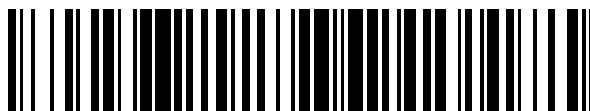


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 441 603**

51 Int. Cl.:

B01D 11/02 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

B01J 13/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.08.2009** **E 09791748 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2013** **EP 2334394**

54 Título: **Métodos para procesar composiciones que contienen micropartículas**

30 Prioridad:

20.08.2008 US 195005

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.02.2014

73 Titular/es:

BAXTER INTERNATIONAL INC. (50.0%)
One Baxter Parkway
Deerfield, IL 60015, US y
BAXTER HEALTHCARE S.A. (50.0%)

72 Inventor/es:

PIRAN, URI;
MEHR, EUGENE;
BROWN, LARRY R.;
MC GEEHAN, JOHN K. y
O'CONNELL, ED

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 441 603 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

Métodos para procesar composiciones que contienen micropartículas

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo Técnico

- 5 La presente descripción se refiere a composiciones y formulaciones que contienen micropartículas y a métodos para procesar tales composiciones y formulaciones.

Descripción de Tecnología Relacionada

- 10 Las micropartículas, microesferas y microcápsulas, denominadas en el presente documento en conjunto "micropartículas", son partículas sólidas o semisólidas con un diámetro inferior a un milímetro, preferentemente inferior a 100 micras, que se pueden formar con diversos materiales, incluyendo, de forma no exclusiva, diversos polímeros y proteínas. Las micropartículas se utilizan en muy variadas aplicaciones, principalmente separaciones, diagnósticos y administración de medicamentos.

- 15 Los ejemplos más conocidos de micropartículas utilizadas en técnicas de separación son aquellas formadas por polímeros de origen sintético o proteico, tales como poliacrilamida, hidroxiapatito o agarosa. Con frecuencia estas micropartículas poliméricas se utilizan para separar moléculas como proteínas según el peso molecular y/o la carga iónica o mediante una interacción con moléculas acopladas químicamente a las micropartículas.

- 20 En el campo del diagnóstico, las perlas o partículas esféricas llevan siendo comerciales hace muchos años como herramienta para los bioquímicos. Por ejemplo, se derivan micropartículas con una enzima, un sustrato para una enzima, o un anticuerpo marcado, y luego se hacen interactuar con una molécula a detectar directa o indirectamente. Existen diversas perlas derivadas comerciales, todas ellas con diferentes constituyentes y tamaños.

- 25 En el campo de la administración controlada de medicamentos, se encapsulan moléculas en micropartículas o se incorporan moléculas a una matriz con el fin de lograr una liberación controlada de las moléculas. Se utilizan diversas técnicas para producir tales micropartículas a partir de diferentes polímeros, incluyendo separación de fases, evaporación de disolvente, emulsificación y secado por pulverización. En general, los polímeros forman la estructura soporte de las microesferas y el medicamento o la molécula de interés se incorpora a la estructura soporte. Ejemplos de polímeros utilizados para la formación de microesferas incluyen homopolímeros y copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico (PLGA), copolímeros en bloque y polifosfacenos.

El documento EP 0 809 110 A1 describe el lavado de micropartículas con un tampón, preferentemente con una solución salina tamponada con fosfato que contiene lisina o glicina como reactivo de extinción.

- 30 El documento US 2003/0075817 describe el uso de 2-metil-2-propanol como disolvente en la producción de microesferas.

SUMARIO DE LA INVENCION

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un método para procesar micropartículas según la reivindicación 1.

35 DESCRIPCIÓN DETALLADA

- 40 La presente descripción se refiere a composiciones y formulaciones que contienen micropartículas y a métodos para procesar tales composiciones y formulaciones. De acuerdo con los métodos, las micropartículas se separan de los medios de reacción/incubación de manera que las micropartículas pueden recogerse y/o incorporarse a composiciones y formulaciones adecuadas para la administración de medicamentos, con fin de diagnóstico, separaciones y otras aplicaciones.

- 45 Los métodos descritos son ventajosos por varias razones, incluyendo, de forma no exclusiva, el hecho de que las micropartículas obtenidas pueden estar esencialmente libres de polímero(s), disolvente(s) y/o excipiente(s) residual(es) añadido(s) durante la formación de las micropartículas. Por consiguiente, los métodos descritos facilitan la producción de micropartículas que comprenden esencialmente un 100% en peso de agente(s) activo(s) y/o soporte(s) macromoleculares, en esencia libres de polímero(s), disolvente(s) y/o excipiente(s) residual(es). Además es posible procesar las composiciones en forma de dispersiones multifásicas; dado que las micropartículas pueden formarse en dispersiones, los métodos descritos pueden posibilitar un aumento de los rendimientos de producción.

A no ser que se defina aquí de otra manera, las terminologías científica y técnica empleadas en la presente descripción tienen los significados comúnmente entendidos y utilizados por el técnico medio en la materia. A no ser

que el contexto requiera otra cosa, se entiende que los términos en singular incluyen las formas en plural de los mismos y que los términos en plural incluyen el singular. Específicamente, tal y como se utilizan aquí y en las reivindicaciones, las formas en singular "un" y "una" incluyen la referencia en plural, a no ser que el contexto indique claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a una micropartícula es una referencia a tal micropartícula o a una pluralidad de tales micropartículas, incluyendo equivalentes de las mismas ya conocidos por el técnico en la materia. También, tal y como se utilizan aquí y en las reivindicaciones, los términos "como mínimo uno(a)" y "uno(a) o más" tienen el mismo significado e incluyen uno(a), dos, tres o más. Se entiende que, a no ser que se indique otra cosa, los términos siguientes tienen los significados siguientes cuando se utilizan en el contexto de la presente descripción.

- 10 "Dispersión" se refiere a una mezcla de materias que tienen como mínimo una fase dispersa o discontinua (opcionalmente finamente dividida, por ejemplo en forma de micropartículas sólidas) presente en una fase continua sólida o no sólida (por ejemplo fluida, líquida, acuosa, orgánica, gaseosa). Entre los ejemplos representativos de dispersiones de acuerdo con la descripción se incluyen sólido en sólido, sólido en líquido, sólido en gas y similares. Una dispersión puede ser esencialmente homogénea o no homogénea. Una suspensión es una dispersión concreta
- 15 donde la fase sólida discontinua (por ejemplo micropartículas) puede permanecer suspendida de manera estable (esencialmente libre de sedimentación) en la fase continua durante periodos de tiempo prolongados (por ejemplo como mínimo 5 segundos, 10 segundos o 30 segundos, por ejemplo minutos, horas, días, semanas, meses o incluso un año o más). Normalmente, la dispersión está libre de líquidos inmiscibles con agua, pero también son posibles dispersiones multifásicas. "Dispersiones multifásicas" son dispersiones que tienen como mínimo dos fases, por ejemplo, tres o incluso más fases. En un ejemplo, tales dispersiones pueden comprender dos disolventes o sistemas de disolventes inmiscibles además de una fase dispersa.

- "Micropartícula" se refiere a una partícula sólida (incluyendo las esencialmente sólidas o semisólidas, pero excluyendo gel, líquido y gas) con un tamaño geométrico medio de partícula (a veces denominado diámetro) inferior a aproximadamente 1 mm, por ejemplo inferior a aproximadamente 200 micras, inferior a aproximadamente 100 micras, inferior a aproximadamente 10 micras, inferior a aproximadamente 1 micra, inferior a aproximadamente 100 nm, inferior a aproximadamente 10 nm, superior a aproximadamente 0,1 nm, superior a aproximadamente 1 nm, u oscilando entre estos valores. Así pues, los intervalos adecuados para el tamaño geométrico medio de partícula incluyen: entre aproximadamente 0,1 nm y aproximadamente 1 mm, entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 1 mm, entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 1 mm, entre aproximadamente 100 nm y aproximadamente 1 mm, entre aproximadamente 1 micra y aproximadamente 1 mm, entre aproximadamente 10 micras y aproximadamente 1 mm, entre aproximadamente 100 micras y aproximadamente 1 mm, entre aproximadamente 200 micras y aproximadamente 1 mm, entre aproximadamente 0,1 nm y aproximadamente 200 micras, entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 200 micras, entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 200 micras, entre aproximadamente 1 micra y aproximadamente 200 micras, entre aproximadamente 10 micras y aproximadamente 200 micras, entre aproximadamente 100 micras y aproximadamente 200 micras, entre aproximadamente 0,1 nm y aproximadamente 100 micras, entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 100 micras, entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 100 micras, entre aproximadamente 100 nm y aproximadamente 100 micras, entre aproximadamente 1 micra y aproximadamente 100 micras, entre aproximadamente 10 micras y aproximadamente 100 micras, entre aproximadamente 0,1 nm y aproximadamente 10 micras, entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 10 micras, entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 10 micras, entre aproximadamente 100 nm y aproximadamente 10 micras, entre aproximadamente 1 micra y aproximadamente 10 micras, entre aproximadamente 0,1 nm y aproximadamente 1 micra, entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 1 micra, entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 1 micra, entre aproximadamente 100 nm y aproximadamente 1 micra, entre aproximadamente 0,1 nm y aproximadamente 100 nm, entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 100 nm, entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 100 nm, entre aproximadamente 0,1 nm y aproximadamente 10 nm, entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 10 nm, y/o entre aproximadamente 0,1 nm y aproximadamente 1 nm. El tamaño geométrico medio de partícula puede medirse por métodos de dispersión luminosa dinámica (por ejemplo espectroscopía de fotocorrelación, difracción láser, dispersión de luz láser de ángulo bajo (*low-angle laser light scattering* - LALLS), dispersión de luz láser de ángulo medio (*medium-angle laser light scattering* - MALLS)), métodos de oscurecimiento de luz (por ejemplo el método de análisis de Coulter) u otros métodos (por ejemplo reología, microscopía óptica o electrónica). Las micropartículas para la administración pulmonar tienen un tamaño aerodinámico de partícula determinado mediante mediciones del tiempo de vuelo o por Impactador de Cascada Andersen. Las micropartículas con forma esférica se denominan a veces microesferas o nanoesferas. Las micropartículas con una estructura encapsulada se denominan a veces microcápsulas y nanocápsulas. Las micropartículas pueden ser porosas, por ejemplo tener uno(a) o más huecos internos y/o cavidades internas. Otras micropartículas son no porosas y/o están libres de tales huecos o cavidades. Las micropartículas se forman, parcial o totalmente, a partir de uno o más materiales, entre los que se incluyen, de forma no exclusiva, agentes activos, soportes, polímeros, agentes formadores de complejos, agentes estabilizantes, excipientes, iones, humedad, disolventes residuales, impurezas, subproductos y/o compuestos relacionados con la producción. Las micropartículas pueden ser cristalinas, amorfas, microcristalinas, nanocristalinas o una combinación de las mismas.

"Agente activo" se refiere a materiales de origen natural, recombinantes, sintéticos o semisintéticos (por ejemplo compuestos, productos de fermentación, extractos, estructuras celulares) capaces de provocar, directa o indirectamente, uno o más efectos físicos, químicos y/o biológicos, *in vitro* y/o *in vivo*. El agente activo puede ser capaz de impedir, mitigar, tratar y/o curar estados anómalos y/o patológicos de un cuerpo vivo, por ejemplo destruyendo un organismo parásito o limitando el efecto de una enfermedad o anomalía alterando materialmente la fisiología del huésped o parásito. El agente activo puede ser capaz de mantener, aumentar, disminuir, limitar o destruir una función fisiológica del cuerpo. El agente activo puede ser capaz de diagnosticar una afección o estado fisiológico mediante un ensayo *in vitro* y/o *in vivo*. El agente activo puede ser capaz de controlar o proteger un entorno o un cuerpo vivo atrayendo, incapacitando, inhibiendo, matando, modificando, repeliendo y/o retardando a un animal o microorganismo. El agente activo puede ser capaz de tratar de otro modo (por ejemplo desodorizando, protegiendo, adornando, acicalando) un cuerpo. Dependiendo del efecto y/o su aplicación, el agente activo puede denominarse también agente bioactivo, agente farmacéutico (por ejemplo profiláctico, terapéutico), agente de diagnóstico, suplemento nutricional y/o agente cosmético, e incluye, sin limitación, ejemplos tales como profármacos, moléculas de afinidad, moléculas orgánicas sintéticas, polímeros, moléculas con un peso molecular de 2 kDa o menos (tales como aquellas con un peso molecular inferior a aproximadamente 1,52 kDa o inferior a aproximadamente 1 kDa), macromoléculas (tales como aquellas con un peso molecular superior a aproximadamente 2 kDa, por ejemplo superior a aproximadamente 5 kDa o de entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 5 kDa), compuestos proteínicos, péptidos, vitaminas, esteroides, análogos de esteroides, lípidos, ácidos nucleicos, carbohidratos, precursores de los mismos y derivados de los mismos. Los agentes activos pueden ser iónicos o no iónicos, pueden ser neutros, con carga positiva, con carga negativa o anfóteros y pueden utilizarse por separado o en una combinación de dos o más de los mismos. Los agentes activos pueden ser insolubles o solubles en agua. Los agentes activos pueden tener un punto isoeléctrico de 7,0 o más, o inferior a 7,0.

"Compuestos proteínicos" se refiere a compuestos naturales, sintéticos, semisintéticos o recombinantes de proteínas o relacionados estructural y/o funcionalmente con las proteínas, tales como aquellos que contienen o consisten esencialmente en α -aminoácidos asociados de manera covalente por enlaces peptídicos. Entre los ejemplos no limitativos de compuestos proteínicos se incluyen proteínas globulares (por ejemplo albúminas, globulinas, histonas), proteínas fibrosas (por ejemplo colágenos, elastinas, queratinas), proteínas compuestas (incluyendo las que contienen uno o más componentes no peptídicos, por ejemplo glucoproteínas, nucleoproteínas, mucoproteínas, lipoproteínas, metaloproteínas), proteínas terapéuticas, proteínas de fusión, receptores, antígenos (por ejemplo antígenos sintéticos o recombinantes), proteínas de superficie virales, hormonas y análogos hormonales, anticuerpos (por ejemplo anticuerpos monoclonales o policlonales), enzimas, fragmentos Fab, péptidos cíclicos, péptidos lineales y similares. Entre los ejemplos no limitativos de proteínas terapéuticas se incluyen proteínas morfogenéticas del hueso, proteínas de resistencia a los fármacos, toxoides, eritropoyetinas, proteínas de la cascada de coagulación sanguínea (por ejemplo Factor VII, Factor VIII, Factor IX y otros), subtilisina, ovoalbúmina, alfa-1-antitripsina (AAT), ADNasa, superóxido dismutasa (SOD), lisozimas, ribonucleasas, hialuronidasa, collagenasa, hormona del crecimiento humana (hGH), eritropoyetina, insulina, factores de crecimiento de tipo insulínico, interferones, glatiramer, factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, factor estimulante de colonias de granulocitos, desmopresina, agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) (por ejemplo leuprolide, goserelina, buserelina, gonadorelina, histrelina, nafarelina, deslorelina, fertirelina, triptorelina), antagonistas de la LHRH, vasopresina, ciclosporina, calcitonina, hormona paratiroidea, péptidos de la hormona paratiroidea, péptidos de tipo glucógeno, y análogos de los mismos. Los compuestos proteínicos pueden ser neutros, con carga positiva, con carga negativa o anfóteros y pueden utilizarse por separado o en una combinación de dos o más de los mismos.

"Ácidos nucleicos" se refiere a compuestos naturales, sintéticos, semisintéticos o recombinantes formados como mínimo en parte por dos o más nucleótidos iguales o diferentes, pudiendo ser de cadena simple o doble. Entre los ejemplos no limitativos de ácidos nucleicos se incluyen oligonucleótidos (tales como aquellos con 20 o menos pares de bases, por ejemplo sentido, antisentido o con cambio de sentido), aptámeros, polinucleótidos (por ejemplo sentido, antisentido o con cambio de sentido), ADN (por ejemplo sentido, antisentido o con cambio de sentido), ARN (por ejemplo sentido, antisentido o con cambio de sentido), ARNip, constructos ácidos de nucleótido, segmentos de cadena simple o doble de los mismos, así como precursores y derivados de los mismos (por ejemplo glucosilados, hiperglucosilados, PEGilados, marcados con FTTC, nucleósidos, sales de los mismos). Los ácidos nucleicos pueden ser neutros, con carga positiva, con carga negativa o anfóteros y pueden utilizarse por separado o en una combinación de dos o más de los mismos.

"Macromolécula" se refiere a un material capaz de proporcionar una estructura tridimensional (por ejemplo terciaria y/o cuaternaria) e incluye soportes y ciertos agentes activos de la presente descripción. Las macromoléculas tienen normalmente un peso molecular de 2 kD o mayor, por ejemplo superior a aproximadamente 5 kD o entre 2 kD y 5 kD. Entre los ejemplos no limitativos de macromoléculas utilizadas para formar las micropartículas se incluyen, entre otros, polímeros, copolímeros, proteínas (por ejemplo enzimas, proteínas recombinantes, albúminas tales como la seroalbúmina humana, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, compuestos proteínicos), péptidos, lípidos, carbohidratos (por ejemplo monosacáridos, disacáridos, polisacáridos), ácidos nucleicos, vectores (por ejemplo virus, partículas virales) y complejos y conjugados de los mismos (por ejemplo asociaciones covalentes y/o no covalentes entre dos macromoléculas, tales como complejos o conjugados carbohidrato-proteína, o entre un agente activo y una macromolécula, tales como complejos o conjugados hapteno-proteína). Las macromoléculas

pueden ser neutras, con carga positiva, con carga negativa o anfóteras y pueden utilizarse por separado o en una combinación de dos o más de las mismas.

"Soporte" se refiere a un compuesto, normalmente una macromolécula, que tiene como función principal proporcionar una estructura tridimensional (incluyendo una estructura terciaria y/o cuaternaria) a las microesferas. El soporte puede estar o no asociado con el agente activo (por ejemplo conjugados o complejos del mismo) en la formación de micropartículas según se describe más arriba. El soporte puede tener además otras funciones, tales como ser un agente activo, modificar un perfil de liberación del agente activo de la micropartícula y/o conferir una o más propiedades particulares a la micropartícula (por ejemplo contribuir al menos en parte a la carga superficial neta). En un ejemplo, el soporte es una proteína (por ejemplo una albúmina tal como la seroalbúmina humana) con un peso molecular de 1.500 dalton o más.

"Polímero" o "polimérico" se refiere a una molécula natural, recombinante, sintética o semisintética que tiene, en como mínimo una cadena principal, una rama o una estructura de anillo, dos o más unidades monoméricas repetitivas. Los polímeros incluyen en general dímeros, trímeros, tetrámeros, oligómeros, polímeros de alto peso molecular, aductos, homopolímeros, copolímeros aleatorios, pseudocopolímeros, copolímeros estadísticos, copolímeros alternados, copolímeros periódicos, bipolímeros, terpolímeros, cuaterpolímeros, otras formas de copolímeros, derivados sustituidos de los mismos y sus mezclas. En un aspecto, los términos polímero y polimérico se refieren a moléculas con 10 o más unidades monoméricas repetidas. Los polímeros pueden ser lineales, ramificados, en bloque, injertados, monodispersos, polidispersos, regulares, irregulares, tácticos, isotácticos, sindiotácticos, estereorregulares, atácticos, en estereobloque, de cadena simple, de cadena doble, en estrella, de tipo peine, dendríticos y/o ionoméricos, pueden ser iónicos o no iónicos, pueden ser neutros, con carga positiva, con carga negativa o anfóteros, y pueden utilizarse por separado o en una combinación de dos o más de los mismos.

"Esférica" se refiere a una forma geométrica que es como mínimo "esencialmente esférica". "Esencialmente esférica" significa que la relación entre la mayor longitud (es decir una longitud entre dos puntos del perímetro que pase por el centro geométrico de la forma) y la menor longitud en cualquier sección transversal que pase a través del centro geométrico es menor que aproximadamente 1,5, por ejemplo menor que aproximadamente 1,33 o menor que aproximadamente 1,25. Así pues, el término "esférica" no requiere una línea de simetría. Además, las micropartículas pueden tener textura superficial (por ejemplo líneas continuas o discontinuas, islas, celosías, muescas, aberturas de canal, protuberancias pequeñas comparadas con el tamaño general de las micropartículas) y ser consideradas aún como esféricas. El contacto superficial entre micropartículas se minimiza si las micropartículas son esféricas, minimizándose así normalmente una aglomeración no deseada de las micropartículas. En comparación, las micropartículas que son cristales asféricos o escamas muestran normalmente una aglomeración apreciable por interacciones iónicas y/o no iónicas en superficies planas relativamente grandes.

"Sólido" se refiere a un estado que incluye como mínimo esencialmente sólido y/o semisólido, pero excluye líquido y gas.

"Temperatura ambiente" se refiere a una temperatura alrededor de la temperatura ambiente, normalmente en un intervalo de aproximadamente 20°C a aproximadamente 40°C, por ejemplo entre aproximadamente 20°C y 25°C.

"Formado(a) a partir de" y "formado(a) por" denotan un lenguaje abierto. Como tales, quiere decirse que una composición formada a partir de o formada por una lista de componentes enumerados es una composición que comprende como mínimo estos componentes enumerados y puede incluir además otros componentes no enumerados durante la formulación de la composición y/o en el producto final obtenido.

A no ser que se especifique expresamente de otra manera, todos los intervalos, cantidades, valores y porcentajes numéricos, tales como los indicados para cantidades de materiales, tiempos, temperaturas, condiciones de reacción, relaciones de cantidades, valores para el peso molecular (tanto el peso molecular promedio en número M_n como el peso molecular promedio en peso M_w) y otros aquí descritos deben entenderse como modificados en todas las ocasiones por el término "aproximadamente", si este término no se utiliza aquí expresamente en combinación con dichos intervalos, cantidades, valores y porcentajes. Por consiguiente, a no ser que se indique algo en sentido contrario, los parámetros numéricos expuestos en la presente descripción y en las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar. Por último, cada parámetro numérico debería como mínimo interpretarse en vista del número de dígitos significativos presentados y aplicando las técnicas de redondeo habituales.

Aunque los intervalos y parámetros numéricos que exponen el amplio alcance de la descripción son aproximaciones, los valores numéricos mostrados en los ejemplos específicos se presentan con la mayor precisión posible. Sin embargo, todo valor numérico es intrínsecamente algo incierto debido a la desviación estándar hallada en su respectivo ensayo de medida. Además, cuando se expongan aquí intervalos numéricos de alcance variable, se contempla la posibilidad de utilizar cualquier combinación de estos valores, incluidos los valores enumerados, de acuerdo con las enseñanzas de la descripción.

Los ejemplos aquí proporcionados, incluidos los que siguen a "tal como", "tales como" y "por ejemplo", se consideran sólo como ilustrativos de diversos aspectos y características de la presente descripción y las realizaciones de la

misma y, por tanto, no deben alterar el alcance de ninguno de los términos o frases a que se refieren. Todos los equivalentes, alternativas y modificaciones adecuadas de los mismos (incluyendo materiales, sustancias, construcciones, composiciones, formulaciones, medios, métodos, condiciones, etc.) ya conocidos por y/o a disposición del técnico en la materia pueden utilizarse o realizarse en lugar de o en combinación con los aquí descritos, y se consideran incluidos en el alcance de la presente descripción. En la totalidad de la presente descripción, todas y cada una de las una, dos o más características y aspectos aquí descritos, explícita o implícitamente, que sigan a los términos "ejemplo", "ejemplos", "tal como", "tales como", "p.ej." y similares pueden practicarse en cualesquiera combinaciones de dos, tres o más de los mismos (incluyendo sus equivalentes, alternativas y modificaciones), dónde y cuándo lo considere apropiado un técnico medio en la materia. Por consiguiente, los detalles específicos aquí descritos no deben interpretarse como limitativos, sino solamente como una base para las reivindicaciones y como una base representativa para enseñar al técnico en la materia a emplear de diversos modos los aspectos y las características de la presente descripción en prácticamente cualquier manera que considere apropiada un técnico medio en la materia.

Micropartículas

Los ejemplos, no limitativos, de micropartículas, materiales y métodos para fabricar micropartículas, composiciones y formulaciones que contienen micropartículas, y utilidades de tales micropartículas, composiciones y formulaciones, incluyen los descritos en las patentes US nº 5.525.519, 5.554.730, 5.578.709, 5.599.719, 5.981.719, 6.090.925, 6.268.053 y 6.458.387, publicaciones US nº 20030059474, 20030064033, 20040043077, 20050048127, 20050142201, 20050142205, 20050142206, 20050147687, 20050170005, 20050233945, 20060018971, 20060024240, 20060024379, 20060260777, 20070092452, 20070207210 y 20070281031. Las micropartículas pueden tener una distribución granulométrica en general uniforme, tal como una distribución granulométrica monodispersa, o una distribución granulométrica polidispersa, y una forma en general uniforme, por ejemplo esencialmente esférica. Una o más características de las micropartículas pueden ajustarse durante la fabricación manipulando una o más variables tales como, pero no exclusivamente, la selección de ingredientes o de su combinación, las concentraciones de diferentes ingredientes, la temperatura de reacción, el tiempo de reacción y/o el pH, si la reacción se realiza en solución acuosa.

Las micropartículas son adecuadas para suministrar, *in vivo*, *ex vivo* y/o *in vitro*, un agente activo o una combinación de dos o más agentes activos con perfiles de liberación rápida y/o controlada y son útiles para una amplia variedad de aplicaciones terapéuticas, farmacéuticas, de diagnóstico, médicas, medicinales, cosméticas, nutricionales, biocidas, de separación, industriales, comerciales y de investigación, tales como la administración de fármacos, la vacunación, la terapia génica y la formación de imágenes histopatológicas, de tejido *in vivo* o de tumores. Las micropartículas pueden formularse para ser administradas a un sujeto vía oral, parenteral, mucosa, oftálmica, intravenosa, subcutánea, subdérmica, intradérmica, intraarticular, intramuscular, pulmonar (incluyendo inhalaciones orales y nasales) y/o tópica. La administración intravenosa incluye el cateterismo y la angioplastia.

Las micropartículas contienen normalmente una o más macromoléculas. Las una o más macromoléculas (normalmente una o más macromoléculas bioactivas y/o una o más macromoléculas de soporte) pueden comprender como mínimo un 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 98% y hasta un 100%, o menos de un 100%, en peso y/o en volumen de la micropartícula, o estar presentes en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores. El técnico en la materia entenderá que la macromolécula puede ser una parte (por ejemplo un fragmento, un segmento, una subunidad) de otra macromolécula más grande. Se entiende también que las macromoléculas incluyen moléculas de afinidad, que pueden ser, por ejemplo, las partes de receptor o ligando de una interacción receptor-ligando. Entre los ejemplos, no limitativos, de ligandos se incluyen virus, bacterias, polisacáridos o toxinas que actúan de antígenos para generar respuestas inmunitarias al ser administrados a un animal y provocan la producción de anticuerpos.

En la micropartícula pueden estar presentes uno o más ingredientes distintos de las macromoléculas arriba descritas y los agentes activos abajo descritos, incluyendo, pero no exclusivamente, polímeros, agentes formadores de complejos, agentes estabilizantes, excipientes, iones, humedad, disolventes residuales, impurezas, subproductos, en una cantidad de un 50% o inferior, un 30% o inferior, un 20% o inferior, un 10% o inferior, un 5% o inferior o un 2% o inferior, o mayor que un 0%, en peso y/o en volumen de la micropartícula, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores. Adicionalmente, todos los ingredientes presentes en el medio de reacción/incubación (por ejemplo materiales no volátiles) durante la formación de las micropartículas pueden ser esencialmente eliminados y, por tanto, estar ausentes en las micropartículas resultantes. Inmediatamente o en una etapa posterior después de su formación (que puede ser o no *in situ*), las micropartículas pueden dispersarse (por ejemplo en forma de coloides o suspensiones) en una fase sólida continua (por ejemplo un sólido congelado que comprenda la dispersión) o en una fase no sólida (por ejemplo un medio fluido, tal como el medio de reacción/incubación en el que se forman las micropartículas, o en un medio de lavado).

Las micropartículas pueden tener una densidad esencialmente igual que o diferente de (por ejemplo mayor que o menor que) la de la fase continua (medida a la misma temperatura, por ejemplo a temperatura ambiente). Las densidades de las micropartículas y la fase continua son iguales a su peso respectivo dividido entre su volumen respectivo. Las micropartículas pueden tener una densidad menor, igual que o mayor que valores tales como 0,5

- g/cm³, 0,8 g/cm³, 0,95 g/cm³, 1,0 g/cm³, 1,05 g/cm³, 1,1 g/cm³, 1,3 g/cm³, 1,35 g/cm³, 1,5 g/cm³ y 1,9 g/cm³, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores, por ejemplo entre 1,0 g/cm³ y 1,5 g/cm³ o entre 1,2 g/cm³ y 1,5 g/cm³. La densidad de las micropartículas puede medirse mediante picnometría de helio a temperatura ambiente, mediante técnicas de gradiente de densidad (por ejemplo utilizando centrifugación o ultracentrifugación), utilizando un medio de gradiente adecuado (por ejemplo sales de metales alcalinos tales como NaCl, NaBr, NaI, KBr, CsF, CsCl, CsBr, sulfato de cesio, acetato de cesio, trifluoracetato de cesio, RbCl y tartrato de potasio; moléculas neutras solubles en agua tales como sacarosa con una adición opcional de glucosa, glicerol o aceite mineral; macromoléculas hidrófilas tales como dextrano, copolímero de sacarosa-epiclorhidrina y seroalbúmina bovina; otras moléculas sintéticas tales como sales de sodio o de metilglucamina de ácido triyodobenzoico y de ácido metrizoico, y metrizamida), y otros métodos ya conocidos. Entre los métodos estándar que implican técnicas de gradiente de densidad se incluyen ASTM D1505-03, ASTM D1505-98 e ISO 1183-2.

Agentes activos

- Normalmente, uno o más agentes activos están asociados de manera covalente y/o no covalente con, y/o encerrados en como mínimo una parte (por ejemplo el centro o núcleo, uno o más compartimentos distribuidos específica o aleatoriamente, superficies interiores y/o exteriores) de la micropartícula. Por ejemplo, los uno o más agentes activos pueden estar asociados de manera covalente y/o no covalente con y/o encerrados en como mínimo una parte o en esencia la totalidad de una o más macromoléculas (por ejemplo macromoléculas bioactivas y/o macromoléculas de soporte) y/o uno o más ingredientes adicionales (por ejemplo con uno o más polímeros, como complejos o conjugados de los mismos). Como alternativa, la macromolécula en sí puede comprender un agente activo. En ambos casos, las micropartículas pueden comprender una macromolécula bioactiva en una superficie exterior de las mismas.

- El agente activo puede ser un agente farmacéutico. Dependiendo de su efecto y/o aplicación, el agente farmacéutico incluye, de forma no exclusiva, adyuvantes, agentes adrenérgicos, bloqueantes adrenérgicos, adrenocorticoides, adrenolíticos, adrenomiméticos, alcaloides, agentes alquilantes, inhibidores alostéricos, esteroides anabolizantes, analépticos, analgésicos, anestésicos, anorexígenos, antiácidos, antialérgicos, agentes antiangiogénesis, antiarrítmicos, antibacterianos, antibióticos, anticuerpos, agentes anticancerosos tales como paclitaxel y compuestos derivados, agentes anticolinérgicos, anticolinesterasas, anticoagulantes, anticonvulsivos, agentes antidemencia, antidepresivos, antidiabéticos, antidiarreicos, antidotos, antiepilépticos, antifolatos, antifúngicos, antígenos, antihelmínticos, antihistamínicos, hipolipemiantes, agentes antihipertensivos, antiinfecciosos, antiinflamatorios, antipalúdicos, antimetabolitos, agentes antimuscarínicos, agentes antimicobacterianos, antineoplásicos, agentes antiosteoporosis, agentes antipatógenos, agentes antiprotozoicos, moléculas de adhesión, antipiréticos, antirreumáticos, antisépticos, agentes antitiroideos, agentes antiulcerosos, antivirales, sedantes ansiolíticos, astringentes, agentes bloqueantes beta-adrenoceptores, biocidas, factores de coagulación sanguínea, calcitonina, cardiotónicos, quimioterápicos, agentes reductores del colesterol, cofactores, corticosteroides, antitusivos, citocinas, diuréticos, dopaminérgicos, moduladores de los receptores de estrógenos, enzimas y cofactores de los mismos, inhibidores enzimáticos, factores de diferenciación de crecimiento, factores de crecimiento, agentes hematológicos, hematopoyéticos, modificadores de hemoglobina, hemostáticos, hormonas y análogos hormonales, hipnóticos, diuréticos hipotónicos, agentes inmunológicos, inmunoestimulantes, inmunosupresores, inhibidores, ligandos, agentes reguladores de lípidos, linfocinas, muscarínicos, relajantes musculares, agentes de bloqueo neural, agentes neurotrópicos, parasimpaticomiméticos, hormona paratiroidea, promotores, prostaglandinas, agentes psicoterapéuticos, agentes psicotrópicos, radiofármacos, receptores, sedantes, hormonas sexuales, esterilizantes, estimulantes, trombopoyéticos, factores tróficos, simpaticomiméticos, agentes tiroideos, vacunas, vasodilatadores, vitaminas, xantinas, así como conjugados, complejos, precursores y metabolitos de los mismos. El agente activo puede utilizarse individualmente o en una combinación de dos o más de los mismos. En un ejemplo, el agente activo es un agente profiláctico y/o terapéutico que incluye, pero no exclusivamente, péptidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, otros compuestos, precursores y derivados de los mismos, y combinaciones de dos o más de ellos. En un aspecto, el agente activo es un agente farmacéutico que de manera convencional se califica de molécula pequeña.

- El agente activo puede ser un agente activo bioactivo, por ejemplo una macromolécula bioactiva tal como una proteína (incluyendo los compuestos proteínicos arriba descritos), un polipéptido, un carbohidrato, un polinucleótido, un vector (por ejemplo un virus o una partícula viral) o un ácido nucleico, o una combinación de dos o más de los mismos. La macromolécula puede ser natural o sintética. Entre los ejemplos de proteínas se incluyen anticuerpos monoclonales y anticuerpos policlonales. La proteína puede ser también cualquier proteína terapéutica conocida aislada de fuentes naturales o producida por métodos sintéticos o recombinantes. Entre los ejemplos de proteínas terapéuticas se incluyen, pero no exclusivamente, proteínas de la cascada de coagulación sanguínea (por ejemplo Factor VII, Factor VIII, Factor IX y otros), subtilisina, ovoalbúmina, alfa-1-antitripsina (AAT), ADNasa, superóxido dismutasa (SOD), lisozima, ribonucleasa, hialuronidasa, collagenasa, hormona del crecimiento, eritropoyetina, factores de crecimiento de tipo insulínico o sus análogos, interferones, glatiramer, factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, factor estimulante de colonias de granulocitos, anticuerpos, proteínas PEGiladas, proteínas glucosiladas o hiperglucosiladas, desmopresina, agonistas de la LHRH tales como leuprolide, goserelina, nafarelina, busarelina; antagonistas de la LHRH, vasopresina, ciclosporina, calcitonina, hormona paratiroidea, péptidos de la hormona paratiroidea e insulina.

El agente activo puede ser un agente cosmético. Entre los ejemplos no limitativos de agentes cosméticos se incluyen emolientes, humectantes, inhibidores de radicales libres, agentes antiinflamatorios, vitaminas, agentes despigmentantes, agentes antiacnéicos, antiseborreicos, queratolíticos, adelgazantes, colorantes para la piel y protectores solares. Entre los ejemplos no limitativos de compuestos útiles como agentes cosméticos se incluyen

5 ácido linoleico, retinol, ácido retinoico, ascorbato de alquilo, ácidos grasos poliinsaturados, ésteres nicotínicos, nicotinato de tocoferol, insaponificables de arroz, soja o karité, ceramidas, hidroxiácidos tales como ácido glicólico, derivados de selenio, antioxidantes, betacaroteno, gamma-orizanol y glicerato de estearilo. Los agentes cosméticos pueden ser comerciales y/o prepararse mediante técnicas ya conocidas. Como se indica más arriba, los diversos agentes activos pueden utilizarse individualmente o en combinaciones de dos o más de los mismos.

10 El agente activo puede ser un suplemento nutricional. Entre los ejemplos no limitativos de suplementos nutricionales se incluyen proteínas, carbohidratos, vitaminas hidrosolubles (por ejemplo vitamina C, vitaminas del complejo B y similares), vitaminas liposolubles (por ejemplo vitaminas A, D, E, K y similares) y extractos de hierbas. Los suplementos nutricionales pueden ser comerciales y/o prepararse mediante técnicas ya conocidas. Como se indica más arriba, los diversos agentes activos pueden utilizarse individualmente o en combinaciones de dos o más de los

15 mismos.

El agente activo puede ser un compuesto con un peso molecular de 2 kDa o inferior. Entre los ejemplos no limitativos de tales compuestos se incluyen esteroides, agonistas beta, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, taxanos (agentes antimitóticos y antimicrotúbulo), aminoácidos, compuestos alifáticos, compuestos aromáticos y compuestos de urea. Los agentes activos conocidos convencionalmente como moléculas pequeñas (o

20 moléculas orgánicas pequeñas) son agentes activos con un peso molecular de 2 kDa o menos representativos.

El agente activo puede ser también un agente de diagnóstico. Entre los ejemplos no limitativos de agentes de diagnóstico se incluyen agentes de formación de imágenes por rayos X y medios de contraste. Entre los ejemplos no limitativos de agentes de formación de imágenes por rayos X se incluyen 3,5-diacetamido-2,4,6-triyodobenzoato de etilo (WIN-8883, etil éster de ácido diatrizoico); 6-etoxi-6-oxohexil-3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoato (WIN

25 67722); 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi)butirato de etilo (WIN 16318); diatrizoxiacetato de etilo (WIN 12901); 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi)propionato de etilo (WIN 16923); 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi-acetamida de N-etilo (WIN 65312); 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi)acetamida de isopropilo (WIN 12855); 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloximalonato de dietilo (WIN 67721); 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi)fenil-acetato de etilo (WIN 67585); propanodioato de [[3,5-bis(acetilamino)-2,4,5-triyodobenzoil]oxi]bis(1-metil) (WIN 68165) y benzoato de 3,5-bis(acetilamino)-2,4,6-triyodo-4-(etil-3-etoxi-2-butenato) (WIN 68209). Los agentes de contraste preferentes se desintegran convenientemente con relativa rapidez en condiciones fisiológicas, minimizando así cualquier respuesta inflamatoria asociada a las partículas. La desintegración puede ser el resultado de hidrólisis enzimática, solubilización de ácidos carboxílicos a pH fisiológico u otros mecanismos. Por tanto, pueden ser preferibles los ácidos carboxílicos yodados poco solubles tales como

30 yodipamina, ácido diatrizoico y ácido metrizoico, junto con especies yodadas hidrolíticamente lábiles como WIN 67721, WIN 12901, WIN 68165 y WIN 68209 u otras.

En una realización específica, el agente activo puede ser un agente terapéutico para prevenir y/o tratar trastornos pulmonares. Entre los ejemplos no limitativos de tales agentes se incluyen esteroides, agonistas beta, agentes antifúngicos, compuestos antimicrobianos, dilatadores bronquiales, agentes antiasmáticos, antiinflamatorios no esteroideos (AINE), AAT y agentes para tratar la fibrosis quística. Entre los ejemplos no limitativos de esteroides para la prevención y/o el tratamiento de trastornos pulmonares se incluyen, no exclusivamente, beclometasona (por ejemplo dipropionato de beclometasona), fluticasona (por ejemplo propionato de fluticasona), budesonida, estradiol, fludrocortisona, flucinonida, triamcinolona (por ejemplo acetónido de triamcinolona), flunisolida y sus sales. Entre los

40 ejemplos no limitativos de agonistas beta para la prevención y/o el tratamiento de trastornos pulmonares se incluyen xinafoato de salmeterol, fumarato de formoterol, levalbuterol, bambuterol, tulobuterol y sus sales. Entre los ejemplos no limitativos de agentes antifúngicos para la prevención y/o el tratamiento de trastornos pulmonares se incluyen itraconazol, fluconazol, anfotericina B y sales de los mismos.

Los agentes activos pueden utilizarse en una combinación de dos o más de los mismos. Entre los ejemplos no limitativos de combinaciones se incluyen esteroide y agonista beta, por ejemplo propionato de fluticasona y salmeterol, budesonida y formoterol, etc. El técnico medio en la materia conoce bien muchas otras combinaciones de agentes activos terapéuticamente viables.

50

Material no volátil

Las composiciones que contienen las micropartículas pueden contener al menos un material no volátil, siendo el o los materiales no volátiles diferentes en sus composiciones y/o estructuras químicas a las una o más macromoléculas que forman las micropartículas.

55

En general, los materiales no volátiles tienen un punto de ebullición y/o de inflamación superior a aproximadamente 100°C, superior a aproximadamente 150°C y/o superior a aproximadamente 200°C. Los materiales no volátiles pueden ser naturales, sintéticos, semisintéticos o recombinantes. Los uno o más materiales no volátiles son

- normalmente polímeros no iónicos que, independientemente, pueden ser hidrófilos, anfífilos, solubles en medios acuosos (por ejemplo solubles en agua) y/o miscibles con medios acuosos (por ejemplo miscibles con agua), o sales de tales polímeros no iónicos. Los uno o más materiales no volátiles pueden reducir beneficiosamente, de manera independiente o colectiva, la solubilidad de una o más macromoléculas en la fase continua, o en los uno o más fluidos de la misma. Los uno o más materiales no volátiles, cuando están presentes en la fase continua, normalmente no interactúan de manera covalente y/o iónica con las una o más macromoléculas de las micropartículas ni las desnaturalizan. Adicionalmente, los uno o más materiales no volátiles, cuando están presentes en la fase continua, normalmente no forman complejos, conjugados, agregados ni/o aglomeraciones entre sí, ni se juntan de otro modo, por ejemplo por interacciones covalentes, iónicas y/o de otro tipo. Además, los uno o más materiales no volátiles normalmente no experimentan gelación (por ejemplo formación de hidrogel) en la fase continua, ni por sí mismos ni con otros ingredientes presentes en la fase continua. En general, los uno o más materiales no volátiles tienen, independientemente, pesos moleculares mayores que o iguales a valores tales como 200 dalton, 300 dalton, 400 dalton, 600 dalton, 800 dalton, 1.000 dalton, 1.500 dalton, 2.000 dalton, 2.500 dalton, 3.000 dalton, 3.500 dalton, 4.000 dalton, 5.000 dalton, 8.000 dalton y 10.000 dalton, o de hasta aproximadamente 3.000 kilodalton (kd), o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores, por ejemplo entre 200 dalton y 10.000 dalton, entre 1.000 dalton y 1.500 dalton, entre 1.000 dalton y 2.000 dalton, entre 1.000 dalton y 2.500 dalton, entre 1.000 dalton y 3.000 dalton, entre 1.000 dalton y 3.500 dalton, entre 1.000 dalton y 4.000 dalton, entre 1.000 dalton y 5.000 dalton, entre 1.000 dalton y 8.000 dalton, entre 1.000 dalton y 10.000 dalton, entre 1.500 dalton y 2.000 dalton, entre 1.500 dalton y 2.500 dalton, entre 1.500 dalton y 3.000 dalton, entre 1.500 dalton y 3.500 dalton, entre 1.500 dalton y 4.000 dalton, entre 1.500 dalton y 5.000 dalton, entre 1.500 dalton y 8.000 dalton, entre 1.500 dalton y 10.000 dalton, entre 2.000 dalton y 2.500 dalton, entre 2.000 dalton y 3.000 dalton, entre 2.000 dalton y 3.500 dalton, entre 2.000 dalton y 4.000 dalton, entre 2.000 dalton y 5.000 dalton, entre 2.000 dalton y 8.000 dalton, entre 2.000 dalton y 10.000 dalton, etc.
- Entre los ejemplos no limitativos de materiales no volátiles para la fase continua se incluyen los polímeros no iónicos solubles en agua y/o miscibles con agua descritos en las patentes US nº 5.525.519, 5.554.730, 5.578.709, 5.599.719, 5.981.719, 6.090.925, 6.268.053 y 6.458.387, publicaciones US nº 20030059474, 20030064033, 20040043077, 20050048127, 20050142201, 20050142205, 20050142206, 20050147687, 20050170005, 20050233945, 20060018971, 20060024240, 20060024379, 20060260777, 20070092452, 20070207210 y 20070281031.
- Normalmente, el o los materiales no volátiles son no iónicos y pueden ser hidrófilos, anfífilos, solubles en medios acuosos, miscibles con medios acuosos y/o solubles en o miscibles con un fluido soluble en medios acuosos o miscible con medios acuosos a una temperatura de 40°C o inferior. Ejemplos no limitativos de materiales no volátiles adecuados pueden ser lineales, ramificados o cíclicos e incluyen poliéteres no iónicos, copoliéteres no iónicos, poliésteres no iónicos, copoliésteres no iónicos, copolímeros poliéter-poliéster no iónicos, polímeros vinílicos no iónicos, polímeros con contenido en pirrolidona no iónicos, carbohidratos poliméricos no iónicos, derivados y sales de los mismos, y combinaciones de dos o más de los mismos. Entre los ejemplos no limitativos de poliéteres no iónicos y copoliéteres no iónicos (incluyendo copolímeros y terpolímeros) se incluyen, pero no exclusivamente, poliéteres con grupos hidroxilo terminales (por ejemplo poliéteralcoholes, poliéterpolioles, poliéteres con casquete terminal (*end-capped*) de óxido de etileno que no sean polietilenglicoles) y derivados con casquete terminal alquilo (por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, etc.) de los mismos, tales como polialquilenglicoles (por ejemplo polioxi-1,1-alquilenglicoles como polietilenglicoles y polipropilenglicoles, así como politrimetilen éter glicoles y politetrametilen éter glicoles), copoliéteres con grupos hidroxilo terminales (por ejemplo copoliéteralcoholes, copoliéterpolioles, copoliéteres con casquete terminal de óxido de etileno) y derivados con casquete terminal alquilo (por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, etc.) de los mismos, tales como copoliéteres en bloque de dos o más óxidos de 1,2-alquilenos diferentes (por ejemplo copolímeros polioxietileno-polioxipropileno como poloxámeros) y copoliéteres de uno o más óxidos de 1,2-alquilenos y uno o más de los siguientes: tetrahidrofurano, tetrahidropirano y 1,3-propanodiol (por ejemplo copolímeros de (polietilenglicol)-(polimetilen glicol éter), copolímeros de (polietilenglicol)-(politetrametilen glicol éter). Entre los ejemplos no limitativos de poliésteres no iónicos y copoliésteres no iónicos (incluyendo copolímeros y terpolímeros) se incluyen poliésteres con grupos hidroxilo terminales (por ejemplo poliésterpolioles, copoliéster polioles, poliésteres con casquete terminal de óxido de etileno o con grupos polioxietileno terminales, y ciertos poliésteres de silicona, tales como los semejantes a dicarboxilatos de polioxietilenglicerina, polioxietilensorbitol ésteres de ácidos dicarboxílicos, polioxietilenglicol ésteres de ácidos dicarboxílicos y ésteres polioxietilenalquílicos. Entre los ejemplos no limitativos de copolímeros de poliéter-poliéster no iónicos (incluyendo terpolímeros) se incluyen, pero no exclusivamente, copolímeros en bloque de una o más lactonas y/o ácidos dicarboxílicos y uno o más óxidos de 1,2-alquilenos, derivados de esterificación de los poliéteres no iónicos y copoliéteres no iónicos aquí descritos y derivados de eterificación de los poliésteres no iónicos y copoliésteres no iónicos aquí descritos, por ejemplo copolímeros en bloque de (polietilenglicol)-policaprolactona. Entre los ejemplos no limitativos de polímeros vinílicos no iónicos (incluyendo copolímeros y terpolímeros) y polímeros no iónicos con contenido en pirrolidona (incluyendo copolímeros y terpolímeros) se incluyen, pero no exclusivamente, alcoholes polivinílicos, homopolímeros y copolímeros (incluyendo terpolímeros) de (alquil)acrilatos de hidroxialquilo (por ejemplo acrilato de hidroxietilo, acrilato de hidroxipropilo, metacrilato de hidroxietilo, metacrilato de hidroxipropilo), (alquil)acrilatos de oligo-oxalquilenos (por ejemplo acrilatos de oligo-oxietileno, metacrilatos de oligo-oxietileno) y/o (alquil)acrilatos de oligo-oxalquilenos con casquete terminal (*end-capped*) alquilo (por ejemplo casquete de metilo), polivinilpirrolidonas y homopolímeros y copolímeros que contienen alqueniilpirrolidona.

Entre los ejemplos no limitativos de carbohidratos poliméricos (incluyendo oligoméricos) no iónicos (con un peso molecular entre 200 dalton y 5.000.000 de dalton, por ejemplo 1.000 dalton, 3.000 dalton, 5.000 dalton, 10.000 dalton, 30.000 dalton, 50.000 dalton, 100.000 dalton, 300.000 dalton, 500.000 dalton, 1.000.000 dalton o 3.000.000 dalton, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores) y derivados de los mismos se incluyen, pero no exclusivamente, almidón, amilopectina (polisacáridos ramificados), amilosa (polisacáridos lineales), celulosa, goma guar, polisacáridos de guar, goma xantana, dextrinas (por ejemplo ciclodextrinas, maltodextrinas), dextranos, polidextrosas, goma gellan, pululano, celodextrinas, beta-glucanos y sus derivados, por ejemplo ésteres no iónicos formados por esterificación, incluyendo, pero no exclusivamente, benzoatos y alcanatoos tales como acetatos, propionatos, butiratos y hexanoatos; o éteres no iónicos formados por eterificación tales como éteres de almidón no iónicos, éteres de amilopectina no iónicos, éteres de amilosa no iónicos, éteres de celulosa no iónicos, éteres de guar no iónicos, ésteres de almidón no iónicos, ésteres de amilopectina no iónicos, ésteres de amilosa no iónicos, ésteres de celulosa no iónicos, ésteres de éter de almidón no iónicos, ésteres de éter de almidón no iónicos, ésteres de éter de celulosa no iónicos y ésteres de éter de celulosa no iónicos. Entre los ejemplos, no limitativos, de ésteres de almidón no iónicos se incluyen alquilalmidones tales como los metilalmidones, etilalmidones, propilalmidones y butilalmidones; hidroxialquilalmidones tales como hidroxietilalmidones (por ejemplo tetraalmidón, pentaalmidón, hetaalmidón), hidroxipropilalmidones, hidroxibutilalmidones e hidroxipentilalmidones; así como alquilhidroxialquilalmidones tales como metilhidroxietilalmidones, metilhidroxipropilalmidones y etilhidroxipropilalmidones. Entre los ejemplos no limitativos de éteres de amilopectina no iónicos y éteres de amilosa no iónicos se incluyen hidroxietil amilopectinas, hidroxipropil amilopectinas, hidroxietil amilosas e hidroxipropil amilosas. Entre los ejemplos no limitativos de éteres de celulosa no iónicos se incluyen alquilcelulosas tales como metilcelulosas, etilcelulosas, propilcelulosas, isopropilcelulosas y butilcelulosas; hidroxialquilcelulosas tales como hidroxietilcelulosas, hidroxipropilcelulosas, hidroxibutilcelulosas e hidroxipentilcelulosas; así como alquilhidroxialquilcelulosas tales como metilhidroxietilcelulosas, metilhidroxipropilcelulosas, metilhidroxibutilcelulosas, etilhidroxietilcelulosas, etilhidroxipropilcelulosas, propilhidroxietilcelulosas, propilhidroxipropilcelulosas, isopropilhidroxipropil-celulosas, butilhidroxipropilcelulosas, pentilhidroxipropilcelulosas y hexilhidroxipropilcelulosas. Entre los ejemplos no limitativos de éteres de guar no iónicos se incluyen polisacáridos de guar alquílico tales como los polisacáridos de guar metílico, polisacáridos de guar etílico, polisacáridos de guar propílico y polisacáridos de guar butílico; polisacáridos de guar hidroxialquílico tales como los polisacáridos de guar hidroxietílico y polisacáridos de guar hidroxipropílico; así como polisacáridos de guar alquilhidroxialquílico tales como los polisacáridos de guar metilhidroxietílico, polisacáridos de guar metilhidroxipropílico y polisacáridos de guar etilhidroxipropílico. Entre otros carbohidratos poliméricos no iónicos se incluyen metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxietilmetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilhidroxietilcelulosa, metiletilhidroxietilcelulosa, butil glicidil éter-hidroxietilcelulosa, lauril glicidil éter-hidroxietilcelulosa, hidroximetilhidroxietilcelulosa, hidroxietilcelulosa modificada con éter butilglicidílico, metilhidroxietilcelulosa, metilhidroxipropilcelulosa, ésteres de almidón (por ejemplo acetatos de almidón modificados con anhídrido alquilsuccínico y alquensuccinatos de almidón), ésteres de celulosa (monobutiratos y monopropionatos de celulosa), ésteres de éter de celulosa (ésteres de ácido hidroxialquilcelulosa-2-hidroxicarboxílico), poli(3-hidroxioxetanos). Entre los ejemplos no limitativos de ésteres de carbohidrato polimérico no iónicos se incluyen aquellos con un grado de sustitución entre 0,5 y 1,0, por ejemplo entre 0,7 y 0,9, y son solubles en agua. También pueden utilizarse sales iónicas de los materiales anteriores, si es posible producirlas. Por ejemplo, también pueden utilizarse sales solubles en agua y/o miscibles con agua de polisacáridos, tales como sulfato de dextrano, sulfato de dextrina y alginato sódico.

No disolvente

Para permitir y/o facilitar la separación de las micropartículas de los otros compuestos de la composición que las contiene, o como mínimo de los uno o más materiales no volátiles de la misma, pueden utilizarse uno o más no disolventes, solos o en una combinación de dos o más de los mismos. Los componentes no disolventes se seleccionan de manera que el o los líquidos (por ejemplo agua) y/o el o los materiales no volátiles (por ejemplo un polímero) de la composición sean más solubles en y/o miscibles con el no disolvente que las micropartículas. Como tales, los uno o más no disolventes pueden ser adecuados como sistemas de solubilidad diferencial para separar (por ejemplo extraer, lavar, excluir, desplazar, eliminar) tales componentes de las micropartículas, utilizando técnicas como, aunque no exclusivamente, lavado (por ejemplo lavado por centrifugación), diafiltración, filtración, diálisis, electroforesis o combinaciones de las mismas.

Sin limitarse a éstas, los uno o más no disolventes pueden tener una o más de las características (por ejemplo composiciones, propiedades físicas y químicas, toxicidad) aquí descritas o una combinación de dos o más de las mismas, siempre que no entren en conflicto unas con otras. El no disolvente puede ser un sistema de un solo componente o un sistema multicomponente (por ejemplo binario, ternario, cuaternario, etc.) que contenga como mínimo 2-metil-2-propanol y, opcionalmente, uno o más líquidos no acuosos adicionales y uno o más líquidos acuosos. Normalmente, el no disolvente es monofásico (tiene una sola fase) y no multifásico (por ejemplo emulsiones, suspensiones).

En general, las micropartículas son esencialmente insolubles en el no disolvente o como mínimo en el líquido no acuoso del mismo. Más específicamente, las micropartículas tienen una solubilidad tal en el no disolvente que, al dispersarse las micropartículas en el no disolvente, se disuelvan no más del 5% en peso de las micropartículas, por ejemplo menos del 3% en peso, menos del 1% en peso, menos del 0,5% en peso, menos del 0,1% en peso, menos

- del 0,05% en peso, menos del 0,01% en peso, o en un intervalo entre dos de estos valores, por ejemplo entre el 0,01% en peso y el 5% en peso, entre el 0,05% en peso y el 5% en peso, entre el 0,1% en peso y el 5% en peso, entre el 0,5% en peso y el 5% en peso, entre el 1% en peso y el 5% en peso, entre el 3% en peso y el 5% en peso, entre el 0,01% en peso y el 3% en peso, entre el 0,05% en peso y el 3% en peso, entre el 0,1% en peso y el 3% en peso, entre el 0,5% en peso y el 3% en peso, entre el 1% en peso y el 3% en peso, entre el 0,01% en peso y el 1% en peso, entre el 0,05% en peso y el 1% en peso, entre el 0,1% en peso y el 1% en peso, entre el 0,5% en peso y el 1% en peso, entre el 0,01% en peso y el 0,5% en peso, entre el 0,05% en peso y el 0,5% en peso, entre el 0,1% en peso y el 0,5% en peso, entre el 0,01% en peso y el 0,1% en peso, entre el 0,05% en peso y el 0,1% en peso y/o entre el 0,01% en peso y el 0,05% en peso.
- 10 El material no volátil debería ser más soluble en el no disolvente que las micropartículas. Por ejemplo, el o los materiales no volátiles pueden tener una solubilidad en el no disolvente de un 10% en peso o mayor, por ejemplo menor que, igual a o mayor que valores tales como el 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores. Adicionalmente, el o los materiales no volátiles pueden ser totalmente miscibles con el no disolvente.
- 15 En general, el no disolvente, o como mínimo el líquido no acuoso del mismo, tiene un LD₅₀ oral en ratas mayor que 1,6 g/kg de peso corporal, por ejemplo 1,7 g/kg o más, 1,8 g/kg o más, 2 g/kg o más, 2,5 g/kg o más, 3 g/kg o más, 4 g/kg o más, 5 g/kg o más, o en un intervalo entre dos de tales valores. En general, el no disolvente está libre de cualesquiera materiales que tengan un LD₅₀ oral en ratas de 1,6 g/kg de peso corporal o menos. De forma adicional o alternativa, el no disolvente, o como mínimo el líquido no acuoso del mismo, puede tener una exposición diaria permitida para humanos de 50 mg/día o mayor.
- 20 El no disolvente puede tener una densidad a temperatura ambiente menor que o igual a valores tales como 0,8 g/cm³, 0,85 g/cm³, 0,9 g/cm³, 0,95 g/cm³, 1,0 g/cm³, 1,05 g/cm³ o 1,10 g/cm³, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores. La densidad del no disolvente es igual al peso del no disolvente dividido entre su volumen, medidos a la misma temperatura. Si se utiliza para procesar dispersiones multifásicas que comprenden fases dispersas y continuas, el no disolvente, o como mínimo el líquido no acuoso del mismo, tiene normalmente una densidad menor que o igual a la de la fase continua o a la de los uno o más líquidos de la misma, pero éste no tiene que ser necesariamente el caso.
- 25 En un aspecto, el no disolvente, o como mínimo el líquido no acuoso del mismo, es preferentemente liofilizable. Por ejemplo, el no disolvente, o como mínimo el líquido no acuoso del mismo, puede tener un punto de ebullición de 100°C o inferior, por ejemplo menor que o igual a 90°C, 80°C, 70°C, 60°C, 50°C, 40°C, 30°C, 20°C, 10°C, 5°C, 1°C, 0°C, -5°C, -10°C, -20°C, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores. El punto de ebullición del no disolvente, o como mínimo del líquido no acuoso del mismo, es preferentemente menor que la temperatura de degradación de las micropartículas y/o menor que la temperatura de desnaturalización de las macromoléculas y/o los agentes bioactivos (por ejemplo ácidos nucleicos, proteínas incluyendo compuestos proteínicos, etc.) presentes en las micropartículas, de manera que las microesferas pueden secarse utilizando técnicas de evaporación tradicionales sin causar una degradación y/o desnaturalización importante.
- 30 Los uno o más líquidos acuosos, si están presentes, pueden seleccionarse de entre líquidos acuosos tales como H₂O, D₂O, soluciones acuosas con contenido en sales, otros solutos y/o tampones. Entre los ejemplos no limitativos de sales se incluyen cloruro sódico, sulfato sódico y otros haluros y sodio. Entre los ejemplos no limitativos de otros solutos se incluyen carbohidratos (por ejemplo azúcares), polioles, agentes tensoactivos y otros excipientes. Entre los ejemplos no limitativos de sales tampón se incluyen acetato de amonio y bicarbonato de amonio.
- 35 Los uno o más líquidos no acuosos están presentes en el no disolvente en una cantidad suficiente para impedir que las microesferas se disuelvan fácilmente (es decir para mantener las microesferas en gran parte intactas). Por ejemplo, los uno o más líquidos no acuosos pueden estar presentes en una cantidad (en peso o en volumen) entre un 40% o más y un 95% o menos, por ejemplo menor que, igual a o mayor que valores tales como un 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 80%, 85%, 90%, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores, por ejemplo entre un 40% y un 95%, entre un 40% y un 90%, entre un 40% y un 85%, entre un 40% y un 80%, entre un 40% y un 75%, entre un 40% y un 70%, entre un 40% y un 65%, entre un 40% y un 60%, entre un 40% y un 55%, entre un 40% y un 50%, entre un 40% y un 45%, entre un 45% y un 95%, entre un 45% y un 90%, entre un 45% y un 85%, entre un 45% y un 80%, entre un 45% y un 75%, entre un 45% y un 70%, entre un 45% y un 65%, entre un 45% y un 60%, entre un 45% y un 55%, entre un 45% y un 50%, etc.
- 40 Los líquidos acuosos están presentes en el no disolvente en una cantidad suficiente para conferir al no disolvente las propiedades necesarias para solvatar los materiales no volátiles, las sales y los excipientes de la composición. Normalmente, el líquido acuoso está presente en una cantidad (en peso o en volumen) de como mínimo un 4%, como mínimo un 5%, como mínimo un 10%, etc., con el fin de ayudar a la solvatación de los materiales no volátiles, las sales y los excipientes. Por ejemplo, el líquido acuoso puede estar presente en una cantidad (en peso o en volumen) entre un 1% o más y un 50% o menos, por ejemplo menor que, igual a o mayor que valores tales como un 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores, por ejemplo entre un 1% y un 45%, entre un 1% y un 40%, entre un 1% y un 35%, entre un 1% y un 30%, entre un 1% y un 25%,
- 45
- 50
- 55

entre un 1% y un 20%, entre un 1% y un 15%, entre un 1% y un 10%, entre un 1% y un 5%, entre un 1% y un 15%, entre un 1% y un 10%, entre un 1% y un 5%, entre un 5% y un 50%, entre un 5% y un 45%, entre un 5% y un 40%, entre un 5% y un 35%, entre un 5% y un 30%, entre un 5% y un 25%, entre un 5% y un 20%, entre un 5% y un 15%, entre un 5% y un 10%, etc. En algunos aspectos, en general son preferentes cantidades relativamente menores del disolvente acuoso (por ejemplo un 20% o menos, un 15% o menos, un 10% o menos, como mínimo un 4% o como mínimo un 5%) para minimizar la solubilidad de las microesferas en el no disolvente, pero pueden incluirse cantidades adicionales de disolvente acuoso siempre que las micropartículas no tengan una solubilidad importante en el no disolvente.

Los uno o más líquidos no acuosos pueden estar presentes en el no disolvente en una cantidad (en peso o en volumen) entre un 40% o más y un 95% o menos, por ejemplo menor que, igual a o mayor que valores tales como un 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores, por ejemplo entre un 40% y un 95%, entre un 40% y un 90%, entre un 40% y un 85%, entre un 40% y un 80%, entre un 40% y un 75%, entre un 40% y un 70%, entre un 40% y un 65%, entre un 40% y un 60%, entre un 40% y un 55%, entre un 40% y un 50%, entre un 40% y un 45%, etc. (en peso o en volumen). Con frecuencia son ya suficientes cantidades relativamente menores del disolvente acuoso (por ejemplo un 20% o menos, un 15% o menos, un 10% o menos, como mínimo un 4% o como mínimo un 5%) para conferir al no disolvente las propiedades necesarias para solvatar cualesquiera componentes acuosos de la fase continua.

El o los líquidos acuosos pueden ser parcial o totalmente solubles en o miscibles con el o los líquidos no acuosos del no disolvente. Además, si se procesan dispersiones multifásicas, la fase continua, o como mínimo un líquido de la misma, puede ser ventajosamente soluble en o parcial o totalmente miscible con el no disolvente, de modo que se forme una única fase cuando se combinan la dispersión y el no disolvente.

El o los líquidos no acuosos del no disolvente son normalmente miscibles con medios acuosos. El término "líquidos no acuosos miscibles con medios acuosos" se refiere a líquidos no acuosos que, dentro de un intervalo de temperaturas representativo de un entorno operacional seleccionado (por ejemplo entre 20°C y 40°C), son parcial (por ejemplo como mínimo un 5% en peso o en volumen) o esencialmente (en todas las proporciones) solubles en y/o miscibles con agua, por ejemplo, sin que se produzca un aumento significativo (por ejemplo de un 50% o más) en viscosidad (por ejemplo por separación de fases). El o los líquidos no acuosos miscibles con medios acuosos pueden contener además uno o más solutos (por ejemplo sales, azúcares, polímeros, etc.) y/o líquidos no acuosos miscibles. El o los líquidos no acuosos pueden ser anhidros y/o tener un bajo contenido en agua (por ejemplo aquellos con un contenido en agua de un 5% o menos en peso o en volumen, por ejemplo un 3% o menos, un 1% o menos, un 0,5% o menos, un 0,1% o menos).

Entre los ejemplos no limitativos de líquidos no acuosos que pueden utilizarse con el 2-metil-2-propanol se incluyen aquellos que son polares apróticos o dipolares apróticos, tales como cetonas, nitrilos, ésteres, aldehídos y amidas; aquellos no polares apróticos, tales como éteres (por ejemplo éteres metoxilados, éteres alquilados, diéteres, triéteres, oligoéteres, poliéteres, éteres cíclicos, éteres corona); líquidos orgánicos terciarios (por ejemplo alcoholes terciarios, ácidos terciarios, amidas terciarias) y combinaciones de los mismos, por ejemplo nitrilos+dimetil sulfóxido, nitrilos+éteres, nitrilos+cetonas, alcoholes terciarios+(ciclo)alcanos, cetonas+alcoholes terciarios, nitrilos+alcoholes terciarios, nitrilos+cetonas+alcoholes terciarios, nitrilos+éteres+alcoholes terciarios. El líquido no acuoso está libre de alcoholes primarios lineales (por ejemplo metanol, etanol, propanol, butanol, etc.) y disolventes halogenados (por ejemplo diclorometano, cloroformo, tricloroetano, etc.)

Ejemplos específicos de líquidos no acuosos que pueden utilizarse con el 2-metil-2-propanol son: 2,3-dimetil-2-butanol, 3-metil-3-heptanol, 2-metil-2-butanol (alcohol t-amílico), glicerina, N,N-dimetilformamida (DMF), sulfóxido de dimetilo (DMSO), carbonatos (por ejemplo carbonato de dimetilo, carbonato de etilmetilo, carbonato de dietilo, carbonato de etilpropilo, carbonato de dipropilo e isómeros de los mismos), carbonatos cíclicos (por ejemplo carbonato de etileno, carbonato de propileno, carbonato de butileno, carbonato de pentileno e isómeros de los mismos), hexametilfósforo triamida (HMPA), tetrahidrofurano (THF), N,N-dimetilacetamida, 2-pirrolidona, N-metil-2-pirrolidona, tetrametilurea, dioxano, dimetoxietano, dimetil dietilenglicol éter, éter, diisopropil éter, 2-butanona (metil etil cetona), 4-metil-2-pentanona (isobutil metil cetona), 2- propanona, mentol, timol, alcanfor, imidazol, cumarina, dimetilsulfona, urea, vainillina, canfeno, salicilamida, piridina, 2-aminopiridina, pirimidina, piperidina, citrato de acetiltributilo, citrato de acetiltriethyl, alcohol bencílico, butirolactona, caprolactama, sulfóxido de decilmetilo, diacetina, ftalato de dietilo, tartrato de dietilo, dimetoxietano, dimetiletilamida, 1-dodecilazacicloheptan-2-ona, lactato de etilo, etilenglicol, óxido de etileno, glicerolformaldehído, glicofurol, propilenglicol, óxido de propileno, fluido silicónico, tetraglicol, triacetina, citrato de tributilo, tributirina, citrato de trietilo, fosfato de trietilo, análogos de los mismos y combinaciones de dos o más de los mismos.

Normalmente se selecciona un líquido no acuoso con una solubilidad en agua relativamente alta, una solubilidad relativamente alta de material no volátil en el líquido, un punto de ebullición inferior a 100°C y una toxicidad baja. Si la solubilidad del agua en el líquido es suficientemente alta, como con el 2-metil-2-propanol, el no disolvente puede utilizarse también para eliminar agua residual de la composición, tal y como se describe más abajo con mayor detalle. Esta ventaja puede ser particularmente útil en el caso de emplearse para procesar dispersiones multifásicas. Sorprendentemente no se produce esencialmente ninguna disrupción de la estructura terciaria de cualesquiera

moléculas bioactivas cuando las microesferas se ponen en contacto con o se exponen al no disolvente. Se ha descubierto que el 2-metil-2-propanol resulta particularmente útil a este respecto y que facilita la liofilización de excipientes (por ejemplo azúcares tales como trehalosa) dejando en esencia sólo micropartículas.

En la Tabla 1 siguiente se indican ciertos líquidos no acuosos y sus características.

5

Tabla 1

Líquido	Densidad ^a	PE ^b	PC ^c	Sol. ^d	LD ₅₀	PV ^f
2-butanona (MEC)	0,805	79,6	-86,3	25,6	2,7	12
Acetona	0,786	56,2	-94,3	M	5,8	30,6
2-metil-2-propanol	0,786	82,2	25,5	M	2,7	5,49
Dimetoxietano (dimetil etilenglicol éter)	0,868	83	-58	M	10	6,4
metil t-butil éter	0,741	55,2	-109	4,8	4	32,7
Éter	0,713	34,6	-116,3	7,5	1,2	71,6
Diisopropil éter	0,724	68	-86	0,2	8,47	--

a Densidad medida a temperatura ambiente, por ejemplo 20-25°C.

b Punto de ebullición (PE), °C.

c Punto de congelación/fusión (PC), °C.

d Solubilidad (Sol) de agua en el líquido en g/100 g, o ppm (partes por millón en peso), a temperatura ambiente, por ejemplo 20-25°C.

e LD₅₀, en g/kg de peso corporal, es la cantidad mínima de líquido referida en la bibliografía que, cuando se administra a ratas de una sola vez por vía oral (toxicidad aguda), causa la muerte del 50% de las ratas que se están estudiando.

f Presión de vapor (PV), en kPa, a temperatura ambiente, por ejemplo 20-25°C.

l Miscible (M) con agua.

Exposición de la Composición al No Disolvente y Eliminación del Material No Volátil

- 10 Cuando la composición se combina con y/o se expone de otro modo al no disolvente, las características físicas y/o químicas del no disolvente permiten a los como mínimo uno o más materiales no volátiles de la composición ser solvatados por el no disolvente mientras se mantienen las micropartículas intactas (dado que las micropartículas son menos solubles en el no disolvente que el material no volátil). Eliminando las fases líquidas resultantes, las micropartículas pueden separarse eficazmente de los uno o más materiales no volátiles y, en algunos casos, de los uno o más componentes adicionales de la composición original. Entre los ejemplos no limitativos de técnicas representativas útiles para eliminar partes de las fases líquidas y/o separar de otra manera las micropartículas de la composición o de uno o más componentes de la misma se incluyen lavado, filtración (incluyendo ultrafiltración), diálisis, diafiltración, separación de fases (por ejemplo centrifugación), electroforesis y extracción magnética, y combinaciones de dos o más de las mismas. La centrifugación incluye además ultracentrifugación, centrifugación de flujo continuo y lavado centrífugo reiterado, y puede realizarse opcionalmente en combinación con métodos de eliminación de líquido que incluyen, pero no exclusivamente, decantación y aspiración.
- 15
- 20 Ciertos componentes de la composición pueden eliminarse mediante técnicas determinadas. Por ejemplo, los uno o más materiales no volátiles de la composición pueden eliminarse sustancialmente después de uno, dos o más lavados reiterados (por ejemplo por lavado centrífugo reiterado o diafiltración reiterada). Utilizando el no disolvente, por ejemplo, es posible eliminar normalmente como mínimo un 50%, por ejemplo un 80%, 90%, 95%, 98%, 99% o más (por ejemplo 100%), del material no volátil. Adicionalmente es posible eliminar parcial o totalmente el agua y/u otros componentes liofilizables de la composición, si están presentes, mediante liofilización.
- 25

- El proceso para separar las micropartículas de la composición (o como mínimo una parte del material no volátil de la misma) se realiza normalmente a una temperatura por encima de la temperatura de congelación de la composición o de cualquier componente de la misma (o la fase continua si se está procesando una dispersión) y por debajo de la temperatura de degradación de las micropartículas o de la macromolécula bioactiva de las mismas, por ejemplo a temperatura ambiente o por debajo de la misma, o por encima, a o por debajo de temperaturas tales como 40°C, 37°C, 30°C, 25°C, 20°C, 15°C, 10°C, 5°C, 2°C, 0°C, -5°C, -10°C, -15°C, -20°C, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales temperaturas.
- 30

- En un ejemplo, a una temperatura igual a la temperatura ambiente o por debajo de la misma (por ejemplo a 2-8°C), la composición es una dispersión y se somete a un proceso de concentración basado en diafiltración, utilizando un no disolvente como medio de diafiltración para intercambiar con y así eliminar como mínimo una parte de los uno o más componentes de la fase continua (incluyendo el o los materiales no volátiles y/o el disolvente). Por consiguiente, es posible reducir el volumen de la fase continua para concentrar las micropartículas antes de realizar el secado (por ejemplo por liofilización o con aire), reduciendo así el tiempo de procesamiento y los costes. Para el proceso de concentración puede utilizarse un aparato de diafiltración que incluya una bomba peristáltica, un depósito de
- 35

reserva, un cartucho de fibra hueca y un sistema de tubos, como ya es conocido por el técnico medio en la materia. Igualmente puede emplearse el lavado centrífugo.

Como resultado no limitativo de eliminar uno o más componentes de la fase continua puede formarse, mediante el proceso de concentración, una dispersión intermedia que contiene las micropartículas y el no disolvente, pudiendo aumentarse así varias veces la concentración de las micropartículas (por ejemplo en un factor de 2 o más, de 5 o más, de 10 o más, de 20 o más o de 40 o más) en relación con la de la dispersión original, hasta 1 g/ml o más, por ejemplo 10 mg/ml o más. Durante este proceso de concentración pueden eliminarse parcial o totalmente los uno o más materiales no volátiles (por ejemplo polímeros no iónicos) de la fase continua original. Así, la fase continua de la nueva dispersión puede diferir de la de la dispersión original en que está como mínimo esencialmente libre de uno o más materiales no volátiles de la misma. Por ejemplo, la fase continua de la nueva dispersión puede contener menos de un 5% en peso o en volumen de los uno o más materiales no volátiles, por ejemplo menor que o igual a valores tales como 3%, 2%, 1%, 0,5%, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores, después de realizar uno o más de los pasos anteriores. Las micropartículas pueden estar suspendidas libremente en la nueva dispersión o pueden presentarse en forma de uno o más agregados resuspendibles (tales como tierras isopícnicas o pellas sólidas).

A continuación, la dispersión intermedia concentrada puede procesarse empleando técnicas como dilución y/o lavado centrífugo reiterado utilizando el mismo no disolvente que forma la dispersión intermedia o un no disolvente diferente (tal como los aquí descritos), para continuar eliminando los uno o más materiales no volátiles (por ejemplo polímeros no iónicos), si aún hay alguno presente. El proceso de separación puede tener como resultado una nueva dispersión que contenga las micropartículas y el no disolvente utilizado durante el proceso de separación, con una concentración de las micropartículas en un intervalo de 1 mg/ml a 50 g/ml, tal como entre 5 g/ml y 20 g/ml, por ejemplo 10 g/ml. Esta nueva suspensión puede almacenarse y/o utilizarse tal y como está, u opcionalmente seguir procesándose para eliminar el no disolvente y obtener las micropartículas en forma de polvo seco. Entre los ejemplos no limitativos de técnicas para eliminar el no disolvente se incluyen diversas técnicas de secado (por ejemplo secado por aire, liofilización, secado por congelación, secado de fase líquida, secado por aspersión, por ejemplo secado por aspersión en frío, secado criogénico, secado por aspersión-congelación, secado supercrítico, por ejemplo secado por fluido supercrítico, secado por lecho fluidizado), y combinaciones de dos o más de éstos.

Alternativamente o conjuntamente con una de las técnicas de secado anteriores, es posible, opcionalmente, dirigir o hacer pasar un gas humidificado, por ejemplo nitrógeno humidificado, aire humidificado o gases nobles humidificados, sobre las micropartículas obtenidas para cambiar ventajosamente una parte de cualquier disolvente residual remanente por agua y/o secar eficazmente las partículas. Específicamente, las micropartículas se colocan en un elemento de soporte (por ejemplo viales, cubetas, bandejas, platos), que a su vez se coloca en una cámara (por ejemplo caja de secado, liofilizador, desecador) bajo una corriente del gas humidificado. La puesta en contacto de las micropartículas con un gas humidificado que tiene una humedad relativa entre el 25% y el 100%, por ejemplo entre el 30% y el 95%, entre el 40% y el 90% o entre el 50% y el 80%, facilita la evaporación del disolvente residual de las micropartículas. Después del proceso de evaporación por humedad elevada, que puede durar desde unas horas (por ejemplo 10, 12, 20 horas) hasta días, dependiendo del volumen o el peso de la composición de micropartículas, es posible reducir aun más el contenido en disolvente residual. Si el disolvente residual no es miscible con agua, puede utilizarse un gas que contenga poca humedad o que no contenga humedad para lograr beneficios similares.

En un ejemplo, una dispersión fluida (por ejemplo una suspensión) que contiene una pluralidad de micropartículas, por ejemplo microesferas sólidas, se dispersa en una fase continua que contiene agua o una solución acuosa (tal como una solución tampón, opcionalmente con uno o más cationes polivalentes) con uno o más materiales no volátiles (por ejemplo polímeros no iónicos) solubilizados en la misma. Opcionalmente, la dispersión puede congelarse a una temperatura de -20°C o menor, preferentemente -40°C o menos, por ejemplo a aproximadamente -60°C, y liofilizarse durante un periodo de tiempo suficiente (tal como un día o más, preferentemente 3 días) para eliminar en esencia toda el agua y cualesquiera otras sustancias liofilizables con el fin de obtener una dispersión sólida (por ejemplo una torta liofilizada) en la que las micropartículas pueden estar dispersas en una fase continua sólida de los uno o más materiales no volátiles. Tanto la dispersión fluida original como la dispersión sólida pueden exponerse a uno o más no disolventes de la presente descripción, por ejemplo combinando las micropartículas con el no disolvente y agitando a continuación, de manera que las micropartículas puedan dispersarse en una única fase líquida que contenga el no disolvente (y que opcionalmente contiene además una parte o la totalidad de la fase continua de la dispersión fluida original). Los uno o más materiales no volátiles pueden disolverse o solubilizarse de otro modo en el no disolvente mientras las micropartículas permanecen dispersas como fase sólida. La nueva dispersión puede someterse a centrifugación, retirando el sobrenadante por aspiración o decantación y eliminando así de las micropartículas como mínimo una parte de los uno o más materiales no volátiles solubilizados en la misma. Opcionalmente, las micropartículas pueden lavarse por centrifugación más de una vez con el mismo no disolvente o con uno o más no disolventes diferentes si se desea. Todo no disolvente residual en las micropartículas conservadas puede eliminarse secando las micropartículas mediante uno o más medios de secado ya conocidos por el técnico medio en la materia (por ejemplo bajo corriente de nitrógeno o en vacío).

- Como se ha descrito más arriba, las propiedades físicas y/o químicas de los uno o más no disolventes pueden elegirse de manera que resulte relativamente fácil, cómodo y/o económico eliminar el resto de los uno o más no disolventes de la micropartícula (por ejemplo mediante liofilización, diafiltración, secado por aire, o combinaciones de los mismos), para obtener, por ejemplo, un polvo de micropartículas seco. Como alternativa o adicionalmente, el no disolvente puede ser adecuado como soporte para el futuro almacenamiento y/o usos finales de las micropartículas, haciendo así que la eliminación sea innecesaria o que sea deseable sólo una eliminación parcial.

Fase continua

- La fase continua de una dispersión multifásica procesada de acuerdo con los métodos descritos puede ser no sólida, por ejemplo contener un fluido o una mezcla de dos o más fluidos (por ejemplo una mezcla homogénea de dos o más líquidos en la que como mínimo un primer líquido puede ser soluble en o miscible con como mínimo un segundo líquido). Entre los ejemplos no limitativos de fluidos adecuados se incluyen fluidos acuosos (por ejemplo agua H₂O, D₂O, tampones acuosos y otras soluciones acuosas), fluidos no acuosos (por ejemplo fluidos orgánicos, tampones orgánicos) y combinaciones de dos o más de los anteriores. En un aspecto, la fase continua no sólida puede ser esencialmente acuosa, por ejemplo contener más de un 10% en volumen, tal como un 25% o más, un 50% o más, o un 75% o más, de agua. La fase continua puede ser parcial o totalmente acuosa o miscible con medios acuosos, inmisible con medios acuosos, soluble en agua o insoluble en agua.

- Medidas a la misma temperatura ambiente, por ejemplo 20°C o 25°C, la fase continua, o el como mínimo un líquido de la misma, tiene normalmente una densidad similar o igual a, o menor que, la de la fase dispersa o las micropartículas de la misma. En general, la fase continua, o el como mínimo un líquido de la misma, puede tener una densidad menor que la de las micropartículas. Por ejemplo, la fase continua, o el como mínimo un líquido de la misma, puede tener una densidad a temperatura ambiente menor que o igual a valores tales como 1,10 g/cm³, 1,05 g/cm³, 1,0 g/cm³, 0,95 g/cm³, 0,9 g/cm³, 0,8 g/cm³, 0,7 g/cm³, 0,6 g/cm³, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores.

- La fase continua puede contener además uno o más ingredientes solubilizados en la misma, que con frecuencia esencialmente no se incorporan a las micropartículas, incluyendo, pero no exclusivamente, el o los materiales no volátiles, sales, iones, reactivos en exceso, excipientes (por ejemplo azúcares, polioles, agentes tensoactivos) y/o compuestos relacionados con la producción. Sin embargo, hay que señalar que el material no volátil puede estar presente sobre/en la fase dispersa y también, por ejemplo, el material no volátil puede estar retenido dentro de poros de las micropartículas y/o asociado de otro modo a las micropartículas. Adicionalmente, estos ingredientes pueden utilizarse en el no disolvente aquí descrito. Entre los ejemplos no limitativos de sales se incluyen acetato de amonio, bicarbonato de amonio y otras sales tampón ya conocidas por el técnico medio en la materia. Entre los ejemplos no limitativos de azúcares se incluyen trehalosa, sacarosa, lactosa y otros carbohidratos ya conocidos por el técnico medio en la materia. Entre los ejemplos no limitativos de polioles se incluyen manitol y otros alcoholes de azúcares ya conocidos por el técnico medio en la materia. Los uno o más fluidos y/o solutos de la fase continua pueden ser, independientemente, parcial o totalmente miscibles con medios acuosos, inmiscibles con medios acuosos, solubles en agua y/o insolubles en agua.

Fase dispersa

- La fase dispersa de una dispersión multifásica procesada de acuerdo con los métodos descritos puede comprender micropartículas sólidas. Normalmente se prefiere que las micropartículas sean esencialmente insolubles en y/o en esencia inmiscibles con el no disolvente, o como mínimo el líquido no acuoso del mismo, teniendo por ejemplo una solubilidad en el mismo a temperatura ambiente inferior a un 10% en peso, por ejemplo de un 5% en peso o menos, un 3% en peso o menos, un 1% en peso o menos, un 0,5% en peso o menos, un 0,1% en peso o menos, un 0,05% en peso o menos, un 0,01% en peso o menos, o en un intervalo entre cualesquiera dos de tales valores.

- La fase dispersa puede incluir además otros materiales en asociación con las micropartículas sólidas, por ejemplo un material no volátil, una sal o un excipiente añadido(a) durante la formación de las micropartículas. En general, tales materiales no se desean en las micropartículas aisladas y, por consiguiente, es deseable eliminarlos de la dispersión. Por tanto, es deseable que tales materiales tengan solubilidades relativamente altas en el no disolvente arriba descrito.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención, pero no limitan el alcance de la misma.

50 Ejemplo comparativo 1

- Se produjeron microesferas de α -1-antitripsina recombinante (rAAT) enfriando una solución que contenía un 16% (p/v) de PEG 3350, un 0,02% (p/v) de Pluronic[®] F-68, acetato de amonio 10 mM y 2 mg/ml de rAAT con un pH de 5,9 a 2°C, de acuerdo con los métodos descritos en la Publicación de Solicitud de Patente US nº 20050142206. La suspensión resultante, que contenía microesferas de rAAT (tamaño medio de partícula aproximadamente 1-3 micras de diámetro), se mezcló minuciosamente con un exceso volumétrico (10 ml, 20 ml o 40 ml) de un líquido polar aprótico (acetona) a una temperatura de aproximadamente 2-4°C o aproximadamente -20°C. Se descubrió

inesperadamente que el PEG es insoluble en acetona anhidra, pero muy soluble en acetona acuosa (con un contenido en agua mayor que un 4% en volumen, por ejemplo un 4,5% o un 4,8% o más). Se centrifugaron las suspensiones de acetona acuosa a 2-4°C y 2.000 rpm durante 5-10 minutos y se retiraron los sobrenadantes. Las microesferas remanentes se lavaron dos veces más con el mismo líquido (acetona acuosa) y a continuación se secaron bajo una corriente de gas N₂. El porcentaje de contenido de las micropartículas que conservaron una forma esférica después de haber entrado en contacto con la acetona acuosa se evaluó por microscopía óptica. El porcentaje de rendimiento del agente activo en las micropartículas se ensayó mediante un ensayo por Ácido Bicinconínico (BCA). Los resultados se muestran en la Tabla 2 siguiente. A temperaturas superiores a -20°C (por ejemplo 2-4°C) y con una proporción líquido:volumen de suspensión 40:1 o menor, el proceso de lavado con acetona proporcionó la mejor combinación de gran retención morfológica de micropartícula y gran actividad específica (menos desnaturalización).

Tabla 2

Temperatura de lavado (°C)	Relación volumétrica líquido: suspensión	Micropartículas esféricas %	Rendimiento %
-20	10:1	10%	70%
2-4	10:1	90%	76%
2-4	20:1	90%	91%
-20	40:1	10%	75%
2-4	40:1	90%	78%

Ejemplo 2

Una primera solución (2,4 mg/ml de IgG en tampón de acetato de amonio 100 mM a pH 5,8) y una segunda solución (24 por ciento en peso de poloxamer 188 en tampón de acetato de amonio 100 mM pH 5,8) se precalentaron hasta 48°C y se mezclaron en una relación volumétrica 1:1. La solución transparente (1,2 mg/ml de IgG, 12% de poloxamer 188, acetato de amonio 100 mM, pH 5,8) se equilibró a 48°C y luego se enfrió a aproximadamente 8°C (pero no se congeló) para formar una suspensión de 1 mg/ml de microesferas de IgG. La suspensión se equilibró (no se congeló) en una cámara frigorífica a 2-8°C y luego se concentró en un factor 40 empleando diafiltración. A continuación se diluyó la suspensión concentrada (40 mg/ml de microesferas de IgG) hasta aproximadamente 10 mg/ml con una solución acuosa de 2-metil-2-propanol (60% v/v de 2-metil-2-propanol, 40% v/v de agua desionizada) empleando diafiltración. Se centrifugó la suspensión diluida y se retiró el sobrenadante. Las microesferas resultantes se lavaron por centrifugación cinco veces con la solución acuosa de 2-metil-2-propanol al 60%, se congelaron rápidamente y luego se liofilizaron empleando un ciclo de liofilización que incluía una fase de calentamiento a 30°C para formar un polvo de microesferas de IgG seco esencialmente libre de excipientes.

Ejemplo 3

Una primera solución (2,5 mg/ml de IgG en tampón de acetato de amonio 100 mM pH 5,8) y una segunda solución (25% en peso de PEG 8000 en tampón de acetato de amonio 100 mM pH 5,8) se precalentaron (baño de agua caliente) hasta 50°C y 55°C, respectivamente. La segunda solución se añadió a la primera solución en una relación volumétrica 1:1 y la mezcla se mezcló suavemente (empleando inversión). La solución transparente (1,25 mg/ml de IgG, 12,5% de PEG 8000, acetato de amonio 100 mM) se enfrió a aproximadamente 6°C (pero no se congeló) para formar 100 ml de una suspensión de 1 mg/ml de microesferas de IgG. La suspensión se equilibró (no se congeló) en una cámara frigorífica a 2-8°C y luego se centrifugó para desechar el sobrenadante. La pella remanente se resuspendió en una solución acuosa de 2-metil-2-propanol (60% v/v de 2-metil-2-propanol, 40% v/v de agua desionizada). La resuspensión se congeló rápidamente y luego se liofilizó para formar un polvo de microesferas de IgG seco.

Ejemplo 4

Una primera solución (2,3 mg/ml de IgG en tampón de acetato de amonio 100 mM pH 5,8) y una segunda solución (24 % en peso de poloxamer 188 en tampón acetato de amonio 100 mM pH 5,8) se precalentaron (baño de agua caliente) hasta 50°C. La segunda solución se añadió a la primera solución en una relación volumétrica 1:1 y se mezcló suavemente (empleando inversión). La solución transparente (1,15 mg/ml de IgG, 12% de poloxamer 188, acetato de amonio 100 mM, pH 5,8) se equilibró (baño de agua caliente) a 50°C y luego se enfrió hasta aproximadamente 6°C (pero no se congeló) para formar 1.000 ml de una suspensión de 1 mg/ml de microesferas de IgG. Como en el ejemplo 2, la suspensión se concentró y se cambió el tampón de la misma utilizando la solución acuosa de 2-metil-2-propanol al 60%, se congeló rápidamente y luego se liofilizó para formar un polvo de microesferas de IgG seco.

Ejemplo 5

Una primera solución (2,3 mg/ml de IgG en tampón acetato de amonio 100 mM pH 5,8) y una segunda solución (24 % en peso de poloxamer 188 en tampón acetato de amonio 100 mM pH 5,8) se precalentaron (baño de agua

- caliente) hasta 50°C. La segunda solución se añadió a la primera solución en una relación volumétrica 1:1 y se mezcló suavemente (empleando inversión). La solución transparente (1,15 mg/ml de IgG, 12% de poloxamer 188, acetato de amonio 100 mM, pH 5,8) se equilibró (baño de agua caliente) a 50°C y luego se enfrió a aproximadamente 6°C (en un congelador a -20°C durante aproximadamente 40 minutos, pero no se congeló) para formar 2.000 ml de una suspensión de 1 mg/ml de microesferas de IgG. La suspensión se concentró y se cambió el tampón de la misma como se describe en el ejemplo 2, excepto por el hecho de que la solución acuosa de 2-metil-2-propanol al 60% contenía además histidina 10 mM y acetato de amonio 10 mM. Después de congelación rápida y liofilización, se formó un polvo de microesferas de IgG seco.

Ejemplo 6

- Se formaron micropartículas de ácido nucleico según la descripción de la Solicitud de Patente Provisional US nº 60/938, 123. Una vez formadas las micropartículas, se centrifugaron las suspensiones, se decantaron los sobrenadantes y se conservaron las pellas de micropartículas. Las pellas de micropartículas se resuspendieron cada una a 4°C en 1 ml de una solución acuosa de 2-metil-2-propanol al 60% (60% v/v de 2-metil-2-propanol, 40% v/v de agua desionizada sin contenido en nucleasa) y se lavaron por centrifugación (se centrifugaron, se decantaron los sobrenadantes y se conservaron las pellas de micropartículas). El lavado centrífugo se repitió dos veces más. Las pellas de micropartículas se resuspendieron cada una en 0,5 ml de la solución acuosa de 2-metil-2-propanol al 60% y se pusieron a -80°C para congelar la resuspensión. Las muestras congeladas se liofilizaron para obtener polvos secos de las micropartículas de ácido nucleico respectivas.

Ejemplo 7

- Se formaron micropartículas de IgIV según los métodos establecidos para formar micropartículas que comprenden anticuerpos, por ejemplo como se describe en el Ejemplo 2. La suspensión de microesferas se liofilizó en viales de vidrio de 10 ml con cargas de 2 ml. El ciclo de liofilización empleado incluía congelar las suspensiones, recocerlas, aplicar una rampa de temperatura para realizar una etapa de secado primaria, realizar la etapa de secado primaria y luego opcionalmente realizar una etapa de secado secundaria (5A y/o 5B), como se muestra en la Tabla 3. El relleno con aire se realizó a 20°C una vez completado el ciclo.

Tabla 3

Etapa	Rampa (°C/min)	Temp. en estantes (°C)	Vacío (mT)	Tiempo de permanencia (min)	Descripción
1	2,5	-40	N/A	120	Congelación
2	1,0	-20	N/A	240	Recocido
3	2,5	-30	N/A	30	Rampa a primario
4	N/A	-30	100	1.200	Secado primario
5A	0,5	-20	100	0	Secado secundario
5B	0,5	20	100	0	Secado a 20°C

- La integridad química de las micropartículas de IgIV se determinó después de la liofilización mediante ensayos HPLC (Cromatografía de Exclusión por Tamaños (SEC)) para cuantificar los productos de aglomeración y degradación. Los resultados demostraron que no se había producido una acumulación significativa de aglomerados ni de otras sustancias relacionadas durante el proceso de liofilización.

- Aproximadamente la mitad de las muestras se colocaron dentro de un desecador conectado a un aparato de nitrógeno humidificado. El nitrógeno humidificado estuvo a un 50% de humedad relativa durante aproximadamente 12 horas (20 psi), seguidas de 6 horas a un 0% de humedad relativa (20 psi). Los resultados demostraron que se había obtenido un polvo seco que contenía menos de un 1,0% en peso de anticuerpo insoluble y menos de un 0,5% en peso de material no volátil residual. Los resultados demostraron además que se había producido una reducción significativa en el contenido en (no)disolvente residual (12% de disminución en el contenido en 2-metil-2-propanol), aunque se había observado un ligero aumento en la humedad residual (2% de aumento) y en especies de alto peso molecular (1,3% de aumento) en relación con el polvo seco inmediatamente después de la liofilización. Aun así, estos resultados demuestran el éxito en la eliminación del material no volátil de las micropartículas y la capacidad para secar el polvo manteniendo al mismo tiempo la integridad proteínica.

REIVINDICACIONES

1. Método para procesar micropartículas que comprende:

5 proporcionar una composición que comprende una pluralidad de micropartículas sólidas y como mínimo un material no volátil, comprendiendo dichas micropartículas una macromolécula bioactiva con estructura terciaria;

 proporcionar un no disolvente que comprende 2-metil-2-propanol y como mínimo un líquido acuoso;

10 exponer la composición al no disolvente para formar una mezcla que contiene una o más fases líquidas y las micropartículas sólidas; y a continuación

 eliminar como mínimo una parte de las una o más fases líquidas resultantes conservando al mismo tiempo como mínimo las micropartículas, eliminando así como mínimo una parte del material no volátil de la composición,

15 siendo las micropartículas esencialmente insolubles en el no disolvente y siendo el material no volátil más soluble en el no disolvente de lo que lo son las micropartículas y estando el no disolvente libre de alcoholes lineales primarios y disolventes halogenados.
2. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque las micropartículas son solubles en el líquido acuoso pero tienen una solubilidad inferior a un 5% en peso en el no disolvente.
3. Método según la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque etapas de exposición y/o eliminación comprenden lavado, diafiltración, filtración, diálisis, electroforesis o una combinación de las mismas.
- 20 4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque además comprende secar las micropartículas para formar un polvo.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el no disolvente tiene un valor LD50 oral en ratas mayor que o igual a 1,6 g/kg de peso corporal.
- 25 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque el como mínimo un material no volátil es soluble en agua.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el no disolvente comprende entre un 1% y un 95% en volumen del como mínimo un líquido acuoso.
- 30 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque las micropartículas sólidas comprenden como mínimo una macromolécula bioactiva en una superficie exterior de la micropartícula sólida.
9. Método según la reivindicación 8, caracterizado porque la como mínimo una macromolécula bioactiva se selecciona de entre el grupo consistente en carbohidratos, péptidos, proteínas, vectores, ácidos nucleicos, complejos de los mismos, conjugados de los mismos, y sus combinaciones.
- 35 10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque las micropartículas sólidas comprenden una macromolécula de soporte.
11. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque el como mínimo un material no volátil se selecciona de entre el grupo consistente en poliéteres no iónicos, copoliéteres no iónicos, poliésteres no iónicos, copoliésteres no iónicos, copolímeros de poliéter-poliéster no iónicos, polímeros vinílicos no iónicos, polímeros con contenido en pirrolidona no iónicos, carbohidratos poliméricos no iónicos, derivados y sales de los materiales anteriores, y combinaciones de los mismos.
- 40 12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque comprende además el aislamiento de las micropartículas.
13. Método según la reivindicación 12, caracterizado porque comprende además hacer pasar nitrógeno humidificado sobre las micropartículas aisladas.
- 45

14. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizado porque la composición es una dispersión multifásica que comprende fases dispersas y continuas, comprendiendo la dispersión las micropartículas sólidas, el como mínimo un material no volátil y un disolvente.

15. Método según la reivindicación 14, caracterizado porque el disolvente es soluble en o miscible con el no disolvente.

5