

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202490872** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.07.30

(22) Дата подачи заявки
2022.09.27

(51) Int. Cl. *A61K 9/16* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 31/436 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ СОСТАВ, СОДЕРЖАЩИЙ ТАКРОЛИМУС, СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) **20210100639; 2116138.5**

(32) **2021.09.27; 2021.11.10**

(33) **GR; GB**

(86) **PCT/EP2022/025445**

(87) **WO 2023/046321 2023.03.30**

(71) Заявитель:
ФАРМАТЕН С.А. (GR)

(72) Изобретатель:

**Каравас Евангелос, Кутрис
Эфтимос, Каланцис Лида, Хайтиду
Сотириа, Лемонакис Никос, Пападаки
Анна, Бриудес Винсент, Калеци
Артемис, Каценис Атанасиос, Котти
Катерина (GR)**

(74) Представитель:

Кузнецова С.А. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к инъекционному составу длительного действия на основе комбинации биоразлагаемых микрочастиц сополимера D,L-лактида и гликолида, содержащему разные полимеры на основе PLGA и такролимус. Оно также относится к способу получения микрочастиц и их применению.

A1

202490872

202490872

A1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ СОСТАВ, СОДЕРЖАЩИЙ ТАКРОЛИМУС, СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к инъекционному фармацевтическому составу со стабильным пролонгированным высвобождением, содержащему терапевтически эффективное количество такролимуса, способу его получения и применению состава для лечения и предупреждения отторжения органа после трансплантации, заболеваний, обусловленных реакцией «трансплантат против хозяина» при трансплантации костного мозга, аутоиммунных заболеваний, инфекционных заболеваний и т. п.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Отторжение трансплантата представляет собой процесс, при котором иммунная система реципиента трансплантации атакует трансплантированные орган или ткань. Чем более подобны антигены донора и реципиента, тем менее вероятно, что орган будет отторгнут. Типирование тканей гарантирует, что орган или ткань являются как можно более подобными тканям реципиента. Совпадение обычно не является совершенным. Никакие два человека, за исключением однойцевых близнецов, не имеют идентичные тканевые антигены.

После трансплантации применяются медицинские препараты для подавления иммунной системы реципиента. Цель заключается в том, чтобы предотвратить атаку недавно трансплантированного органа иммунной системой. Если такие медицинские препараты не применяются, то организм почти всегда запускает иммунный ответ и отторгает чужеродную ткань.

Иммунодепрессанты или лекарственные средства для предупреждения реакции отторжения снижают способность организма отторгать трансплантированный орган. Существует два типа иммунодепрессантов: индуцирующие лекарственные средства представляют собой сильнодействующие медицинские препараты для предупреждения реакции отторжения, применяемые во время трансплантации, и поддерживающие

лекарственные средства представляют собой лекарственные препараты для предупреждения реакции отторжения, применяемые, как правило, вскоре после трансплантации и в течение длительного срока. Обычно применяемые поддерживающие лекарственные средства представляют собой ингибиторы кальциневрина (CNI). Такролимус представляет собой иммунодепрессант на основе CNI, применяемый большинством пациентов, перенесших трансплантацию, согласно отчетам Научного реестра реципиентов трансплантации (SRTR).

Иммуносупрессивная активность такролимуса опосредована ингибированием кальциневрина, который представляет собой протеинфосфатазу, обнаруженную в цитоплазме Т-клеток, и последующим блокированием выработки интерлейкина-2, что приводит к уменьшению пролиферации Т-клеток.

Молекулярная формула такролимуса моногидрата представляет собой $C_{44}H_{69}NO_{12} \cdot H_2O$, что соответствует молекулярной массе, составляющей 822. Он представляет собой белый или почти белый кристаллический порошок. Он является легкорастворимым в этаноле и практически нерастворимым в гептане и воде.

Такролимус в водном растворе эимеризуется до промежуточного соединения, представляющего собой соединение I такролимуса, которое превращается в соединение II такролимуса, с достижением равновесия, предусматривающего три формы. Это является неотъемлемым свойством молекулы.

В настоящее время такролимус доступен под торговым названием PROGRAF™ в виде таблетки, капсулы и суспензии для перорального применения, а также как концентрат для раствора для инфузий только для госпитализированных пациентов. Раствор для инфузий содержит полиоксил 60 гидрогенизированного касторового масла или полисорбат 80 в качестве солюбилизаторов, присутствие которых может привести к анафилактическому шоку (т. е. тяжелой аллергической реакции) и смерти у пациентов. В инструкциях для применения внутривенных инфузий рекомендуется, что пациентов следует переводить с лекарственного препарата для внутривенного введения на лекарственный препарат для перорального применения, как только индивидуальные обстоятельства позволят избежать анафилактических реакций, при этом внутривенную терапию не следует продолжать в течение более 7 дней. Лекарственные препараты для перорального применения вводятся по меньшей мере один раз в день.

В WO 2006/002365 A2 раскрыт состав, содержащий микрочастицу, где микрочастица содержит полимер и лекарственное средство, такое как такролимус, и где лекарственное средство присутствует в микрочастице в концентрации, составляющей более 50% и предпочтительно более 75% (вес лекарственного средства/вес микрочастицы), что позволяет предположить, что составы с высоким содержанием могут способствовать менее частому введению доз. К сожалению, раскрытые составы имеют недостатки, которые заключаются в том, что по меньшей мере 15% лекарственного средства высвобождается почти немедленно, и высвобождение лекарственного средства продолжается в течение лишь не более приблизительно 3 недель.

В EP 1868576 A2 раскрыт, в качестве способа для избегания проблемы, связанной с анафилаксией, инъекционный состав на основе наночастиц без гидрогенизированного касторового масла, содержащий: (a) частицы такролимуса, характеризующиеся эффективным средним размером частиц, составляющим менее приблизительно 2000 нм; и (b) по меньшей мере один стабилизатор поверхности. К сожалению, применение частиц раскрытых размеров имеет недостаток, который заключается в том, что такие частицы будут фагоцитированы иммунными клетками (Dawes G.J.S. et al Mater Sci: Mater Med (2009) 20: 1089-1094).

Хотя каждый из указанных выше патентов представляет собой попытку преодоления проблем, ассоциированных с существующими схемами лечения, они не предусматривают подходящий продукт с контролируемым высвобождением, и все еще существует необходимость в инъекционных составах с контролируемым высвобождением, которые позволяют избежать колебаний концентрации в плазме крови, избежать высокого исходного высвобождения лекарственного средства, обеспечить удовлетворительные уровни высвобождения, снижать риски возникновения ассоциированных побочных эффектов, таких как анафилаксия, и избежать необходимость запоминания принятия ежедневных доз продуктов для перорального применения и, тем самым, улучшать комплаентность пациента с предписанным режимом.

СУЩНОСТЬ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении предусмотрен фармацевтический состав, содержащий микрочастицы, где микрочастицы содержат два разных полимера и такролимус, где

каждый из полимеров представляет собой полимер на основе сополимера (D,L-лактида и гликолида), и каждый из полимеров характеризуется одинаковым соотношением лактида и гликолида и каждый из полимеров характеризуется разной молекулярной массой.

Такролимус в соответствии с настоящим изобретением может содержать основание или любую соль такролимуса в любой кристаллической или аморфной форме или его производное. Сообщалось о двух видах конформационной гетерогенности такролимуса:

- 1) конформационная изомеризация цис-транс, предусматривающая ограниченное вращение вокруг амидной связи в пипеколиновом фрагменте;
- 2) цис-изомер и такролимус существуют в цис-конформации в состоянии твердого вещества.

Настоящее изобретение относится к инъекционному фармацевтическому составу для контролируемого высвобождения такролимуса для парентерального введения, который применяется для предупреждения или лечения отторжения органа после трансплантации, более конкретно для профилактики отторжения органа у взрослых пациентов и пациентов-детей, получающих аллогенный трансплантат печени, почки или сердца, необязательно в комбинации с другими иммунодепрессантами.

Целью настоящего изобретения является получение такролимуса, инкапсулированного в полимерные микрочастицы, с целью контроля высвобождения лекарственного средства и снижения частоты введения. Такой состав обеспечивает лучшее соблюдение режима приема лекарственного препарата, уменьшение необходимости терапевтического мониторинга лекарственных средств, снижение вероятности возникновения проблем, связанных с анафилаксией, вскоре после введения посредством инфузии составов на основе такролимуса и позволяет избежать необходимости в ежедневном введении доз продукта для перорального применения.

Дополнительное преимущество настоящего изобретения заключается в том, что оно предусматривает получение инъекционного состава на основе такролимуса, который не проявляет какие-либо лаг-фазу высвобождения или всплеск высвобождения и по существу характеризуется линейным профилем высвобождения в течение периода,

составляющего не более двух месяцев. Это достигается посредством объединения микрочастиц двух типов, полученных из разных полимеров на основе PLGA.

Дополнительной целью настоящего изобретения является получение инъекционного состава, который может быть введен подкожно или внутримышечно с образованием депо, которое обеспечивает длительное контролируемое высвобождение лекарственного средства.

Дополнительной целью настоящего изобретения является получение инъекционного состава с контролируемым высвобождением, содержащего такролимус в качестве активного ингредиента, который демонстрирует хорошую проходимость через иглу, инъекруемость, не закупоривая или блокируя иглы шприца, хороший дренаж, стерильность и ресуспендируемость в случае суспензии.

Дополнительной целью настоящего изобретения является обеспечение способа получения инъекционных полимерных микрочастиц в форме порошка, содержащих такролимус. Способ включает эмульгирование (масло/вода) (однократное или двойное) с последующей экстракцией/последующим выпариванием растворителя. Также предусмотрен водный носитель для растворения порошка перед введением.

Микрочастицы с разбавителем могут находиться в двухкамерном шприце или присутствовать в виде набора, содержащего шприц, предварительно заполненный разбавителем, и микрочастицы, находящиеся в отдельном флаконе.

Другие цели и преимущества настоящего изобретения станут очевидными специалистам в данной области техники из следующего подробного описания.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Для целей настоящего изобретения фармацевтический состав, содержащий активный ингредиент, считается стабильным, если активный ингредиент разлагается в меньшей степени или медленнее, чем это происходит само по себе и/или в известных фармацевтических составах. Слова «контролируемое, пролонгированное, замедленное и длительнодействующее высвобождение» применяют взаимозаменяемо, если не указано иное.

Как уже упоминалось, основной целью настоящего изобретения является получение инъекционного состава на основе такролимуса с контролируемым высвобождением в форме микрочастиц, содержащих лекарственное средство, которые способствуют фармакокинетической оптимизации такролимуса и улучшению соблюдения режима приема лекарственного препарата.

Несмотря на его успех в обеспечении выживаемости трансплантата, терапевтическое применение такролимуса затруднено вследствие его узкого терапевтического индекса (от 5 до 15 нг/мл). Такролимус характеризуется большой вариабельностью у разных пациентов/одного и того же пациента в отношении профиля фармакокинетики и плохой биологической доступностью при пероральном применении по причине его плохой растворимости. Субтерапевтический уровень такролимуса может привести к острому отторжению ксенотрансплантатов. Более того, системно доставляемый такролимус может вызывать тяжелые побочные эффекты, включающие нефротоксичность и глобальную иммуносупрессию, в связи с неселективным распределением лекарственного средства. Фактически, нефротоксичность, индуцированная лекарственным средством, представляет собой основной дозозимитирующий побочный эффект ТАС, при этом сообщаемая общая частота возникновения достигает 44%. К сожалению, нефротоксичность может привести к тяжелым осложнениям, таким как отрицательное влияние на выживаемость трансплантата и ожидаемую продолжительность жизни пациентов. Действительно, нефротоксические эффекты создают проблемы во время осуществления терапевтического режима, предусматривающего такие лекарственные средства (Randhawa, P. S., Starzl, T. E. & Demetris, A. J. Tacrolimus (FK506)-Associated Renal Pathology. *Adv Anat Pathol* 4, 265-276 (1997)).

В настоящее время такролимус доступен в лекарственных формах для перорального применения, включая капсулы с немедленным высвобождением, капсулы с пролонгированным высвобождением и таблетки с пролонгированным высвобождением. Низкая растворимость в воде, сайт-зависимая проницаемость, экстенсивный пресистемный метаболизм в кишечнике и печени, опосредованный Р-гликопротеином эффлюкс лекарственного средства и влияние пищи являются наиболее важными причинами низкой и вариабельной биологической доступности такролимуса при пероральном применении. Хотя такролимус также доступен в виде концентрата для

раствора для инфузий, внутривенное введение ограничено только ранними стадиями трансплантации органа, когда пероральное введение не представляется возможным, и когда субъект все еще находится на стационарном лечении, рекомендуется (инструкция по медицинскому применению препарата для инъекций Prograf® в США), что внутривенную инфузию следует прекратить, как только пациент сможет переносить пероральное введение.

В настоящем изобретении предусмотрена система доставки лекарственных средств с контролируемым высвобождением для парентерального введения такролимуса в биологически разлагаемом полимере в виде микрочастиц, обеспечивающих возможность замедленного высвобождения активного ингредиента по истечению времени удерживания в полимере, который обеспечивает контроль высвобождения лекарственного средства и обеспечивает снижение ассоциированных токсических эффектов, обеспечивая поддержание иммуносупрессивной активности такролимуса, и позволяет избежать проблем, связанных с плохой биологической доступностью при пероральном применении, описанных выше.

Соблюдение режима лечения является важным решающим фактором клинических исходов для пациентов в широком диапазоне клинических условий. Соблюдение режима является особенно важным при тяжелых болезнях, при которых пациентам часто требуется лечение в течение месяцев или лет, и досрочное прекращение лечения может иметь серьезные последствия для здоровья и качества жизни пациента.

Независимо от конкретной причины несоблюдения режима лечения, отказ пациентов продолжать прием назначенного лекарственного препарата способствует высоким значениям частоты рецидива, госпитализации, а у некоторых пациентов увеличивает риск смерти.

Последние достижения в технологиях доставки лекарственных средств привели к разработке инновационных систем доставки, предназначенных для улучшения терапевтических исходов. Одно возможное решение проблемы плохого соблюдения режима фармакотерапии заключается в разработке новых систем доставки длительнодействующих лекарственных средств, которые постепенно высвобождают лекарственный препарат в течение периода, составляющего несколько дней или недель, при однократном применении. Длительнодействующие инъекционные технологии

могут обеспечить превосходство над традиционными продуктами за счет улучшения безопасности и эффективности посредством пролонгированной продолжительности действия и снижения проблем, связанных с соблюдением режима, а также уменьшения побочных эффектов. Позволяя пациентам принимать лекарственные препараты менее часто, такие технологии создают лекарственные средства, которые могут быть особенно благоприятными в лечении тяжелых заболеваний, в котором комплаентность в отношении лекарственного препарата тесно коррелирует с улучшением исходов.

Составы по настоящему изобретению обладают улучшенными характеристиками растворимости, которые, в свою очередь, обеспечивают улучшенную биологическую доступность при введении пациенту, а также сниженную вариабельность абсорбции. Удовлетворяя такие потребности, настоящее изобретение устраняет необходимость применения полиоксила 60 гидрогенизированного касторового масла (НСО-60) и/или полисорбата 80 в качестве солюбилизаторов. Это является благоприятным, поскольку традиционные инъекционные составы на основе такролимуса содержат полиоксил 60 гидрогенизированного касторового масла или полисорбат 80 в качестве солюбилизаторов. Присутствие таких солюбилизирующих средств может привести к анафилактическому шоку (т. е. тяжелой аллергической реакции) и смерти у пациентов.

Настоящее изобретение применяют для профилактики отторжения трансплантата у взрослых реципиентов аллотрансплантантов почки, печени или сердца. Терапевтически эффективное количество инъекционного состава по настоящему изобретению вводится субъекту так, чтобы у пациента образовалось подкожное или внутримышечное депо. Депо медленно высвобождает такролимус с течением времени для обеспечения длительного лечения реципиента аллогенного органа.

Биологически разлагаемые материалы являются природными или синтетическими по своему происхождению и разлагаются *in vivo*, либо ферментативно, либо неферментативно, либо обоими способами с получением биологически совместимых, токсикологически безопасных побочных продуктов, которые в дальнейшем элиминируются посредством нормальных метаболических путей. Число таких материалов, которые применяют в контролируемой доставке лекарственных средств существенно увеличилось за последнее десятилетие. Основная категория биоматериалов, применяемых в доставке лекарственных средств, может быть широко классифицирована как (1) синтетические биологически разлагаемые полимеры, которые включают

относительно гидрофобные материалы, такие как альфа-гидроксикислоты (семейство, которое включает сополимер молочной и гликолевой кислоты, PLGA), полиангидриды и другие, и (2) встречающиеся в природе полимеры, такие как сложные сахара (гиалуронан, хитозан) и неорганические вещества (гидроксиапатит).

Сложный полиэфир PLGA представляет собой сополимер полимолочной кислоты (PLA) и полигликолевой кислоты (PGA). Он является наилучшим установленным биоматериалом, доступным для доставки лекарственных средств с точки зрения дизайна и технических характеристик. Полимолочная кислота содержит асимметричный альфа-атом углерода, который, как правило, описан как D- или L-форма в классических стереохимических терминах и иногда как R- и S-форма соответственно. Энантиомерные формы полимера PLA представляют собой поли-D-молочную кислоту (PDLA) и поли-L-молочную кислоту (PLLA). PLGA обычно представляет собой акроним для сополимера D,L-молочной и гликолевой кислоты, где D- и L-формы молочной кислоты присутствуют в равных соотношениях.

Инъекционные биологически разлагаемые и биологически совместимые частицы из PLGA (микрочастицы, микрокапсулы, нанокapsулы, наносферы) могут быть использованы для лекарственных форм с контролируемым высвобождением. Лекарственные средства, составленные в таких полимерных устройствах, высвобождаются либо путем диффузии через полимерный барьер, либо путем эрозии полимерного материала, либо путем комбинации как механизмов диффузии, так и механизмов эрозии. В дополнение к его биологической совместимости, совместимости лекарственных средств, подходящих кинетики биологического разложения и механических свойств, PLGA может быть легко обработан и произведен в различных формах и размерах. Состав полимера является наиболее важным фактором для определения гидрофильности и скорости разложения матрикса для доставки, который влияет на скорость разложения. Увеличение доли в процентах гликолевой кислоты в олигомерах в общем ускоряет потерю веса полимера. PLGA 50:50 проявляет более быстрое разложение, чем PLGA 65:35 вследствие предпочтительного разложения доли гликолевой кислоты, обусловленной более высокой гидрофильностью. Впоследствии PLGA 65:35 демонстрирует более быстрое разложение, чем PLGA 75:25, и PLGA 75:25 демонстрирует более быстрое разложение, чем PLGA 85:15. Таким образом, абсолютное значение скорости разложения увеличивается с увеличением доли гликолевой кислоты.

Количество гликолевой кислоты является критическим параметром регулировки гидрофильности матрицы и, таким образом, разложения и скорости высвобождения лекарственного средства. Полимеры с более высокой молекулярной массой в общем проявляют более низкие значения скорости разложения. Молекулярная масса находится в прямой зависимости от размера полимерной цепи. Полимеры, характеризующиеся более высокой молекулярной массой, имеют более длинные полимерные цепи, которые требуют больше времени для разложения, чем малые полимерные цепи.

Так как скорость высвобождения лекарственного средства и время высвобождения лекарственного средства могут контролироваться путем регулирования типа полимера, молекулярного веса полимера и размера и морфологии микросфер, возможно произвести микрочастицы, содержащие лекарственное средство, в соответствии с терапевтическими потребностями. Существуют два ожидаемых эффекта применения технологии микросфер из PLGA в отношении такролимуса. Один заключается в снижении неблагоприятных эффектов, ассоциированных с изменением фармакокинетического профиля. Другой заключается в улучшенном соблюдении режима приема лекарственного препарата.

Подходящие получаемые коммерческим путем полимеры для применения в получении микрочастиц из PLGA согласно настоящему изобретению включают без ограничения RESOMER® и LAKESHORE BIOMATERIALS от Evonik Industries AG, Expansorb® от PCAS., PURASORB® от PURAC Biochem BV.

Целям настоящего изобретения особенно способствует применение полимеров на основе PLGA, характеризующихся соотношением лактида и гликолида, составляющим 50:50. Такие полимеры, предпочтительно полимеры, характеризующиеся молекулярной массой, составляющей от 15000 до 80000 Да, более предпочтительно от 15000 до 58000 Да, и особенно полимеры с молекулярной массой, составляющей примерно от 17000 Да до 50000 Да, имеют особое значение для достижения линейного профиля высвобождения в течение периода, составляющего по меньшей мере два месяца.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения молекулярная масса первого полимера составляет от 15000 до 30000 Да, и молекулярная масса второго полимера составляет от 30000 до 80000 Да. В дополнительном предпочтительном

варианте осуществления настоящего изобретения значения молекулярного веса двух полимеров составляют 17000 Да и 50000 Да соответственно.

Применение одного полимера на основе PLGA могло не обеспечить желаемый профиль высвобождения, но в настоящее время авторы настоящего изобретения обнаружили, что линейный профиль высвобождения такролимуса, контролируемого для получения низкого исходного «взрывного» высвобождения такролимуса и контролируемого в течение периода, составляющего по меньшей мере два месяца, достигается, когда объединены два разных типа микрочастиц из PLGA. Полимер на основе PLGA обоих типов характеризуется соотношением лактида и гликолида 50:50, однако каждый тип микрочастиц получен с помощью полимера с разной молекулярной массой. Когда два типа микрочастиц объединены при соотношениях, составляющих от 70:30 до 30:70, достигается требуемая скорость высвобождения.

Тем не менее, все еще предстоит выяснить подходящий выбор и комбинацию полимеров, чтобы они могли функционировать подобным образом. Может быть доказано, что комбинация микрочастиц, изготовленных из более чем двух разных полимеров одинаковой или разной природы с разной молекулярной массой и/или соотношением лактида и гликолида, может демонстрировать характеристики, сравнимые с таковыми по настоящему изобретению. Кроме того, настоящее изобретение может найти применение в отношении других фармацевтически активных ингредиентов с низкой растворимостью и высокой мембранной проницаемостью, таких как такролимус. Такими фармацевтически активными ингредиентами могут быть флурбипрофен, напроксен, циклоспорин, кетопрофен, рифампицин, карбамазепин, глибенкламид, бикалутамид, эзетимиб, ацеклофенак и другие.

Количество содержащегося лекарственного средства, а также концентрация полимера в матрице для доставки лекарственного средства играют значительную роль в скорости и продолжительности высвобождения лекарственного средства. Матрицы с более высоким содержанием лекарственного средства обладают более высоким начальным «взрывным» высвобождением, чем таковые с более низким содержанием по причине их меньшего соотношения полимера и лекарственного средства. Однако этот эффект содержания лекарственного средства ослабляется, когда содержание лекарственного средства достигает определенного уровня в зависимости от типа лекарственного средства. В настоящем изобретении является предпочтительным содержание

лекарственного средства в микрочастицах ниже 30% вес/вес, особенно от 20% до 30% вес/вес такролимуса. Концентрация полимера от 5% до 13% вес/вес также является предпочтительной в настоящем изобретении.

Известен ряд способов получения микрочастиц на основе PLGA. Предпочтительно микрочастицы по настоящему изобретению получают с помощью способа выпаривания растворителя из одинарной эмульсии. Это самый простой, быстрый и наиболее экономически эффективный способ. Подходящие способы описаны более подробно ниже.

а) Способ получения микрочастиц включает следующие стадии:

- растворяют два полимера на основе PLGA с разной молекулярной массой при перемешивании в подходящем растворителе;
- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);
- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), одно или более поверхностно-активных веществ и одно или более буферных средств, и хранят при контролируемой температуре. Непрерывную фазу термостатируют при температуре ниже 20°C, более предпочтительно от 5 до 10°C;
- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;
- подвергают суспензию экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре и в потоке воздуха для обеспечения надлежащего удаления органических растворителей и затвердевания микрочастиц;
- образовавшиеся микрочастицы собирают на сита и промывают водой;
- микрочастицы высушивают под вакуумом.

б) Способ получения микрочастиц, включающий следующие стадии:

i) - растворяют первый полимер на основе PLGA при перемешивании в подходящем растворителе;

- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);

- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), одно или более поверхностно-активных веществ и одно или более буферных средств, и хранят при контролируемой температуре. Непрерывную фазу термостатируют при температуре ниже 20°C, более предпочтительно от 5 до 10°C;

- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;

ii) растворяют второй полимер на основе PLGA с молекулярной массой, отличной от первого полимера, при перемешивании в подходящем растворителе;

- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);

- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), одно или более поверхностно-активных веществ и одно или более буферных средств, и хранят при контролируемой температуре. Непрерывную фазу термостатируют при температуре ниже 20°C, более предпочтительно от 5 до 10°C;

- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;

iii) суспензии, содержащие первый полимер на основе PLGA и второй полимер на основе PLGA, смешивают вместе и подвергают экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре и в потоке воздуха для обеспечения надлежащего удаления органических растворителей и затвердевания микрочастиц;

- образовавшиеся микрочастицы собирают на сита и промывают водой;

- микрочастицы высушивают под вакуумом.

с) Способ получения микрочастиц по п. 1 формулы изобретения, включающий следующие стадии:

i) - растворяют первый полимер на основе PLGA при перемешивании в подходящем растворителе;

- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);

- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), одно или более поверхностно-активных веществ и одно или более буферных средств, и хранят при контролируемой температуре. Непрерывную фазу термостатируют при температуре ниже 20°C, более предпочтительно от 5 до 10°C;

- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;

- подвергают суспензию экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре и в потоке воздуха для обеспечения надлежащего удаления органических растворителей и затвердевания микрочастиц;

- образовавшиеся микрочастицы собирают на сита и промывают водой;

- микрочастицы высушивают под вакуумом;

ii) растворяют второй полимер на основе PLGA с молекулярной массой, отличной от первого полимера, при перемешивании в подходящем растворителе;

- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);

- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), одно или более поверхностно-активных веществ и одно или более буферных средств, и хранят при контролируемой температуре. Непрерывную фазу термостатируют при температуре ниже 20°C, более предпочтительно от 5 до 10°C;

- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;
- подвергают суспензию экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре и в потоке воздуха для обеспечения надлежащего удаления органических растворителей и затвердевания микрочастиц;
- образовавшиеся микрочастицы собирают на сита и промывают водой;
- микрочастицы высушивают под вакуумом;

iii) после высушивания микрочастицы, полученные из первого полимера на основе PLGA, и микрочастицы, полученные из второго полимера на основе PLGA, физически смешивают.

Молярное соотношение полимера на основе PLGA может составлять от 70:30 до 30:70, предпочтительно молярное соотношение составляет 50:50.

Подходящие растворители для PLGA, которые могут быть использованы в вышеуказанных способах, включают без ограничения органические растворители, такие как этилацетат, тетрагидрофуран, ацетонитрил, дихлорметан (DCM) и хлороформ, предпочтительно растворитель представляет собой дихлорметан.

Непрерывная фаза состоит из водного раствора с одним или более поверхностно-активными веществами, выбранными из анионных поверхностно-активных веществ (таких как стеарат натрия, лаурилсульфат натрия), неионогенных поверхностно-активных веществ (таких как твины), поливинилпирролидона, карбоксиметилцеллюлозы натрия и желатина, применяемых независимо или в комбинации. Предпочтительно использовать одно поверхностно-активное вещество. Предпочтительно поверхностно-активное вещество представляет собой поливиниловый спирт (PVA).

Подходящие буферные средства включают карбонат натрия, бикарбонат натрия, карбонат калия, бикарбонат калия, гидрофосфат натрия, дигидрофосфат натрия, дигидрофосфат калия и гидроортофосфат калия и их комбинации, предпочтительные

буферные средства представляют собой карбонат натрия и бикарбонат натрия и их комбинации.

Способ, описанный в настоящем изобретении, приводит к образованию микрочастиц с распределением частиц по размеру 10-200 микрон, измеренным с помощью метода лазерной дифракции света.

Составы предпочтительно вводятся путем подкожной или внутримышечной инъекции после восстановления подходящим разбавителем. Более конкретно разбавитель может быть упакован в предварительно заполненный шприц, а порошок, содержащий микрочастицы, во флакон. Непосредственно перед применением содержимое предварительно заполненного шприца (растворитель) и флакона (порошок) смешивают с получением суспензии для введения путем инъекции пациенту. В качестве альтернативы может применяться двухкамерная шприц-ручка; порошок в одной камере перед применением смешивают с растворителем в другой камере предварительно заполненной шприц-ручки и полученную суспензию вводят путем инъекции пациенту. Составы предпочтительно вводят один раз в два месяца.

Подходящие разбавители включают фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, выбранные из группы, состоящей из суспендирующих средств/загустителей, буферных средств и/или средств, регулирующих уровень pH, поверхностно-активных веществ и средств, регулирующих тоничность. Подходящие средства, повышающие вязкость, включают маннит, карбоксиметилцеллюлозу натрия, поливинилпирролидон (PVP), такой как PLASDONE, и гидроксипропилметилцеллюлозу (HPMC), такую как Methocel, предпочтительно карбоксиметилцеллюлозу натрия и маннит. Обычно используемые вспомогательные вещества для буферного раствора включают моногидрат лимонной кислоты, глицин, малеиновую кислоту, метионин, ацетат натрия, дигидрат цитрата натрия, моногидрат дигидрофосфата натрия и гептагидрат гидрофосфата натрия, предпочтительно моногидрат дигидрофосфата натрия и гептагидрат гидрофосфата натрия и/или моногидрат лимонной кислоты. Могут быть использованы средства, регулирующие тоничность, такие как декстроза, маннит, хлорид калия, хлорид натрия, предпочтительно хлорид натрия. Могут быть также использованы поверхностно-активные вещества, например, полисорбат 20 и 80, D- α -токоферол-полиэтиленгликоль-1000 сукцинат, полиоксиэтилированное касторовое масло, предпочтительно полисорбат 20 и 80. Средства, регулирующие уровень pH, выбраны из

уксусной кислоты, гидроксида натрия, хлорида натрия, предпочтительно гидроксида натрия и/или хлорида натрия. Предпочтительны водные разбавители, в частности те, которые характеризуются рН в диапазоне 6-7,5 и вязкостью в диапазоне 3-90 сП.

ПРИМЕРЫ

Пример 1

Совместимость материалов проверяли путем растворения полимеров в различных растворителях (например, DCM, THF) и медленного добавления материала API в полученный раствор. Применяли различные полимеры, представленные в таблице 1. Во всех случаях получали прозрачные растворы с концентрацией такролимуса не более 30% вес/вес.

Для исследования разложения пленки каждого полимера, содержащего 30% вес/вес такролимуса, были синтезированы и их сравнивали с пленками плацебо (не содержащими такролимуса). Пленки получали из раствора, содержащего соответствующие количества полимера и такролимуса в растворителе DCM, после выпаривания растворителя. Очищенные пленки погружали в фосфатно-солевой буферный раствор (PBS, рН = 7,4) и хранили при температуре 37°C в течение почти месяца. Через регулярные промежутки времени образцы пленок отбирали и измеряли Mw с помощью GPC для исследования потери массы.

Таблица 1. Полимеры, используемые в исследованиях совместимости и разложения

Название	Отношение L:G	Концевая группа	Молекулярная масса (Да)
PURASORB PDLG 5002A	50:50	Кислота	≈ 17000
RESOMER RG 504H	50:50	Кислота	≈ 50000
RESOMER RG 753S	75:25	Сложный эфир	≈ 40000

Пленки являлись однородными и разделения фаз не наблюдалось. Измеряли потерю MW полимера во времени, и результаты представлены на фигуре 1.

Полимеры с одинаковым соотношением лактид:гликолид, составляющим 50:50, являются наиболее подходящими для целей настоящего изобретения. Более того, все пленки изучались на совместимость с такролимусом, и они продемонстрировали очень схожие профили разложения, что указывает на отсутствие разложения, вызванного API.

Пример 2

Микрочастицы двух полимеров с одинаковым соотношением лактида и гликолида получали с применением способа выпаривания растворителя из одинарной эмульсии следующим образом.

Сополимер D,L-лактида и гликолида с молярным соотношением, составляющим 50:50 ($M_w = 17000$ или $M_w = 50000$), растворяли в дихлорметане при перемешивании. Такролимус последовательно растворяли в растворе полимера с образованием дисперсной фазы (DP). Поливиниловый спирт растворяли в воде для инъекций при 80°C с последующим добавлением гидрокарбоната натрия и карбоната натрия. Раствор охлаждали до 25°C с образованием непрерывной фазы (CP). Микрочастицы с требуемым распределением по размеру частиц получали путем подачи CP и DP в диспергатор на линии. Суспензию подвергали экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре при 20°C и в потоке воздуха для обеспечения удаления органических растворителей и затвердевания частиц. Через 3-4 часа микрочастицы переносили на стеклянный фильтр-осушитель, промывали избытком воды при комнатной температуре и оставляли в вакууме в течение 24 часов для высушивания.

Влияние M_w используемого полимера на показатели качества (т. е. размер частиц и профиль высвобождения) полученных микрочастиц показано в таблице 2.

Таблица 2. Содержание лекарственного средства, PSD и скорость высвобождения составленных микрочастиц

MW PLGA	Эксп. содержание лекарственного средства (%)	Распределение по размерам частиц (мкм)			% Высвобождения/Дни		
		* DV(10)	Dv(50)	Dv(90)	10%	50%	80%
5002A (17000 Да)	29,37	49,22	73,68	108,21	1,80	19,09	23,46
504H (50000 Да)	28,43	77,36	112,00	158,22	25,00	34,64	≥ 50

* Dv(x) процентиль совокупного распределения по объему, измеренного с помощью метода лазерной дифракции света.

Результаты демонстрируют, что полимеры с более высокой молекулярной массой приводят к получению более крупных микрочастиц при том же наборе параметров

способа. Это можно объяснить более высокой вязкостью дисперсной фазы во время эмульгирования. Более ранний профиль высвобождения, полученный для более мелких микрочастиц, можно объяснить более высоким соотношением площади поверхности и единицы объема.

Пример 3

Влияние концентрации полимера в дисперсной (масляной) фазе во время составления микрочастиц также исследовали для полимера на основе PLGA с низкой MW. Составы тестировали для оценки влияния концентрации PLGA на качественные характеристики микрочастиц.

Влияние концентрации полимера в дисперсной (масляной) фазе на качественные характеристики (т. е. размер частиц и профиль высвобождения) полученных микрочастиц показано в таблице 3.

Таблица 3. Содержание лекарственного средства, PSD и скорость высвобождения составленных микрочастиц

Конц. PLGA (% вес/вес)	Эксп. содержание лекарственного средства (%)	Распределение по размерам частиц (мкм)			% Высвобождения/Дни		
		* DV(10)	Dv(50)	Dv(90)	10%	50%	80%
13	29,37	49,22	73,68	108,21	1,80	16,09	23,46
5	24,84	15,39	25,80	39,88	0,72	15,32	23,55

Как представлено в таблице 3 выше, при увеличении концентрации полимера в дисперсной фазе размер частиц также увеличивается вследствие более высокой вязкости во время эмульгирования. Профили растворения двух составов были почти одинаковыми с незначительно более высокой линейностью для микрочастиц, полученных с более низкой концентрацией PLGA. Следовательно, оказывается, что концентрация PLGA от 5% до 13% вес/вес обеспечивает формирование микрочастиц приемлемого размера и которые подходят для целей настоящего изобретения.

Пример 4

Как показали предыдущие составы, размер частиц играет важную роль в профиле растворения. Помимо размера частиц, площадь поверхности на единицу объема также может быть увеличена за счет создания пористости в микрочастицах. Наиболее распространенной практикой для формирования пористых микрочастиц с применением

способа экстракции/выпаривания растворителя является применение способа с применением двойной эмульсии. Чтобы оценить влияние пористости на скорость высвобождения, применяли способ экстракции и выпаривания растворителя из двойной эмульсии, а полученные составы сравнивали с теми, которые были получены с применением способа с применением одинарной эмульсии.

Влияние вида эмульсии на показатели качества (т. е. размер частиц и профиль высвобождения) полученных микрочастиц показано в таблице.

Таблица 4. Содержание лекарственного средства, PSD и скорость высвобождения составленных микрочастиц

Вид эмульсии	Эксп. содержание лекарственного средства (%)	Распределение по размерам частиц (мкм)			% Высвобождения/Дни		
		* DV(10)	Dv(50)	Dv(90)	10%	50%	80%
Одинарная	30,61	15,1	25,1	38,7	4,63	14,58	20,60
Двойная	29,67	31,4	43,1	58,6	3,51	11,51	17,78

Способ с применением двойной эмульсии привел к получению более крупных микрочастиц по сравнению со способом с применением одинарной эмульсии с тем же набором параметров способа. Судя по результатам, полученным в зависимости от размера, мы ожидаем увидеть более высокие скорости высвобождения частиц меньшего размера. Результаты демонстрируют более ранний профиль высвобождения более крупных микрочастиц, полученных способом с применением двойной эмульсии. Это показывает, что наличие пористости преобладает над влиянием размера, и более крупные пористые микрочастицы проявляют более высокие скорости высвобождения вследствие более высокой удельной площади поверхности.

Чтобы более убедительно оценить влияние пористости на скорость высвобождения, следует протестировать микрочастицы практически одинакового размера. Для выделения микрочастиц одинакового размера применяли гомогенизатор на линии.

Влияние вида эмульсии на показатели качества (т. е. размер частиц и профиль высвобождения) полученных микрочастиц показано в таблице 5.

Таблица 5. Содержание лекарственного средства, PSD и скорость высвобождения составленных микрочастиц

Вид эмульсии	Эксп. содержание лекарственного средства (%)	Распределение по размерам частиц (мкм)			% Высвобождения/Дни		
		* DV(10)	Dv(50)	Dv(90)	10%	50%	80%
Одинарная	27,16	4,54	10,45	20,78	1,51	9,24	16,06
Двойная	27,49	4,84	10,72	22,37	0,84	4,31	9,04

Из представленных результатов очевидно, что в случае микрочастиц одинакового размера профиль растворения предусматривает намного более быстрое растворение в случае микрочастиц, полученных способом с применением двойной эмульсии. Это объясняется явным влиянием пористости микрочастиц и их более высокой удельной поверхностью вследствие пористости.

Пример 5

Для достижения линейного профиля в течение периода 2 месяцев в соответствии с настоящим изобретением были получены микрочастицы с применением двух PLGA с разной MW, но с одинаковым соотношением лактида и гликолида (50:50). Использовали способ одинарного эмульгирования, описанный в примере 2. Концентрация PLGA находилась в пределах оптимального соотношения от 5% до 13% вес/вес, концентрация такролимуса была ниже 30% вес/вес, а полученные микрочастицы характеризовались размером частиц от 10 до 200 микрон.

Отдельно сформированные микрочастицы физически смешивали при различных массовых соотношениях в диапазоне от 70:30 до 30:70 и измеряли их профиль растворения, который представлен в таблице 6 ниже.

Таблица 6. Профили высвобождения различных физических смесей на основе микрочастиц при разных массовых соотношениях

Смесь (50:50) (5002A:504H)		Смесь (70:30) (5002A:504H)		Смесь (30:70) (5002A:504H)	
Время (Дни)	Высвобождение (%)	Время (Дни)	Высвобождение (%)	Время (Дни)	Высвобождение (%)
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,1	1,3	0,1	1,3	0,1	1,2
1,0	2,5	1,0	3,1	1,0	1,9
4,0	6,0	4,0	8,0	4,0	4,1

8,0	12,7	8,0	17,4	8,0	8,1
12,0	19,5	12,0	26,9	12,0	12,1
16,0	28,3	16,0	39,1	16,0	17,4
20,0	37,1	20,0	50,8	20,0	23,4
24,0	45,1	24,0	59,7	24,0	30,5
28,0	55,7	28,0	68,2	28,0	43,2
32,0	66,7	32,0	76,5	32,0	56,9
36,0	73,9	36,0	81,2	36,0	66,5
40,0	80,2	40,0	85,1	40,0	75,2
44,0	83,6	44,0	87,2	44,0	80,0
48,0	85,3	48,0	88,2	48,0	82,4
52,0	86,8	52,0	89,1	52,0	84,5
56,0	87,3	56,0	89,4	56,0	85,2
60,0	89,7	60,0	91,2	60,0	88,3

Профили высвобождения представляют собой почти линейное высвобождение в течение по меньшей мере 2 месяцев в соответствии с настоящим изобретением.

Также оценивали влияние смесей PLGA, где полимеры смешивали *in situ*. Это может быть сделано либо путем растворения двух полимеров в DCM перед эмульгированием (одна дисперсная фаза), либо путем эмульгирования одной дисперсной фазы, содержащей один из полимеров, и последовательного эмульгирования второй дисперсной фазы, содержащей второй полимер, в той же непрерывной фазе (две разные дисперсные фазы).

Профили растворения этих составов снова аналогичны профилям, представленным в таблице 6.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтический состав, содержащий микрочастицы, где микрочастицы содержат два разных полимера и такролимус, где каждый из полимеров представляет собой полимер на основе сополимера D,L-лактида и гликолида, и каждый из полимеров характеризуется одинаковым соотношением лактида и гликолида и каждый из полимеров характеризуется разной молекулярной массой.
2. Фармацевтический состав по п. 1, где каждый из полимеров на основе сополимера D,L-лактида и гликолида характеризуется соотношением лактида и гликолида, составляющим 50:50.
3. Фармацевтический состав по п. 1 или п. 2, где каждый из полимеров на основе сополимера D,L-лактида и гликолида характеризуется разной средневесовой молекулярной массой в диапазоне 15000-80000 Да.
4. Фармацевтический состав по п. 3, где каждый из полимеров на основе сополимера D,L-лактида и гликолида характеризуется разной средневесовой молекулярной массой в диапазоне 15000-58000 Да.
5. Фармацевтический состав по п. 3, где каждый из полимеров на основе сополимера D,L-лактида и гликолида характеризуется разной средневесовой молекулярной массой в диапазоне 17000-50000 Да.
6. Фармацевтический состав по п. 1 или п. 2, где молекулярная масса первого полимера на основе сополимера D,L-лактида и гликолида составляет 15000-30000 Да, а молекулярная масса второго полимера на основе сополимера D,L-лактида и гликолида составляет 30000-80000 Да.
7. Фармацевтический состав по п. 6, где молекулярная масса двух полимеров на основе сополимера D,L-лактида и гликолида составляет 17000 Да и 50000 Да соответственно.
8. Фармацевтический состав по любому из предыдущих пунктов, где первый полимер на основе сополимера D,L-лактида и гликолида характеризуется молекулярной массой примерно 17000 Да, а второй характеризуется молекулярной массой примерно 50000 Да.

9. Фармацевтический состав по любому из предыдущих пунктов, содержащий два разных вида микрочастиц в соотношении от 70:30 до 30:70.
10. Фармацевтический состав по любому из предыдущих пунктов, где две разные микрочастицы характеризуются размером частиц, измеренным с помощью метода лазерной дифракции света, составляющим 10-200 микрон.
11. Фармацевтический состав по любому из предыдущих пунктов, где концентрация полимеров микрочастиц составляет 5-13% вес/вес.
12. Фармацевтический состав по любому из предыдущих пунктов, подлежащий восстановлению разбавителем перед внутримышечным или подкожным введением.
13. Фармацевтический состав по п. 8, где разбавитель предусматривает одно или более из карбоксиметилцеллюлозы натрия, маннита, хлорида натрия, гидроксида натрия, полисорбата, уксусной кислоты, моногидрата дигидрофосфата натрия, гептагидрата гидрофосфата натрия.
14. Фармацевтический состав по любому из предыдущих пунктов, который вводится путем внутримышечной или подкожной инъекции.
15. Фармацевтический состав по любому из предыдущих пунктов, который вводится один раз в два месяца.
16. Фармацевтический состав по п. 1, где содержание лекарственного средства, представляющего собой такролимус, в микрочастицах составляет от 20% до 30% вес/вес.
17. Способ получения микрочастиц по п. 1, включающий следующие стадии:
- растворяют два полимера на основе PLGA с разной молекулярной массой при перемешивании в растворителе;
 - добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);
 - получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), поливиниловый спирт (PVA) и буферные средства, и хранят при контролируемой температуре;

- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;
- подвергают суспензию экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре и в потоке воздуха для обеспечения надлежащего удаления органических растворителей и затвердевания микрочастиц;
- образовавшиеся микрочастицы собирают на сита и промывают водой;
- микрочастицы высушивают под вакуумом.

18. Способ получения микрочастиц по п. 1, включающий следующие стадии:

- i) - растворяют первый полимер на основе PLGA при перемешивании в растворителе;
- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);
- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), поливиниловый спирт (PVA) и буферные средства, и хранят при контролируемой температуре;
- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;
- ii) растворяют второй полимер на основе PLGA с молекулярной массой, отличной от первого полимера, при перемешивании в дихлорметане (DCM);
- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);
- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), поливиниловый спирт (PVA) и буферные средства, и хранят при контролируемой температуре;

- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;

iii) суспензии, содержащие первый полимер на основе PLGA и второй полимер на основе PLGA, смешивают вместе и подвергают экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре и в потоке воздуха для обеспечения надлежащего удаления органических растворителей и затвердевания микрочастиц;

- образовавшиеся микрочастицы собирают на сита и промывают водой;

- микрочастицы высушивают под вакуумом.

19. Способ получения микрочастиц по п. 1, включающий следующие стадии:

i) - растворяют первый полимер на основе PLGA при перемешивании в растворителе;

- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);

- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), поливиниловый спирт (PVA) и буферные средства, и хранят при контролируемой температуре;

- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;

- подвергают суспензию экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре и в потоке воздуха для обеспечения надлежащего удаления органических растворителей и затвердевания микрочастиц;

- образовавшиеся микрочастицы собирают на сита и промывают водой;

- микрочастицы высушивают под вакуумом;

ii) растворяют второй полимер на основе PLGA с молекулярной массой, отличной от первого полимера, при перемешивании в растворителе;

- добавляют такролимус в раствор полимера при перемешивании с образованием дисперсной масляной фазы (DP);
- получают непрерывную фазу (CP), содержащую воду для инъекций (WFI), поливиниловый спирт (PVA) и буферные средства, и хранят при контролируемой температуре;
- смешивают и эмульгируют дисперсную и непрерывную фазы с применением диспергатора с непрерывным потоком типа ротор-статор с высоким сдвиговым усилием (т. е. гомогенизатор на линии) или верхнеприводной мешалки с образованием суспензии;
- подвергают суспензию экстракции растворителем и выпариванию путем перемешивания при контролируемой температуре и в потоке воздуха для обеспечения надлежащего удаления органических растворителей и затвердевания микрочастиц;
- образовавшиеся микрочастицы собирают на сита и промывают водой;
- микрочастицы высушивают под вакуумом;

iii) после высушивания микрочастицы, полученные из первого полимера на основе PLGA, и микрочастицы, полученные из второго полимера на основе PLGA, физически смешивают.

20. Способ по п. 17, п. 18 и п. 19, в котором соотношение первого полимера на основе PLGA и второго полимера на основе PLGA составляет от 70:30 до 30:70.

21. Способ по п. 17, п. 18 и п. 19, в котором растворитель для полимера на основе PLGA представляет собой органический растворитель.

22. Способ по п. 17, п. 18 и п. 19, в котором растворитель выбран из этилацетата, тетрагидрофурана, ацетонитрила, дихлорметана (DCM), хлороформа и ацетона.

23. Способ по п. 17, п. 18 и п. 19, в котором растворитель представляет собой дихлорметан (DCM).

24. Способ по п. 17, п. 18 и п. 19, в котором контролируемая температура непрерывной фазы находится ниже 20°C.

25. Способ по п. 17, п. 18 и п. 19, в котором контролируемая температура непрерывной фазы составляет от 5 до 10°C.

26. Применение состава по п. 1 в профилактике отторжения трансплантата у взрослых реципиентов аллотрансплантатов почки, печени или сердца, для лечения и предупреждения отторжения органа после трансплантации, заболеваний, обусловленных реакцией «трансплантат против хозяина» при трансплантации костного мозга, аутоиммунных заболеваний, инфекционных заболеваний и т. п.

27. Фармацевтический состав по п. 1, который вводится внутримышечно или подкожно с помощью двухкамерного шприца или набора, содержащего шприц, предварительно заполненный разбавителем, и микрочастицы, находящиеся в отдельном флаконе.

Фигура 1. Влияние Mw и соотношения лактида и гликолипида (L:G) на разложение пленок

