma solução tampão aquosa para ajustar para um valor em que a Risperidona pareça a solubilidade mais baixa e no mesmo solvente orgânico utilizado na fase oleosa, em que a quantidade de solvente orgânico adicionada na fase exterior é suficiente para saturar a fase exterior;
- c. emulsificação da fase interior para a fase exterior quer por agitação mecânica quer por utilização de um homogeneizador de alto cisalhamento;
- d. transferência da emulsão para um meio de arrefecimento com uma temperatura definida em 5 °C e controlada de forma termostática, e preferencialmente com o volume dos meios de arrefecimento controlado de 0,7 a 3 vezes, preferencialmente 1, do volume necessário para dissolver todo o solvente orgânico fora das microgotículas oleosas

da emulsão;

e. separação das micropartículas endurecidas resultantes e, opcionalmente, lavagem das micropartículas, e

f. secagem das micropartículas numa única etapa de secagem, preferencialmente através de secagem por vácuo, sem mais nenhuma etapa de lavagem e/ou secagem.

Num outro aspeto, a presente invenção compreende um processo para a preparação de micropartículas biodegradáveis de polímero poli(D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) tendo um perfil de libertação sigmoide de Risperidona, contido dentro das micropartículas, compreendendo as seguintes etapas:

a. preparação de uma fase oleosa interior com uma viscosidade de 10 a 1000 cP, através da dissolução do polímero PLGA e da Risperidona num solvente orgânico, em que a concentração de polímero na fase oleosa interior é de 5 a 40 % em peso, preferencialmente é de 5 a 15 % em peso fornecendo uma viscosidade de solução de 10 a 100 cP;

b. preparação de uma fase aquosa exterior que consiste em água, álcool polivinílico (PVA), opcionalmente uma solução tampão aquosa para ajustar para um valor em que a Risperidona pareça a solubilidade mais baixa e no mesmo solvente orgânico utilizado na fase oleosa, em que a quantidade de solvente orgânico adicionada na fase exterior é suficiente para saturar a fase exterior;

c. emulsificação da fase interior para a fase exterior quer por agitação mecânica quer por utilização de um homogeneizador de alto cisalhamento;

d. transferência da emulsão para um meio de arrefecimento com uma temperatura definida que varia entre 30 e 40 °C e controlada de forma termostática, e preferencialmente com o volume dos meios de arrefecimento controlado de 0,7 a 3 vezes, preferencialmente 1, do volume necessário para dissolver todo o solvente orgânico fora das

microgotículas oleosas da emulsão;

e. separação das micropartículas endurecidas resultantes e, opcionalmente, lavagem das micropartículas, e

f. secagem das micropartículas numa única etapa de secagem, preferencialmente secagem por vácuo, sem mais nenhuma etapa de lavagem e/ou secagem.

Noutro aspeto, a presente invenção divulga um processo para a preparação de micropartículas biodegradáveis de polímero poli(D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) tendo um perfil de libertação sigmoide de Risperidona, contido dentro das micropartículas, compreendendo as seguintes etapas:

a. preparação de uma fase oleosa interior com uma viscosidade de 10 a 1000 cP, através da dissolução do polímero PLGA e da Risperidona num solvente orgânico, em que a concentração de polímero na fase oleosa interior é de 5 a 40 % em peso, preferencialmente é de 5 a 15 % em peso fornecendo uma viscosidade de solução de 10 a 100 cP;

b. preparação de uma fase aquosa exterior que consiste em água, álcool polivinílico (PVA), opcionalmente uma solução tampão aquosa para ajustar para um valor em que a Risperidona pareça a solubilidade mais baixa e no mesmo solvente orgânico utilizado na fase oleosa, em que a quantidade de solvente orgânico é adicionada numa quantidade 2 a 10 vezes acima do ponto de saturação;

c. emulsificação da fase interior para a fase exterior quer por agitação mecânica quer por utilização de um homogeneizador de alto cisalhamento;

d. transferência da emulsão para um meio de arrefecimento com uma temperatura definida em 5 °C e controlada de forma termostática, e preferencialmente com o volume dos meios de arrefecimento controlado de 0,7 a 3 vezes, preferencialmente 1, do volume necessário para dissolver todo o solvente orgânico fora das microgotículas oleosas

da emulsão;

e. separação das micropartículas endurecidas resultantes e, opcionalmente, lavagem das micropartículas, e

f. secagem das micropartículas numa única etapa de secagem, preferencialmente através de secagem por vácuo, sem mais nenhuma etapa de lavagem e/ou secagem.

Numa forma de realização específica da presente invenção, é divulgado um processo em que a libertação sigmoide corresponde a um perfil de libertação *in vitro* caracterizado por uma fase de latência inicial, uma fase de libertação intermédia abrupta e uma fase de libertação final uniforme, conforme determinado num aparelho USP-II utilizando como meios de libertação 1000 ml de tampão de solução salina pH 7,4 contendo 0,03 % de azida de sódio, e a temperatura é controlada em 37 °C e a velocidade da pá é definida em 100 rpm.

Noutra forma de realização específica, a libertação sigmoide corresponde a menos de 10 % de fármaco libertado em 20 dias, 35 a 80 % em 30 dias e mais de 80 % até ao dia 34 quando a dissolução é determinada num aparelho USP-II utilizando como meios de libertação 1000 ml de tampão de solução salina pH 7,4 contendo 0,03 % de azida de sódio, e a temperatura é controlada em 37 °C e a velocidade da pá é definida em 100 rpm.

Preferencialmente, o tampão é selecionado a partir de fosfato, citrato, acetato e tampões tris. O pH do tampão é ajustado para um valor em que a risperidona tem uma solubilidade mais baixa. Ao controlar o pH, qualquer fuga do composto para a fase exterior durante a emulsificação e o processo de evaporação e extração de solvente durante a etapa de arrefecimento é minimizada.

A utilização do termo "única etapa de secagem" significa que apenas é necessária uma etapa de secagem para alcançar os benefícios da invenção e que as etapas de secagem e lavagem adicionais não são necessárias.

Preferencialmente, o solvente orgânico da fase aquosa exterior é igual ao utilizado na fase oleosa interior. Adicionalmente, o solvente é adicionado à fase exterior antes da emulsificação. Os solventes preferidos a serem utilizados na fase aquosa interior são selecionados a partir de um ou mais dos seguintes; etilacetato, tetrahydrofurano, acetonitrilo, diclorometano, hexafluoroisopropanol, clorofórmio e acetona. Mais preferencialmente, é utilizado diclorometano na presente invenção.

Uma funcionalidade da presente invenção é o fornecimento de micropartículas que libertam a substância ativa risperidona de uma forma controlada. A presente invenção fornece micropartículas contendo risperidona que libertam risperidona a seguir a um padrão de libertação sigmoide. Uma vantagem da presente invenção é o fato de ser necessário um número limitado de etapas de processamento. A limitação de etapas de processamento é essencial para preparações assépticas, tais como depósitos parentéricos de libertação constante para utilização humana.

#### BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A FIG. 1 ilustra o processo de fabrico.

A FIG. 2 ilustra perfis de libertação *in vitro* das preparações 1a e 1b.

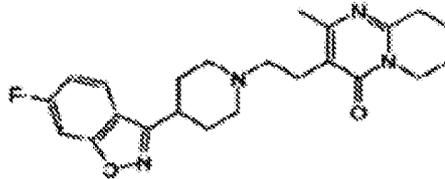
A FIG. 3 ilustra perfis de libertação *in vitro* das preparações 2a a 2e.

A FIG. 4 ilustra o perfil de libertação *in vitro* da preparação 3.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção é direcionada para o sistema de entrega de libertação controlada de risperidona. A risperidona (igualmente conhecida como 4-[2-[4-(6-fluorobenzo[d]isoxazol-3-il)-I-piperidil]etil]-3-metil-2,6-diazabicyclo[4.4.0]deca-1,3-dien-5-ona) é uma medicação antipsicótica atípica indicada para o tratamento de

esquizofrenia. A estrutura química da risperidona é mostrada abaixo:



**Risperidona**

O sistema de entrega refere-se a micropartículas biodegradáveis que consistem no polímero PLGA como material de formação de matriz. Os polímeros adequados que podem ser obtidos comercialmente para a utilização de acordo com a presente invenção incluem, mas não se limitam a, RESOMER® e LAKESHORE BIOMATERIALS de Evonik Industries AG, LACTEL® de Durect Corp., PURASORB® de PURAC Biochem BV. Os polímeros PLGA utilizados na presente invenção podem ter uma relação de ácido lático e ácido glicólico que varia entre cerca de 50:50 e cerca de 85:15 e um peso molecular médio (Mw) que varia entre 20 000 e 400 000. Preferencialmente, a presente invenção utiliza PLGA tendo uma relação de monómero de 75:25 e um peso molecular médio que varia entre 60 000 e 250 000.

O termo micropartículas refere-se ao tamanho de partícula de 10 a 250  $\mu\text{m}$ , mais preferencialmente variando entre 20 e 150  $\mu\text{m}$ . A medição corresponde ao valor D<sub>4,3</sub> (diâmetro médio baseado no volume - conforme medido através de difusão de luz laser - utilizando um dispersante adequado).

As características de libertação controlada referem-se ao perfil de libertação sigmoide caracterizado por uma fase de latência inicial, uma fase de libertação intermédia abrupta e uma taxa de libertação final uniforme. Em particular, o perfil de libertação medido de forma

experimental de micropartículas produzidas tem um formato em "S" substancial e pode incluir satisfatoriamente a seguinte equação:

$$\% \text{ de Libertação} = y_0 + \frac{a}{1 + \exp\left(\frac{-(x-x_0)}{b}\right)}$$

O perfil de libertação refere-se à quantidade ou ao número de agentes ativos que são libertados a partir das micropartículas como uma função de tempo medido através de um método *in vitro* com relevância *in vivo*. Um tipo de método de libertação *in vitro* que simula condições *in vivo* corresponde aos testes de dissolução a 37 °C e ao valor pH de 7,4.

As micropartículas carregadas com risperidona foram fabricadas através de uma técnica simples de extração e/ou evaporação de solvente de emulsificação seguida por uma única etapa de secagem, e o perfil de dissolução desejado foi alcançado através do ajuste dos parâmetros de fabrico. Uma representação esquemática do processo de fabrico é fornecida na FIG. 1.

De acordo com o método proposto, o polímero PLGA é dissolvido num solvente orgânico volátil com baixa miscibilidade com água e a risperidona é depois dissolvida na solução de polímeros. Os solventes orgânicos que podem ser utilizados na presente invenção incluem, mas não se limitam a, etilacetato, tetrahydrofurano, acetonitrilo, diclorometano, hexafluoroisopropanol, clorofórmio e acetona. Mais preferencialmente, é utilizado diclorometano na presente invenção.

Esta mistura é depois emulsionada numa fase exterior que contém álcool polivinílico (PVA) como tensioativo, resultando numa emulsão de óleo em água (o/w).

O álcool polivinílico (PVA) preferencialmente tem um

peso molecular médio de cerca de 10 000 a cerca de 150 000 Da que corresponde a uma variação de viscosidade de 3 a 9 cP quando medida como uma solução aquosa de 4 % em 200 C, 85 a 89 % de grau de hidrólise e número de éster de 130 a 150. Os graus de PVA selecionados que são utilizados na presente invenção incluem Improve PVA 4 a 88 (Mw 25 000 a 30 000; viscosidade de 4 % na água: 3,4 a 4,6 cPs), PVA 8 a 88 (Mw cerca de 65 000; viscosidade de 4 % na água 6,8 a 9,2 cPs) e PVA 18 a 88 (Mw cerca de 130 000; viscosidade de 4 % na água) disponível através de MerckKGaA. A quantidade do tensioativo adicionado à fase aquosa é preferencialmente de, no máximo, 5,0 % (em peso) em relação à massa da solução aquosa. Mais preferencialmente, a quantidade de tensioativo (otimamente a quantidade PVA) é de cerca de 0,5 a cerca de 2,5 % em peso.

Na presente invenção, para além do tensioativo, a fase exterior contém igualmente uma quantidade do solvente orgânico conforme utilizado na preparação da fase interior (preferencialmente diclorometano). A quantidade de solvente orgânico adicionada é suficiente para resultar quer na saturação da solução de tensioativo (isto é, a solubilidade em água de diclorometano é de 1,3 a 1,8 % em peso) quer na formação de uma fase separada (supersaturação). No último caso, a quantidade do solvente adicionado na fase exterior é de 2 a 10 vezes acima do ponto de saturação (significando 2 a 10 vezes a quantidade do solvente que pode ser dissolvida no volume da fase aquosa), mais preferencialmente 4 a 6 vezes acima do ponto de saturação da solução de tensioativo (inclusive do tampão, se presente). Equivalente à supersaturação da fase exterior com o solvente presente utilizado na fase oleosa/interior é a preparação de uma fase oleosa/interior com uma baixa concentração de polímero (abaixo de 10 % em peso).

Em particular, quer a supersaturação da fase exterior quer a preparação de uma fase oleosa/interior com baixa

concentração de polímero resulta na formação de micropartículas carregadas com risperidona tendo uma distribuição desejada da substância de fármaco risperidona na matriz de polímeros. No presente caso, a distribuição de fármaco desejada é referida como substância de fármaco que não se encontra situada perto da superfície da micropartícula de polímero. Mais especificamente, as micropartículas da presente invenção têm um núcleo enriquecido até à substância de fármaco em oposição a uma região esvaziada de API perto da superfície. A superfície das micropartículas não tem substância de fármaco de nenhuma forma (cristalina ou amorfa). A depleção da API da superfície das partículas é experimentalmente avaliada através de análise ATR.

Na presente invenção, a emulsificação da fase interior na fase exterior pode ser efetuada com um dos seguintes meios: i) agitação mecânica, ii) homogeneizador de lotes, iii) homogeneizador em linha. Preferencialmente, o processo de emulsificação ocorre através de agitação mecânica utilizando um propulsor de três lâminas ou um homogeneizador rotor-estator de cisalhamento, tal como Ultra-Turrax disponível em IKA ou um homogeneizador em linha MT-3000 disponível em Kinematica.

A emulsão é depois transferida para uma quantidade suficiente de meios de arrefecimento (água ou tampão aquoso) em agitação contínua, nos quais o solvente associado às gotículas oleosas é difundido. O volume de meios de arrefecimento encontra-se na ordem de 0,7 a 3 vezes o volume de arrefecimento necessário para dissolver completamente todo o solvente orgânico contido na fase interior e exterior (volume saturado). Preferencialmente, o volume de arrefecimento é de 0,8 vezes a 2 vezes o volume saturado. No seguimento da extração, a remoção de solvente pode ser opcionalmente facilitada através de evaporação por aquecimento até uma temperatura de no máximo 40 °C.

As partículas são recolhidas em crivos de aço inoxidável de tamanho de malha de 45  $\mu\text{m}$  e 250  $\mu\text{m}$  dispostos em série. A fração recolhida no tamanho de crivo pequeno é enxaguada com água e finalmente seca sob vácuo.

Os inventores descobriram inesperadamente que o perfil de libertação das micropartículas finais pode ser controlado quer ajustando o grau de saturação da fase aquosa exterior com o solvente orgânico utilizado na fase interior em conjunto com a temperatura apropriada no arrefecimento quer preparando uma fase oleosa/interior de baixa concentração de polímero e uma fase aquosa exterior saturada com o solvente orgânico em conjunto com a temperatura apropriada no arrefecimento. Particularmente, se uma fase exterior supersaturada ou uma fase oleosa/interior de baixa concentração de polímero emulsionada numa fase exterior saturada for combinada com uma temperatura de 5 °C na etapa de arrefecimento, o perfil de libertação das micropartículas preparadas será substancialmente sigmoide com uma fase de latência inicial. O mesmo pode ser alcançado quando uma fase exterior saturada for combinada com uma temperatura que varia entre 30 °C e 40 °C na etapa de arrefecimento. Todas as outras combinações incluindo a fase exterior supersaturada com temperatura aumentada no arrefecimento (isto é,  $T > 5$  °C) ou fase exterior saturada com elevada concentração de polímero de fase oleosa/interior com uma temperatura inferior a 30 °C no arrefecimento resulta em perfis de elevada libertação antecipada e libertação quase linear.

Os inventores acreditam que os parâmetros de processo acima são críticos e definem a densidade das micropartículas finais e a distribuição do fármaco na matriz de polímeros. Ambas as propriedades de qualidade afetam a taxa de degradação e conseqüentemente as características de libertação das micropartículas preparadas.

## EXEMPLOS

Exemplo Inventivo 1a e Exemplo Comparativo 1b

Para a preparação 1a, 841,5 g de 1 % de solução de álcool poli(vinílico) (Álcool polivinílico 4 a 88 EMPROVE® exp, Merck Millipore) são misturados juntamente com 61,2 g de diclorometano, formando uma fase exterior (OP - outer phase) supersaturada.

Para a preparação da fase interior (IP - inner phase), primeiro, 8,1 g de elevada viscosidade inerente (0,76 dl/g) 75:25 poli(D,L lactida-co-glicolida) (comercialmente disponível em Purac com o nome PURASORB PDLG 7507) são dissolvidos em 81 g de diclorometano, formando uma solução de polímero de 10 % (em peso). Em seguida, e após a dissolução completa do polímero, 5,4 g de base de risperidona são adicionados à solução de polímero e misturados para obter uma solução clara. As duas fases são combinadas uma com a outra utilizando um homogeneizador em linha de laboratório (MEGATRON® System MT 3000, Kinematica). A IP e a OP são bombeadas em simultâneo em 16,7 ml/min e 220 mL/min, respetivamente, para dentro do misturador em linha que é definido em 800 rpm. A saída do homogeneizador é introduzida diretamente num meio de arrefecimento composto por 8752 g de água para injeção, 13,5 g de carbonato de sódio anidro e 10,8 g de bicarbonato de sódio anidro em agitação vigorosa (1200 rpm) numa temperatura específica (isto é, 5 °C ou 20 °C). Após 5 horas de arrefecimento, a dispersão formada passa por uma coluna de crivo de aço inoxidável composta por crivos de tamanhos de malha de 45 e 250 µm. As micropartículas retidas no crivo de 45 µm são lavadas cuidadosamente com uma solução de 2000 ml de água para injeção e 800 ml de etanol, de modo a remover a base de risperidona que não foi encapsulada. Finalmente, a etapa final consiste na coleção e na secagem durante aproximadamente 72 horas a 20 °C e em 10 mbar das micropartículas produzidas.

Exemplos Comparativos 2a a 2c e Exemplos Inventivos 2d e 2e

420,75 g de 1 % de solução de álcool poli(vinílico) (Álcool polivinílico 4 a 88 EMPROVE® exp, Merck Millipore) são misturados juntamente com 5,47 g de diclorometano, formando uma fase exterior (OP) saturada.

Para a preparação da fase interior (IP), primeiro, 4,05 g de elevada viscosidade inerente (0,76 dl/g) 75:25 polímero PLGA (comercialmente disponível em Purac com o nome PURASORB PDLG 7507) são dissolvidos em 40,5 g de diclorometano, formando uma solução de polímero de 10 % (em peso). Em seguida, e após a dissolução completa do polímero, 2,7 g de base de risperidona são adicionados à solução de polímero e misturados para obter uma solução clara.

As duas fases são combinadas uma com a outra através da adição lenta da DP na CP sob agitação mecânica a 1200 rpm (agitador suspenso IKA EUROSTAR 20). Após 5 minutos de emulsificação, a emulsão é transferida lentamente para um meio de arrefecimento composto por 3278,5 g de água para injeção, 6,75 g de carbonato de sódio anidro e 5,4 g de bicarbonato de sódio anidro sob agitação vigorosa (1000 rpm) a 5 °C, 10 °C, 20 °C, 30 °C, 40 °C. Após 5 horas de arrefecimento, a dispersão formada passa por uma coluna de crivo de aço inoxidável composta por crivos de tamanhos de malha de 45 e 250 µm. As micropartículas retidas no crivo de 45 µm são lavadas cuidadosamente com uma solução de 2000 ml de água para injeção e 800 ml de etanol, de modo a remover a base de risperidona que não foi encapsulada.

Finalmente, a etapa final consiste na coleção e na secagem durante aproximadamente 72 horas a 20 °C e em 10 mbar das micropartículas produzidas.

Exemplo Inventivo 3

640,0 g de 1 % de solução de álcool poli(vinílico) (Álcool polivinílico 4 a 88 EMPROVE® exp, Merck Millipore) são misturados juntamente com 8,32 g de diclorometano,

formando uma fase exterior (OP) saturada.

Para a preparação da fase interior (IP), primeiro, 4,04 g de elevada viscosidade inerente (0,76 dl/g) 75:25 polímero PLGA (comercialmente disponível em Purac com o nome PURASORB PDLG 7507) são dissolvidos em 57,77 g de diclorometano, formando uma solução de polímero de 7 % (em peso). Em seguida, e após a dissolução completa do polímero, 2,7 g de base de risperidona são adicionados à solução de polímero e misturados para obter uma solução clara.

As duas fases são combinadas uma com a outra utilizando um homogeneizador em linha de laboratório (MEGATRON® System MT 3000, Kinematica). A IP e a OP são bombeadas em simultâneo em 16,67 ml/min e 220 mL/min, respetivamente, para dentro do misturador em linha que é definido em 800 rpm. A saída do homogeneizador é introduzida diretamente num meio de arrefecimento composto por 3300 g de água para injeção, 6,79 g de carbonato de sódio anidro e 5,44 g de bicarbonato de sódio anidro em agitação vigorosa (1200 rpm) em uma temperatura específica (isto é, 5 °C). Após 5 horas de arrefecimento, a dispersão formada passa por uma coluna de crivo de aço inoxidável composta por crivos de tamanhos de malha de 45 e 250 µm. As micropartículas retidas no crivo de 45 µm são lavadas cuidadosamente com uma solução de 2000 ml de água para injeção e 800 ml de etanol, de modo a remover a base de risperidona que não foi encapsulada. Finalmente, a etapa final consiste na coleção e na secagem durante aproximadamente 72 horas a 20 °C e em 10 mbar das micropartículas produzidas.

#### Análise de Distribuição de Tamanho de Partícula (PSD - Particle Size Distribution)

A distribuição de tamanho de partícula foi medida por difração de laser utilizando um Malvern Master Sizer 2000 Hydro2000S. O tamanho de partícula médio é expressado como

o diâmetro médio de volume em micrones.

#### Análise de carregamento de fármaco

25 mg de micropartícula contendo risperidona são adicionados em 50 ml de acetonitrilo e submetidos a sonicação durante 10 min para facilitar a dissolução. A solução é depois filtrada através de filtro de seringa de 0,45 µm hidrófilo PTFE. O carregamento de risperidona é avaliado utilizando equipamento Shimadzu HPLC de fase reversa nas seguintes condições: coluna, XTerra RP18 µm, 4,6 x 150 mm; fase móvel, 45/55 tampão de fosfato/acetonitrilo pH 7,8; temperatura de coluna, 30 °C; taxa de fluxo, 1 mL/min; volume de injeção, 10 µL; detecção, UV 278 nm; tempo de processo, 8 min. A curva padrão de calibragem varia entre 20 e 240 µg/mL de risperidona dissolvida no acetonitrilo. O carregamento de fármaco é expressado como % em peso relativamente à micropartícula.

#### Medição de Peso Molecular Médio

O peso molecular das micropartículas foi determinado por cromatografia de permeação em gel (GPC - Gel Permeation Chromatography) utilizando um sistema Agilent Model GPC 50Plus equipado com 2 colunas PLgel 5 µm Mixed-D 300 X 7,5 mm ligadas em série e um detetor de índice de refração (RI - Refractive Index). A fase móvel corresponde a THF com uma taxa de fluxo de 1 ml/min e a temperatura da coluna é de 30 °C. Para a análise das amostras, 10 a 15 mg de micropartículas são dissolvidas em 5 mL de THF e a solução é deixada durante a noite em agitação. 2 ml são retirados, filtrados através de filtros PTFE de 40 µm e analisados. O volume de injeção é de 100 µL. A análise e a recolha de dados foram efetuadas utilizando o software Cirrus. Os padrões de poliestireno com variação MW entre 162 e 371100 são utilizados para calibragem.

#### Índice de depleção de API

Para a medição do índice de depleção de API, foi efetuada a espectroscopia de infravermelho médio no pó seco

das microesferas no modo de Reflexão Total Atenuada (ATR - Attenuated Total Reflection) na variação de número de onda de 550 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  numa resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Cada espectro corresponde à média de 100 explorações. Foi utilizado um instrumento de Transformada de Fourier (Equinox 55 por Bruker Optics) equipado com um único acessório ATR de diamante de reflexão de  $45^\circ$  (DuraSampl IR2 de SensIR). A profundidade de penetração (consequentemente, amostragem) desta técnica encontra-se na ordem de 5  $\mu\text{m}$ . Os espectros de Absorvância foram corrigidos para a dependência  $\lambda$  da profundidade de penetração e mostrados no chamado formalismo de absorvância ATR. Foi desenvolvido um indicador empírico comparando a intensidade integrada da banda de matriz de polímero (1850 a 1680  $\text{cm}^{-1}$ ) com as bandas relacionadas com API na variação de 1680 a 1505  $\text{cm}^{-1}$  para fornecer uma estimativa semiquantitativa de fenómenos de depleção de superfície.

#### Método de libertação *in vitro*

Os estudos de libertação *in vitro* foram efetuados num aparelho USP-II (aparelho de dissolução Distek) utilizando como meios de libertação 1000 ml de tampão de solução salina pH 7,4 contendo 0,03 % de azida de sódio. A temperatura é controlada a 37 °C e a velocidade da pá é definida em 100 rpm. Uma quantidade apropriada de partículas contendo 24 mg de substância de fármaco risperidona é transferida para os vasos garantindo condições de imersão (a solubilidade de risperidona no tampão de fosfato pH 7,4 é de 0,22 mg/ml). A amostragem é efetuada em intervalos de tempo especificados de 24 h a 960 h e a % de libertação de fármaco é medida através de análise RP-HPLC para retirar amostras utilizando as mesmas condições que foram utilizadas para as medições de carregamento de fármaco.

N.º de Ensaio	Grau de saturação OP	Temperatura de Arrefecimento	PSD em µm D(0,1):D(0,5): D(0,9)	% de Carregamento de Fármaco	MW	Libertação in vitro 20d-30d-34d	Índice de Depleção
1a	Supersaturado	5	41,9: 68,8: 110,0	36,57	112854	3,3:40,7:98	20
1b		20	46,6: 63,5: 87,1	32,69	104504	20,2:71,2:88,7	13
2a	Saturado	5	83,2: 126,2: 187,9	36,28	99245	28:80,9:90,9	6
2b		10	75,0: 118,2: 184,2	35,94	98234	27,1:81,8:97,8	7
2c	Saturado	20	85,0: 135,5: 206,0	35,56	99490	21,8:86,5:99,4	12
2d		30	54,4: 85,1: 136,2	34,16	94350	14,4:76,1:93,3	14
2e	Saturado	40	58,8: 83,5: 118,1	34,43	69724	5,65:84,5:89,9	21
3		5	41,9: 71,97: 116,3	36,0	113947	2,88:39,4:88,1	26

**DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO**

Esta lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor. Não é parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

**Documentos de patente referidos na descrição**

- EP 1282404 A [0016]
- EP 1140029 B [0017]

**Documentos de não patente citados na descrição**

- **CHRISTIAN WISCHKE ; STEVEN P. SCHWENDEMAN.** Principles of encapsulating hydrophobic compounds in PLA/PLGA microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008, vol. 364, 298-327 [0006]
- **CHENG-JU KIM.** Controlled Release Dosage Form Design. TECHNOMIC [0011]
- **XIAOLING LI ; BHASKARA R. JASTI.** Design of Controlled Release Drug Delivery Systems. Mc-Graw-Hill [0011]
- **N. FAISANT et al.** PLGA-based microparticles: elucidation of mechanism and a new, simple mathematical model quantifying drug release. *Eur. J. Pharm. Ací.*, 2002, vol. 15, 355-366 [0012]
- **M. KÖRBER.** PLGA Erosion: Solubility- or Diffusion-Controlled?. *Pharm Res*, 2010, vol. 27, 2414-2420 [0013]
- **H.V. MAULDING et al.** Biodegradable microcapsules: acceleration of polymeric excipient hydrolytic rate by incorporation of a basic medicament. *Journal of Controlled Release*, 1986, vol. 3, 103-117 [0014]
- **Y. CHSN ; C.G. PITT.** The acceleration of degradation-controlled drug delivery form polyester microspheres. *Journal of Controlled Release*, 1989, vol. 8, 259-265 [0014]
- **F. SELMIN ; P. BLASI ; P. P. DELUCA.** Accelerated Polymer Biodegradation of Risperidone Poly(D, L-Lactide-Co-Glycolide) Microspheres. *AAPS PharmSciTech*, 2012, vol. 13

EP3010962B1

(4), 1465-1472 **[0016]**

## REIVINDICAÇÕES

1. Um processo para a preparação de micropartículas biodegradáveis de polímero poli(D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) tendo um perfil de libertação sigmoide de Risperidona, contido dentro das micropartículas, compreendendo as seguintes etapas:

- a. preparação de uma fase oleosa interior através da dissolução do polímero PLGA e da Risperidona num solvente orgânico, em que a concentração de polímero na fase oleosa interior varia entre 5 e 8 % em peso;
- b. preparação de uma fase aquosa exterior que consiste em água, álcool polivinílico (PVA), opcionalmente uma solução tampão aquosa para ajustar o pH para um valor em que a Risperidona pareça a solubilidade mais baixa e no mesmo solvente orgânico utilizado na fase oleosa, em que a quantidade de solvente orgânico adicionado na fase exterior é suficiente para saturar a fase exterior;
- c. emulsificação da fase interior para a fase exterior quer por agitação mecânica quer por utilização de um homogeneizador de alto cisalhamento;
- d. transferência da emulsão para um meio de arrefecimento tendo uma temperatura definida em 5 °C e controlada de forma termoestática;
- e. separação das micropartículas endurecidas resultantes e, opcionalmente, lavagem das micropartículas, e
- f. secagem das micropartículas numa única etapa de secagem sem mais nenhuma etapa de lavagem e/ou secagem.

2. Um processo para a preparação de micropartículas biodegradáveis de polímero poli(D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) tendo um perfil de libertação sigmoide de Risperidona, contido dentro das micropartículas, compreendendo as seguintes etapas:

- a. preparação de uma fase oleosa interior tendo uma

viscosidade de 10 a 1000 cP através da dissolução do polímero PLGA e da Risperidona num solvente orgânico, em que a concentração de polímero da fase oleosa interior varia entre 5 e 40 % em peso;

b. preparação de uma fase aquosa exterior que consiste em água, álcool polivinílico (PVA), opcionalmente uma solução tampão aquosa para ajustar o pH para um valor em que a Risperidona pareça a solubilidade mais baixa e no mesmo solvente orgânico utilizado na fase oleosa, em que a quantidade de solvente orgânico adicionado na fase exterior é suficiente para saturar a fase exterior;

c. emulsificação da fase interior para a fase exterior quer por agitação mecânica quer por utilização de um homogeneizador de alto cisalhamento;

d. transferência da emulsão para um meio de arrefecimento tendo uma temperatura definida que varia entre 30 e 40 °C e controlada de forma termoestática;

e. separação das micropartículas endurecidas resultantes e, opcionalmente, lavagem das micropartículas; e

f. secagem das micropartículas numa única etapa de secagem sem mais nenhuma etapa de lavagem e/ou secagem.

3. Um processo para a preparação de micropartículas biodegradáveis de polímero poli(D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) tendo um perfil de libertação sigmoide de Risperidona, contido dentro das micropartículas, compreendendo as seguintes etapas:

a. preparação de uma fase oleosa interior tendo uma viscosidade de 10 a 1000 cP através da dissolução do polímero PLGA e da Risperidona num solvente orgânico, em que a concentração de polímero da fase oleosa interior varia entre 5 e 40 % em peso;

b. preparação de uma fase aquosa exterior que consiste em água, álcool polivinílico (PVA), opcionalmente uma solução tampão aquosa para ajustar o pH para um valor em

que a Risperidona pareça a solubilidade mais baixa e no mesmo solvente orgânico utilizado na fase oleosa, em que a quantidade de solvente orgânico é adicionada numa quantidade 2 a 10 vezes acima do ponto de saturação;

- c. emulsificação da fase interior para a fase exterior quer por agitação mecânica quer por utilização de um homogeneizador de alto cisalhamento;
- d. transferência da emulsão para um meio de arrefecimento tendo uma temperatura definida em 5 °C e controlada de forma termoestática;
- e. separação das micropartículas endurecidas resultantes e, opcionalmente, lavagem das micropartículas, e
- f. secagem das micropartículas numa única etapa de secagem sem mais nenhuma etapa de lavagem e/ou secagem.

4. O processo de acordo com qualquer uma das anteriores reivindicações, em que o volume dos meios de arrefecimento é controlado a partir de 0,7 a 3 vezes o volume necessário para dissolver todo o solvente orgânico das micropartículas oleosas da emulsão.

5. O processo de acordo com a reivindicação 2 ou 3, em que a concentração de polímero PLGA corresponde a 5 a 15 % fornecendo uma viscosidade de solução de 10 a 100 cP.

6. O processo de acordo com a reivindicação 3, em que a quantidade de solvente orgânico é 4 a 6 vezes a quantidade do solvente que pode ser dissolvida no volume da fase aquosa.

7. O processo de acordo com qualquer uma das anteriores reivindicações, em que a libertação sigmoide corresponde a um perfil de libertação *in vitro* **caracterizado por** uma fase de latência inicial, uma fase de libertação intermédia abrupta e uma fase de libertação final uniforme, conforme

determinado num aparelho USP-II utilizando como meios de libertação 1000 ml de tampão de solução salina pH 7,4 contendo 0,03 % de azida de sódio, e a temperatura é controlada em 37 °C e a velocidade da pá é definida em 100 rpm.

8. O processo de acordo com qualquer uma das anteriores reivindicações, em que a libertação sigmoide corresponde a menos de 10 % de fármaco libertado em 20 dias, 35 a 80 % em 30 dias e mais de 80 % até ao dia 34 quando a dissolução é determinada num aparelho USP-II utilizando como meios de libertação 1000 ml de tampão de solução salina pH 7,4 contendo 0,03 % de azida de sódio, e a temperatura é controlada em 37 °C e a velocidade da pá é definida em 100 rpm.

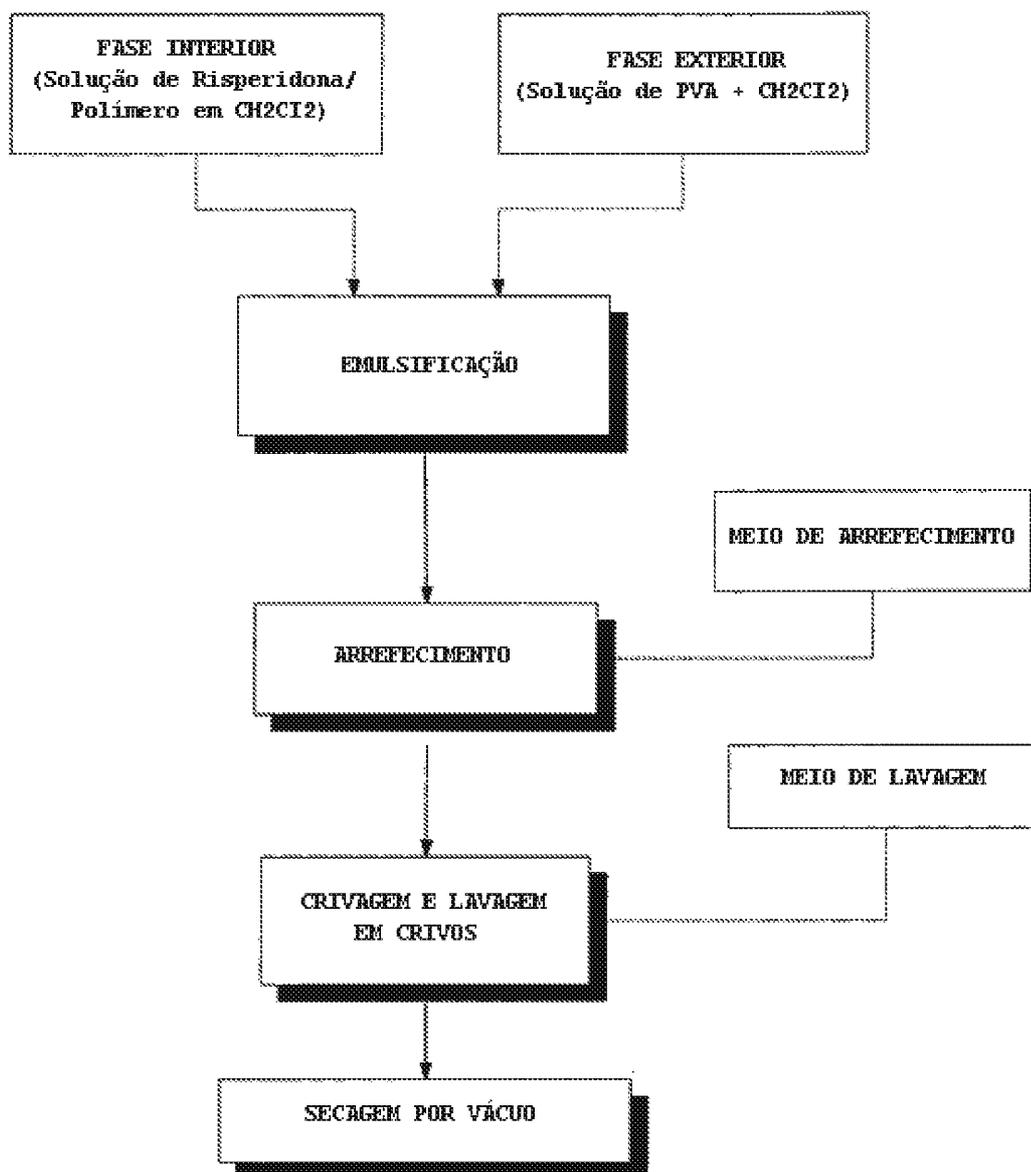


FIG. 1

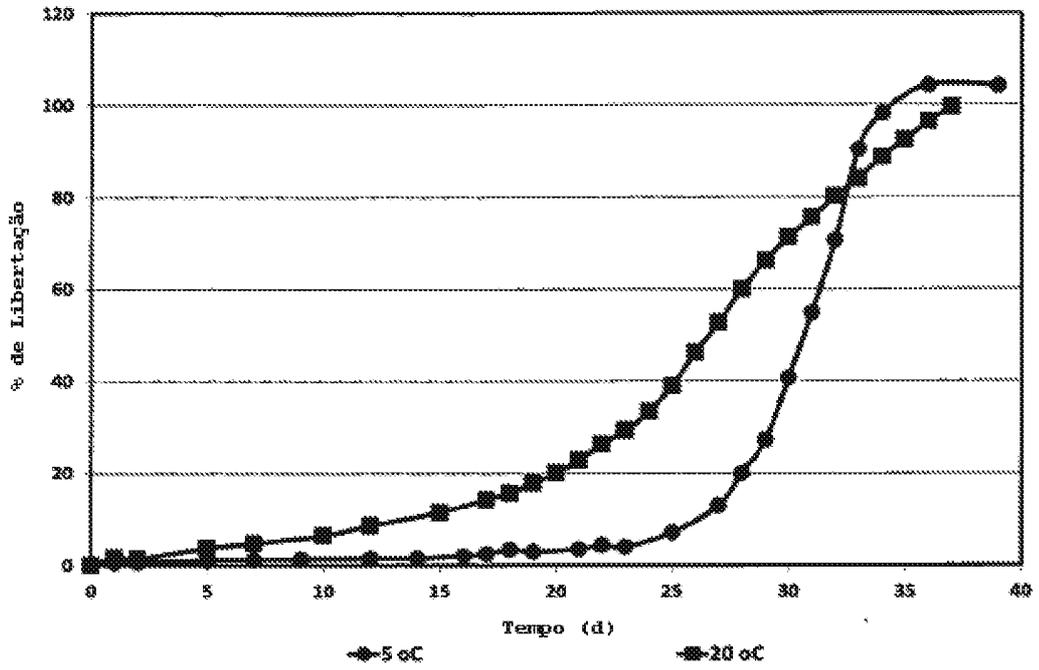


FIG. 2

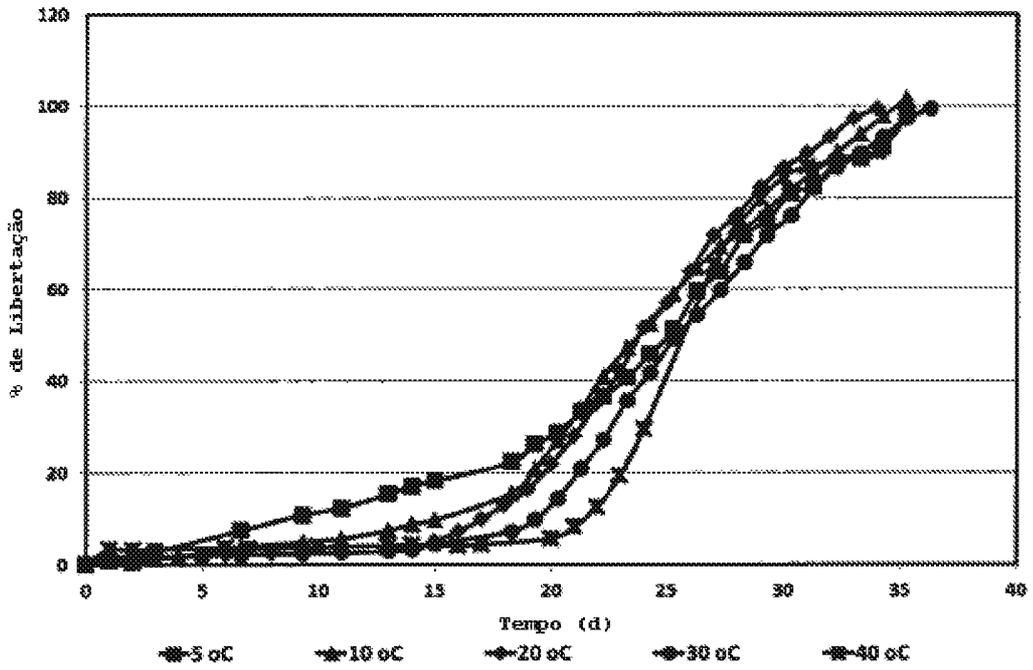


FIG. 3

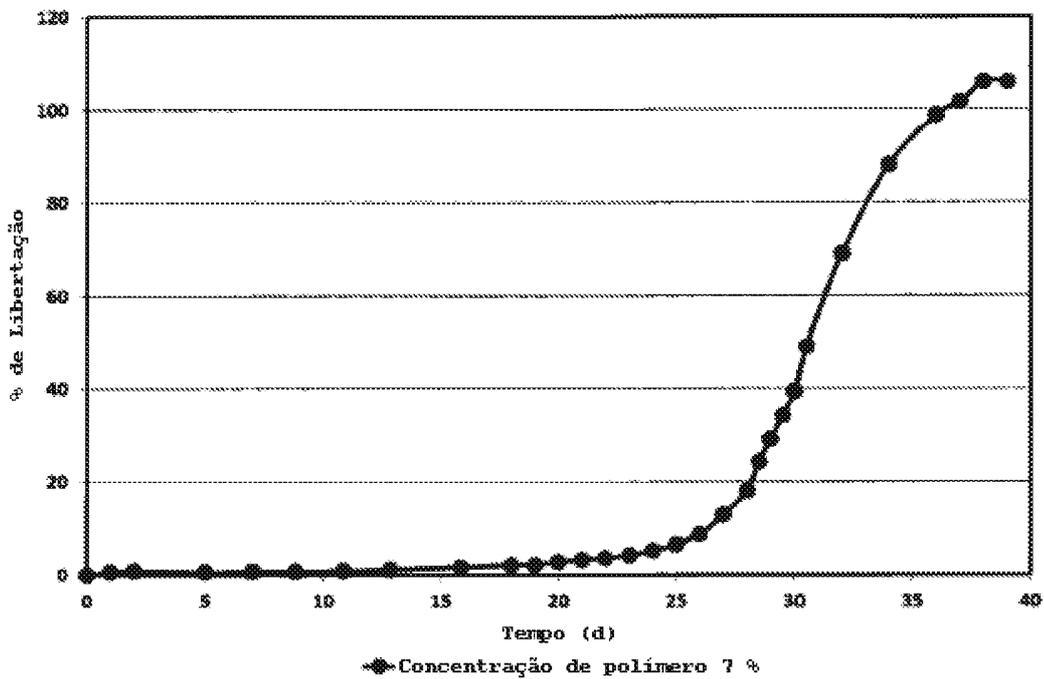


FIG. 4