

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 807 350**

51 Int. Cl.:

**B01J 19/20** (2006.01)

**B01J 2/08** (2006.01)

**B01J 4/00** (2006.01)

**B01J 13/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.02.2012 PCT/US2012/025378**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.08.2012 WO12112747**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.02.2012 E 12747099 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2020 EP 2675559**

54 Título: **Fabricación de microesferas usando un hidrociclón**

30 Prioridad:

**16.02.2011 US 201113028764**

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

**22.02.2021**

73 Titular/es:

**OAKWOOD LABORATORIES, LLC (100.0%)  
7670 First Place Suite A  
Oakwood Village, OH 44146, US**

72 Inventor/es:

**THANOO, BAGAVATHIKANUN, CHITHAMBARA;  
SMITH, EDWARD, CALDWELL y  
SMITH, MARK**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 807 350 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Fabricación de microesferas usando un hidrociclón

**Referencias cruzadas a solicitudes relacionadas:**

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente número de serie 13/028.764 presentada el 16 de febrero de 2011.

**Campo técnico:**

El campo es la fabricación de productos farmacéuticos de liberación mantenida.

**Antecedentes técnicos:**

Las micropartículas inyectables de liberación mantenida han atraído la atención debido a varias ventajas. Tienen alto cumplimiento y conveniencia para el paciente debido a inyecciones menos frecuentes. Generalmente se logra una eficacia más alta con menor dosis debido al mantenimiento de una concentración mantenida y eficaz del fármaco en la sangre. Si es necesario, estas formulaciones se podrían usar para lograr concentración local más alta para tratar enfermedades específicas. Sin embargo, fabricar estas forma de dosis es un reto puesto que el producto debe ser estéril. Los métodos de esterilización estándar no funcionan con estos productos o afectan negativamente a la calidad del producto. Por tanto el producto debe ser fabricado en condiciones asépticas. La fabricación aséptica de un producto en micropartículas es un reto. Se ha establecido que se podrían fabricar micropartículas por un proceso continuo como se informa en varias patentes (5.945.126; 6.270.802; 6.361.798; 7.300.671 y 6.939.033). Un método y un aparato para hacer partículas se describen en el documento US 2004/118007 A1 (Chickering et al.). En esa divulgación una suspensión de solvente y material a granel se rocía a través de un atomizador para formar gotitas a una cámara de secado. El solvente puede evaporarse de las gotitas de suspensión en la cámara secada dejando partículas de material a granel siendo la evaporación asistida por un gas seco. La mezcla de partículas de material a granel de gas de secado se pasan a un molino de chorro. Las partículas en la mezcla molida por chorro se concentraron usando unos medios de concentración tales como un separador de ciclón. Cuando se hacen microesferas, se prefiere producir las partículas en un proceso continuo, tal como concentrar las partículas al nivel deseado, retirando partículas no deseadas y también retirando solventes no deseados y agentes tensioactivos mediante lavado. Para producir micropartículas en un proceso de flujo continuo, hay disponible equipamiento en diversas variedades de tamaño. Por ejemplo, hay disponibles mezcladores dinámicos en línea en diversos tamaños de fabricantes tales como máquinas Silverson y mezcladores Ross. De manera similar, hay disponibles mezcladores estáticos en línea de compañías tales como mezcladores Ross, Sulzer y Komax en diversos tamaños. Sin embargo, no hay muchas opciones de equipamiento para procesar las microesferas a este tipo de tasa más rápida. El procesamiento implica retirar los componentes no deseados tales como exceso de fase continua que también contiene solventes y fármacos no encapsulados. Equipamiento tal como filtración de extremo cerrado (p. ej., PharmSep de Swecco, el conjunto Stir-Cell de Millipore), centrifugadoras de flujo continuo (centrifugadoras de Alfa Lavel) y filtración transmembrana (p. ej., filtros huecos de fibra de GE Healthcare, Spectrum) pueden procesar suspensiones de microesferas. Sin embargo, la filtración de extremo cerrado no puede manejar grandes volúmenes, requiere una enorme área superficial y usa equipamiento engorroso con piezas móviles. También, el taponamiento de filtros y tamices es un problema común durante la filtración de extremo cerrado que sacrifica la eficiencia durante el proceso. Para operaciones a escala más grande se necesita cambiar el filtro/tamiz taponado y esta intervención podría afectar al funcionamiento aséptico. Las centrifugadoras de flujo continuo pueden tener un problema de concentración de partículas (agregación) y también son difíciles de manejar en condiciones asépticas. La filtración transmembrana tiene una limitación debido a los requisitos de enorme área superficial y el requisito de caudal muy alto para la recirculación. El taponamiento de membrana de filtro también es un problema para operaciones a gran escala. Adicionalmente, la retirada de partículas pequeñas del producto se vuelve necesaria en varias situaciones puesto que partículas más pequeñas podrían provocar inflamación debido a macrófagos. Los filtros giratorios de Sartorius y tamices vibratorios de Swecco son las opciones disponibles para retirar partículas pequeñas. Sin embargo, el taponamiento de tamiz es el mayor problema para ambos dispositivos; por lo tanto no se usan ampliamente.

**Compendio técnico:**

Un hidrociclón se usa porque es capaz de procesar rápidamente grandes volúmenes y se puede adaptar para fabricación aséptica. El hidrociclón ocupa espacio mínimo en el área aséptica, no tiene piezas móviles y puede procesar la suspensión de microesferas a una tasa más rápida eliminando deficiencias con equipamiento existente. Adicionalmente, se encontró que el hidrociclón puede retirar una fracción no deseada de partículas que pueden comprometer la calidad del producto. Si bien el término microesferas se usa por toda esta divulgación se entiende que este término es intercambiable con los términos micropartículas y microcápsulas puesto que las partículas pueden no ser estrictamente esféricas y el agente activo se puede dispersar por todo o ser encapsulado por el polímero.

La fabricación de microesferas produce partículas con una amplia distribución de tamaño de partícula. Las partículas más pequeñas pueden suponer problemas tales como estallido inicial y tasa de liberación más rápida. Las partículas pequeñas pueden no contener carga de fármaco más alta comparada con partículas más grandes. Adicionalmente,

5 las partículas más pequeñas pueden provocar una respuesta inmune debido a ataque de macrófagos. Por lo tanto, para ciertas aplicaciones es importante que la formulación esté libre de partículas, por ejemplo, menos de 10 micrómetros, preferiblemente menos de 5 micrómetros. Como ejemplo, para aplicaciones de micropartículas para tratar osteoartritis por inyección en tejido sinovial, el producto debe estar libre de partículas menores de 20 micrómetros. El hidrociclón puede retirar estas partículas pequeñas.

10 Aunque la retirada de tamaños de partícula no deseados también se puede lograr mediante procesos de tamizado, el tamizado es difícil en condiciones de fabricación aséptica, especialmente retirar una fracción de partículas del producto. El hidrociclón se puede usar para procesar las microesferas producidas a una tasa más rápida al eliminar la fase continua a una tasa mucho más rápida y eliminar partículas más pequeñas. Este dispositivo también se puede usar para eliminar partículas más grandes. El hidrociclón se puede combinar con filtración transmembrana (p. ej., un filtro de fibra hueca) de modo que el filtro de fibra hueca puede funcionar eficientemente. Puesto que la mayor parte de la fase continua es eliminada por el hidrociclón es fácil hacer funcionar el filtro de fibra hueca en un caudal inferior (tasa de recirculación) con bombas simples y más pequeñas tales como bombas peristálticas. Adicionalmente, partículas más pequeñas que podrían taponar la membrana de filtro al bloquear los poros pueden ser eliminadas por el hidrociclón. Al eliminar una enorme fracción de estas partículas más pequeñas usando un hidrociclón, se puede prolongar la vida operativa de la membrana de filtro, mejorando así la capacidad para producir grandes tamaños de lote. Esto es útil durante fabricación aséptica puesto que sustituir el filtro de fibra hueca puede poner en peligro la asepsia del proceso, lo que podría llevar a rechazar el lote entero.

20 De manera similar, al eliminar una gran fracción de partículas más pequeñas de la suspensión de microesferas por funcionamiento de hidrociclón las microesferas producidas podrían ser procesadas con menos dificultad usando filtración de extremo cerrado (p. ej., tamices Swecco). Para información acerca de filtración de extremo cerrado véase el documento: AAPS Pharm Sci Tech, 2001, 2(1); US20090104274. Si la suspensión está sustancialmente libre de partículas pequeñas el procesamiento (concentrar, lavar, lograr formulación final) se puede realizar también usando el sistema de tamiz.

25 Las microesferas se producen al combinar la fase dispersada y la fase continua bajo la influencia de la mezcla. Al seleccionar la ratio apropiada de la fase dispersada a la fase continua la salida puede ser una suspensión de microesferas solidificadas o una emulsión. Si es una emulsión, se puede añadir fluido adicional para solidificar la emulsión por extracción de solvente. Esto se podría realizar continuamente o como proceso por lotes. Durante el proceso de fabricación continuo de micropartículas la tasa de salida de suspensión puede ser de 1 a 50 L/min dependiendo del sistema de mezcla en línea. La concentración de partículas en la suspensión puede ser de 0,1 g/L a 100 g/L. La eliminación de fase continua y concentrar micropartículas en la suspensión son etapas necesarias durante la preparación farmacéutica. Esto se puede realizar mediante varios procedimientos y equipamiento asociado, tal como filtración de extremo cerrado, centrifugación y filtración transmembrana, que cuando se usan solas tienen limitaciones como se explica.

30 A fin de aumentar la tasa de procesamiento de microesferas mientras se mantienen propiedades favorables de las microesferas y la naturaleza aséptica del producto, el hidrociclón se ha encontrado útil. El hidrociclón aumentó significativamente la capacidad de proceso y la calidad de las microesferas. El hidrociclón se puede implementar fácilmente y usar en varios puntos diferentes dentro del proceso global. El hidrociclón se puede usar para retirar el exceso de fase continua (CP, *continuous phase*) con o sin la retirada de partículas pequeñas, para retirar partículas más grandes y también durante la etapa de lavado para retirar CP y componentes no deseados tales como solventes residuales y fármaco no encapsulado.

35 El hidrociclón puede tener un efecto importante en una formulación de liberación mantenida para mejorar no únicamente su concentración para eficiencia de procesamiento, sino también para ayudar a proporcionar formulaciones que sean más seguras y más eficaces. El hidrociclón puede ser capaz de ayudar a seleccionar una distribución preferida de tamaño de partícula en el producto. Esta selección puede reducir una fracción que sea potencialmente perjudicial (o no deseable). Específicamente, se pueden reducir o eliminar las partículas más pequeñas. Estas partículas más pequeñas pueden ser una fuente potencial de ataque de macrófagos en el lugar de inyección. El hidrociclón es capaz de procesar la suspensión de microesferas a una tasa mucho más rápida retirando componentes no deseados comparado con otros dispositivos.

40 Para un procesamiento rápido, se puede usar en paralelo más de un hidrociclón. Para un buen rendimiento se puede usar en serie más de un hidrociclón. Hay varias variables en el hidrociclón que podrían cambiar la eficiencia y el rendimiento del procesamiento. Para un hidrociclón dado se pueden seleccionar diferentes identificaciones de ápice de ángulo (ID) fijas para manipular el flujo inferior y el flujo superior.

Según la presente invención se proporciona un sistema para procesar microesferas que comprende:

55 un envase (114) que contiene una suspensión de microesferas solidificadas en un medio de suspensión;

un hidrociclón (HC) (120) que tiene una entrada de fluido (16), una primera salida de fluido (18) y una segunda salida de fluido (20), en donde dicha entrada de fluido (16) está en comunicación de fluidos con dicho envase (114) y recibe dicha suspensión, dicha segunda salida de fluido (20) descarga un flujo de dicha suspensión que tiene una

concentración aumentada de dichas microesferas respecto a dicha suspensión en dicho envase (114), y dicha primera salida de fluido (18) descarga un flujo de dicho medio de suspensión que tiene una menor concentración de dichas microesferas respecto a dicha suspensión en dicho envase (114);

5 caracterizado por que el sistema comprende además un filtro de fibra hueca (140) que tiene una entrada en comunicación de fluidos con dicha segunda salida de fluido (20); y,

un envase de retirada de solvente (SRV) (136) interpuesto entre y en comunicación de fluidos con dicha entrada de dicho filtro de fibra hueca (140) y dicha segunda salida de fluido (20) de dicho HC (120), dicho SRV (136) capaz de recibir y lavar dichas microesferas en dicha suspensión descargadas de dicha segunda salida de fluido (20) de dicho HC (120) para retirar solvente de dicha suspensión.

10 Cambiando ahora a una exposición de aspectos específicos de esta divulgación, una primera realización atañe a un sistema para procesar microesferas que comprende un envase y un hidrociclón. El envase contiene una suspensión de microesferas solidificadas que comprende polímero y agente activo. El hidrociclón tiene una entrada de fluido, una primera salida de fluido y una segunda salida de fluido. La entrada de fluido está en comunicación de fluidos con el envase y recibe la suspensión. La segunda salida de fluido contiene un flujo de la suspensión que tiene microesferas  
15 concentradas. La primera salida de fluido contiene un flujo de una cantidad relativamente grande de líquido comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido.

Haciendo referencia a rasgos particulares de la primera realización, el sistema puede comprender una bomba dispuesta entre el envase y el hidrociclón para bombear la suspensión desde el envase a la entrada de fluido a presión. El sistema puede comprender un mezclador que combina el polímero, el solvente y el agente activo para formar una emulsión. El mezclador está en comunicación de fluidos con el envase y la emulsión se solidifica en el envase para formar la suspensión en el envase. Como alternativa, el sistema puede comprender otro mezclador que combina el polímero, el solvente y el agente activo para formar la suspensión. El mezclador está en comunicación de fluidos con el envase.

25 Una segunda realización de esta divulgación cuenta con un sistema para concentrar microesferas comprendidas de polímero y agente activo. El sistema comprende un mezclador y un hidrociclón. Se podría producir una suspensión de microesferas al mezclar en el mezclador una fase dispersada y una fase continua. La fase dispersada incluye solvente, polímero y un agente activo. El mezclador incluye un elemento de mezcla que mezcla la fase dispersada y la fase continua para hacer una suspensión de microesferas. El hidrociclón tiene una entrada de fluido, una primera salida de fluido y una segunda salida de fluido. La entrada de fluido está en comunicación de fluidos con el mezclador y recibe la suspensión. La segunda salida de fluido contiene un flujo de la suspensión que tiene microesferas concentradas y la primera salida de fluido contiene un flujo de una cantidad relativamente grande de líquido comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido. Aunque las microesferas producidas por el mezclador podrían ser procesadas directamente por el hidrociclón, por motivos de control podría realizarse en dos etapas con un envase intermedio que recibe la suspensión del mezclador y desde el que una bomba de entrega entregará la suspensión al hidrociclón.

35 Ahora se abordarán aspectos más específicos de la segunda realización. El sistema comprende: un envase para contener y remover la suspensión; primera entubación que lleva desde el mezclador al envase; una fuente de agua o un medio de suspensión; segunda entubación que lleva desde la fuente al envase; una bomba para mover agua o medio de suspensión desde la fuente a lo largo de la segunda la entubación al envase; tercera entubación que lleva desde el envase a la entrada de fluido; y una bomba para bombear la suspensión desde el envase a la entrada de fluido.  
40

El flujo desde la primera salida de fluido puede contener una cantidad relativamente grande de fase continua, agua o medio de suspensión como líquido, comparado con el flujo desde la segunda salida de fluido.

El flujo desde la primera salida de fluido puede contener una cantidad relativamente grande de microesferas finas comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido.

45 El sistema también puede comprender un segundo hidrociclón (HC-2) que tiene una entrada de fluido, una primera salida de fluido y una segunda salida de fluido. La segunda salida de fluido de HC-2 contiene un flujo de la suspensión que tiene microesferas concentradas y la primera salida de fluido de HC-2 contiene un flujo de una cantidad relativamente grande del líquido comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido de HC-2.

50 La primera salida de fluido del hidrociclón (HC-1) está en comunicación de fluidos con la entrada de fluido del segundo hidrociclón (HC-2) y se combina la suspensión concentrada desde la segunda salida de fluido de HC-1 y desde la segunda salida de fluido de HC-2.

El flujo desde la primera salida de fluido del segundo hidrociclón (HC-2) puede contener una cantidad relativamente grande de la fase continua, el agua o el medio de suspensión comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido de HC-2.

55 El sistema puede comprender un segundo hidrociclón en serie o paralelo con el hidrociclón.

El SRV que recibe la suspensión concentrada desde la segunda salida de fluido de HC-1 también puede recibir la suspensión concentrada de la segunda salida de fluido de HC-2 para lograr microesferas lavadas con menor solvente residual y libre de componentes no deseados tales como agente tensoactivo en la CP y fármaco no encapsulado.

5 El HFF del sistema puede comprender: una entrada de HFF, una primera salida de HFF y una segunda salida de HFF; cuarta entubación entre el SRV y la entrada de HFF; y una bomba para mover la suspensión con solvente retirado del SRV, a lo largo de la cuarta entubación a la entrada de HFF y quinta entubación que se extiende desde la segunda salida de HFF al SRV. De la primera salida de HFF se retira permeado, y se traslada suspensión filtrada desde la segunda salida de HFF a lo largo de la quinta entubación al SRV.

10 El sistema puede comprender una segunda fuente de agua o medio de suspensión, sexta entubación que lleva desde la segunda fuente al envase de retirada de solvente (SRV) y una bomba para bombear el agua o el medio de suspensión desde la segunda fuente a lo largo de la sexta entubación al SRV.

15 Una tercera realización de esta divulgación presenta un método para procesar microesferas. Una suspensión de microesferas solidificadas que comprende polímero y agente activo se hace circular en un envase. La suspensión es movida desde el envase a una entrada de fluido de un hidrociclón, el hidrociclón incluye además una primera salida de fluido y una segunda salida de fluido. Un flujo de la suspensión que tiene microesferas concentradas se retira de la segunda salida de fluido. Un flujo de una cantidad relativamente grande de un líquido comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido se retira de la primera salida de fluido.

20 Haciendo referencia a aspectos específicos de la tercera realización, entre el envase y el hidrociclón se dispone una bomba. La bomba se usa para bombear la suspensión desde el envase a la entrada de fluido a presión. Un mezclador puede estar en comunicación de fluidos con el envase. El polímero, el solvente y el agente activo se pueden combinar en el mezclador para formar una emulsión. La emulsión se puede solidificar en el envase para formar la suspensión en el envase. Como alternativa, otro mezclador puede estar en comunicación de fluidos con el envase. El polímero, el solvente y el agente activo se pueden combinar en el mezclador para formar la suspensión y la suspensión se puede dirigir desde el mezclador al envase. La emulsión o la suspensión se pueden formar al mezclar una fase dispersada que comprende polímero, solvente y agente activo con una fase continua. La fase continua puede ser acuosa o no.

30 Una cuarta realización de esta divulgación presenta un método para concentrar microesferas que comprenden polímero y agente activo que comprende: alimentar en un mezclador una fase dispersada y una fase continua, la fase dispersada incluye solvente, polímero y un agente activo; mezclar la fase dispersada y la fase continua en el mezclador para hacer una suspensión de microesferas; mover la suspensión desde el mezclador a una entrada de fluido de un hidrociclón, el hidrociclón incluye además una primera salida de fluido y una segunda salida de fluido; retirar de la segunda salida de fluido un flujo de la suspensión que tiene microesferas concentradas; y retirar de la primera salida de fluido un flujo en una cantidad relativamente grande de un líquido comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido.

35 Ahora se describirán aspectos específicos de la cuarta realización. El método puede comprender: mover la suspensión desde el mezclador a un envase y remover la suspensión en el envase; añadir agua o un medio de suspensión al envase; y mover la suspensión desde el envase a la entrada de fluido.

El método puede comprender retirar del flujo desde la primera salida de fluido una cantidad relativamente grande de la fase continua, el agua o el medio de suspensión.

40 El método puede comprender retirar del flujo desde la primera salida de fluido una cantidad relativamente grande de microesferas finas comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido.

45 El método puede comprender proporcionar un segundo hidrociclón (HC-2) que tiene una entrada de fluido, una primera salida de fluido y una segunda salida de fluido, que comprende: mover la suspensión desde la primera salida de fluido del hidrociclón (HC-1) a la entrada de fluido de HC-2; retirar de la segunda salida de fluido de HC-2 un flujo de la suspensión que tiene microesferas concentradas; retirar de la primera salida de fluido de HC-2 un flujo en una cantidad relativamente grande de líquido comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido de HC-2; y combinar la suspensión concentrada de la segunda salida de fluido de HC-1 y de la segunda salida de fluido de HC-2 para formar una suspensión combinada.

El método puede comprender retirar del flujo desde la primera salida de fluido de HC-2 una cantidad relativamente grande de microesferas finas comparada con el flujo desde la segunda salida de fluido de HC-2.

50 El método puede comprender pasar la suspensión de microesferas desde el hidrociclón a un segundo hidrociclón en serie o paralelo con el hidrociclón.

El método puede comprender pasar el flujo de la suspensión de microesferas desde la segunda salida de fluido del segundo hidrociclón a un filtro de fibra hueca. El método puede comprender mover la suspensión combinada al SRV; y retirar solvente desde la suspensión combinada en el SRV para formar una suspensión con solvente retirado.

55 El método puede comprender añadir agua o un medio de suspensión al envase de retirada de solvente (SRV).

El método comprende: el HFF retira solvente de la suspensión combinada en el SRV, el HFF incluye una entrada de HFF, una primera salida de HFF y una segunda salida de HFF; mover la suspensión con solvente retirado del SRV a la entrada de HFF; retirar agua o el medio de suspensión de la primera salida de HFF para formar una suspensión filtrada, y mover la suspensión filtrada de la segunda salida de HFF al SRV.

5 Se tendrán muchos rasgos adicionales, ventajas y un entendimiento de la invención a partir de los dibujos adjuntos y la descripción detallada que sigue. Se debe entender que el Compendio Técnico anterior proporciona una descripción en términos amplios mientras que la siguiente Descripción Detallada proporciona una descripción más ajustada y presenta realizaciones que no se deben interpretar como limitaciones necesarias de la amplia invención definida en las reivindicaciones.

10 **Breve descripción de los dibujos:**

la figura 1A es una vista en perspectiva de un hidrociclón; la figura 1B es una vista lateral del hidrociclón; la figura 1C es una vista vertical en sección transversal del hidrociclón de la figura 1B y la figura 1D es una vista superior del hidrociclón visto a lo largo de 1D-1D de la figura 1B;

15 la figura 2 es un diagrama de flujo para un proceso mejorado de producción farmacéutica de microesferas de liberación mantenida con un hidrociclón para retirar fase continua (CP), lavar microesferas, y formular en un medio de suspensión para preparar una forma de dosis final;

la figura 3 es un diagrama de flujo de proceso de un proceso mejorado de producción farmacéutica de microesferas de liberación mantenida con el hidrociclón en uso junto con un filtro de fibra hueca para retirar CP, lavar microesferas, y formular en un medio de suspensión para preparar una forma de dosis final;

20 la figura 4 es un diagrama de flujo de un proceso mejorado de producción farmacéutica con el hidrociclón en uso junto con filtración de extremo cerrado para retirar CP, lavar microesferas, y secar para obtener microesferas de liberación mantenida. El secado se realiza típicamente al soplar una corriente de aire o nitrógeno.

La figura 5A es una curva de distribución de tamaño de partícula para una fracción de flujo inferior de hidrociclón 1 (HC-1) y esto se compara en la figura 5B con la curva de distribución de tamaño de partícula para una fracción de flujo superior de hidrociclón 3 (HC-3) mientras se procesan microesferas de doxiciclina usando hidrociclones;

25 la figura 6 es un nivel de doxiciclina en sangre de rata mientras se inyectan microesferas de doxiciclina procesadas por un filtro de fibra hueca (HFF) solo en una dosis de 10 mg de fármaco/Kg de rata; y

30 la figura 7 es una comparación de liberación in vitro de microesferas de doxiciclina procesadas por un hidrociclón y filtro de fibra hueca (HC-HFF) versus un filtro de fibra hueca (HFF) solo realizado en condiciones fisiológicas (PBS, 37 °C).

**Descripción detallada:**

Haciendo referencia a la figura 1, un hidrociclón 10 incluye un cuerpo 12 que tiene una parte superior 14 que incluye una entrada fija 16, una salida fija de flujo superior 18 y una salida fija de flujo inferior 20. El hidrociclón es tubular de modo que el interior 22 del hidrociclón es hueco. El hidrociclón tiene un espacio central 23 rodeado por paredes interiores 24 del hidrociclón. El hidrociclón es en forma de cilindro que tiene una sección recta 26 donde las paredes en el exterior tiene el mismo diámetro por todo la parte media del hidrociclón. La parte superior incluye una parte de sección recta o un hallador de vórtice 28 que se extiende desde el interior a la salida de flujo superior 18. El interior del hidrociclón también incluye un agujero angulado 30 que se inclina desde la sección recta en la parte media 32 del hidrociclón a un diámetro decreciente cerca de una parte inferior 34 del hidrociclón. La superficie interior del agujero angulado lleva al exterior del hidrociclón en la salida de flujo inferior. El vórtice 36 recibe un flujo de material del exterior por medio de la entrada 16 a presión (es decir, a presión positiva tal como 69 kPa (10 psi), en donde se optimizaría la presión real para el funcionamiento). La liberación del material contra el agujero angulado 30 separa el flujo de material en dos trayectorias diferentes hacia la parte superior 14 y la parte inferior 34 del hidrociclón. Las partículas más pesadas o más grandes se trasladan hacia abajo y hacia fuera a lo largo del vórtice principal 36 en el interior y se marchan a través de la salida de flujo inferior 20. Una pequeña proporción de partículas más ligeras o más finas se trasladan hacia arriba a lo largo de un centro del vórtice principal en 38 y dejan el interior del hidrociclón cerca de su parte superior a través de la salida de flujo superior 18. Una mayor parte del fluido en el hidrociclón se marcha a través de la salida de flujo superior. Este fluido puede incluir agua, fase continua o diluyentes o una combinación de los mismos.

50 La figura 2 muestra un diagrama de flujo de proceso del método mejorado para procesar una suspensión de microesferas usando hidrociclones. La suspensión de microesferas se procesa al eliminar la fase continua (CP) junto con solventes y fármaco no encapsulado, lavar las microesferas con agua y también suspender las microesferas lavadas con una solución de formulación apropiada. En el diagrama de flujo, 50 es una fuente de fase continua (CP, *continuous phase*) y 52 es una fuente de fase dispersada (DP, *dispersed phase*). Un mezclador 54 produce una suspensión de microesferas 56 desde las DP y CP. La entubación 58, 60 permite flujo de las CP y DP desde las fuentes de CP y DP al mezclador. Se debe apreciar que las ubicaciones de entrada de la entubación al mezclador y

las ubicaciones respecto a los otros dispositivos de los sistemas de esta divulgación únicamente son esquemáticas y pueden ser diferentes en la práctica real. La suspensión de microesferas 56 desde el mezclador entra a un envase de retirada de solvente 62 (SRV). La entubación 64 permite el traslado de la suspensión de microesferas 56 desde el mezclador 54 al envase de retirada de solvente 62. Para la entrega de CP y DP se usan bombas de entrega o dispositivos apropiados (no se muestran).

La suspensión en el envase es entregada por una bomba 68 al hidrociclón 69. La bomba 68 se ubica a lo largo de la entubación 70 desde el envase de retirada de solvente 62 a la entrada 16 del hidrociclón 69. Dependiendo de la magnitud de retirada de CP de la suspensión y también de la retirada de partículas pequeñas del sistema, se podría usar más de un hidrociclón. El diagrama de flujo describe el uso de dos hidrociclones en serie. El flujo inferior 72 desde la salida de flujo inferior 20 es una suspensión concentrada de microesferas y el flujo superior 74 desde la salida de flujo superior 18 es principalmente fase continua CP con una pequeña cantidad de microesferas más pequeñas. La entubación 76 se extiende desde la salida de flujo superior 18 del primer hidrociclón 69 a la entrada 16 de un segundo hidrociclón 78. El flujo superior 74 se entrega además a lo largo de la entubación 76 a la lumbrera de entrada 16 del segundo hidrociclón 78 ("HC-II"). Para esta entrega no se necesita bomba adicional. Si es necesario, en las lumbreras de entrada se podrían introducir manómetros para monitorizar el flujo para finalidades de control de proceso y monitorización. Desde el segundo hidrociclón 78 (HC-II) la suspensión concentrada fluirá como flujo inferior 80 desde la salida de flujo inferior 20 y el flujo superior 82 se marchará a través de la salida de flujo superior 18 como corriente de desperdicio. Se podrían usar hidrociclones adicionales en serie o en paralelo para ayudas al procesamiento.

La entubación 84 se extiende desde las salidas de flujo inferior 20 de los hidrociclones 62 y 78 al envase de retirada de solvente 62. Los flujos inferiores 72 y 80 son suspensiones concentradas que se combinan y se trasladan a lo largo de la entubación 84 para llegar de regreso al envase de retirada de solvente 62 (SRV). Una bomba 85 se extiende a lo largo de la entubación 86 desde un depósito de agua de lavado 87 al envase de retirada de solvente 62. Agua de lavado desde el depósito de agua de lavado 87 se puede bombear a lo largo de la entubación 86 al SRV 62 usando la bomba 85. Para algunos procesos, también se añade agua simultáneamente con la suspensión de microesferas durante la etapa de formación de microesferas. La entrada desde el mezclador Silverson puede ser cerrada para permitir que la concentración de microesferas tratadas en HC aumente y la fase continua disminuya. Esta operación es para la situación en la que el hidrociclón se usa para retirar exceso de CP y microesferas más pequeñas, las microesferas se lavan con agua y luego se realiza intercambio de diluyente. Al final, la suspensión de microesferas en diluyente en el tanque 62 se prepara para rellenar viales y se seca por congelación, o se prepara para secado por congelación a granel y puede marcharse por medio de la salida 63.

Hay ciertos requisitos de caudal para realizar la operación entera en un espacio confinado de modo que el volumen no se quede pequeño en el SRV 62. En general, el caudal combinado de la suspensión de microesferas a lo largo de la entubación 64 y agua de lavado a lo largo de la entubación 86 deben ser similares al caudal de flujo superior a través de 82. Aunque el caudal mencionado anteriormente es deseable, no es necesario cuando la capacidad del SRV 62 es suficientemente grande y capaz de acomodar el volumen creciente. Durante la etapa de lavado de microesferas no habrá flujo a través de 64. En este punto el caudal a través de 86 debe ser igual a 82.

Después de lavar las microesferas con agua, se puede introducir diluyente apropiado (medio de suspensión) en lugar de agua. 88 es un depósito de diluyente y 90 es una bomba de entrada de diluyente. La bomba de diluyente 90 se extiende a lo largo de la entubación 92 desde el depósito de diluyente 88 al envase de retirada de solvente 62. El diluyente es bombeado usando la bomba 90 desde el depósito de diluyente 88 a lo largo de la entubación 92 al SRV 62. Realizar esta operación suspenderá las microesferas en un medio de suspensión apropiado. De nuevo, el caudal a través de 92 debe coincidir con 82 para mantener un volumen constante en el SRV. La concentración de las microesferas puede ser aumentada al continuar el funcionamiento de hidrociclón sin entrada al SRV a través de la corriente a lo largo de la entubación 64, o disminuida al no realizar el tratamiento de hidrociclón (es decir, no bombear usando la bomba 68) mientras se añaden diluyentes a través de la corriente a lo largo de la entubación 92. Este proceso permitirá el logro de formulación final con potencia apropiada del fármaco. Con la suspensión se pueden rellenar además viales y secar por congelación. La suspensión también se puede secar por congelación directamente para lograr el producto como polvo a granel. El llenado se lleva a cabo asépticamente mediante un procedimiento estándar adoptado por la industria.

La máquina de llenado es automatizada; viales estarán abiertos a flujo laminar de aire filtrado por HEPA y el procedimiento se cualifica por llenado de medios.

Los componentes de diluyente de esta divulgación pueden incluir un intensificador de viscosidad, un soluto de molécula pequeña como agente lioprotector, y un agente tensoactivo. El intensificador de viscosidad es un polímero soluble en agua que ayuda a suspender las partículas y ralentiza el endurecimiento de partícula si no se mezcla.

Polímeros adecuados de intensificación de viscosidad son carboximetilcelulosa (CMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), carboximetilcelulosa sódica (SCMC), etilcelulosa, hidroximetilcelulosa, acetato ftalato de celulosa, acetato-succinato hidroximetilcelulosa, copolímero de anhídrido maleico, ácido hialurónico, gelatina, polietilenglicol de alto peso molecular, y combinaciones de los mismos. En una realización, se puede usar carboximetilcelulosa (CMC) como potenciador de viscosidad como parte de la formulación de diluyente.

5 El agente lioprotector es un soluto de molécula pequeña, por ejemplo, manitol, sorbitol, sacarosa, lactosa, galactosa, maltosa, trehalosa, dextrosa, fructosa, otros derivados de azúcar, ciclodextrinas, y mezclas de los mismos. Se pueden usar polisacáridos tales como almidón, dextrano, agar, xantano, y mezclas de los mismos. Estabilizadores tales como poli(alcohol de vinilo), poli(vinilpirrolidona) (PVP), polietilenglicol (PEG), poli(ácido glutámico), y se pueden usar mezclas de los mismos. El agente crioprotector también se puede usar para ajustar la tonicidad de la solución. En una primera realización, como agente lioprotector se usa manitol. El agente lioprotector también puede ser útil para proteger la isotonicidad de la suspensión en cuanto a capacidad de inyección.

10 El agente tensoactivo es un agente de humedecimiento que se selecciona de un grupo de agentes tensoactivos biocompatibles. En una realización se puede usar polisorbato 80. Otros agentes tensoactivos adecuados incluyen colato de sodio, taurocolato de sodio, taurodesoxicolato de sodio, lecitina, fosfolípidos, poloxámeros, ésteres de sorbitano, ésteres de ácidos grasos con glicoles de polioxyilkileno, estearato de glicerol-polialquileño, homo- y copolímeros de glicoles de polialquileño, Pluronic F68, Tween 20, Tween 40, Tween 80, Span 20, Span 40, Span 60, Span 80, HCO-50, HCO-60, emulsionantes tales como gelatina, alcoholes de bajo peso molecular tales como propilenglicol, y ácidos grasos de bajo peso molecular.

15 El diluyente podría ser filtrado estéril para usar en la formulación. La composición se procesa como suspensión y está sustancialmente libre de agregación. Las microesferas suspendidas se secan por congelación fácilmente y son compatibles con agentes añadidos. También se ha encontrado que la composición tiene contenido reducido de agua que proporciona mayor estabilidad para almacenamiento a largo plazo.

20 La figura 3 muestra un diagrama de flujo de proceso en el que en un envase intermedio (IMV) se recibe una suspensión de microesferas, es procesada por un hidrociclón para concentrar microesferas al eliminar la fase continua (CP) y posteriormente procesar la suspensión por un filtro de fibra hueca (HFF) en un envase de retirada de solvente (SRV). En la figura 3, 100 es una fuente de la fase continua (CP) y 102 es una fuente de la fase dispersada (DP). Un mezclador 104 produce una suspensión de microesferas 106 al mezclar la DP y la CP. Mezcladores adecuados se describen en la patente de EE. UU. n.º 5.945.126. La entubación 108 se extiende desde la fuente de la fase continua 100 al mezclador 104 y la entubación 110 se extiende desde la fuente de la fase dispersada 102 al mezclador. La entubación 112 se extiende desde el mezclador a un envase intermedio (IMV) 114. La suspensión de microesferas desde el mezclador se traslada a lo largo de la entubación 112 y entra al envase intermedio (IMV) 114. Puede ser posible pasar la suspensión procedente del mezclador Silverson directamente al hidrociclón únicamente si la suspensión procedente del mezclador tiene suficiente presión positiva. En cambio, es más fácil recibir en un envase intermedio y controlar la presión usando la bomba 116. Esto proporcionará buena flexibilidad. Para la entrega de CP y DP se pueden usar bombas de entrega o dispositivos apropiados (no se muestra).

35 La suspensión de microesferas en el envase intermedio (IMV) es entregada por una bomba 116 a la entrada de un primer hidrociclón (HC-1) 120. La bomba 116 se ubica a lo largo de la entubación 118 que se extiende desde el envase intermedio a la entrada 16 del primer hidrociclón 120. Dependiendo de la magnitud de retirada de CP de la suspensión y también de la retirada de partículas pequeñas del sistema, se podría usar más de un hidrociclón. El diagrama de flujo describe el uso de dos hidrociclones en serie. Sin embargo, el proceso no se limita a dos hidrociclones. El flujo inferior 122 desde la salida de flujo inferior 20 del primer hidrociclón 120 es una suspensión concentrada de microesferas y el flujo superior 124 desde la salida de flujo superior 18 del primer hidrociclón es principalmente un volumen relativamente grande de CP con una pequeña cantidad de microesferas más pequeñas. La entubación 126 se extiende desde la salida de flujo superior 18 del primer hidrociclón 120 a la entrada 16 de un segundo hidrociclón 128. El flujo superior 124 se entrega además a lo largo de la entubación 126 a la entrada 16 del segundo hidrociclón 128 (HC-2). Para esta entrega no se necesita bomba adicional. Si es necesario, en las entradas se podrían introducir manómetros para monitorizar el flujo para finalidades de control de proceso y monitorización. Desde el segundo hidrociclón (HC-2) 128, la suspensión concentrada fluirá como flujo inferior 130 desde la salida de flujo inferior 20 y el flujo superior 132 dejará la salida de flujo superior 18 como corriente de desperdicio.

45 La entubación 134 se extiende desde las salidas de flujo inferior 20 de los hidrociclones primero y segundo 120, 128 a un envase de retirada de solvente (SRV) 136. El flujo inferior 122, 130 desde los hidrociclones HC-1 120 y HC-2 128 (suspensión concentrada) se combina y traslada al SRV 136 a lo largo de la entubación 134. Desde el SRV, la suspensión se recircula usando una bomba 138 a través de un filtro de fibra hueca (HFF) 140. El filtro de fibra hueca incluye un cuerpo 142 que tiene una lumbrera de entrada 144, una lumbrera de retirada de permeado 146 y una lumbrera de salida 148. La bomba 138 se dispone a lo largo de la entubación 150 que se extiende desde el envase de retirada de solvente SRV a la entrada 144 del filtro de fibra hueca HFF. Mientras la suspensión se recircula a través del bucle de HFF, se retira permeado a través de la lumbrera 146. Para retirar el permeado se puede usar una bomba 152. La tasa de retirada de permeado puede coincidir con el flujo inferior desde los hidrociclones para mantener el nivel de volumen en el SRV. No es necesario hacer coincidir el flujo, si el volumen de SRV lo permite. La entubación 153 se extiende desde la salida 148 del filtro de fibra hueca al SRV 136. La suspensión de microesferas que tiene permeado (p. ej., fase continua, agua o diluyente) retirado se traslada desde el filtro de fibra hueca a lo largo de la entubación 153 al SRV.

60 La entubación 156 se extiende desde una fuente de agua de lavado 154 al envase intermedio 114 y la entubación 158 se extiende desde la fuente de agua de lavado 154 al envase de retirada de solvente 136. Una bomba 159 se extiende a lo largo de la entubación 156, 158. Después de completarse la etapa de formación de microesferas, las microesferas

en el SRV 136 se pueden lavar con agua que se traslada desde la fuente de agua 154 a lo largo de la entubación 158 al SRV. Se puede añadir agua a la suspensión de microesferas en el IMV 114 también si el proceso requiere dilución inmediata con agua durante la formación de microesferas. El agua se trasladaría desde la fuente de agua 154 a lo largo de la entubación 156 y al envase intermedio 114. Una bomba 162 se ubica a lo largo de la entubación 164 que se extiende desde el envase de almacenamiento de diluyente 160 al envase de retirada de solvente 136. Del SRV se pueden recuperar microesferas 136 por medio de la salida 137 como a granel y secarse o se pueden suspender en agente de formulación apropiado (diluyente) bombeado desde el envase de almacenamiento de diluyente 160 a lo largo de la entubación 164. Suspender las microesferas en diluyentes se podrían realizar en la propio SRV o en otro envase usando otro HFF. Se podrían rellenar viales con la suspensión de microesferas en agua o en diluyentes retirados del SRV por medio de la salida 137 y esa se podría secar por congelación mediante técnicas estándar.

La figura 4 es un proceso similar a la figura 3, excepto que usa un aparato de tamiz mojado 180 en lugar de filtro de fibra hueca (HFF) para procesar las microesferas y no incluye el SRV. Piezas similares tienen numerales de referencia similares por todas las varias vistas de esta divulgación. La entubación 134 desde las salidas de flujo inferior 20 de los hidrociclones primero y segundo 120, 128 lleva al tamiz mojado 180. Las corrientes de flujo inferior 122, 130 desde los hidrociclones primero y segundo 120, 128 se combinan y se trasladan a lo largo de la entubación 134 al tamiz mojado. El agua de lavado desde la fuente 154 puede ser bombeada por la bomba 159 a la unidad de tamiz y se drenará agua a través de la lumbrera 182.

Se pueden dispensar microesferas como lechada a través de 184. También, las microesferas en la unidad de tamiz se podrían secar en el propio tamiz al hacer fluir aire seco o gas inerte a temperatura apropiada y la microesfera secada podrían ser recogida como polvo a granel a través de la lumbrera 184. Las unidades de tamiz SWECO funcionan con un parámetro (patrón vibración único) que permite a las partículas secas (o lechada) descargarse eficientemente.

Evaluación del hidrociclón para formación de microesferas de liberación mantenida

La eficiencia del funcionamiento de hidrociclón se puede determinar por el coeficiente de concentración y el rendimiento de microesferas a través del flujo inferior. El coeficiente de concentración es la ratio de concentración de partículas en el flujo inferior a la suspensión de alimentación. Un mayor coeficiente de concentración significa separación eficaz de partículas de la fase continua. Un mayor flujo de entrada de suspensión dará como resultado una mayor presión de entrada en el hidrociclón. Una mayor presión de entrada proporciona un mayor coeficiente de concentración. Para fabricación de microesferas un mayor coeficiente de concentración de partículas es relevante. Una ratio de caudal entre flujo inferior y flujo superior es un factor que debe ser considerado junto con una separación eficiente. Si el flujo inferior es bajo, es beneficioso para el proceso puesto que a través del flujo superior se pueden retirar rápidamente cantidades relativamente grandes de agua del sistema. Sin embargo, existe la posibilidad de perder una fracción de partículas en el flujo superior. Se debe seleccionar un tipo apropiado de hidrociclón, y su ápice y flujo de entrada de fabricación para un buen rendimiento de partículas junto con una retirada eficiente de agua del sistema. También se debe considerar el rendimiento de microesferas a través del flujo inferior, especialmente mientras se procesan formulaciones farmacéuticas caras. El rendimiento es la ratio entre la cantidad de microesferas obtenidas a través de la salida de flujo inferior comparada con la cantidad a través de la entrada. La cantidad de microesferas es una combinación de concentración de microesferas y caudal de la suspensión. Si es necesario, se pueden usar múltiples hidrociclones en serie para mejorar el rendimiento y lograr un rendimiento deseado.

La retirada de partículas más pequeñas ocurre a través del flujo superior. El intervalo de tamaño de partícula de las partículas pequeñas a retirar se basa en el tipo de hidrociclón, y su ápice y caudal de fabricación.

**Ejemplo 1:** Procesamiento de suspensión de microesferas usando un hidrociclón: Efecto del caudal de entrada, ID de Ápice y concentración de partículas en el coeficiente de concentración y el tamaño de partícula

Se preparó una suspensión de microesferas a partir de una solución de poli(láctido-co-glicósido) en diclorometano mediante un proceso de aceite-en-agua usando un mezclador Silverson en línea según la patente de EE. UU. n.º 5.945.126. Como fase continua se usó solución de poli(alcohol de vinilo) (0,35 %). La velocidad de mezcla Silverson fue de 7.000 rpm. Se lavaron micropartículas para retirar solventes residuales y las partículas se suspendieron finalmente en agua. La concentración de microesferas en la suspensión fue de 49 mg/g. Posteriormente, también se prepararon suspensiones con menores concentraciones como se muestra en la Tabla 1 al diluirlas aún más en agua. La suspensión se mantuvo en un envase Applikon de 20 L (envase intermedio, IMV) durante el estudio y se removió continuamente para mantener la homogeneidad. Antes del procesamiento en hidrociclón se tomaron muestras de suspensión del IMV en cuanto a análisis de concentración y tamaño de partícula.

La suspensión fue bombeada usando una bomba peristáltica a los caudales mostrados en la Tabla 1 a la lumbrera de entrada del hidrociclón. Se usó un Hidrociclón Tipo GMAX1U-3125 que tiene Ápice 118 recibido de Krebs Engineers. La suspensión desde un Applikon (IMV) de 20 L se bombeó a la entrada de hidrociclón y se obtuvieron muestras de dos salidas; la salida inferior que produjo la corriente de retención de flujo inferior y salida superior que es el flujo superior. En estos experimentos, el flujo inferior era aproximadamente el 20 % del flujo superior, que variaba ligeramente, sin embargo, según las condiciones.

La Tabla 1 muestra los resultados. Conforme aumenta el caudal aumentaba la concentración de las microesferas en la retención (flujo inferior). Para que la suspensión tenga la concentración de partículas de 49 mg/g en el caudal de entrada de 10 L/min la concentración de las microesferas en el flujo inferior corriente fue 2,5 veces comparada con la suspensión a granel. Así, al procesar una suspensión de 20 L a través del hidrociclón se recogió aproximadamente el 50 % de las partículas en aproximadamente 2 L (20 % de la volumen) en 2 minutos de duración. Un mayor caudal de entrada produjo la corriente de flujo inferior en concentraciones uniformes más altas. Experimentos usando suspensión de diluido mostraron coeficientes de concentración incluso mayores como se muestra en la tabla 1. Adicionalmente, la distribución de tamaños de partícula (distribución de volumen) mostró que la corriente de flujo inferior contenía menos partículas más pequeñas puesto que se retiraron partículas más pequeñas a través de la corriente de flujo superior. Un tamaño de partícula en 10 % de distribución de volumen mostró un aumento del 100 %. Así, el tamaño de partícula mostró una reducción considerable de partículas más pequeñas del sistema.

Tabla 1 - Efecto de la concentración de partículas y el caudal en el coeficiente de concentración y el tamaño de partícula

Conc. de microesferas en IMV (g/g)	Caudal de entrada (L/min)	Presión de entrada (PSI)	Conc. de partículas en flujo inferior (g/g)	Ratio de conc. en flujo inferior versus en IMV (flujo de entrada)	10 % de fracción de volumen acumulativo (10 % DE CVF)		50 % de fracción de volumen acumulativo (50 % DE CVF)	
					Tamaño en micrómetros	% de cambio comparado con granel (IMV)	Tamaño en micrómetros	% de cambio comparado con granel (IMV)
0,049	Muestra granel desde IMV				3,96	N/A	26,9	N/A
	10,0	10	0,124	2,5	5,87	+48	30,0	+12
	12,8	14	0,154	3,1	6,57	+66	30,0	+12
	14,3	16	0,169	3,5	6,44	+63	29,7	+10
0,025	Muestra a granel desde IMV				3,07	N/A	24,2	N/A
	10,0	8	0,074	3,0	5,82	+90	28,6	+18
	12,8	13	0,089	3,6	6,16	+101	28,4	+17
	14,3	16	0,095	3,8	6,31	+106	27,7	+14
0,006	Muestra a granel desde IMV				3,22	N/A	24,9	N/A
	10,0	7	0,017	2,8	5,85	+82	28,3	+14
	12,8	12	0,020	3,3	6,45	+100	28,5	+15
	14,3	14	0,022	3,7	6,24	+94	27,8	+11

15 **Ejemplo 2**

Se evaluó el efecto de la ID de ápice del hidrociclón sobre el coeficiente de concentración y el tamaño de partícula de microesferas usando el hidrociclón modelo GMAX1U-3125 (de Krebs), usando tres ID de ápice diferentes A (0,118), B (0,157), y C (0,197) de Krebs se realizaron estudios usando la suspensión de microesferas con concentración de partículas de 15 mg/g a dos caudales diferentes, 8,7 L/min y 12,6 L/min. Cuando se cambió el ápice de hidrociclón de A a C, el coeficiente de concentración aumentó de 4,0 a 5,0 a caudal de 8,7 L/min y de 4,9 a 6,7 en caudal de 12,6 L/min. Adicionalmente, el ápice C retiró una sustancial cantidad de partículas pequeñas. En la suspensión a granel (alimentación) el 10 % de las partículas tenían menos de 2,76 micrómetros. Al procesar a través del hidrociclón el flujo inferior mostró que un 10 % de las partículas tenían menos de 13 micrómetros de tamaño de partícula.

Al seleccionar ápice y caudal de entrada apropiados se pudo eliminar las partículas más pequeñas en diversas medidas del producto.

Tabla-2: Efecto del tipo de Ápice en el coeficiente de concentración y el tamaño de partícula

Ápice	Flujo de entrada (L/min)	Conc. de partículas en flujo inferior (g/g)	Ratio de conc. en flujo inferior versus en IMV	10 % de partículas por debajo		50 % de partículas por debajo	
				Tamaño en micrómetros	% de cambio comparado con granel (IMV)	Tamaño en micrómetros	% de cambio comparado con granel (IMV)
Muestra a granel desde IMV (Conc. 0,015 g/g)				2,76	N/A	27,1	N/A
A	8,7	0,060	4,0	7,41	168	38,2	41
	12,6	0,074	4,9	7,83	184	36,3	34
B	8,7	0,060	4,0	7,95	188	39,2	45
	12,6	0,080	5,3	9,17	232	38,1	41
C	8,7	0,075	5,0	10,6	284	41,1	52
	12,6	0,100	6,7	13,0	371	40,5	49

**Ejemplo 3:**

Microesferas de doxiciclina procesadas por filtro de fibra hueca e hidrociclón

5 La doxiciclina es un antibiótico que para tener eficacia requiere nivel de fármaco mantenido en la sangre. Se prepararon microesferas de doxiciclina para liberación de dos semanas al procesar las microesferas usando un proceso de filtro de fibra hueca (HFF). Usando el proceso de HFF, la suspensión producida por el Silverson en línea era de aproximadamente 50 L y tardó aproximadamente 50 minutos en eliminar 30 L de agua. Usando el hidrociclón se tardan únicamente 4 minutos en eliminar 30 L de agua. También, las microesferas procesadas a través del filtro de fibra hueca contenían partículas más pequeñas. Para este producto, la cinética de liberación de fármaco realizada mediante in vitro e in vivo (modelo de rata) mostraron un estallido inicial. Se encontró que microesferas procesadas a través del hidrociclón estaban sustancialmente libres de partículas pequeñas, que eliminaron partículas pequeñas que contenían poco fármaco. Las microesferas resultantes mostraron un estallido inicial considerablemente menor y mayor carga de fármaco. El siguiente procedimiento proporciona detalles.

15 Preparación de microesferas: Se preparó doxiciclina con microesferas de poli(d,l-láctido-co-glicósido) (PLGA) usando hclato de doxiciclina de Hovione y PLGA (RG503H) de Boehringer Ingelheim mediante un proceso de aceite-en-agua. La fase dispersada (fase orgánica) se preparó al disolver 20 g de hclato de doxiciclina, 80 g de RG503H (PLGA), 240 g de cloruro de metileno y 60 g de metanol. La solución se filtró entonces usando un filtro de PTFE de 0,2 micrómetros (Satafluor 150 de Sartorius). La fase continua (fase acuosa) era 0,5 % de poli(alcohol de vinilo) (PVA) en agua preparada al disolver 300 g de PVA de bajo peso molecular en agua caliente (de 70 a 90 °C). La solución se enfrió entonces a temperatura ambiente y se añadió agua para alcanzar 60 L de volumen total. La fase continua también se filtró a través de PVDF de 0,2 micrómetro (Opticap XL 10 de Millipore). Se prepararon microesferas de doxiciclina usando un mezclador en línea como se describe en la patente de EE. UU. 5.945.126 con un caudal de CP de 4 L/min y un caudal de DP de 30 ml./min. La velocidad de remoción de Silverson fue de 5.000 rpm. Una suspensión de microesferas producida en una tasa de aproximadamente 4 L/min se recogió en un tanque de 100 L y la suspensión en el envase intermedio (IMV) se removió para tener homogeneidad de suspensión.

30 Concentración de suspensión mediante filtro de fibra hueca: Para procesar la suspensión se usó un SRV (biorreactor de 3 L de Applikon) equipado con tubos de entrada para suspensión, agua y diluyente y también una línea de recirculación a través de un filtro de fibra hueca Tipo 5A (HFF de GE Healthcare). La suspensión fue bombeada desde un envase intermedio IMV en 600 m L/min. La suspensión en el SRV fue recirculada a través del HFF en 6 L/min y se retiró permeado a 600 m L/min. Así, para retirar 30 L de agua, se tardaron aproximadamente 50 minutos. Para procesar la suspensión entera en el IMV, se tardaron aproximadamente 80 minutos. En el SRV se mantuvo un volumen de suspensión de 1,5 L y se condensó toda la suspensión en el volumen de 1,5 L.

35 Concentración de la suspensión por hidrociclón: Se conectaron en serie tres hidrociclones, Tipo GMAX1U-3125 con ID de ápice 0,197 (HC-1), 0,197 (HC-2), y 0,118 (HC-3). La salida del IMV se conectó a la entrada del HC-1. El flujo inferior del HC-1 se recogió en un recipiente de vidrio pesado previamente. El flujo superior de HC-1 se conectó a la entrada de HC-2. El flujo inferior de HC-2 también se recogió en un recipiente de vidrio pesado previamente. El flujo superior de HC-2 se conectó a la entrada de HC-3. El flujo inferior de HC-3 también se recogió en un recipiente de vidrio pesado previamente. El flujo superior de HC-3 era una corriente de desperdicios; sin embargo se recogió por

medición de tamaño de partícula y concentración de partículas. Se retiraron muestras de recipientes individuales incluido el IMV por finalidades analíticas. Una suspensión desde el IMV fue bombeada a 13 L/min a la entrada de HC-1 usando una bomba peristáltica (Watson Marlow). Se recogió el flujo inferior y el flujo superior. El volumen total del flujo inferior de HC-1, HC-2 y HC-3 fue aproximadamente de 19 L. Este se transfirió además al envase de retirada de solvente (SRV) usando una bomba peristáltica, se procesó usando un filtro de fibra hueca eliminando CP en 600 m L/min condensando las microesferas en 1,5 L de volumen.

Lavado de microesferas: Después de concentrar las microesferas de volumen de 50 L a volumen de 1,5 L usando el HFF o la combinación Hidrociclón-HFF, las microesferas se lavaron como suspensión con agua a temperatura ambiente durante 10 minutos, agua a 35 °C durante 40 minutos (20 minutos a temperatura y un tiempo de rampa de 20 minutos) y de nuevo con agua a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos. Esto se realizó por intercambios de volumen como se describe en la patente de EE. UU. 6.270.802.

Recuperación y secado por congelación: En una membrana de PVDF se recuperaron microesferas lavadas usando filtración de extremo cerrado y secado por congelación. Se realizó secado por congelación al congelarla a -35 °C durante 1 hora y manteniéndola a -35 °C durante 3 horas, aumentando la temperatura de -35 a -5 °C durante 2 horas (vacío de  $\leq 150$  mT), de -5 a +5 °C durante 6 horas (vacío de  $\leq 150$  mT) y de +5 a +30 °C durante 2 horas (vacío de  $\leq 150$  mT) y manteniéndola a +30 °C durante 8 horas (vacío  $\leq 150$  mT).

Se caracterizaron microesferas preparadas por el proceso HFF y por el proceso de hidrociclón en cuanto a contenido de fármaco, distribución de tamaños de partícula y liberación de fármaco. Se evaluaron microesferas preparadas por el proceso HFF liberación de fármaco in vivo en ratas. Para el proceso de hidrociclón, se midió carga de fármaco y tamaño de partícula para fracciones individuales también por motivos de información. Adicionalmente, también se determinaron concentraciones de partículas en diversas suspensiones para evaluar la comparación de eficiencia de hidrociclón.

La Tabla 3 muestra las prestaciones del proceso de hidrociclón. Como se muestra, el HC procesó la suspensión a aproximadamente 13 L/min mientras el HFF procesó la suspensión a 600 mL/min únicamente. El hidrociclón permite procesar volúmenes relativamente grandes en una duración más corta comparada con el HFF debido a razones descritas anteriormente. Una suspensión de microesferas podría ser procesada a la misma tasa de producción usando un HC y no se requiere un gran envase de contención. Por tanto, se podrían usar equipos más pequeños. Por ejemplo, si la tasa de producción de suspensión de microesferas es de 15 L/min, el HC podría fácilmente retirar CP a 15 L/min. El equipamiento es muy compacto (aprox. 30,48 cm (1 ft) de largo 2,54 cm (1 pulgada) de diámetro). Sin embargo, para eliminar la CP a 15 L/min a través de HFF, no hay HFF disponible que funcione a esta tasa, por lo tanto se colocarían 2 o 3 HFF en paralelo y la tasa de recirculación de la suspensión a través del HFF tiene que ser 150 L/min. Esto requiere una bomba grande. Por lo tanto, el equipamiento es grande y engorroso.

Tabla 3: Caudal, concentración de microesferas y distribución de tamaños de partícula

		HC-1	HC-2	HC-3
Caudal (L/min)	Flujo de entrada	13,0	11,79	10,99
	Flujo inferior	1,81	0,80	0,84
	Flujo superior	11,79	10,99	10,15
Concentración de partículas (g/g)	Entrada	0,00185	0,00065*	0,00048*
	Flujo inferior	0,00906	0,00175	0,00119
	Flujo superior	0,00065*	0,00048*	0,0004*
Tamaño de partícula para flujo de entrada	10 % por debajo	4,98		
	25 % por debajo	12,0		
	50 % por debajo	30,2		
	75 % por debajo	46,1		
	90 % por debajo	59,7		
Tamaño de partícula para flujo inferior	10 % por debajo	10,7	4,45	4,20
	25 % por debajo	30,3	11,7	9,03
	50 % por debajo	44,6	28,8	24,6
	75 % por debajo	57,3	42,3	37,7
	90 % por debajo	68,3	53,8	48,4
Tamaño de partícula para flujo superior	10 % por debajo			3,39
	25 % por debajo			5,94
	50 % por debajo			11,3
	75 % por debajo			23,6
	90 % por debajo			32,9

\*Calculado

- 5 Los resultados muestran que la concentración de microesferas de doxiciclina en el flujo inferior del primer HC fue aproximadamente 5 veces la de la entrada y 14 veces la del flujo superior. De microesferas de 96 g procesadas de los 50 L de suspensión, se recogieron 66 g de microesferas en 7,2 L de suspensión en el flujo inferior de HC-1. Así, el 69 % de las microesferas de doxiciclina se recogieron en el 17 % del volumen y estas partículas están sustancialmente libres de partículas más pequeñas. Esto se logró rápidamente en menos de 4 minutos de procesamiento.
- 10 La concentración de microesferas en el flujo inferior del segundo HC fue 2,7 veces la concentración de partículas de la entrada y 3,7 veces comparada con el flujo superior. Los resultados muestran que se recuperaron 8,2 g (9 % de granel) a través del flujo inferior de HC-2 en 4,7 L de volumen. Así el 9 % de las microesferas en el granel original (en IMV) se recogieron en el 9 % del volumen. La concentración de las microesferas en el flujo inferior de HC-2 es similar a la de la suspensión original en el IMV. Aunque no hay ganancia neta en la concentración de partículas, esta fracción podría ser recogida por un buen rendimiento, si es necesario.
- 15 La concentración de microesferas en el flujo inferior de la HC-3 fue 2,4 veces la concentración de las partículas en el flujo superior. La concentración de las partículas en el flujo inferior es incluso menor, menor que al de la suspensión a granel en el IMV. De nuevo, esta fracción se podría incluir en el producto, si el rendimiento de las partículas es crítico. La concentración de partículas en el flujo inferior disminuye con HC añadido en serie porque la concentración de partículas que entran al subsiguiente HC es cada vez menor comparada con la concentración en el IMV. Aquí se
- 20 introducen múltiples HC con el propósito de buen rendimiento únicamente.

El tamaño de partícula también ha mostrado una gran diferencia entre las partes recibidas en el flujo inferior y el flujo superior de HC. Microesferas recibidas a través del flujo inferior de HC-1 tenían una pequeña cantidad de partículas pequeñas (figura 5A) y el flujo superior de HC-3 contenía una mayor parte de las partículas más pequeñas (figura 5B).

5 Para la ejecución de microesfera de doxiciclina, el flujo inferior de los tres HC se entregó al SRV y se procesó aún más (concentrado y lavado) usando el HFF. Microesferas resultantes se compararon con las microesferas preparadas por filtro HFF solo en cuanto a propiedades de carga de fármaco, tamaño de partícula y liberación de fármaco. Puesto que el flujo inferior de HC-2 y HC-3 también se combinó con el producto, había algunas partículas más pequeñas en las microesferas procesadas por HC; sin embargo, la cantidad de partículas más pequeñas es mucho menor comparada con el lote de microesferas procesadas con HFF solo. La carga de fármaco en las microesferas fue del 12,3 % para las microesferas procesadas por HC-HFF. Microesferas procesadas con HFF solo mostraron únicamente un 9,4 % de carga de fármaco. Esto se debió principalmente a la presencia de partículas más pequeñas que tenían baja carga de fármaco. Se encontró que las partículas en el flujo superior de HC-3 tenía únicamente un 4,3 % de carga de fármaco. Las microesferas con menor carga de fármaco no son las preferidas puesto que se requiere inyectar más microesferas para proporcionar una dosis similar.

15 Un beneficio adicional encontrado en las microesferas procesadas por HC-HFF fue la reducción de la liberación de estallido inicial. En ratas se inyectaron microesferas procesadas con HFF solo para hacer seguimiento de la tasa de liberación in vivo. Se inyectaron seis ratas con las microesferas procesadas con HFF en la dosis de 10 mg doxiciclina/Kg de rata. Se usaron cinco ratas para el grupo de prueba. Se tomaron muestras de sangre a las 2 horas, 6 horas, 1 día, 3 días, 6 días, 10 días, 15 días y 21 días y se ensayó la concentración de doxiciclina en la sangre mediante HPLC-MS. Los resultados mostraron que microesferas procesadas con HFF solo tenían un enorme estallido inicial (figura 6). Estas microesferas se prepararon para tener aproximadamente una duración de liberación de 10 días. Para estas formulaciones es deseable un estallido de bajo a moderado. El estallido más alto mostrado en la figura 6 no es deseable.

25 Se probaron microesferas procesadas con HFF solo y microesferas procesadas por HC-HFF en cuanto a liberación in vitro en condiciones fisiológicas. Esto se realizó con microesferas de 20 mg en salino con tapón de 20 mL de fosfato contenido en tubos de 40 mL con tapón roscado colocados en un baño de agua a 37 °C de agitación. El sobrenadante entero fue retirado para ensayo en cada punto de muestreo, 1 hora, 5 horas, 1 día, 3 días y 7 días y sustituido por medios de liberación frescos. Se ensayó la concentración de fármaco en el sobrenadante en cuanto a doxiciclina mediante espectrómetro de UV contra estándares de calibración. El porcentaje de fármaco liberado en cada instante se calculó a partir del total de fármaco introducido en el tubo de muestra comparado con el encontrado en los medios de liberación. Los resultados se muestran en la figura 7 como trazado de liberación acumulativa frente al tiempo. Se encontró que microesferas procesadas por HC-HFF tenían un estallido inferior mucho menor (un quinto) comparado con las microesferas procesadas con HFF solo. Así, al eliminar partículas más pequeñas que tenían baja carga de fármaco y liberación más rápida, se redujo el estallido inicial no deseado de las microesferas. Las microesferas procesadas por HC-HFF mostraron liberación de orden cero casi de estado estable mientras las microesferas procesadas por HFF solo mostraron estallido inicial cinco veces más alto y liberación inicial más alta durante los cinco días iniciales.

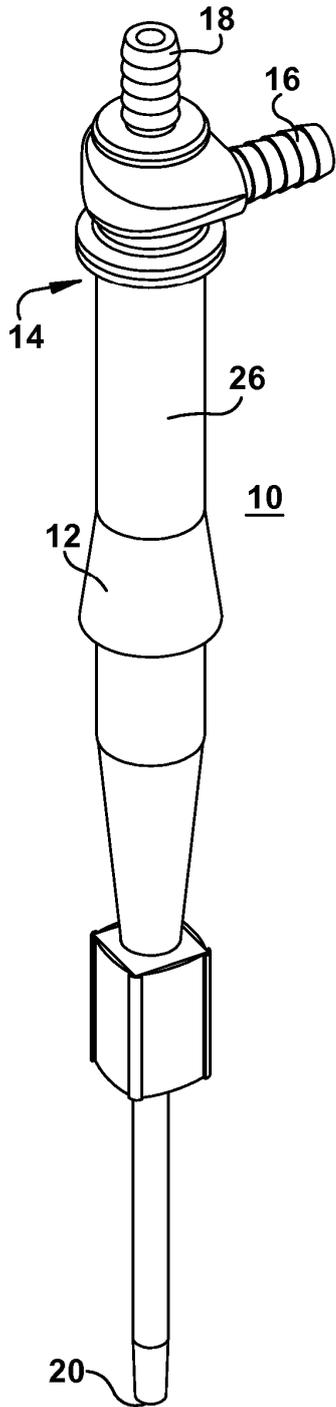
40 Muchas modificaciones y variaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a la luz de la divulgación anterior. Por lo tanto, se tiene que entender que, dentro del alcance de las reivindicaciones anexas, la invención se puede poner en práctica de otro modo al que se ha mostrado y descrito específicamente.

**REIVINDICACIONES**

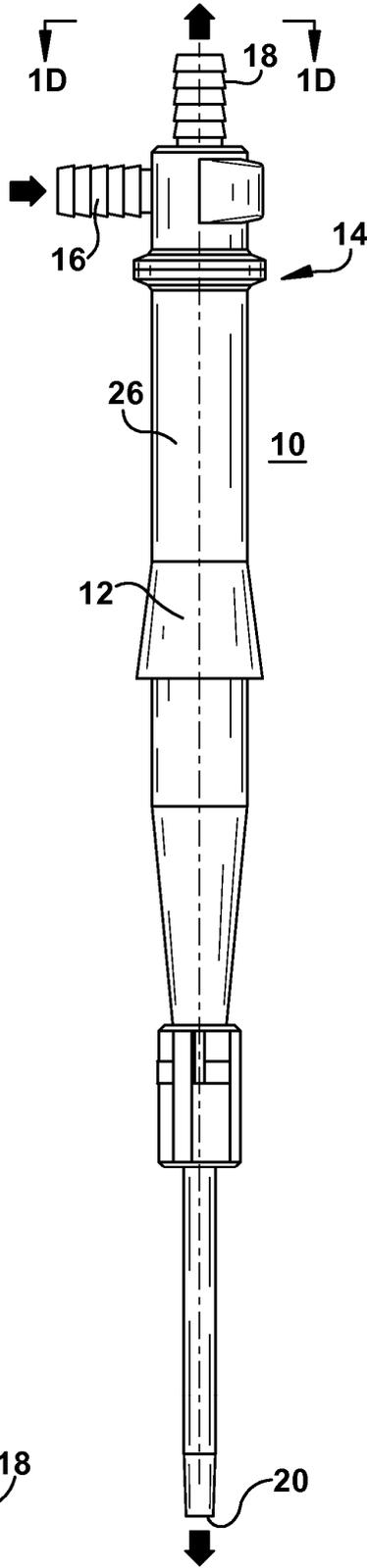
1. Un sistema para procesar microesferas que comprende:  
un envase (114) que contiene una suspensión de microesferas solidificadas en un medio de suspensión;  
5 un hidrociclón (HC) (120) que tiene una entrada de fluido (16), una primera salida de fluido (18) y una segunda salida de fluido (20), en donde dicha entrada de fluido (16) está en comunicación de fluidos con dicho envase (114) y recibe dicha suspensión, dicha segunda salida de fluido (20) descarga un flujo de dicha suspensión que tiene una concentración aumentada de dichas microesferas respecto a dicha suspensión en dicho envase (114), y dicha primera salida de fluido (18) descarga un flujo de dicho medio de suspensión que tiene una menor concentración de dichas microesferas respecto a dicha suspensión en dicho envase (114);  
10 caracterizado por que el sistema comprende además un filtro de fibra hueca (140) que tiene una entrada en comunicación de fluidos con dicha segunda salida de fluido (20); y,  
un envase de retirada de solvente (SRV) (136) interpuesto entre y en comunicación de fluidos con dicha entrada de dicho filtro de fibra hueca (140) y dicha segunda salida de fluido (20) de dicho hidrociclón HC (120), dicho envase de retirada de solvente SRV (136) capaz de recibir y lavar dichas microesferas en dicha  
15 suspensión descargada desde dicha segunda salida de fluido (20) de dicho hidrociclón HC (120) para retirar solvente de dicha suspensión.
2. El sistema de la reivindicación 1, dicho sistema comprende un filtro de fibra hueca (140) que tiene una entrada en comunicación de fluidos con dicha segunda salida (20) para recibir dicha suspensión.
3. El sistema de la reivindicación 1, dicho sistema comprende un filtro de fibra hueca (140) que tiene una entrada  
20 (144) para recibir dicha suspensión de dicho SRV (136), y una salida (148) en comunicación de fluidos con una entrada en dicho envase de retirada de solvente (136), dicho sistema capaz de recircular dicha suspensión de dicho SRV (136), a través de dicho filtro de fibra hueca (140) y de regreso a dicho envase de retirada de solvente (136).
4. Un método para procesar microesferas que comprende:  
formar una suspensión de microesferas solidificadas en un medio de suspensión en un envase (114);  
25 mover dicha suspensión desde dicho envase (114) a una entrada de fluido (16) de un hidrociclón (HC) (120), dicho hidrociclón HC (120) tiene además una primera salida de fluido (18) y una segunda salida de fluido (20);  
retirar de dicha segunda salida de fluido (20) un flujo de dicha suspensión que tiene una concentración aumentada de dichas microesferas respecto a dicha suspensión en dicho envase (114);  
30 retirar de dicha primera salida de fluido (18) un flujo de dicha suspensión que tiene una concentración disminuida de microesferas respecto a dicha suspensión en dicho envase (114); caracterizado por que el método comprende además  
mover dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) a una entrada de un filtro de fibra hueca (140) y  
35 mover dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) de dicho hidrociclón HC (120) a una entrada de fluido de un envase de retirada de solvente (SRV) (136) capaz de recibir y lavar dichas microesferas en dicha suspensión, y mover dicha suspensión desde una primera salida de dicho envase de retirada de solvente SRV (136) a dicha entrada de dicho filtro de fibra hueca (140).
5. El método de la reivindicación 4 que comprende mover dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) a una entrada de un filtro de fibra hueca (140).
- 40 6. El método de la reivindicación 4 que comprende mover dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) a una entrada de un tamiz mojado (180).
7. El método de la reivindicación 4, que comprende además mover dicha suspensión desde una salida (148) de dicho filtro de fibra hueca (140) a dicha entrada de dicho SRV (136).
8. El método de la reivindicación 4, que comprende además seleccionar uno o ambos de un I.D. de ápice y un caudal de entrada de dicho HC (120) de manera que un 10 % de fracción de volumen acumulativo (CVF) de dichas microesferas en dicho flujo de dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) se aumenta respecto a un  
45 10 % de CVF de dichas microesferas en dicha suspensión que entran a dicho HC (120).
9. El método de la reivindicación 4, que comprende además seleccionar uno o ambos de un I.D. de ápice y un caudal de entrada de dicho HC (120) de manera que un 10 % de fracción de volumen acumulativo (CVF) de dichas microesferas en dicho flujo de dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) se aumenta al menos un  
50

48 % respecto a un 10 % DE CVF de dichas microesferas en dicha suspensión que entran a dicho HC (120).

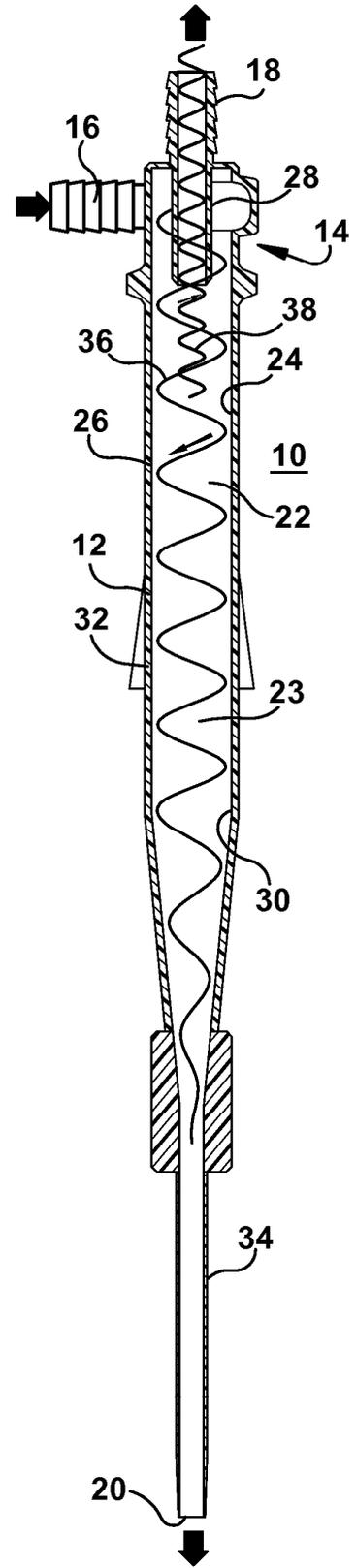
- 5 10. El método de la reivindicación 4, que comprende además seleccionar uno o ambos de un I.D. de ápice y un caudal de entrada de dicho HC (120) de manera que un 10 % de fracción de volumen acumulativo (CVF) de dichas microesferas en dicho flujo de dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) se aumenta al menos un 63 % respecto a un 10 % DE CVF de dichas microesferas en dicha suspensión que entran a dicho HC (120).
11. El método de la reivindicación 4, que comprende además seleccionar uno o ambos de un I.D. de ápice y un caudal de entrada de dicho HC (120) de manera que un 10 % de fracción de volumen acumulativo (CVF) de dichas microesferas en dicho flujo de dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) se aumenta al menos un 82 % respecto a un 10 % DE CVF de dichas microesferas en dicha suspensión que entran a dicho HC (120).
- 10 12. El sistema de la reivindicación 1, dicho HC (120) tiene un I.D. de ápice y un caudal de entrada que aumenta el 10 % de fracción de volumen acumulativo (CVF) de dichas microesferas en dicho flujo de dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) respecto a un 10 % DE CVF de dichas microesferas en dicha suspensión que entra a dicho HC (120).
- 15 13. El sistema de la reivindicación 1, dicho HC (120) tiene un I.D. de ápice y un caudal de entrada que aumenta el 10 % de fracción de volumen acumulativo (CVF) de dichas microesferas en dicho flujo de dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) en al menos un 48 % respecto a un 10 % DE CVF de dichas microesferas en dicha suspensión que entra a dicho HC (120).
- 20 14. El sistema de la reivindicación 1, dicho HC (120) tiene un I.D. de ápice y un caudal de entrada que aumenta el 10 % de fracción de volumen acumulativo (CVF) de dichas microesferas en dicho flujo de dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) en al menos un 63 % respecto a un 10 % DE CVF de dichas microesferas en dicha suspensión que entra a dicho HC (120).
- 25 15. El sistema de la reivindicación 1, dicho HC (120) tiene un I.D. de ápice y un caudal de entrada que aumenta el 10 % de fracción de volumen acumulativo (CVF) de dichas microesferas en dicho flujo de dicha suspensión desde dicha segunda salida de fluido (20) en al menos un 82 % respecto a un 10 % DE CVF de dichas microesferas en dicha suspensión que entra a dicho HC (120).
16. El método de la reivindicación 7, que comprende además retirar dicha suspensión de dicho SRV (136) a través de una segunda salida (137) del mismo.



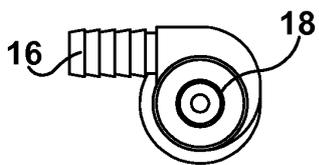
**FIG. 1A**



**FIG. 1B**



**FIG. 1C**



**FIG. 1D**

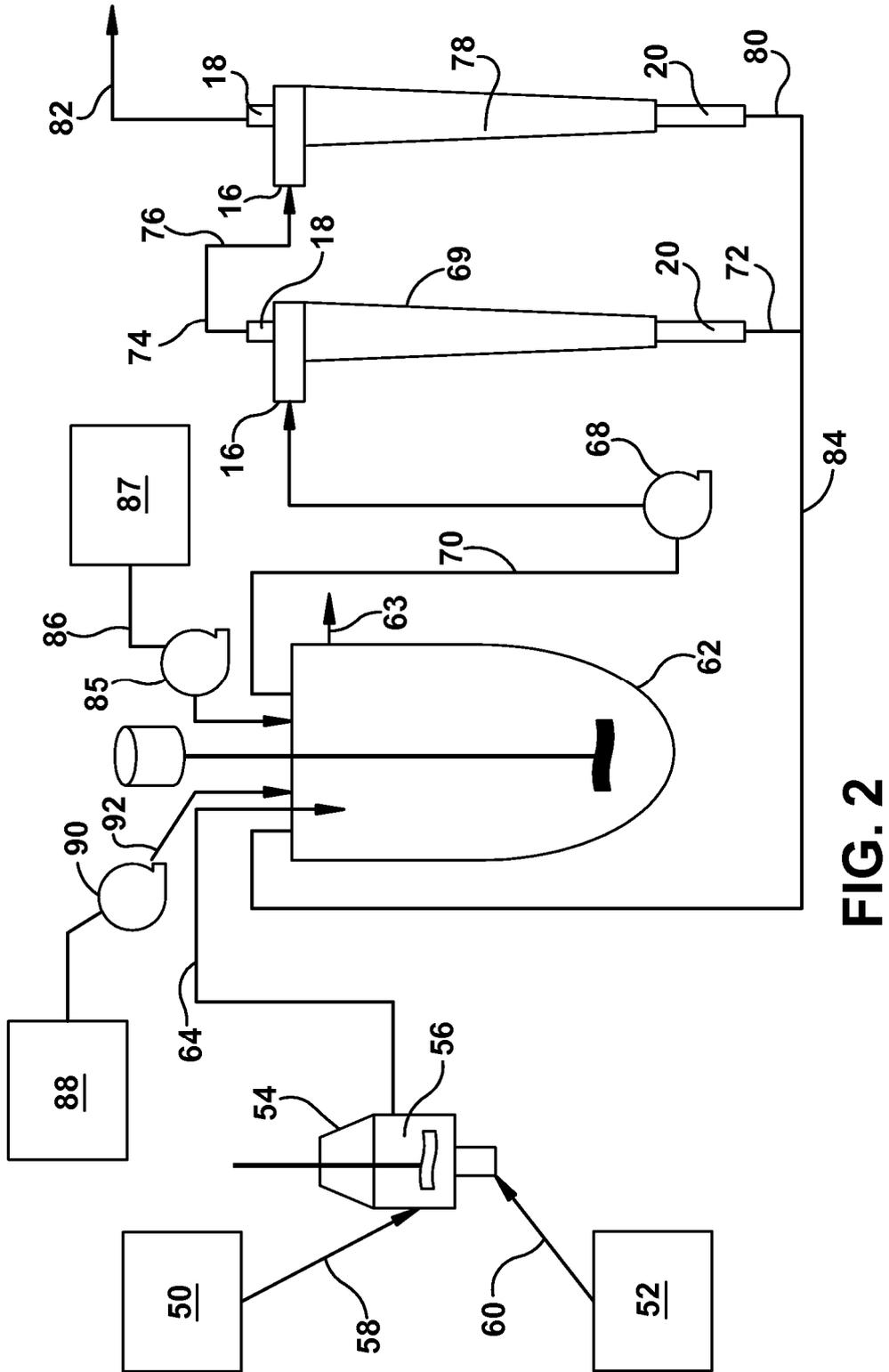


FIG. 2

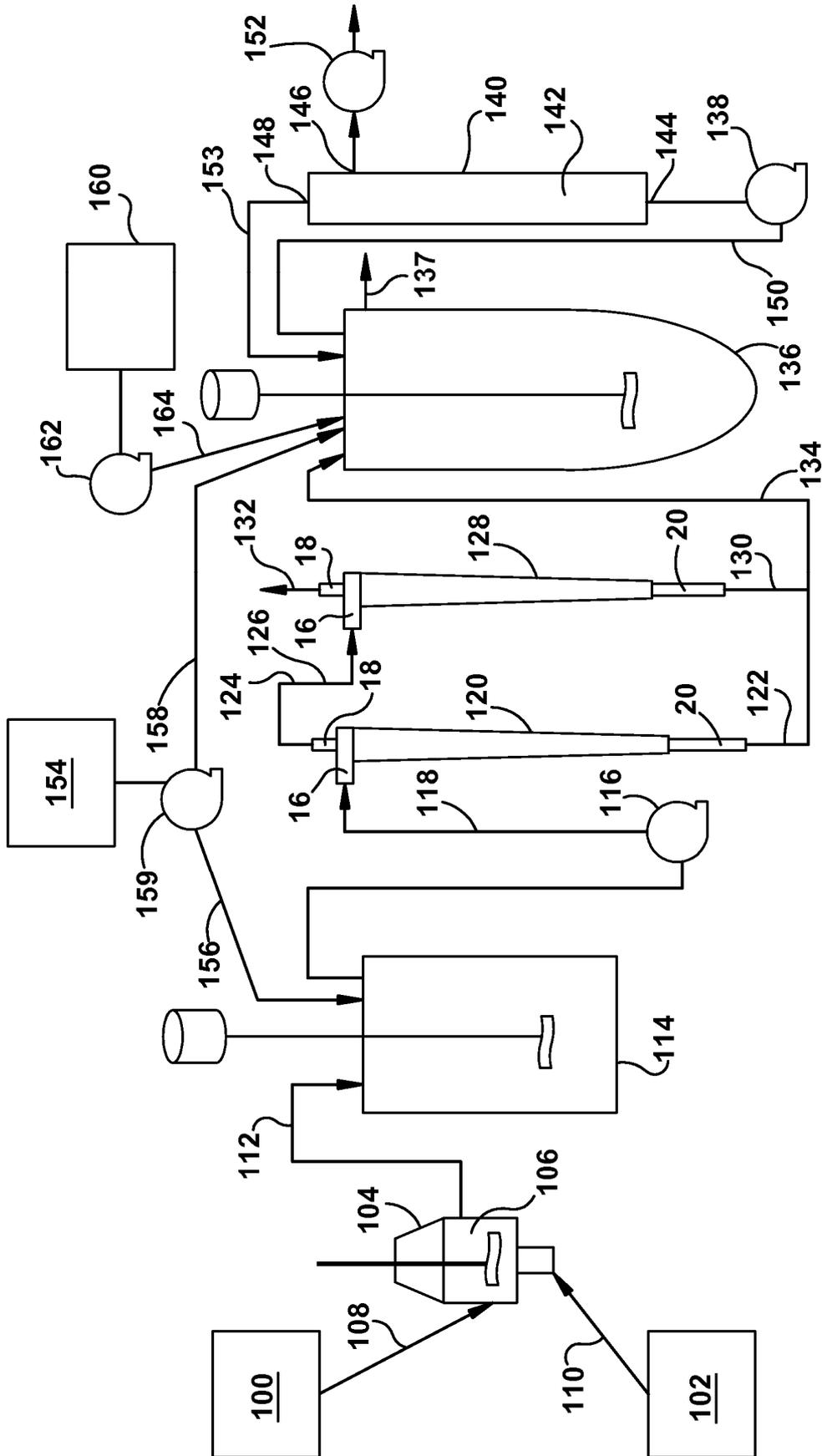
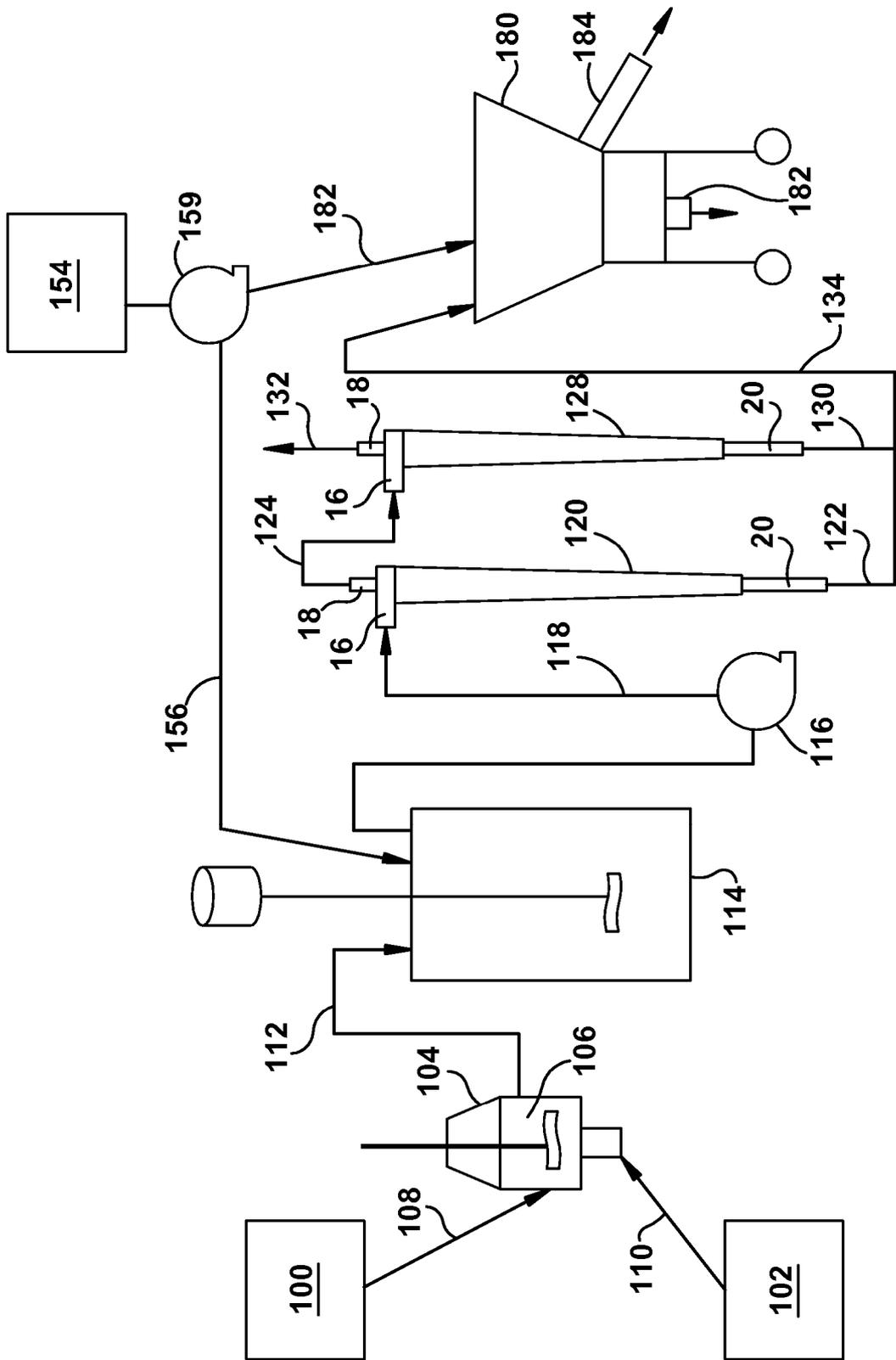
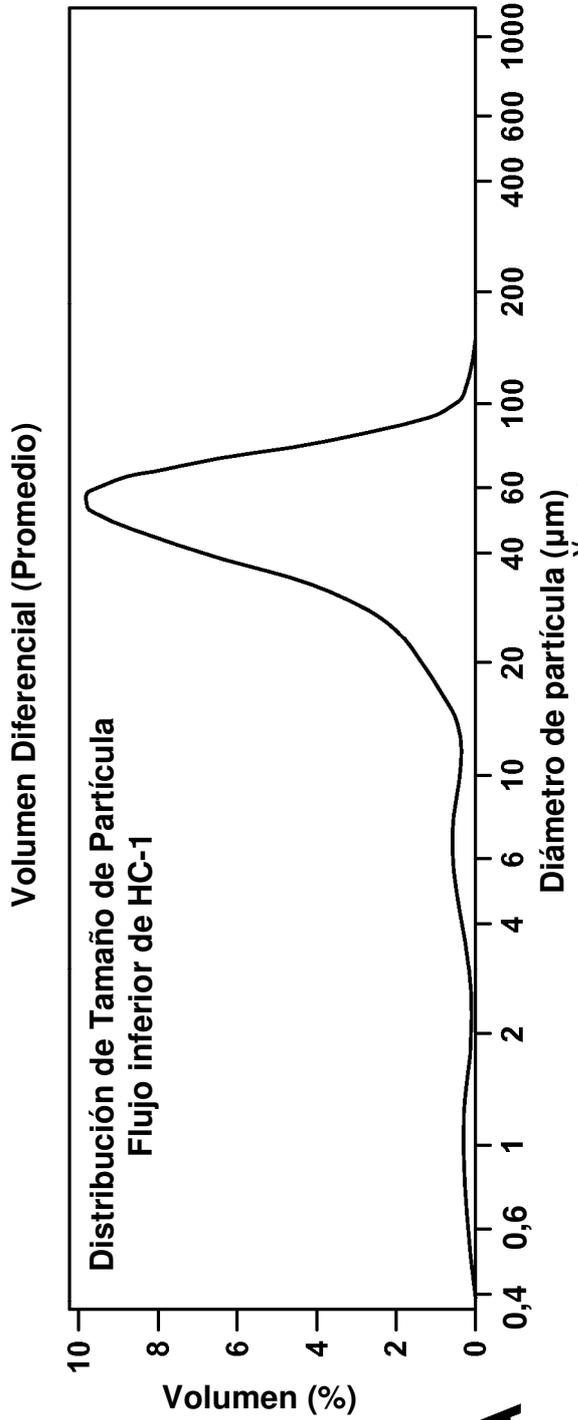


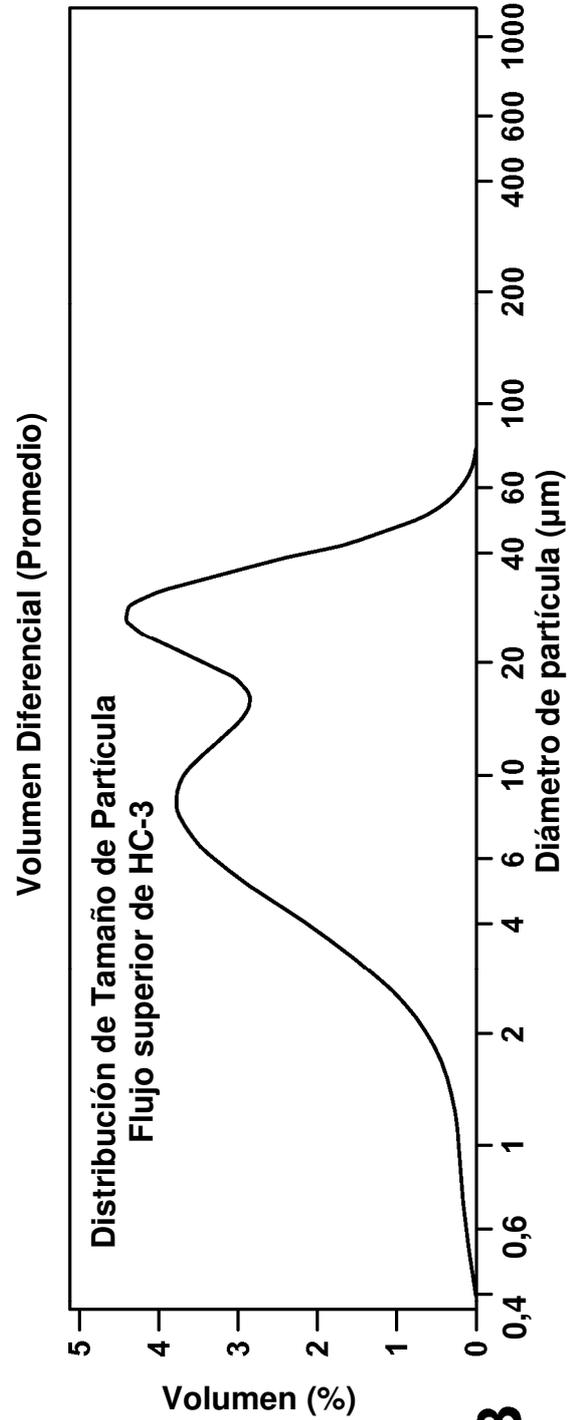
FIG. 3



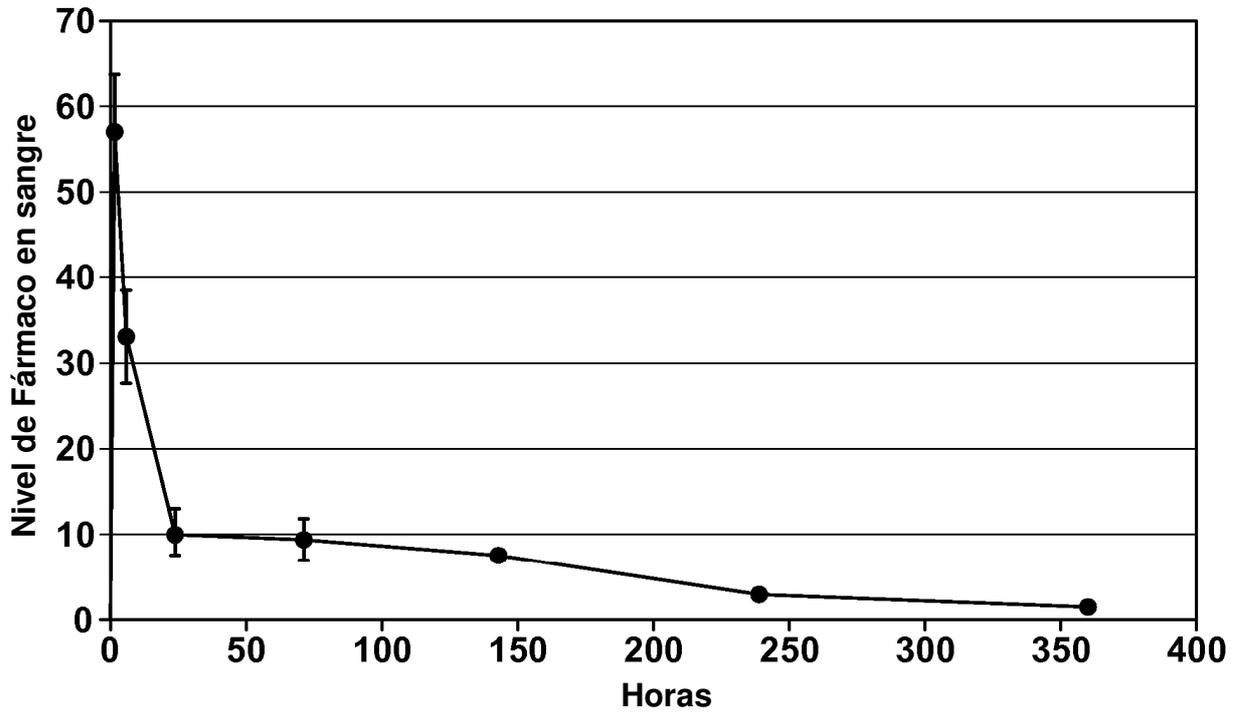
**FIG. 4**



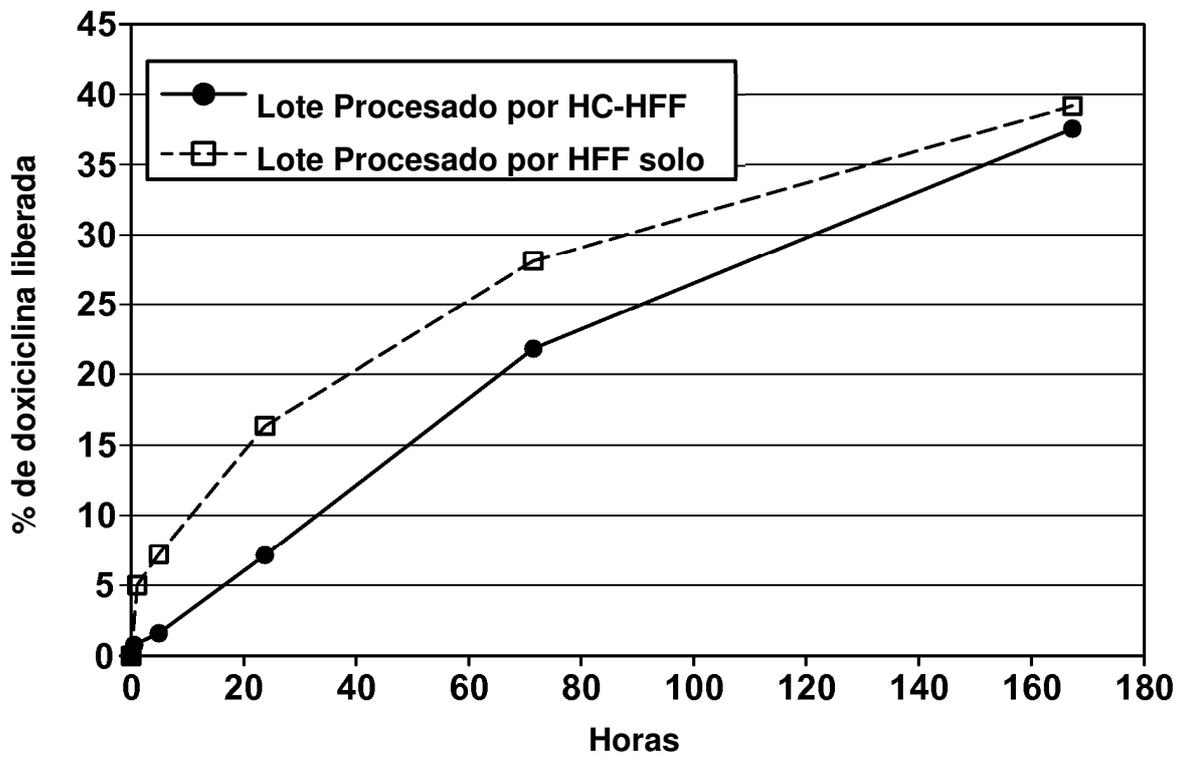
**FIG. 5A**



**FIG. 5B**



**FIG. 6**



**FIG. 7**