

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 564 401**

51 Int. Cl.:

B01D 11/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.08.2009 E 09791757 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.12.2015 EP 2334393**

54 Título: **Métodos para procesar dispersiones multifásicas**

30 Prioridad:

20.08.2008 US 195149

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.03.2016

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

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 564 401 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 dispersiones multifásicas.

Campo Técnico

5 La presente descripción se refiere a dispersiones multifásicas y más particularmente a métodos para procesar dichas dispersiones.

Descripción de Tecnología Relacionada

10 Las micropartículas, microesferas y microcápsulas, denominadas aquí en conjunto como "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 microesferas se utilizan en muchas aplicaciones diferentes, principalmente separaciones, diagnóstico y administración de fármacos.

15 Los ejemplos más conocidos de micropartículas utilizadas en técnicas de separación son aquellas formadas por polímeros de origen sintético o proteínico, como poli(acrilamida), hidroxiapatita o agarosa. Estas micropartículas poliméricas se utilizan habitualmente para separar moléculas, como proteínas, en base al peso molecular y/o a la carga iónica, o mediante interacción con moléculas acopladas químicamente a las micropartículas.

En el campo diagnóstico, hace años que se dispone comercialmente de perlas esféricas o partículas como herramientas para los bioquímicos. Por ejemplo, se han derivado micropartículas con una enzima, un sustrato para una enzima o un anticuerpo marcado, que después interactúan directa o indirectamente con una molécula a detectar. Existen diversas perlas derivadas comerciales con diferentes constituyentes y tamaños.

20 En el campo del suministro controlado de fármacos se encapsulan moléculas dentro de microesferas o se incorporan en una matriz para proporcionar una liberación controlada de éstas. Para producir estas micropartículas a partir de diversos polímeros se utilizan diversas técnicas diferentes, incluyendo separación de fases, evaporación de disolvente, emulsión y secado por pulverización. En general, los polímeros definen la estructura soporte de las micropartículas y el fármaco o la molécula de interés se incorpora dentro de esta estructura soporte. Ejemplos de polímeros utilizados para formar micropartículas incluyen homopolímeros y copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico (PLGA), copolímeros en bloque y polifosfacenos.

30 La Publicación de Patente US nº 2005/0142205 (publicación '205) describe métodos de separación de fases para formar micropartículas, que incluyen la disolución de un principio activo en uno o más disolventes acuosos y/o miscibles con líquidos acuosos, en los que se han disuelto uno o más agentes que aumentan la separación de fases, para formar una solución en una sola fase líquida. La solución se somete después a una separación de fases líquido-sólido para que el principio activo forme pequeñas partículas esféricas sólidas (esto es, la fase sólida), mientras que el o los agentes que aumentan la separación de fases y el o los disolventes constituyen la fase líquida. La publicación '205 describe métodos para recoger micropartículas con medios líquidos donde el principio activo es insoluble y el agente de separación de fases (no deseado) es soluble, incluyendo soluciones de lavado y/o polvos secos que comprenden micropartículas. Los medios líquidos descritos incluyen disolventes orgánicos y fluidos supercríticos. Métodos de lavado ilustrativos incluyen diafiltración y centrifugación. Después, las fases líquidas residuales se retiran típicamente por liofilización o evaporación.

La Patente US nº 4.486.315 describe un aparato de lavado de partículas que incluye un tubo interior dentro de un tubo exterior.

40 Sumario de la invención

La presente invención proporciona métodos para procesar dispersiones multifásicas que comprenden proporcionar una dispersión multifásica que incluye fases dispersas y continuas, comprendiendo la dispersión micropartículas sólidas y conteniendo al menos la fase continua un primer material no volátil, y proporcionar un no-disolvente, combinar la dispersión multifásica y el no-disolvente, y llevar a cabo la migración selectiva de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo de modo que la mayoría de las micropartículas se separe de la dispersión, siendo la fase continua acuosa o miscible con líquidos acuosos, comprendiendo el primer material no volátil un polímero no iónico soluble en líquidos acuosos o un polímero no iónico miscible con líquidos acuosos, siendo las micropartículas esencialmente insolubles en el no-disolvente y teniendo el no-disolvente una densidad mayor que la de la fase continua o una viscosidad mayor que la de la fase continua, consistiendo la preparación del no-disolvente en la introducción del no-disolvente en un aparato de centrifugación para así formar una capa de no-disolvente en su interior, consistiendo la combinación de la dispersión multifásica y el no-disolvente en la disposición de una capa de la dispersión multifásica sobre una superficie superior de la capa de no-disolvente, formando así una composición en capas, y consistiendo la realización selectiva de una migración de las micropartículas dentro del no-disolvente o a su través en una centrifugación de la composición en capas.

Los métodos para procesar dispersiones multifásicas pueden comprender proporcionar una dispersión multifásica que incluye fases dispersas y continuas, comprendiendo la dispersión micropartículas sólidas y un primer material no volátil en una primera concentración, proporcionar un no-disolvente que comprende un segundo material no volátil en una segunda concentración que es mayor que la primera concentración, siendo las micropartículas esencialmente insolubles en el no-disolvente, combinar la dispersión multifásica y el no-disolvente, y llevar a cabo una migración selectiva de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo de modo que la mayoría de las micropartículas se separe de la dispersión.

Descripción detallada de la invención

La presente descripción se refiere a dispersiones multifásicas y, más particularmente, a métodos para procesar dichas dispersiones. Específicamente, la descripción se refiere a procesos para separar una fase dispersa que comprende micropartículas de un medio de reacción/incubación, de modo que las micropartículas se pueden recoger y/o incorporar en composiciones y formulaciones adecuadas para la administración de fármacos, el diagnóstico, separaciones y otras aplicaciones.

Los métodos descritos son ventajosos por diversas razones, incluyendo, de forma no exclusiva: (1) la posibilidad de lograr una reducción de la agregación de micropartículas (en comparación con métodos conocidos para el procesamiento de micropartículas); (2) la posibilidad de formular las micropartículas con/dentro de un diluyente farmacéuticamente aceptable para obtener una composición que puede ser administrada a un sujeto sin necesidad de realizar un paso de secado costoso y de larga duración, como liofilización o evaporación; y (3) la posibilidad de lograr una purificación y aislamiento de las micropartículas con relativa facilidad (en comparación con métodos conocidos para el procesamiento de micropartículas).

Los métodos para procesar dispersiones multifásicas de la presente invención comprenden proporcionar una dispersión multifásica que incluye fases dispersas y continuas, comprendiendo la dispersión micropartículas sólidas y conteniendo al menos la fase continua un primer material no volátil; y proporcionar un no-disolvente, combinar la dispersión multifásica y el no-disolvente, y la realización selectiva de una migración de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo de modo que la mayoría de las micropartículas se separe de la dispersión, siendo la fase continua acuosa o miscible con líquidos acuosos, comprendiendo el primer material no volátil un polímero no iónico soluble en líquidos acuosos o un polímero no iónico miscible con líquidos acuosos, siendo las micropartículas esencialmente insolubles en el no-disolvente y teniendo el no-disolvente una densidad mayor que la de la fase continua o una viscosidad mayor que la de la fase continua, consistiendo la preparación del no-disolvente en la introducción del no-disolvente en un aparato de centrifugación para formar así una capa de no-disolvente en su interior, consistiendo la combinación de la dispersión multifásica y el no-disolvente en la disposición de una capa de la dispersión multifásica sobre una superficie superior de la capa de no-disolvente, formando así una composición en capas; y consistiendo la realización selectiva de una migración de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo en una centrifugación de la composición en capas.

Los métodos para procesar dispersiones multifásicas pueden comprender proporcionar una dispersión multifásica que incluye fases dispersas y continuas, comprendiendo la dispersión micropartículas sólidas y un primer material no volátil en una primera concentración, proporcionar un no-disolvente que comprende un segundo material no volátil en una segunda concentración que es mayor que la primera concentración, siendo las micropartículas esencialmente insolubles en el no-disolvente, combinar la dispersión multifásica y el no-disolvente, y realizar una migración selectiva de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo de modo que la mayoría de las micropartículas se separe de la dispersión.

A no ser que se defina aquí de otro modo, las terminologías científicas y técnicas empleadas en la presente descripción tienen los significados habitualmente entendidos y utilizados por el experto técnico en la materia. A no ser que el contexto lo requiera de otro modo, se ha de entender que los términos en singular incluyen las formas en plural de los mismos y que los términos en plural incluyen el singular. Específicamente, tal como se utilizan aquí y en las reivindicaciones, las formas singulares "un" y "una" incluyen la referencia en plural a no ser que el contexto indique claramente otra cosa. Por tanto, por ejemplo, la referencia a una micropartícula es una referencia a una micropartícula o a múltiples micropartículas, incluyendo equivalentes de la misma conocidos por los expertos en la técnica. Además, tal como se utilizan aquí y en las reivindicaciones, los conceptos "al menos uno" y "uno o más" tienen el mismo significado e incluyen uno, dos, tres o más. Los siguientes términos, a no ser que se indique otra cosa, se han de entender con los significados especificados a continuación cuando se utilizan en el contexto de la presente descripción.

"Dispersión" se refiere a una mezcla de materias que tienen al menos una fase dispersa o discontinua (opcionalmente finamente dividida, como en forma de micropartículas sólidas) presente en una fase continua sólida o no sólida (por ejemplo fluida, líquida, acuosa, orgánica, gaseosa). Ejemplos representativos de dispersiones de acuerdo con la descripción 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 particular donde la fase sólida discontinua (como micropartículas) puede permanecer suspendida establemente (esencialmente libre de sedimentación) en la fase continua durante períodos de tiempo prolongados (por ejemplo, al menos 5 segundos, 10

segundos, o 30 segundos; por ejemplo, minutos, horas, días, semanas, meses o incluso un año o más). Las "dispersiones multifásicas son dispersiones que tienen al menos dos fases, por ejemplo tres o incluso más fases. En un ejemplo, estas dispersiones pueden comprender dos disolventes o sistemas de disolventes inmiscibles además de una fase dispersa.

5 El término "micropartícula" se refiere a un material sólido particulado (incluyendo partículas esencialmente sólidas o semisólidas, pero excluyendo gel, líquido y gas) con un tamaño de partícula geométrico medio (a veces referido como 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 1micra, inferior a aproximadamente 100 nm, inferior a 10 nm, superior a aproximadamente 0,1 nm, superior a aproximadamente 1 nm, e intervalos entre estos valores. Por tanto, intervalos adecuados para el tamaño de partícula geométrico medio 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 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 200 micras, entre aproximadamente 100 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 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 de partícula geométrico medio se puede medir por métodos de dispersión dinámica de luz (por ejemplo espectroscopía de fotocorrelación, difracción láser, dispersión de luz láser de ángulo pequeño (*low-angle laser light scattering* - LALLS), dispersión de luz láser de ángulo medio (*medium-angle laser light scattering* - MALLS), métodos de ocultación de luz (como el método de análisis Coulter), u otros métodos (como reología, o microscopía óptica o electrónica). Las micropartículas para la administración pulmonar tienen un tamaño de partícula aerodinámico determinado por medida del tiempo de vuelo o con Impactador de Cascada Andersen. Las micropartículas que tienen forma esférica se denominan a veces microesferas y nanoesferas. Las micropartículas que tienen una estructura encapsulada se denominan a veces microcápsulas y nanocápsulas. Las micropartículas pueden ser porosas, por ejemplo con uno o más huecos internos y/o cavidades. Otras micropartículas no son porosas y/o están libres de dichos huecos o cavidades. Las micropartículas están formadas, en parte o totalmente, a partir de uno o más materiales, incluyendo, de forma no exclusiva, principios activos, vehículos, polímeros, agentes complejantes, agentes estabilizadores, excipientes, iones, humedad, disolventes residuales, impurezas, productos secundarios y/o compuestos relacionados con la producción. Las micropartículas pueden ser cristalinas, amorfas, microcristalinas, nanocristalinas o una combinación de las mismas.

El concepto "agente activo" se refiere a materiales naturales, recombinantes, sintéticos o semisintéticos (por ejemplo compuestos, productos de fermentación, extractos, estructuras celulares) que pueden provocar, directa o indirectamente, uno o más efectos físicos, químicos y/o biológicos, *in vitro* y/o *in vivo*. El agente activo puede prevenir, aliviar, tratar y/o endurecer condiciones anómalas y/o patológicas de un cuerpo vivo, por ejemplo destruyendo un organismo parásito, o limitando el efecto de una enfermedad o anomalía mediante la alteración material de la fisiología del huésped o parásito. El agente activo puede mantener, aumentar, disminuir, limitar o destruir una función corporal fisiológica. El agente activo puede permitir diagnosticar una condición o estado fisiológico mediante un ensayo *in vitro* y/o *in vivo*. El agente activo puede controlar o proteger un entorno o un cuerpo vivo mediante la atracción, incapacitación, inhibición, eliminación, modificación, rechazo y/o retraso de un animal o microorganismo. El agente activo puede tratar de otro modo (por ejemplo desodorizar, proteger, adornar, acicalar) un cuerpo. Dependiendo de su efecto y/o aplicación, el agente activo también se puede denominar un agente bioactivo, agente farmacéutico (como un agente profiláctico un agente terapéutico), agente diagnóstico, suplemento nutricional y/o agente cosmético, e incluye, de forma no exclusiva, ejemplos tales como profármacos, moléculas de afinidad, moléculas orgánicas sintéticas, polímeros, moléculas con un peso molecular de 2 kDa o menos (como aquellas que tienen un peso molecular inferior a aproximadamente 1,5 kDa, o inferior a aproximadamente 1 kDa), macromoléculas (como aquellas con un peso molecular superior a aproximadamente 2 kDa, por ejemplo superior a aproximadamente 5 kDa o entre aproximadamente 2 kDa y 5 kDa), compuestos proteináceos, péptidos, vitaminas, esteroides, análogos de esteroides, lípidos, ácidos nucleicos, carbohidratos, precursores y derivados de los mismos. Los agentes activos pueden ser iónicos o no iónicos, pueden ser neutros,

presentar carga positiva, presentar carga negativa o ser dipolares, y se pueden utilizar de forma individual 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 de menos de 7,0.

5 El concepto "compuestos proteínicos" se refiere a compuestos naturales, sintéticos, semisintéticos o recombinantes de proteínas o relacionados estructural y/o funcionalmente con éstas, como aquellos que contienen o consisten esencialmente en α -aminoácidos asociados de forma covalente por un enlace peptídico. Los compuestos proteínicos incluyen, de forma no limitativa, proteínas globulares (por ejemplo albúminas, globulinas, histonas), proteínas fibrosas (por ejemplo colágenos, elastinas, queratinas), proteínas de enlace (incluyendo aquellas que
10 contienen uno o más componentes no peptídicos, por ejemplo glicoproteínas, nucleoproteínas, mucoproteínas, lipoproteínas, metaloproteínas), proteínas terapéuticas, proteínas de fusión, receptores, antígenos (como antígenos sintéticos o recombinantes), proteínas de superficie virales, hormonas y análogos de hormonas, anticuerpos (como anticuerpos monoclonales o policlonales), enzimas, fragmentos Fab, péptidos cíclicos, péptidos lineales y similares. Las proteínas terapéuticas incluyen, de forma no exclusiva, proteínas morfogenéticas óseas, proteínas de resistencia a fármacos, toxoides, eritropoyetinas, proteínas de la cascada de coagulación sanguínea (por ejemplo Factor VII, Factor VIII, Factor IX, entre otros), subtilisina, ovoalbúmina, alfa-1-antitripsina (AAT), DNasa, superóxido dismutasa (SOD), lisozimas, ribonucleasas, hialuronidasa, colagenasa, hormona del crecimiento humano (hGH), eritropoyetina, insulina, factores de crecimiento de tipo insulínico, interferones, glatiramer, factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos, factor estimulador de colonias de granulocitos, desmopresina, agonistas de hormona de liberación de hormona luteinizante (LHRH) (por ejemplo leuprolide, goserelina, buserelina, gonadorelina, histrelina, nafarelina, deslorelina, fertirelina, triptorelina), antagonistas de LHRH, vasopresina, ciclosporina, calcitonina, hormona paratiroidea, péptidos de hormona paratiroidea, péptidos de tipo glucógeno y análogos de los mismos. Los compuestos proteínicos pueden ser neutros, presentar carga positiva, presentar carga negativa o ser dipolares, y se pueden utilizar de forma individual o en una combinación de dos o más de los mismos.

25 El concepto "ácidos nucleicos" se refiere a compuestos naturales, sintéticos, semisintéticos o recombinantes formados, al menos en parte, por dos o más nucleótidos iguales o diferentes, y pueden ser de cadena sencilla o de cadena doble. Ejemplos de ácidos nucleicos incluyen, de forma no exclusiva, oligonucleótidos (como aquellos con 20 o menos pares de bases, por ejemplo sentido, antisentido o sin sentido), aptámeros, polinucleótidos (por ejemplo sentido, antisentido o sin sentido), ADN (por ejemplo sentido, antisentido o sin sentido), ARN (por ejemplo sentido, antisentido o sin sentido), ARNs, constructos de ácido de nucleótidos, segmentos de cadena sencilla o de cadena
30 doble de los mismos, así como precursores y derivados de los mismos (por ejemplo glicosilados, hiperglicosilados, PEGilados, marcados con FITC, nucleósidos, sales de los mismos). Los ácidos nucleicos pueden ser neutros, presentar carga positiva, presentar carga negativa o ser dipolares, y se pueden utilizar de forma individual o en una combinación de dos o más de los mismos.

35 El término "macromolécula" se refiere a un material que puede proporcionar una estructura tridimensional (por ejemplo terciaria y/o cuaternaria), e incluye vehículos y determinados agentes activos de la presente descripción. Las macromoléculas tienen normalmente un peso molecular de 2 kD o más, por ejemplo más de 5 kD o entre 2 kD y 5 kD. Ciertas macromoléculas, no exclusivas, utilizadas para formar las micropartículas incluyen, entre otras, polímeros, copolímeros, proteínas (por ejemplo enzimas, proteínas recombinantes, albúminas como 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, como complejos o conjugados hapteno-proteína). Las macromoléculas pueden ser neutras, presentar carga positiva, presentar carga negativa o ser dipolares, y se pueden utilizar de forma individual o
45 en una combinación de dos o más de las mismas.

El término "vehículo" se refiere a un compuesto, normalmente una macromolécula, que tiene la función principal de proporcionar una estructura tridimensional (incluyendo una estructura terciaria y/o cuaternaria) a las microesferas. El vehículo puede no estar asociado o estar asociado al principio activo (como conjugados o complejos de los mismos) en la formación de micropartículas tal como se describe más arriba. El vehículo también puede proporcionar otras
50 funciones, como ser un agente activo, modificar un perfil de liberación del agente activo de la micropartícula y/u otorgar una o más propiedades particulares a la micropartícula (como contribuir al menos en parte a la carga de superficie neta). En un ejemplo, el vehículo es una proteína (por ejemplo una albúmina, como seroalbúmina humana) con un peso molecular de 1.500 Dalton o superior.

55 Los términos "polímero" o "polimérico" se refieren a una molécula natural, recombinante, sintética o semisintética que tiene dos o más unidades monoméricas repetidas al menos en una cadena principal, ramificación o estructura de anillo. En líneas generales, los polímeros incluyen dímeros, trímeros, tetrámeros, oligómeros, polímeros de alto peso molecular, aductos, homopolímeros, copolímeros aleatorios, pseudocopolímeros, copolímeros estadísticos, copolímeros alternos, copolímeros periódicos, bipolímeros, terpolímeros, cuaterpolímeros, otras formas de copolímeros, derivados sustituidos de los mismos y mezclas de los mismos. En un aspecto, los términos polímero y polimérico se refieren a moléculas que tienen 10 o más unidades monoméricas repetidas. Los polímeros pueden ser
60 lineales, ramificados, en bloque, de injerto, monodispersos, polidispersos, regulares, irregulares, tácticos, isotácticos,

sindiotácticos, estereorregulares, atácticos, estereobloques, de cadena sencilla, de cadena doble, en estrella, en peine, dendríticos, y/o ionoméricos, pueden ser iónicos o no iónicos, pueden ser neutros, presentar carga positiva, presentar carga negativa o ser dipolares, y se pueden utilizar de forma individual o en una combinación de dos o más de los mismos.

- 5 El término "esférico" se refiere a una forma geométrica que es al menos "esencialmente esférica". El concepto "esencialmente esférico" significa que la relación entre la dimensión más larga (es decir, una dimensión entre dos puntos del perímetro y que pasa por el centro geométrico de la forma) y la dimensión más corta en cualquier sección transversal que pase a través del centro geométrico es menor de aproximadamente 1,5, por ejemplo menos de aproximadamente 1,33 o menos de aproximadamente 1,25. Por consiguiente, el término "esférico" no requiere la presencia de una línea de simetría. Además, las micropartículas pueden tener una textura superficial, como líneas continuas o discretas, islas, celosía, muescas, aberturas en canal, protuberancias pequeñas en escala en comparación con el tamaño global de las micropartículas), y seguir siendo consideradas esféricas. El contacto superficial entre micropartículas se reduce al mínimo cuando las micropartículas son esféricas y, por tanto, normalmente también se reduce al mínimo la aglomeración no deseable de las micropartículas. En comparación, las micropartículas consistentes en cristales esféricos o escamas normalmente generan una aglomeración observable a través de interacciones iónicas y/o no iónicas en superficies planas relativamente grandes.

El término "sólido" se refiere a un estado que incluye al menos esencialmente los estados sólido y/o semisólido, pero que excluye líquidos y gases.

- 20 El concepto "temperatura ambiente" se refiere a una temperatura que corresponde aproximadamente a la temperatura ambiente, en general un intervalo entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 40°C, por ejemplo entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 25°C.

- 25 Los conceptos "formado a partir de" y "formado por" indica un lenguaje abierto. Como tales, se considera que una composición formada a partir de o formada por una lista de componentes enumerados es una composición que comprende al menos dichos componentes enumerados y que además incluye otros componentes no enumerados durante la formulación de la composición y/o en el producto final obtenido.

- 30 A no ser que se especifique expresamente algo distinto, todos los intervalos numéricos, cantidades, valores y porcentajes, por ejemplo para cantidades de materiales, tiempos, temperaturas, condiciones de reacción, proporciones de cantidades, valores de peso molecular (de peso molecular promedio en número M_n o de peso molecular promedio en peso M_w), y otros valores dados a conocer aquí, se han de entender como si estuvieran modificados en todos los casos por el término "aproximadamente", si es que no se utiliza expresamente el término "aproximadamente" en combinación con dichos intervalos, cantidades, valores y porcentajes aquí indicados. Por consiguiente, a no ser que se indique lo contrario, los parámetros numéricos establecidos en la presente descripción y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar. Como mínimo, cada parámetro numérico ha de ser interpretado en vista del número de dígitos significativos indicados y aplicando técnicas de redondeo ordinarias.

- 35 Aunque los intervalos numéricos y parámetros que establecen el amplio alcance de la descripción son aproximaciones, los valores numéricos expuestos en los ejemplos específicos están indicados con la mayor precisión posible. No obstante, cualquier valor numérico es inherentemente algo incierto debido a la desviación estándar hallada en su medición de análisis respectiva. Además, cuando aquí se exponen intervalos numéricos de alcance variable, se considera que se puede utilizar cualquier combinación de estos valores, incluyendo los valores enumerados, de acuerdo con las enseñanzas de la divulgación.

- 40 Los ejemplos que aquí se proporcionan, incluyendo aquellos que siguen a las expresiones "tal como" y "por ejemplo", se consideran únicamente como ilustrativos de diversos aspectos y características de la presente divulgación y realizaciones de la misma, y en consecuencia no modifican el alcance de ninguno de los términos o frases mencionados. Cualquier equivalente, alternativa y modificación de los mismos (incluyendo materiales, sustancias, construcciones, composiciones, formulaciones, medios, métodos, condiciones, etc.) conocidos y/o disponibles por los especialistas en la técnica puede ser utilizado en lugar de los aquí descritos o en combinación con los mismos, y se considera que entra dentro del alcance de la presente divulgación. A lo largo de toda la presente descripción, todos y cada uno de los uno, dos o más aspectos y características dados a conocer aquí, explícita o implícitamente, después de las expresiones "ejemplo", "ejemplos", "tal como", "por ejemplo" y similares se pueden poner en práctica en cualquier combinación de dos, tres o más de los mismos (incluyendo sus equivalentes, alternativas y modificaciones) cuando y donde sea apropiado en opinión de los especialistas en la técnica. Por tanto, los detalles específicos dados a conocer aquí no han de ser interpretados como limitativos, sino simplemente como una base para las reivindicaciones y como una base representativa para enseñar a los especialistas en la técnica a emplear de diversos modos aspectos y características de la presente divulgación prácticamente de cualquier modo adecuado en opinión de los especialistas en la técnica.

Micropartículas

Las micropartículas, los materiales y métodos para producir micropartículas, las composiciones y formulaciones que contienen micropartículas y la utilidad de dichas micropartículas, composiciones y formulaciones incluyen, de forma no exclusiva, los dados a conocer 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, las Publicaciones US nº 20030059474, 20030064033, 20040043077, 20050048127, 20050142201, 20050142205, 20050142206, 20050147687, 20050170005, 20050233945, 20060018971, 20060024240, 20060024379, 20060260777, 20070092452, 20070207210, y 20070281031, cuyas divulgaciones se incorporan aquí por referencia en su totalidad. Las micropartículas pueden tener una distribución de tamaño generalmente uniforme, como una distribución de tamaño monodispersa, o una distribución de tamaños polidispersa, y una forma generalmente uniforme, por ejemplo esencialmente esférica. Una o más características de las micropartículas se pueden ajustar durante la producción mediante la manipulación de una o más variables, tales como, de forma no exclusiva, la selección de ingredientes o la combinación de éstos, las concentraciones de los diferentes ingredientes, la temperatura de reacción, el tiempo de reacción y/o el pH si la reacción tiene lugar en solución acuosa.

Las micropartículas son adecuadas para administrar, *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 gran variedad de aplicaciones terapéuticas, farmacéuticas, diagnósticas, médicas, medicinales, cosméticas, nutricionales, biocidas, separativas, industriales, comerciales y de investigación, tales como administración de fármacos, vacunación, terapia génica y formación de imágenes histopatológica o *in vivo* de tejidos o tumores. Las micropartículas pueden estar formuladas para ser administradas a un sujeto vía oral, parenteral, mucosal, 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. La o las macromoléculas (normalmente una o más macromoléculas bioactivas y/o una o más macromoléculas portadoras) pueden corresponder al menos al 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, o 98%, y hasta el 100%, o menos del 100%, en peso y/o volumen de la micropartícula, o pueden estar presentes en un intervalo entre dos cualesquiera de estos valores. Los especialistas en la técnica entenderán que la macromolécula puede ser una parte (por ejemplo fragmento, segmento, subunidad) de otra macromolécula mayor. También se entenderá que las macromoléculas incluyen moléculas de afinidad, que pueden ser, por ejemplo, partes de receptor o de ligando de una interacción receptor-ligando. Ejemplos no exclusivos de ligandos incluyen virus, bacterias, polisacáridos o toxinas que actúan como antígenos para generar respuestas inmunitarias cuando son administrados a un animal y provocan la producción de anticuerpos.

La micropartícula puede comprender uno o más ingredientes además de las macromoléculas descritas más arriba y los principios activos descritos más abajo, incluyendo, de forma no exclusiva, polímeros, agentes complejantes, agentes estabilizadores, excipientes, iones, humedad, disolventes residuales, impurezas, productos secundarios, en una cantidad del 50% o menos, el 30% o menos, el 20% o menos, el 10% o menos, el 5% o menos, o el 2% o menos, o más del 0%, en peso y/o volumen de la micropartícula, o en un intervalo entre dos cualesquiera de estos valores. Adicionalmente, cualquier ingrediente presente en el medio de reacción/incubación (por ejemplo materiales no volátiles) durante la formación de las micropartículas se puede retirar después y por ello no estar presente en las micropartículas resultantes. Inmediatamente después de su formación (que puede ser o no *in situ*) o en una etapa posterior, las micropartículas se pueden dispersar (por ejemplo como coloides o suspensiones) en una fase sólida continua (por ejemplo un sólido congelado que incluye la dispersión) o en una fase no sólida (por ejemplo un medio fluido, como el medio de reacción/incubación en el que se forman las micropartículas, o un medio de lavado).

Las micropartículas pueden tener una densidad esencialmente igual o diferente (por ejemplo mayor o menor) a la de la fase continua (medida a la misma temperatura, por ejemplo 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 o mayor que valores tales como 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 dos cualesquiera de estos 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 se puede medir por pycnometría de helio a temperatura ambiente, mediante técnicas de gradiente de densidad (por ejemplo utilizando centrifugación o ultracentrifugación) empleando un medio de gradiente adecuado (por ejemplo sales de metales alcalinos, como NaCl, NaBr, NaI, KBr, CsF, CsCl, CsBr, sulfato de cesio, acetato de cesio, trifluoroacetato de cesio, RbCl y tartrato de potasio; moléculas solubles en agua, como sacarosa, con adición opcional de glucosa, glicerol o aceite mineral; macromoléculas hidrófilas como dextrano, copolímero de sacarosa-epiclorohidrina y seroalbúmina bovina; otras moléculas sintéticas como sales sódicas o metil glucamínicas de ácido triyodobenzoico y de ácido metrizoico, y metrizamida), y otros métodos conocidos. Los métodos normalizados que implican técnicas de gradiente de densidad incluyen ASTM D1505-03, ASTM D1505-98, e ISO 1183-2.

Agentes activos

Uno o más agentes activos están normalmente asociados y/o atrapados de forma covalente y/o no covalente con al menos una parte (por ejemplo el centro o núcleo, uno o más compartimentos distribuidos de forma específica o aleatoria, superficies interiores y/o exteriores) de la micropartícula. Por ejemplo, el o los agentes activos pueden

estar asociados y/o atrapados de forma covalente y/o no covalente con al menos una parte o esencialmente la totalidad de una o más macromoléculas (por ejemplo, macromoléculas bioactivas y/o macromoléculas portadoras) y/o uno o más ingredientes adicionales (por ejemplo con uno o más polímeros, como complejos o conjugados de los mismos).

5 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 anabólicos, analépticos, analgésicos, anestésicos, anorexigénicos, antiácidos, antialérgicos, agentes antiangiogénesis, antiarrítmicos, antibacterianos, antibióticos, agentes anticáncer tales como paclitaxel y compuestos derivados, anticolinérgicos, anticolosterinasas, anticoagulantes, anticonvulsivos, agentes antidepresión, antidepresivos, agentes antidiabéticos, antidiarreicos, antidotos, antiepilepticos, antifolatos, antifúngicos, antígenos, antihelmínticos, antihistaminas, hipolipemiantes, antihipertensores, antiinfecciosos, antiinflamatorios, antipalúdicos, antimetabolitos, antimuscarínicos, antimicobacterianos, agentes antineoplásicos, agentes antiosteoporosis, antipatógenos, antiprotozoicos, moléculas de adhesión, antipiréticos, antirreumáticos, antisépticos, antitiroideos, agentes antiúlceras, antivirales, sedantes ansiolíticos, astringentes, betabloqueantes, biocidas, factores de coagulación sanguínea, calcitonina, cardiotónicos, quimioterapéuticos, agentes reductores del colesterol, cofactores, corticosteroides, antitusivos, citoquinas, diuréticos, dopaminérgicos, moduladores de receptores de estrógenos, enzimas y cofactores de las mismas, inhibidores enzimáticos, factores de diferenciación de crecimiento, factores de crecimiento, agentes hematológicos, hematopoyéticos, modificadores de hemoglobina, hemostáticos, hormonas y análogos de hormonas, hipnóticos, diuréticos hipotensores, agentes inmunológicos, inmuoestimuladores, inmunosupresores, inhibidores, ligandos, agentes reguladores de lípidos, linfoquinas, muscarínicos, relajantes musculares, agentes bloqueadores neuronales, 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 se puede utilizar de forma individual o en combinaciones de dos o más de los mismos. En un ejemplo, el agente activo es un agente profiláctico y/o terapéutico que incluye, de forma no exclusiva, 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 denominado convencionalmente como una molécula pequeña.

El agente activo puede ser un agente activo bioactivo, por ejemplo una macromolécula bioactiva, tal como una proteína (incluyendo los compuestos proteináceos 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. Ejemplos de proteínas incluyen anticuerpos monoclonales y anticuerpos policlonales. La proteína también puede ser cualquier proteína terapéutica conocida aislada de fuentes naturales o producida mediante métodos sintéticos o recombinantes. Ejemplos de proteínas terapéuticas incluyen, de forma no exclusiva, proteínas de la cascada de coagulación sanguínea (por ejemplo Factor VII, Factor VIII, Factor IX, entre otros), subtilisina, ovoalbúmina, alfa-1-antitripsina (AAT), DNasa, superóxido dismutasa (SOD), lisozima, ribonucleasa, hialuronidasa, collagenasa, hormona del crecimiento, eritropoyetina, factores de crecimiento de tipo insulínico o sus análogos, interferones, glatiramer, factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos, factor estimulador de colonias de granulocitos, anticuerpos, proteínas PEGiladas, proteínas glicosiladas o hiperglicosiladas, desmopresina, agonistas de LHRH tales como: leuprolide, goserelina, nafarelina, buserelina; antagonistas de LHRH, vasopresina, ciclosporina, calcitonina, hormona paratiroidea, péptidos de hormona paratiroidea e insulina.

El agente activo puede ser un agente cosmético. Ejemplos no limitativos de agentes cosméticos incluyen emolientes, humectantes, inhibidores de radicales libres, agentes antiinflamatorios, vitaminas, despigmentantes, agentes antiacné, antiseborreicos, queratolíticos, adelgazantes, colorantes para la piel y agentes antisolares. Compuestos útiles como agentes cosméticos incluyen, de forma no exclusiva, ácido linoleico, retinol, ácido retinoico, alquilésteres de ácido ascórbico, ácidos grasos poliinsaturados, ésteres nicotínicos, nicotinato de tocoferol, insaponificables de arroz, semillas de soja o karité, ceramidas, hidroxiácidos tales como ácido glicólico, derivados de selenio, antioxidantes, beta-caroteno, gamma-oryzanol y glicerato de estearilo. Los agentes cosméticos pueden ser comerciales y/o se pueden preparar mediante técnicas conocidas. Al igual que más arriba, los diversos agentes activos se pueden utilizar de forma individual o en combinaciones de dos o más de los mismos.

El agente activo puede ser un suplemento nutricional. Ejemplos no limitativos de suplementos nutricionales incluyen proteínas, carbohidratos, vitaminas solubles en agua (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 se pueden preparar mediante técnicas conocidas. Al igual que más arriba, los diversos agentes activos se pueden utilizar de forma individual o en combinaciones de dos o más de los mismos.

El agente activo puede ser un compuesto con un peso molecular de 2 kDa o menos. Ejemplos no limitativos de estos compuestos incluyen esteroides, agonistas β , antimicrobianos, antifúngicos, taxanos (agentes antimitóticos y antimicrotubulares), aminoácidos, compuestos alifáticos, compuestos aromáticos y compuestos de urea. Los

agentes activos conocidos convencionalmente como moléculas pequeñas (o moléculas orgánicas pequeñas) son agentes activos representativos, con un peso molecular de 2 kDa o menos.

5 El agente activo también puede ser un agente diagnóstico. Los agentes diagnósticos incluyen, de forma no exclusiva, agentes de formación de imágenes y medios de contraste. Ejemplos no limitativos de agentes de formación de imágenes por rayos X incluyen 3,5-diacetamido-2,4,6-triyodobenzoato de etilo (WIN-8883, etiléster de ácido diatrizoico); 6-etoxi-6-oxohexil-3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoato (WIN 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); N-etil 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi)acetamida (WIN 65312); isopropil 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi)acetamida (WIN 12855); 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi)malonato de dietilo (WIN 67721); 2-(3,5-bis(acetamido)-2,4,6-triyodobenzoiloxi)fenil-acetato de etilo (WIN 67585); [[3,5-bis(acetilamino)-2,4,5-triyodobenzoil]oxi]bis(1-metil) éster de ácido propanodioico, (WIN 68165); y 3,5-bis(acetilamino)-2,4,6-triyodo-4-(etil-3-etoxi-2-butenato) éster de ácido benzoico (WIN 68209). Los agentes de contraste preferentes se desintegran deseablemente de forma relativamente rápida bajo condiciones fisiológicas, minimizando así cualquier respuesta inflamatoria asociada a las partículas. La desintegración puede ser el resultado de hidrólisis enzimática, solubilización de ácidos carboxílicos bajo pH fisiológico u otros mecanismos. Por consiguiente, pueden ser preferibles los ácidos carboxílicos yodados poco solubles tales como la yodipamida, el ácido diatrizoico y el ácido metrizoico, junto con especies yodadas hidrolíticamente lábiles tales como WIN 67721, WIN 12901, WIN 68165 y WIN 68209 u otros.

20 En una realización específica, el agente activo puede ser un agente terapéutico para la prevención y/o el tratamiento de afecciones pulmonares. Ejemplos no limitativos de estos agentes incluyen esteroides, agonistas β , antifúngicos, antimicrobianos, broncodilatadores, agentes antiasmáticos, antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDS), AAT y agentes para tratar la fibrosis quística. Ejemplos no limitativos de esteroides para la prevención y/o el tratamiento de afecciones pulmonares incluyen, de forma no exclusiva, beclometasona (como dipropionato de beclometasona), fluticasona (como propionato de fluticasona), budesonida, estradiol, fludrocortisona, flucinonida, triamcinolona (como acetónido de triamcinolona), flunisolida y sales de los mismos. Ejemplos no limitativos de agonistas β para la prevención y/o el tratamiento de afecciones pulmonares incluyen sinafoato de salmeterol, fumarato de formoterol, levalbuterol, bambuterol, tulobuterol y sales de los mismos. Ejemplos no limitativos de agentes antifúngicos para la prevención y/o el tratamiento de afecciones pulmonares incluyen itraconazol, fluconazol, anfotericina B y sales de los mismos.

30 Los agentes activos se pueden utilizar en una combinación de dos o más de ellos. Ejemplos de combinaciones no limitativas incluyen un esteroide y un agonista β , por ejemplo propionato de fluticasona y salmeterol, budesonida y formoterol, etc. Los especialistas en la técnica conocen bien muchas otras combinaciones de agentes terapéuticamente activos viables.

Fase continua

35 La fase continua de la dispersión multifásica puede ser no sólida, por ejemplo una fase líquida que contiene un disolvente o una mezcla homogénea de dos o más disolventes (siendo al menos un primer disolvente soluble en al menos un segundo disolvente o miscible con el mismo), o un sistema de fase múltiple que incluye al menos dos disolventes inmiscibles. Ejemplos no limitativos de disolventes incluyen fluidos acuosos (por ejemplo agua H₂O, D₂O, tampones acuosos y otras soluciones acuosas), fluidos no acuosos (por ejemplo disolventes 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 puede contener más de un 10% en volumen, como un 25% o más, un 50% o más, o un 75% o más de agua. La fase continua es acuosa o miscible con líquidos acuosos.

45 La fase continua o la(s) fase(s) líquida(s) de la misma pueden tener una densidad a temperatura ambiente inferior 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 dos cualesquiera de estos valores. Cuando se miden a la misma temperatura ambiente, por ejemplo 20°C o 25°C, la fase continua o la(s) fase(s) líquida(s) tienen normalmente una densidad similar o igual o inferior a la de la fase dispersa o las micropartículas dentro de la misma. Más normalmente, la fase continua o la(s) fase(s) líquida(s) tienen una densidad inferior a la de las micropartículas.

50 La fase continua puede contener además uno o más ingredientes disueltos y/o dispersos dentro de la misma, incluyendo, de forma no exclusiva, polímeros iónicos y/o no iónicos, sales, iones, reactivos en exceso, excipientes (por ejemplo azúcares, polioles, agentes tensioactivos) y/o compuestos relacionados con la producción. Ejemplos no limitativos de sales incluyen acetato de amonio, bicarbonato de amonio y otras sales tampón conocidas por los especialistas en la técnica. Ejemplos no limitativos de azúcares incluyen trehalosa, sacarosa, lactosa y otros carbohidratos conocidos por los especialistas en la técnica. Ejemplos no limitativos de polioles incluyen manitol y otros alcoholes de azúcar conocidos por los especialistas en la técnica. El o los fluidos y/o solutos de la fase continua pueden ser, independientemente, parcial o totalmente miscibles con líquidos acuosos, inmiscibles con líquidos acuosos, solubles en agua y/o insolubles en agua.

La fase continua contiene al menos un material no volátil solubilizado dentro de la misma. La fase continua, por ejemplo el disolvente de la misma y/o el material no volátil incluido en ella, puede ser soluble en un no-disolvente y/o miscible con el mismo, por ejemplo con una solubilidad en dicho no-disolvente a temperatura ambiente de un 10% en peso o más, por ejemplo igual o mayor que valores tales como 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, o en un intervalo entre dos cualesquiera de estos valores. Adicionalmente, la fase continua, el disolvente de la misma y/o el material no volátil incluido en ella pueden ser totalmente miscibles con el no-disolvente. En general son preferibles valores de solubilidad mayores de la fase continua y/o de componentes de la misma en el no-disolvente, ya que dichas solubilidades superiores facilitan la retirada de la fase continua de las dispersiones de acuerdo con los métodos descritos.

10 *Material no volátil*

Tal como se ha indicado anteriormente, al menos la fase continua contiene normalmente al menos un material no volátil, siendo las estructuras químicas y/o composiciones del o de los materiales no volátiles diferentes a las de la o las macromoléculas que forman las micropartículas. Se ha de señalar que el material no volátil también puede estar presente sobre/dentro de la fase dispersa, por ejemplo, el material no volátil puede estar atrapado dentro de poros de las micropartículas y/o asociado de otro modo con las micropartículas.

En general, los materiales no volátiles tienen un punto de ebullición y/o un punto de inflamación superior a aproximadamente 100°C, superior aproximadamente 150°C y/o superior aproximadamente 200°C. Los materiales no volátiles pueden ser naturales, sintéticos, semisintéticos o recombinantes. El o los materiales no volátiles son normalmente polímeros no iónicos, que pueden ser independientemente hidrófilos, anfífilos, solubles en líquidos acuosos (por ejemplo solubles en agua) y/o miscibles con líquidos acuosos (por ejemplo miscibles con agua), pero evidentemente también se pueden utilizar otros materiales no volátiles, incluyendo polímeros iónicos y sales de materiales no iónicos. El o los materiales no volátiles pueden reducir ventajosamente, de forma independiente o colectiva, la solubilidad de una o más macromoléculas en la fase continua (y por tanto de las micropartículas formadas a partir de éstas), o en el o los disolventes de la misma. Cuando están presentes en la fase continua, el o los materiales no volátiles normalmente no desnaturalizan ni interactúan de forma covalente y/o iónica con la o las macromoléculas de las micropartículas. Adicionalmente, cuando están presentes en la fase continua, el o los materiales no volátiles normalmente no forman complejos, conjugados, agregados y/o aglomerados entre sí, ni se unen de otro modo, por ejemplo vía covalente, iónica y/u otras interacciones. Además, el o los materiales no volátiles en la fase continua normalmente no experimentan gelificación (por ejemplo formando un hidrogel), ni por sí mismos ni con otros ingredientes presentes en la fase continua. En general, el o los materiales no volátiles tienen independientemente pesos moleculares iguales o superiores 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 hasta aproximadamente 3.000 kilodalton (kd), o en un intervalo entre dos cualesquiera de estos valores, por ejemplo entre 200 dalton y 10.000 dalton, entre 200 dalton y 800 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.

Ejemplos no limitativos de materiales no volátiles para la fase continua incluyen los polímeros no iónicos solubles en agua y/o miscibles con agua dados a conocer 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, las Publicaciones US nº 20030059474, 20030064033, 20040043077, 20050048127, 20050142201, 20050142205, 20050142206, 20050147687, 20050170005, 20050233945, 20060018971, 20060024240, 20060024379, 20060260777, 20070092452, 20070207210, y 20070281031, cuyas divulgaciones se incorporan aquí por referencia en su totalidad. Normalmente, el o los materiales no volátiles son no iónicos y pueden ser hidrófilos, anfífilos, solubles en líquidos acuosos, miscibles con líquidos acuosos, y/o solubles o miscibles en un fluido soluble en líquidos acuosos o miscible con líquidos acuosos a una temperatura de 40°C o inferior. Ejemplos no limitativos de materiales no volátiles adecuados pueden ser lineales, ramificados o cíclicos y pueden incluir poliéteres no iónicos, copoliéteres no iónicos, poliésteres no iónicos, copoliésteres no iónicos, copolímeros poliéter-poliéster no iónicos, polímeros vinílicos no iónicos, polímeros que contienen pirrolidona no iónicos, carbohidratos poliméricos no iónicos, derivados y sales de los mismos, y combinaciones de dos o más de ellos. Ejemplos no limitativos de poliéteres no iónicos y copoliéteres no iónicos (incluyendo copolímeros y terpolímeros) incluyen, de forma no exclusiva, poliéteres con grupos terminales hidroxílicos (por ejemplo, poliéter alcoholes, poliéter polioles, poliéteres con extremos terminados en óxido de etileno diferentes a los polietilenglicoles) y derivados de los mismos con extremos terminados con alquilo (por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, etc.), como polialquilenglicoles (por ejemplo polioxi-1,2-alquilenglicoles como polietilenglicoles y polipropilenglicoles, así como politrimetilenglicol éter y politetrametilenglicol éter), copoliéteres con grupos terminales hidroxílicos (por ejemplo copoliéter alcoholes, copoliéter polioles, copoliéteres con extremos terminados con óxido de etileno) y derivados de los mismos con extremos terminados con alquilo (por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, etc.), tales como

5 copoliésteres en bloques de dos o más óxidos de 1,2-alquileo diferentes (por ejemplo copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno como poloxámeros) y copoliésteres de uno o más óxidos de 1,2-alquileo y uno o más de los
 10 compuestos tetrahidrofurano, tetrahidropirano y 1,3-propanodiol (por ejemplo copolímeros de (polietilenglicol)-(politrimetilen glicol éter), copolímeros de (polietilenglicol)-(politetrametilen glicol éter). Ejemplos no limitativos de
 15 poliésteres no iónicos y copoliésteres no iónicos (incluyendo copolímeros y terpolímeros) incluyen poliésteres con grupos terminales hidroxílicos, por ejemplo poliésterpolioles, copoliésterpolioles, poliésteres con extremos terminados con óxido de etileno o con grupos terminales polioxietilénicos, y determinados poliésteres de silicona, tales como ésteres de ácido polioxietileno glicerina (dicarboxílico, ésteres de ácido polioxietilensorbitol dicarboxílico, ésteres de ácido polioxietilenglicol dicarboxílico, y ésteres de polioxietilenalquilo. Ejemplos no limitativos de
 20 copolímeros de poliéter-poliéster no iónicos (incluyendo terpolímeros) incluyen, de forma no exclusiva, copolímeros en bloque de una o más lactonas y/o ácidos dicarboxílicos y uno o más óxidos de 1,2-alquileo, derivados de la esterificación de los poliéteres no iónicos y copoliésteres no iónicos aquí descritos, y derivados de esterificación de los poliésteres no iónicos y copoliésteres no iónicos aquí descritos, como copolímeros en bloque (polietilenglicol)-policaprolactona. Ejemplos no limitativos de polímeros vinílicos no iónicos (incluyendo copolímeros y terpolímeros) y polímeros no iónicos que contienen pirrolidona (incluyendo copolímeros y terpolímeros) incluyen, de forma no exclusiva, 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-oxialquileo (por ejemplo acrilatos de oligo-oxietileno, metacrilatos de oligo-oxietileno) y/o (alquil)acrilatos de oligo-oxialquileo con extremos terminados con alquilo (por ejemplo con metilo), polivinilpirrolinas, y homopolímeros y copolímeros que contienen alquencilpirrolidona.

Ejemplos no limitativos de carbohidratos poliméricos (incluyendo oligoméricos) (con un peso molecular de 200 dalton a 5.000.000 dalton, por ejemplo 500 dalton, 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 dos cualesquiera de estos valores) y derivados de los mismos incluyen, de forma no exclusiva,
 25 almidón, amilopectina (polisacáridos ramificados), amilosa (polisacáridos lineales), celulosa, goma guar, polisacáridos guar, goma xantana, dextrinas (por ejemplo ciclodextrinas, maltodextrinas), dextranos, polidextrosas, goma gellano, pululano, celodextrinas, beta-glucanos, y derivados de los mismos, por ejemplo ésteres no iónicos formados por esterificación, incluyendo, de forma no exclusiva, benzoatos y alcanatoos tales como acetatos, propionatos, butiratos y hexanoatos; o éteres no iónicos formados por esterificación, tales como éteres de almidón no iónicos, éteres de amilopectina no iónicos, éteres de amilosa no iónicos, éteres de celulosa no iónicos, éteres guar no iónicos, ésteres de almidón no iónicos, ésteres de amilopectina no iónicos, ésteres de amilosa no iónicos, ésteres de celulosa no iónicos, éter ésteres de almidón no iónicos, éter ésteres de almidón no iónicos, éter ésteres de celulosa no iónicos y éter ésteres de celulosa no iónicos. Ejemplos no limitativos de éteres de almidón no iónicos incluyen alquilalmidones tales como metalalmidones, etilalmidones, propilalmidones y butilalmidones;
 35 hidroxialquilalmidones tales como hidroxietilalmidones (por ejemplo tetraalmidón, pentaalmidón, hetaalmidón), hidroxipropilalmidones, hidroxibutilalmidones e hidroxipentilalmidones; así como alquilhidroxialquilalmidones tales como metilhidroxietilalmidones, metilhidroxipropilalmidones y etilhidroxipropilalmidones. Ejemplos no limitativos de éteres de amilopectina no iónicos y éteres de amilosa no iónicos incluyen hidroxietilamilopectinas, hidroxipropilamilopectinas, hidroxietilamilosas e hidroxipropilamilosas. Ejemplos no limitativos de éteres de celulosa no iónicos incluyen alquilcelulosas tales como metilcelulosas, etilcelulosas, propilcelulosas, isopropilcelulosas y butilcelulosas; hidroxialquilcelulosas tales como hidroxietilcelulosas, hidroxipropilcelulosas, hidroxisopropilcelulosas, hidroxibutilcelulosas e hidroxipentilcelulosas; así como alquilhidroxialquilcelulosas tales como metilhidroxietilcelulosas, metilhidroxipropilcelulosas, metilhidroxibutil-celulosas, etilhidroxietilcelulosas, etilhidroxipropilcelulosas, propilhidroxietil-celulosas, propilhidroxipropilcelulosas, isopropilhidroxipropilcelulosas, butilhidroxipropilcelulosas, pentilhidroxipropilcelulosas y hexilhidroxipropil-celulosas. Ejemplos no limitativos de éteres guar no iónicos incluyen alquilguar polisacáridos tales como metilguar polisacáridos, etilguar polisacáridos, propilguar polisacáridos y butilguar polisacáridos; hidroxialquilguar polisacáridos tales como hidroxietilguar polisacáridos e hidroxipropilguar polisacáridos; así como alquilhidroxialquilguar polisacáridos tales como metilhidroxietilguar polisacáridos, metilhidroxipropilguar polisacáridos, etilhidroxipropilguar polisacáridos. Otros
 40 carbohidratos poliméricos no iónicos incluyen metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxietilmetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilhidroxietilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa, butilglicidil éter hidroxietilcelulosa, lauril glicidil éter hidroxietilcelulosa, hidroximetilhidroxietilcelulosa, hidroxietilcelulosa modificada con butilglicidil éter, metilhidroxietilcelulosa, metilhidroxipropilcelulosa, ésteres de almidón (por ejemplo almidón modificado con anhídrido alquilsuccínico, acetatos de almidón y alquencilsuccinatos de almidón), ésteres de celulosa (monobutiratos y monopropionatos de celulosa), éter ésteres de celulosa (ésteres de ácido hidroxialquilcelulosa-2-hidroxicarboxílico), poli(3-hidroxioxetanos). Ejemplos no limitativos de ésteres de carbohidrato poliméricos no iónicos incluyen aquellos que tienen un grado de sustitución entre 0,5 y 1,0, por ejemplo entre 0,7 y 0,9, y son solubles en agua. También se pueden utilizar sales iónicas de los materiales no iónicos arriba mencionados, si pueden prepararse. Por ejemplo, también se pueden utilizar sales de polisacáridos tales como sulfato de dextrano, sulfato de dextrina y alginato de sodio.
 60

Fase dispersa

La fase dispersa de la dispersión multifásica puede incluir micropartículas sólidas. Normalmente es preferible que las micropartículas sean esencialmente insolubles en el no-disolvente y/o esencialmente inmiscibles en el no-disolvente,

por ejemplo con una solubilidad en éste a temperatura ambiente inferior al 10% en peso, por ejemplo del 5% en peso o menos, del 3% en peso o menos, del 1% en peso o menos, del 0,5% en peso o menos, del 0,1% en peso o menos, del 0,05% en peso o menos, del 0,01% en peso o menos, o en un intervalo entre dos cualesquiera de estos valores.

- 5 La fase dispersa puede incluir además otros materiales en asociación con las micropartículas sólidas, por ejemplo un material, sal o excipiente no volátil añadido durante la formación de las micropartículas. En general no se desea la presencia de estos materiales en las micropartículas aisladas y, en consecuencia, de forma deseable se retiran de la dispersión. Por consiguiente, es deseable que estos materiales tengan alta solubilidad en el no-disolvente.

No-disolvente

- 10 En general, el no-disolvente no está sometido a ninguna limitación, siempre que sólo se puedan disolver en el mismo cantidades relativamente insignificantes de las micropartículas. Por tanto, la fase dispersa o al menos las micropartículas de la misma preferiblemente son esencialmente insolubles en el no-disolvente. En consecuencia, el no-disolvente sólo disuelve pequeñas cantidades de micropartículas cuando las micropartículas migran dentro del no-disolvente o a través del mismo (y por tanto están dispersadas al menos de modo transitorio). Más
15 específicamente, las micropartículas tienen normalmente una solubilidad tal en el no-disolvente que no más de un 5 por ciento en peso (por ejemplo 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 y/o un 0,01% en peso o menos, o en un intervalo entre dos de estos valores) se disuelve cuando las micropartículas están dispersas en el no-disolvente. Se ha comprobado que la solubilidad relativamente baja de las micropartículas en el no-disolvente reduce ventajosamente la formación de
20 agregados de micropartículas observada en las micropartículas recogidas en relación con métodos anteriores para el procesamiento de micropartículas donde las micropartículas se procesaban o recogían directamente en/de la fase continua de la dispersión original.

- El no-disolvente puede incluir un único componente no-disolvente solo o una combinación de dos o más de los mismos. En general, al menos un componente o una parte (por ejemplo una capa) del no-disolvente tiene una
25 densidad (D_n) mayor o esencialmente igual que la de la fase continua (D_c). Normalmente, los componentes del no-disolvente tienen una densidad D_n menor que la de las micropartículas (D_p). Cuando la densidad de las micropartículas D_p es mayor que la de la fase continua D_c y mayor o aproximadamente igual que la del no-disolvente D_n , es posible utilizar la centrifugación para realizar selectivamente una migración de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo, tal como se describe con mayor detalle más abajo. Los métodos que utilizan
30 electroforesis no están similarmente limitados, ya que es posible controlar la dirección del campo eléctrico aplicado para realizar selectivamente la migración de las micropartículas independientemente de los valores de densidad de las micropartículas, la fase continua y el no-disolvente, tal como se describe con mayor detalle más abajo.

- En algunas realizaciones, el no-disolvente puede comprender un gradiente de densidad formado, por ejemplo,
35 disponiendo cuidadosamente capas de concentraciones menores de un material no volátil sobre capas de concentraciones mayores del material no volátil.

Además, en realizaciones alternativas, al menos un componente del no-disolvente puede tener una viscosidad mayor que la de la fase continua de la dispersión original (además o en lugar de tener una densidad mayor que la de la fase continua).

- El no-disolvente puede contener uno o más materiales no volátiles solubilizados dentro del mismo. Materiales no
40 volátiles representativos incluyen los dados a conocer más arriba para ser utilizados en la fase continua. Los materiales no volátiles del no-disolvente pueden ser independientes (por ejemplo iguales o diferentes, por ejemplo en la estructura química y/o el peso molecular) de los contenidos dentro de la dispersión original. En general, los materiales no volátiles de menor peso molecular (al menos en relación con los materiales no volátiles presentes en la fase continua) son preferibles para su uso en el no-disolvente o como no-disolvente, ya que estos materiales son
45 más fáciles de retirar, por ejemplo estos materiales se pueden retirar utilizando una extracción con fluidos supercríticos con dióxido de carbono solo o en combinación con un codisolvente como etanol. A este respecto, los PEG de menor peso molecular, con pesos moleculares inferiores a 1.000 dalton, como PEG 300, son particularmente útiles. En una realización particular, el no-disolvente se puede elegir entre polietilenglicoles líquidos o poloxámeros líquidos, o combinaciones de dos o más de los mismos. También es posible utilizar como no-
50 disolvente soluciones acuosas que contienen uno o más polímeros no iónicos solubles en agua solubilizados en las mismas.

El no-disolvente puede comprender uno o más líquidos acuosos, líquidos no acuosos, o combinaciones de dos o más de los mismos (alternativa o adicionalmente al material o los materiales no volátiles). El no-disolvente puede contener además estabilizadores, sales, antioxidantes y combinaciones de dos o más de éstos.

- 55 Los líquidos acuosos útiles para el no-disolvente incluyen H_2O , D_2O , tampones acuosos y cualquier otra solución acuosa. Las soluciones acuosas adecuadas pueden contener solutos solubilizados, incluyendo, de forma no exclusiva, sales tampón que tienen amonio, Na^+ y K^+ como cationes y/o acetato y bicarbonato como aniones, otras

sales, incluyendo, de forma no exclusiva, NaCl, estabilizadores (por ejemplo histidina y sales de la misma), antioxidantes (por ejemplo EDTA), azúcares (por ejemplo sacarosa, trehalosa, lactosa, maltosa), materiales de gradiente de densidad (por ejemplo sales de metales alcalinos tales como NaCl, NaBr, NaI, KBr, CsF, CsCl, CsBr, sulfato de cesio, acetato de cesio, trifluoroacetato de cesio, RbCl, y tartrato de potasio; moléculas neutras, solubles en agua, tales como sacarosa con adición opcional de glucosa; glicerol; aceite mineral; macromoléculas hidrófilas tales como dextrano, copolímero de sacarosa-epiclorohidrina y seroalbúmina bovina; otras molécula sintéticas tales como sales sódicas o metil glucamínicas de ácido triyodobenzoico y ácido metrizoico; y metrizamidas), polioles, agentes tensoactivos, excipientes, y combinaciones de dos o más de los mismos. En "Centrifugation in Density Gradients," C. A. Price, Academic Press, Nueva York, 1982 se describen materiales y técnicas para la centrifugación de gradiente de densidad. Los métodos normalizados que implican técnicas de gradiente de densidad incluyen ASTM D1505-03, ASTM D1505-98, e ISO 1183-2.

Los líquidos no acuosos útiles para el no-disolvente incluyen líquidos orgánicos apróticos polares (o apróticos dipolares) tales como cetonas, nitrilos, ésteres, aldehídos, N,N-dimetilformamida; líquidos orgánicos apróticos no polares tales como éteres (por ejemplo éteres metoxilados, éteres alquilados, diéteres, triéteres, éteres cíclicos, éteres corona); y líquidos orgánicos terciarios tales como alcoholes terciarios, ácidos terciarios, amidas terciarias. Líquidos orgánicos representativos específicos para su uso en el no-disolvente incluyen 2-metil-2-propanol, 2-dimetil-2-butanol, 3-metil-3-heptanol, alcohol t-amílico, glicerina, N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, acetato de isopropilo, acetato de butilo, acetato de propilo, 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), triamida hexametilsulfónica (HMPA), tetrahidrofurano (THF), N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, tetrametilurea, dioxano, diclorometano, 1,2-dicloroetano, dimetoxietano, dietilenglicoldimetil éter, diisopropil éter, glicofurol, hidrocarburos (lineales, ramificados o cíclicos) tales como pentano, hexano, heptano, ciclohexano, tolueno o xileno, metil etil cetona, isobutil metil cetona, mentol, timol, alcanfor, imidazol, cumarina, dimetilsulfona, urea, vainillina, canfeno, salicilamida, piridina, 2-aminopiridina, pirimidina, piperidina, y combinaciones de dos o más de los mismos.

Otros líquidos no acuosos útiles para el no-disolvente incluyen líquidos orgánicos miscibles con líquidos acuosos tales como citrato de acetiltributilo, citrato de acetiltrietilo, alcohol bencílico, butirolactona, caprolactama, decilmethylsulfóxido, diacetina, ftalato de dietilo, tartrato de dietilo, dietilenglicoldimetil éter, dimetoxietano, dimetiletilamida, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, 1-dodecilazacicloheptan-2-ona, etanol, acetato de etilo, lactato de etilo, carbonato de etileno, etilenglicol, óxido de etileno, glicerina, glicerina formal, glicofurol (también denominado "tetraglicol" o "éter polietilenglicólico de alcohol tetrahidrofurfurílico"), isopropanol, metanol, acetato de metilo, metil etil cetona, 2-metil-2-propanol, N-metil-2-pirrolidona, octanol, polisorbatos (por ejemplo 20, 40, 60, 65, 80), carbonato de propileno, propilenglicol, óxido de propileno, 2-pirrolidona, fluido silicona, tetraetilenglicol, tetrahidrofurano, triacetina, citrato de tributilo, tributirina, citrato de trietilo, fosfato de trietilo, y combinaciones de dos o más de los mismos. En un ejemplo particular, el no-disolvente puede contener uno o más de los compuestos PEG, poloxámeros líquidos, glicofurol, tetraetilenglicol, agua y/o tampón acuoso, y un alcohol.

Otros ejemplos de líquidos no acuosos útiles para el no-disolvente incluyen líquidos halogenados. Ejemplos no limitativos de líquidos halogenados incluyen derivados parcialmente halogenados (fluorados, clorados, bromados y/o yodados) y perhalogenados (perfluorados, perclorados, perbromados y/o peryodados) de los líquidos orgánicos dados a conocer aquí (como tricloro-t-butanol, perfluoro-t-butanol), clorocarbonos, clorohidrocarburos, perclorocarbonos, percloroalcanos, hidrocloéteres, fluorocarbonos, fluorohidrocarburos, perfluorocarbonos, perfluoroalcanos, hidrofluoréteres, bromocarbonos, bromohidrocarburos, clorofluorocarbonos, hidroclorofluorocarbonos, cloroperfluorocarbonos, hidroclorofluoroéteres, y mezclas de dos o más de los mismos.

Cuando se utiliza en métodos de centrifugación, el no-disolvente preferentemente tiene una volatilidad similar o mayor que la del agua y una densidad mayor que la del agua. Por tanto, el no-disolvente o al menos un líquido no acuoso incluido en éste puede tener un punto de ebullición inferior o igual a 100°C y una densidad superior a 1 g/cm³. Ejemplos no limitativos de líquidos no acuosos que tienen una volatilidad similar o mayor que la del agua y una densidad mayor que la del agua incluyen disulfuro de carbono, ácido láctico, determinados clorofluorocarbonos (por ejemplo 1,1,2-triclorotrifluoroetano, triclorofluorometano), determinados hidroclorofluorocarbonos (como diclorofluorometano), determinados perfluorocarbonos (por ejemplo perfluoropentano, perfluorohexano, perfluoroheptano, perfluoro-N-metilmorfolina), determinados perfluoro éteres (como perfluoro-2-butiltetrahidrofurano), y determinados hidrofluoréteres.

La siguiente Tabla 1 muestra determinados líquidos no limitativos adecuados para el no-disolvente y sus características.

Tabla 1

Líquido	Densidad ^a	PE ^b	PC ^c	Sol. ^d	LD ₅₀ ^e	PV ^f
Ácido acético	1,05	118	16,6	M	3,3	2,11
Tetracloruro de carbono	1,59	76,7	-22,4	0,05	2,3	15
Cloroformo	1,50	61,2	-63,5	0,8	0,7	25,9
Dietilenglicol	1,12	245	-10	M	13	<0,01
DMSO	1,09	189	18,4	M	18	0,08
Etilenglicol	1,12	197	-13	M	4,7	<0,01
Glicerol	1,26	290	17,8	M	13	<0,01
Cloruro de metileno	1,32	39,8	-96,7	1,32	1,6	46,7
Agua pesada, D ₂ O	1,11	101,3	4	M	NT	2,19
Perfluorohexano	1,68	59	-4	10 ppm	5	23,6
1,1,1-trifluorotolueno	1,189	103	-29		15	42,8
CFC ₃	1,49	24	-111	0,11	0,45	0,013
Disulfuro de carbono	1,27	46	-112	<1%	3,2	
Nitrometano	1,138	101	-29			
Carbonato de etileno	1,321	243	35	M	10	0,02
Sulfolano	1,262	287	28,5	M	1,94	
Carbonato de propileno	1,189	240	-55	23%	29	
Ácido trifluoroacético (TFA)	1,489	72	-15	M	0,5	
2,2,2-trifluoroetanol	1,393	79	-44		0,24	
Ácido fórmico	1,22	101	8,3	M	1,21	
Formamida	1,133	211	2,6		5,5	
Propilenglicol	1,04	188,2	-60	M	22	
Trimetilenglicol	1,05	214,4	-26,7	M	4,77	
Propilenglicolmonofenil éter	1,063	242,7	12,78	1,1	2,83	
Difenilic éter	1,066	258	26,87		3,37	
Etilenglicol monobencil éter	1,07	265		4	1,19	
Oxalato de dietilo	1,08	185,4	-40,6		0,4	
Ácido láctico, metiléster	1,09	145		descomp.	2	
Trietilenglicol	1,119	287,4	-7,2	M	17	
Gamma-butirolactona	1,125	204	-44	M	1,54	
Alcohol furfúrico	1,1285	171	-29	M	0,275	
Tetraetilenglicol	1,13	327,3	-4	M	29	
Furfural	1,1545	161,8	-36,5		0,05	
Trioxano	1,17	114,5	64	soluble	3,2	1,73
Ácido láctico	1,206	83,5	18	M	3,7, 3,5	2,53
1,1,1-tricloroetano	1,32	74,1	-30,4	0,15	9,6	
Diclorofluorometano	1,366	8,9	-135		NT	181
1,2-diclorotetrafluoroetano	1,455	4,1	-94	0,13	2,25	
Triclorofluorometano	1,476	23,63	-110,5	0,11	NT	
Ácido metanosulfónico	1,48	167	20		0,2	
1,1,2-tricloroetileno	1,5, 1,44	86,7	-84,8	0,11	2,4	
Alcohol pentafluoropropílico	1,51	80		soluble	1	
1,1,2-triclorotrifluoroetano	1,564	47,63	-36,4	0,017	43	
Ftalato de dibutilo						
N-metilpirrolidona	1,03	202	-25	100%	4,15	
Ácido láctico, etiléster						
Tetrahidropirano-2-metanol						
1,4-dioxano						
Dietilenglicolmetil éter	1,02	194		100%		
Acetato de etilenglicol metil éter						
Acetato de dietilenglicolmonoetil éter						
1,3-butanodiol						
1-metoxi-2-propanol						
Perfluoropentano, C ₅ F ₁₂	1,65	30				
Perfluoro-N-metilmorfolina	1,71	50				
Perfluorohexano	1,67	56		0,03	5	
Perfluoroheptano, C ₇ F ₁₆	1,73	77-87				
Perfluoroctano, C ₈ F ₁₈	1,76	101		I		
Perfluorotripilamina, perfluamina, C ₉ F ₂₁ N	1,82	128				

ES 2 564 401 T3

Líquido	Densidad ^a	PE ^b	PC ^c	Sol. ^d	LD ₅₀ ^e	PV ^f
Perfluoro-N,N,N',N'-tetrapropilhexanodiamina	1,9	254				
^g Fluorinert® FC-40, mezcla de perfluorotributilamina y perfluorodibutilmetilamina	1,85	155	-57	7 ppm	NTO	0,43
Fluorinert® FC-43, C ₁₂ F ₂₇ N, perfluorotributilamina	1,86	174	-50	7 ppm	10	0,19
Fluorinert® FC-70, C ₁₅ F ₃₃ N, perfluorotriamilamina,	1,94	215	-25	8 ppm	NTO	0,015
Fluorinert® FC-71	2	253				0,027
Fluorinert® FC-72	1,68	56	-90	10 ppm	NTO	30,9
Fluorinert® FC-75, compuestos C ₈ perfluoro como C ₈ F ₁₆ O, perfluoro-2-butiltetrahidrofurano	1,8	102	-88			4,13
Fluorinert™ FC-77	1,78	97	-110	13 ppm		5,62
Fluorinert™ FC-84	1,73	80	-95	11 ppm		10,6
Fluorinert™ FC-87	1,65	30	-115	7 ppm		81,1
Fluorinert™ FC-104	1,76	101	-65	11 ppm		3,87
Fluorad™ FC-722	1,7	56				30,9
Fluorinert™ FC-3255	1,77	103	-30	11 ppm		4,15
Fluorinert™ FC-3283	1,82	128	-50	7 ppm	NTO	1,44
Fluorinert™ FC-3284	1,71	50	-73	14 ppm	NTO	35,7
Fluorinert™ FC-5311, tetracosafuorotetrafenantreno	2	215				0,015
Fluorinert™ FC-5312, compuestos C ₁₅ perfluoro	1,94	215	-25	8 ppm		0,015
gPF-5050	1,63	30	-115	14 ppm		
PF-5052	1,7	50	-80	14 ppm		81,1
PF-5056	1,8	25-80		<15 ppm		
PF-5058	1,75	80-100		<15 ppm		
PF-5060 y PF-5060DL, C ₆ F ₁₄	1,68	56	-90	10 ppm	>5	
PF-5070, C ₇ F ₁₆	1,73	80	-95	11 ppm		
PF-5080, C ₈ F ₁₈	1,77	101	-30	11 ppm	>5	
PFG-3480, C ₄ F ₈ O, octafluorotetrahidrofurano	1,52	0,8	-83			
^g Novec™ HFE-7000, 3M fluidos tecnológicos, hidrofluoroéteres, 1-metoxiheptafluoropropano	1,4	34	-122,5	60 ppm	>2	64,6
Novec™ HFE-7100, metoxinonafluorobutano	1,51	60	-135	95 ppm	>5	26,8
Novec™ HFE-71DE, 50% C ₄ F ₉ OCH ₃ y 50% t-DCE	1,37	41	-24	324 ppm	21	51,1
Novec™ HFE-71DA, 52,7% C ₄ F ₉ OCH ₃ , 44,6% t- DCE, y 2,7% etanol	1,33	40	-29			
Novec™ HFE-71IPA, 95,5% C ₄ F ₉ OCH ₃ y 4,5% isopropanol	1,48	55	-42			
Novec™ HFE-7200, etoxinonafluorobutano	1,42	76	-138	92 ppm	>5	15,7
Novec™ HFE-72DE, mezcla de 10% C ₄ F ₉ OCH ₃ , 20% C ₄ F ₉ OC ₂ H ₅ , y 70% t-DCE	1,28	43		360 ppm	>100, >92, 24	
Novec™ HFE-72DA, mezcla de 10% C ₄ F ₉ OCH ₃ , 20% C ₄ F ₉ OC ₂ H ₅ , 68% t-DCE, y 2% isopropanol	1,27	44	-138			48,0
Novec™ HFE-7500, 2-trifluorometil-3-etoxidodecafluorohexano	1,61	130	-110	45 ppm	>2	2,1
Novec™ HFE-8200	1,43	76	-138	92 ppm	>5	
Novec™ 1230 dodecafluoro-2-metilpentan-3-ona	1,6	49,2	-108		>100 l	
^g HFC-4310, C ₅ H ₂ F ₁₀	1,73	80	-95	490 ppm		
HFC-4310mee, C ₅ H ₂ F ₁₀	1,58	54		400 ppm	11 l	

ES 2 564 401 T3

Líquido	Densidad ^a	PE ^b	PC ^c	Sol. ^d	LD ₅₀ ^e	PV ^f
HFC-4310 mezcla azeotrópica, 62% C ₅ H ₂ F ₁₀ , 38% t-DCE	1,41	39				61,9
HFC-4310SMT, 52.9% C ₅ H ₂ F ₁₀ , 43% t-DCE, 4% metanol, 0,1% estabilizador	1,37	37	-10			62,8
HCFC-225, C ₃ Cl ₂ F ₅ H	1,55	54	-131	310 ppm	37 l	38,7
^f AK-225 AES, mezcla azeotrópica de 95,5% C ₃ Cl ₂ HF ₅ y 4,5% etanol	1,49	52	-138			55,2
Bromuro de n-propilo, C ₃ H ₇ Br	1,35	71	-110	500 ppm		
1,1,1-TCA, CH ₃ CCl ₃	1,32	74	-39	170 ppm	16	
Pentafluorobenzeno, C ₆ F ₅ H	1,51	85	-48		2	
C ₇ F ₁₅ OC ₂ H ₅	1,61	128	-100		>2	
^f Galden HT -135	1,73	135	-100			
^f Genetron® HFC-134a, CF ₃ CH ₂ F	1,21	-26,2	-92,5	0,11%	62 l	
^f Genesolv® 2000 HFC-141b, CCl ₂ FCH ₃	1,24	32	-103	420 ppm	>5	75,9
Genesolv® 2004, mezcla azeotrópica de 95,8% CCl ₂ FCH ₃ , 3,9% metanol y 0,3% nitrometano	1,22	29,4				70,3
Genesolv® S-F, 1,1,1,3,3-pentafluoropropano, HFC-245fa	1,32	15	-142	1600 ppm	>200 l	
Genesolv® S-T, mezcla azeotrópica de 65% SF y 35% t-DCE	1,32	15,7	-103		>200 l	
Genesolv® S-TZ, mezcla azeotrópica de 87% SF y 13% t-DCE	1,34	15	-103		>200 l	
Genesolv® D series DSTD y DEG, CFC-113, CCl ₂ FCClF ₂	1,56	48	-35	110 ppm	55 l	44,1
^g Freon® TE, mezcla azeotrópica de 96% C ₂ Cl ₃ F ₃ y 4% etanol	1,5	45	-42			48,3
PEG 200	1,11	250	-65-50	M	28,0	<0,01
PEG 300	1,12	250	-15-10	M	27,5	<0,01
PEG 400	1,125	250	-6-8	M	30,2	<0,01
PEG 500	1,13	250		M		<0,01
PEG 540	1,13	250		M		<0,01
PEG 600	1,14	250	15-25	M	38,1	<0,01
Pluronic® L-10 (MW 3200)	1,04		-5	>10%	>2	<0,01
Pluronic® L-24					>2	
Pluronic® L-31 (MW 1100)	1,02		-32	>10%	>2	
Pluronic® L-35 (MW 1900)	1,06		7	>10%	>2	
Pluronic® L-42 (MW 1630)	1,03		-26		>2	
Pluronic® L-43 (MW 1850)	1,04		-1	>10%	>5	
Pluronic® L-44 (MW 2200)	1,05		16	>10%	>5	
Pluronic® L-44NF (MW 2200)	1,05		16	>10%	>5	
Pluronic® L-61 (MW 2000)	1,01		-29	<0,1%	>5	
Pluronic® L-62 (MW 2500)	1,03		-4	>10%	>2	
Pluronic® L-62D (MW 2360)	1,04		-1	<10%	>5	
Pluronic® L-62LF (MW 2450)	1,03		-10	>10%	5	
Pluronic® L-63 (MW 2650)	1,04		10		>2	
Pluronic® L-64 (MW 2900)	1,05		16	>10%	>2	
Pluronic® L-68					>2	
Pluronic® L-72 (MW 2850)	1,03		-7		>2	
Pluronic® L-81 (MW 2750)	1,02		-37	<0,1%	>2	
Pluronic® L-92 (MW 3650)	1,03		7	<10%	>2	
Pluronic® L-101 (MW 3800)	1,02		-23	<0,1%	>5	
Pluronic® L-121 (MW 4400)	1,01		5	<1%	>2	
Pluronic® L-122 (MW 5000)	1,03		20	<1%	>2	
Pluronic® L-123 (MW 5750)					>2	
Pluronic® N-3	1,04		-7		>5	
Pluronic® 10R5 (MW 1950)	1,06		15	>10%	>2	
Pluronic® 17R2 (MW 2150)	1,03		-25	>10%	>2	
Pluronic® 17R4 (MW 2650)	1,05		18	>10%	>5	

Líquido	Densidad ^a	PE ^b	PC ^c	Sol. ^d	LD ₅₀ ^e	PV ^f
Pluronic® 25R2 (MW 3100)	1,04		-5	>10%	>2	
Pluronic® 25R4 (MW 3600)	1,05		25	>10%	>2	
Tetronic® 304 (MW 1650)	1,06		-11	>10%	>2	
Tetronic® 701 (MW 3600)	1,02		-21	<1%	>2	
Tetronic® 704 (MW 5500)					>2	
Tetronic® 901 (MW 4700)	1,02		-23	<0,1%	>2	
Tetronic® 904 (MW 6700)	1,04		29	>10%	>2	
Tetronic® 1301 (MW 6800)	1,02		-9	<1%	>2	
Tetronic® 90R4 (MW 6900)	1,05		12	>10%	>5	
Tetronic® 150R1 (MW 8000)	1,01		-17	<0,1%	>2	
Glicofurool	1,07			>50%	7,8	
Tetraetilenglicol	1,12		-5,6		>2	

^aDensidad en estado líquido, medida a temperatura ambiente, como 25°C.

^bPunto de ebullición (PE), °C.

^cPunto de congelación/fusión (PC), °C.

^dSolubilidad (Sol) del agua en el líquido, en g/100 g o ppm (partes por millón en peso), a temperatura ambiente, como 20-25°C.

^eLD₅₀, en g/kg de peso corporal, cantidad mínima de líquido indicada en la literatura que, al ser administrada a ratas vía oral en una sola toma (toxicidad aguda), provoca la muerte del 50% de las ratas analizadas.

^fPresión de vapor (PV) en kPa a temperatura ambiente, como 20-25°C.

^gTodos los productos Fluorinet™, Fluorad™, Novec™, Performance Fluids (PF), Secondary Fluid (SF) están disponibles en 3M, St. Paul, MN.

^hLas series AK-225 de materiales líquidos están disponibles en AGC Chemicals Americas, Inc., Bayonne, NJ.

ⁱLas series de líquidos Galden® y Perfluorosolv® están disponibles en Solvay Solexis, Inc., Thorofare, NJ.

^jLas series de líquidos Genetron® y Genesolv® están disponibles en Honeywell, Morristown, NJ.

^kLas series de líquidos Freon® disponibles en DuPont-Mitsui Fluorochemicals Co. Ltd., Tokio, Japón.

Miscible (M) con agua.

Realización selectiva de una migración de las micropartículas

5 Los métodos facilitan la realización selectiva de una migración de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo para permitir la recogida de las micropartículas. Los métodos facilitan la separación de una mayoría de las micropartículas de la dispersión, por ejemplo al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90% de las micropartículas. Algunos métodos no limitativos para lograr la migración de las micropartículas incluyen, al menos en parte, centrifugación, electroforesis y otros medios mecánicos.

10 Ventajosamente se puede llevar a cabo una migración de las micropartículas dentro de un no-disolvente que es un diluyente farmacéuticamente aceptable, de modo que las micropartículas se pueden administrar a un sujeto sin necesidad de ningún procesamiento adicional, por ejemplo sin necesidad de realizar un paso de secado (por ejemplo liofilización o evaporación bajo presión reducida y/o temperatura elevada) o un paso de reconstitución subsiguiente. Resulta ventajoso evitar estos pasos de procesamiento porque requieren mucha energía, consumen tiempo y no se convierten fácilmente en una operación de flujo continuo. Además, la liofilización puede inducir una desnaturalización y agregación de muchas macromoléculas, como proteínas.

15 Mediante el empleo de técnicas no limitativas, como la centrifugación, se puede realizar una migración de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo hasta un lugar (por ejemplo dentro del no-disolvente, en una zona interfacial entre el no-disolvente y su recipiente, o más allá del no-disolvente) al que no puede llegar la mayor parte de la fase continua de la dispersión original o al menos el material no volátil incluido en ésta, logrando así la separación de las micropartículas de la dispersión original. Las micropartículas se pueden concentrar como resultado del proceso de separación, por ejemplo formando una banda de las mismas en el no-disolvente o formando una pella de las mismas en el fondo y/o en la pared del recipiente.

25 Utilizando centrifugadoras de ángulo fijo o rotores de cubo pivotante, el no-disolvente se puede disponer primero en el tubo de la centrifugadora mediante una sola adición o múltiples adiciones, dependiendo de si se emplea un no-disolvente de un solo componente o multicomponente. Después, la dispersión se puede disponer en el mismo tubo de la centrifugadora, encima del no-disolvente, sin mezclarlos. Para evitar una mezcla involuntaria no deseada, el no-disolvente que se encuentra dentro del tubo se puede congelar antes de la adición de la dispersión y luego se puede descongelar después de la adición de la dispersión utilizando un ciclo de calentamiento-enfriamiento. La congelación y/o descongelación se pueden llevar a cabo antes o después de cargar el tubo en el rotor de la centrifugadora.

30 Para la realización selectiva de una migración de las micropartículas, la centrifugadora se puede acelerar a velocidad de operación (por ejemplo 3.000 x g a 20.000 x g), ésta puede funcionar durante un período de tiempo

predeterminado (por ejemplo de 5 minutos a 1 hora), y después se puede desacelerar hasta detenerla. El sobrenadante en el tubo, que contiene al menos la mayor parte de la fase continua de la dispersión original, se puede retirar por aspiración o decantar de otro modo. También es posible aspirar la mayor parte del no-disolvente. Después se pueden recoger fácilmente las micropartículas en forma de una pella en el fondo del tubo o una banda (por ejemplo una banda isopícnica) en el no-disolvente.

5
10
15
20

Cuando se utilizan centrifugadoras de rotores de flujo continuo (por ejemplo Sorvall® Contifuge®, Beckman Coulter's JCF-Z y CF-32 Ti), el no-disolvente se puede bombear primero con un caudal de 100 ml/min a 500 ml/min al interior del rotor con una baja velocidad de rotor. Una vez alcanzada la velocidad de operación del rotor (por ejemplo de 3.000 x g a 20.000 x g, como de 7.000 x g a 10.000 x g), la dispersión se puede bombear al interior del rotor con un caudal de 100 ml/min a 500 ml/min (por ejemplo de 200 ml/min a 300 ml/min). Las micropartículas se pueden sedimentar separándose del flujo de corriente de la dispersión como un efluente agotado de micropartículas que contiene la mayor parte de la fase continua que emerge del rotor. Una vez que la dispersión ha sido bombeada por completo al interior del rotor, se puede bombear un "perseguidor" adecuado (por ejemplo un tampón o agua) al interior del rotor para limpiar las líneas. Si las micropartículas forman una pella sobre la pared del rotor, el rotor se puede desacelerar hasta una posición de parada, el sobrenadante que queda en el rotor se puede decantar, y las micropartículas se pueden recoger desprendiendo la pella de la pared del rotor por raspado. Si las micropartículas forman una banda (por ejemplo una banda isopícnica) en la parte restante del no-disolvente, el rotor se puede desacelerar a baja velocidad. Una solución densa (por ejemplo el mismo no-disolvente o una parte del mismo, o un no-disolvente diferente) se puede bombear al interior del rotor para desplazar el no-disolvente cargado de micropartículas, facilitando así su recogida.

25

El proceso para separar la fase dispersa o las micropartículas que se encuentran dentro de ésta de la fase continua o del polímero no iónico que se encuentra dentro de ésta se puede llevar a cabo a una temperatura superior a las temperaturas de congelación de la fase continua y el no-disolvente, e inferior a la temperatura de degradación de las micropartículas o de la macromolécula bioactiva que se encuentra dentro de éstas, por ejemplo a temperatura ambiente o por debajo de ésta, o a temperaturas 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 por encima o por debajo de éstas, o en un intervalo entre dos cualesquiera de estas temperaturas.

30

La recogida de micropartículas puede ser adecuada para el almacenamiento (por ejemplo a temperatura ambiente o a una temperatura menor durante 1 semana a 2 años o más) y/o para administración a un sujeto humano (por ejemplo inyectable o administrable de otro modo con o sin dilución adicional utilizando el mismo no-disolvente u otros no-disolventes) sin secado ni reconstitución. La concentración de la o las macromoléculas bioactivas en la recogida de micropartículas después del proceso de separación se puede aumentar a 50 g/l o más, por ejemplo a una concentración mayor o igual a 100 g/l, 150 g/l, 200 g/l, 250 g/l, 280 g/l, 300 g/l, 350 g/l, 400 g/l, 450 g/l, 500 g/l, 550 g/l, 600 g/l, o en un intervalo entre dos cualesquiera de estos valores.

35
40
45

Antes del proceso de separación, la dispersión se puede concentrar utilizando técnicas no limitativas, tales como centrifugación y/o diafiltración. La diafiltración se puede llevar a cabo a temperatura ambiente o a una temperatura inferior a ésta (por ejemplo 2-8°C). También se puede utilizar un medio de diafiltración para intercambiar y/o sustituir al menos una parte de la fase continua de la dispersión original. El medio de diafiltración puede ser un no-disolvente para las micropartículas, por ejemplo como los aquí descritos. Para el proceso de concentración se puede utilizar un aparato de diafiltración conocido por los especialistas en la técnica, que incluye una bomba peristáltica, un recipiente de depósito, un cartucho de fibras huecas y tubos. Mediante el proceso de concentración se puede formar una dispersión intermedia que contiene las micropartículas y el no-disolvente, pudiendo elevarse en gran medida (por ejemplo multiplicar por 2 o más, multiplicar por 5 o más, multiplicar por 10 o más, multiplicar por 20 o más, o multiplicar por 40 o más) la concentración de la o las macromoléculas bioactivas incluidas en la misma en comparación con la dispersión original, a 1 mg/ml o más, por ejemplo 10 mg/ml o más. El o los materiales no volátiles de la fase continua original se pueden retirar parcial o esencialmente durante este proceso de concentración, o también se pueden concentrar simultáneamente en la dispersión intermedia hasta un grado similar al de las macromoléculas bioactivas y/o las micropartículas.

Ejemplo 1

50
55
60

En primer lugar, se prepararon microesferas de anticuerpo utilizando aproximadamente 10 ml de una solución de reacción acuosa (tamponada con acetato de amonio 0,1M, pH 5,8) de aproximadamente 1 mg/ml de anticuerpo (antifactor monoclonal murino VIII, Baxter Healthcare, Hayward, CA) y aproximadamente 150 mg/ml de un ejemplo de material no volátil (un polímero no iónico, PEG 8000) en un recipiente de reacción, a una temperatura elevada de aproximadamente 50°C. Después, la solución de reacción se enfrió a una velocidad controlada sumergiendo el recipiente de reacción que contenía la solución de reacción en un baño de hielo (aproximadamente 4°C) durante aproximadamente 30 minutos. En el recipiente de reacción se desarrolló una turbidez, lo que indicaba la formación de una fase dispersa que contenía microesferas de anticuerpo en una fase continua que incluía la solución acuosa en la que estaba disuelto el PEG 1000. Un volumen (aproximadamente 3 ml) de un no-disolvente (PEG 300) con una densidad mayor que la de la fase continua se dispuso en un tubo de centrifuga cónico de polipropileno de 15 ml y se enfrió sobre hielo (aproximadamente 4°C). Utilizando una pipeta, una muestra de aproximadamente 1 ml de la

suspensión de microesferas de anticuerpo se dispuso con cuidado en el tubo de centrifuga, sobre el no-disolvente, sin mezclar esencialmente los dos sistemas. El tubo de centrifuga se centrifugó a 3.000 x g a aproximadamente 4°C durante aproximadamente 30 minutos para realizar una migración selectiva de las micropartículas de la fase continua dentro del no-disolvente y a través del mismo. En el fondo del tubo de centrifuga se observó una pella de las microesferas de anticuerpo, algunas microesferas se mantenían en suspensión en el no-disolvente y la mayor parte de la fase continua permanecía sobre el no-disolvente. El sobrenadante (que contenía la mayor parte de la fase continua y el no-disolvente) se extrajo del tubo de centrifuga por aspiración y después se añadieron al tubo de centrifuga aproximadamente 0,2 ml de no-disolvente fresco (PEG 300) para resuspender las microesferas de anticuerpo. Después se tomó una parte alícuota de aproximadamente 20 µl de la resuspensión para realizar un examen microscópico, que mostró que las microesferas contenidas en la misma aparecían como partículas esféricas no aglomeradas con un diámetro de aproximadamente 2-3 micras.

Después de mezclar con aproximadamente un volumen de 1 ml de una solución fisiológica (PBS), la resuspensión restante (aproximadamente 180 µl) se volvió visiblemente clara en un plazo de unos segundos, lo que indicaba que las microesferas de anticuerpo eran solubles en la solución fisiológica. La mezcla se dializó contra la solución fisiológica para retirar por completo el no-disolvente (PEG 300) y después se analizó mediante cromatografía de exclusión por tamaño para evaluar la integridad molecular del anticuerpo resolubilizado. El porcentaje de monómeros del anticuerpo resolubilizado era de aproximadamente el 98%, mientras que el material inicial tenía un contenido de monómeros de aproximadamente un 98,4%. Por consiguiente, estos resultados indican que las moléculas de anticuerpo estaban intactas y que éstas no habían resultado afectadas negativamente por la formación de microesferas ni por los procesos de separación del no-disolvente.

Ejemplo 2

En primer lugar, se prepararon microesferas de anticuerpo utilizando aproximadamente 5 ml de una solución de reacción acuosa que contenía aproximadamente 4,75 ml de una solución de 1 mg/ml de anticuerpo (antifactor monoclonal murino VIII de Baxter Healthcare, Hayward, CA) en tampón PBS (pH 6) y aproximadamente 500 mg de un ejemplo de material no volátil (un polímero no iónico, poloxámero 188) en un recipiente de reacción, a una temperatura elevada de aproximadamente 50°C. Después, la solución de reacción se enfrió a una velocidad controlada sumergiendo el recipiente de reacción que contenía la solución de reacción en un baño de hielo (aproximadamente 4°C) durante aproximadamente 30 minutos. En el recipiente de reacción se desarrolló una turbidez, lo que indicaba la formación de una fase dispersa que contenía microesferas de anticuerpo en una fase continua que incluía la solución acuosa en la que estaba disuelto el poloxámero 188. Un volumen (1 ml) de un no-disolvente (PEG 300) con una densidad mayor que la de la fase continua se dispuso en un tubo de centrifuga cónico de polipropileno de 15 ml y se enfrió sobre hielo (aproximadamente 4°C). Utilizando una pipeta, la suspensión de microesferas de anticuerpo se dispuso con cuidado en el tubo de centrifuga, sobre el no-disolvente, sin mezclar esencialmente los dos sistemas. El tubo de centrifuga se centrifugó a 3.000 x g a aproximadamente 4°C durante aproximadamente 30 minutos para realizar una migración selectiva de las micropartículas de la fase continua dentro del no-disolvente y a través del mismo. En el fondo del tubo de centrifuga se observó una pella de las microesferas de anticuerpo, algunas microesferas se mantenían en suspensión en el no-disolvente y la mayor parte de la fase continua permanecía sobre el no-disolvente. La mayoría (correspondiente a aproximadamente los 4 ml superiores) del sobrenadante (que contenía la mayor parte de la fase continua) se extrajo del tubo de centrifuga por aspiración, y la parte restante (correspondiente a aproximadamente 2 ml del sobrenadante y la pella) en el tubo de centrifuga se lavó repetidamente por centrifugación con un medio de lavado frío en el que las microesferas eran esencialmente insolubles (acetonitrilo a -20°C, 2 ml cada vez, centrifugado a 3.000 x g a -9°C durante 5 minutos) para retirar el no-disolvente y agua. Después del último lavado, el tubo de centrifuga se sometió a vórtice durante 10 segundos para soltar la pella, y el medio de lavado residual se retiró por evaporación de disolvente (primero bajo una corriente de nitrógeno y después bajo vacío durante 10 minutos) para formar un polvo seco de las microesferas de anticuerpo.

El polvo seco se frotó suavemente entre dos portaobjetos de vidrio de microscopio y se examinó bajo un microscopio óptico con un aumento 500x. Algunas de las microesferas aparecieron segregadas (es decir, no aglomeradas) y tenían un diámetro de aproximadamente 2-3 micras. Estas microesferas eran parcialmente solubles en PBS.

Ejemplo 3

En primer lugar, se prepararon microesferas de anticuerpo utilizando aproximadamente 5 ml de una solución de reacción acuosa que contenía aproximadamente 4,75 ml de una solución de 1 mg/ml de anticuerpo (antifactor monoclonal murino VIII de Baxter Healthcare, Hayward, CA) en tampón PBS (pH 6), aproximadamente 500 mg de un ejemplo de material no volátil (un polímero no iónico, poloxámero 188) y estabilizadores (histidina 0,1M y ácido glutámico 0,05M) en un recipiente de reacción, a una temperatura elevada de aproximadamente 50°C. Después, la solución de reacción se enfrió a una velocidad controlada sumergiendo el recipiente de reacción que contenía la solución de reacción en un baño de hielo (aproximadamente 4°C) durante aproximadamente 30 minutos. En el recipiente de reacción se desarrolló una turbidez, lo que indicaba la formación de una fase dispersa que contenía microesferas de anticuerpo en una fase continua que incluía la solución acuosa en la que estaba disuelto el poloxámero 188. Un volumen (1 ml) de un no-disolvente (PEG 300) con una densidad mayor que la de la fase continua se dispuso en un tubo de centrifuga cónico de polipropileno de 15 ml y se congeló a -20°C. Utilizando una

pipeta, los 5 ml de la suspensión de microesferas de anticuerpo se dispuso con cuidado en el tubo de centrifuga, sobre el no-disolvente congelado para asegurar que no se producía esencialmente ninguna mezcla de los dos sistemas. El no-disolvente se descongeló y se enfrió disponiendo el tubo de centrifuga en un baño de agua a aproximadamente 37°C durante aproximadamente 15 minutos, después en otro baño de agua a aproximadamente 4°C durante aproximadamente 30 minutos, y después sobre hielo durante aproximadamente 10 minutos. El tubo de centrifuga se centrifugó a 3.000 x g a aproximadamente 4°C durante aproximadamente 30 minutos para realizar una migración selectiva de las micropartículas de la fase continua dentro del no-disolvente y a través del mismo. En el fondo del tubo de centrifuga se observó una pella de las microesferas de anticuerpo, algunas microesferas se mantenían en suspensión en el no-disolvente y la mayor parte de la fase continua permanecía sobre el no-disolvente. La mayoría (correspondiente a aproximadamente los 4 ml superiores) del sobrenadante (que contenía la mayor parte de la fase continua) se extrajo del tubo de centrifuga por aspiración, y la parte restante (correspondiente a aproximadamente 2 ml del sobrenadante y la pella) en el tubo de centrifuga se lavó repetidamente por centrifugación con un medio de lavado frío (acetoniitrilo a -20°C, utilizando aproximadamente 2 ml cada vez, centrifugado a 3.000 x g a aproximadamente -9°C durante aproximadamente 5 minutos) en el que las microesferas eran esencialmente insolubles, para retirar el no-disolvente y agua. Después del último lavado, el tubo de centrifuga se agitó (por vórtice) durante aproximadamente 10 segundos para soltar la pella, y el medio de lavado residual se retiró por evaporación de disolvente (primero bajo una corriente de nitrógeno y después bajo vacío durante aproximadamente 10 minutos) para formar un polvo seco de las microesferas de anticuerpo.

El polvo seco se frotó suavemente entre dos portaobjetos de vidrio de microscopio y se examinó bajo un microscopio óptico con un aumento 500x. La mayor parte de las microesferas aparecieron segregadas (es decir, no aglomeradas) y tenían un diámetro de aproximadamente 2-3 micras. Estas microesferas eran fácilmente solubles en PBS.

Ejemplo 4

En primer lugar se preparó aproximadamente 1 ml de una solución de reacción acuosa disolviendo un concentrado liofilizado de anticuerpo monoclonal terapéutico humanizado Infliximab (Centocor, Malvern, PA) en un medio de reconstitución en una concentración de aproximadamente 100 mg/ml, dializando la reconstitución contra un tampón de acetato de amonio aproximadamente 0,1M (pH 5,9, que contenía poloxámero 188 en una proporción del 10% p/v) para obtener una concentración de anticuerpo de 1 mg/ml. La solución de reacción se dispuso en un recipiente de reacción a una temperatura elevada de aproximadamente 45°C. Después, la solución de reacción se enfrió a aproximadamente 22°C a una primera velocidad controlada durante un período de tiempo de aproximadamente 30 minutos, y después a aproximadamente 4°C a una segunda velocidad controlada durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos. En el recipiente de reacción se desarrolló una turbidez, lo que indicaba la formación de una fase dispersa que contenía microesferas de anticuerpo en una fase continua que incluía la solución acuosa en la que estaba disuelto el poloxámero 188. Un volumen (1 ml) de un no-disolvente que incluía aproximadamente un 60% p/v de agua, aproximadamente un 25% p/v de PEG 300, aproximadamente un 10% p/v de etanol t aproximadamente un 5% p/v de poloxámero 188 y que tenía una densidad mayor que la de la fase continua se dispuso en un tubo de centrifuga cónico de polipropileno de 15 ml y se congeló a -20°C. Utilizando una pipeta, la suspensión de microesferas de anticuerpo se dispuso con cuidado en el tubo de centrifuga, sobre el no-disolvente congelado para asegurar que no se producía esencialmente ninguna mezcla de los dos sistemas. El no-disolvente se descongeló y se enfrió disponiendo el tubo de centrifuga en un baño de agua a aproximadamente 37°C durante aproximadamente 15 minutos, después en otro baño de agua a aproximadamente 4°C durante aproximadamente 30 minutos, y después sobre hielo durante aproximadamente 10 minutos. El tubo de centrifuga se centrifugó a 3.000 x g a aproximadamente 4°C durante aproximadamente 10 minutos para realizar una migración selectiva de las micropartículas de la fase continua dentro del no-disolvente y a través del mismo. En el fondo del tubo de centrifuga se observó una pella de las microesferas de anticuerpo, algunas microesferas se mantenían en suspensión en el no-disolvente y la mayor parte de la fase continua permanecía sobre el no-disolvente. La mayoría (más de aproximadamente 1 ml) del sobrenadante se extrajo del tubo de centrifuga por aspiración, y la parte restante (menos de aproximadamente 1 ml del no-disolvente y la pella) en el tubo de centrifuga era adecuada para el uso final (por ejemplo inyección, inhalación) después de una resuspensión con agitación, ya que el no-disolvente empleado en este ejemplo era un vehículo fluido farmacéuticamente aceptable (por ejemplo un diluyente).

Ejemplo 5

En primer lugar se prepararon aproximadamente 20 l de una solución de reacción acuosa disolviendo inmunoglobulina humana (Bayer Corp., Elkhart, IN) en una concentración de aproximadamente 1 mg/ml en un tampón de acetato de amonio (pH 5,8) que contenía aproximadamente un 12% p/v de un material no volátil representativo (un polímero no iónico, poloxámero 188). La solución de reacción se calentó a aproximadamente 50°C y después se enfrió de forma gradual a aproximadamente 4°C durante aproximadamente 2 horas para formar una fase dispersa que contenía microesferas de IVIG en una fase continua que contenía la solución acuosa en la que estaba disuelto el poloxámero 188. Aproximadamente a 4°C, un volumen (aproximadamente 200 ml) de un no-disolvente (PEG 300 anhidro) con una densidad mayor que la de la fase continua de la dispersión de microesferas de anticuerpo se bombeó al interior del rotor de una centrifuga de flujo continuo (Sorvall® Contifuge®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) mientras se realizaba una rotación a 20.000 x g a aproximadamente 4°C. La

5 suspensión de microesferas de anticuerpo se bombeó al interior del rotor con un caudal de aproximadamente 120 ml/minuto, seguida de un primer volumen (aproximadamente 1 l) de un primer "perseguidor" (agua desionizada) y un segundo volumen (aproximadamente 1 l) de un segundo "perseguidor" (PEG 300 anhidro), todo ello con el mismo caudal. Los "perseguidores" se utilizaron para eliminar por lavado el exceso de poloxámero 188 y el agua residual. El rotor se detuvo y se vació de todos los fluidos. Las microesferas de IVIG acumuladas sobre la pared interior del rotor en forma de una pasta viscosa se recogieron con medios mecánicos (por ejemplo se desprendieron por raspado).

10 Una parte alícuota de las microesferas de anticuerpo recogidas se examinó mediante microscopía óptica (aumento 500x) después de suspenderla en un volumen de PEG 300 anhidro. Se comprobó que las microesferas de IVIG consistían principalmente en microesferas discretas con un diámetro de aproximadamente 2-3 micras, con poca aglomeración. La adición de PBS produjo una solución visiblemente clara en un plazo de unos segundos, lo que indicaba que las microesferas de IVIG recogidas eran solubles en PBS y no incluían ningún agregado de IVIG visiblemente insoluble.

Ejemplo 6

15 En primer lugar se prepararon aproximadamente 20 l de una solución de reacción acuosa disolviendo inmunoglobulina humana G (IgG) en una concentración de aproximadamente 1 mg/ml en un tampón de acetato de amonio (pH 5,8) que contenía aproximadamente un 12% p/v de poloxámero 188. La solución de reacción se calentó a aproximadamente 50°C y después se enfrió de forma gradual a aproximadamente 4°C durante aproximadamente 2 horas para formar una fase dispersa que contenía microesferas de IgG en una fase continua que contenía la solución acuosa en la que estaba disuelto el poloxámero 188. Aproximadamente a 4°C, un volumen
20 (aproximadamente 200 ml) de un no-disolvente que comprendía aproximadamente un 75% p/v de agua desionizada, un 25% p/v de PEG-3350, histidina 10 mM, NaCl 100 mM, y que tenía un pH de aproximadamente 7,4 y una densidad mayor que la de la fase continua se bombeó al interior del rotor de una centrifuga de flujo continuo (Sorvall® Contifuge®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) mientras se realizaba una rotación a 20.000 x g a aproximadamente 4°C. La suspensión de microesferas de anticuerpo se bombeó al interior del rotor con un caudal
25 de aproximadamente 120 ml/minuto, seguida de un primer volumen fresco (aproximadamente 1 l) del no-disolvente como "perseguidor" para eliminar por lavado el exceso de poloxámero 188 de las microesferas recogidas. El rotor se detuvo y se vació de todos los fluidos. Las microesferas de IgG acumuladas sobre la pared interior del rotor en forma de una pasta viscosa se recogieron con medios mecánicos (por ejemplo se desprendieron por raspado).

30 Una parte alícuota de las microesferas de anticuerpo recogidas se examinó mediante microscopía óptica (aumento 500x) después de suspenderla en un volumen fresco del no-disolvente. Se comprobó que las microesferas de IgG consistían principalmente en microesferas discretas con un diámetro de aproximadamente 2-3 micras, con poca aglomeración. La concentración de IgG humana en las microesferas de anticuerpo recogidas se determinó diluyendo una parte alícuota de las microesferas recogidas en 1000 partes en volumen de PBS (microesferas de IgG disueltas por completo), y midiendo la densidad óptica de la dilución a 280 nm. Sobre la base de un coeficiente de extinción
35 de aproximadamente 1,38, se determinó que la concentración de IgG en la solución de reacción era de aproximadamente 298 mg/ml. Comparando esta concentración con la concentración de 1 mg/ml de IgG en la solución de reacción, el proceso arriba descrito concentró las moléculas de IgG en un factor de aproximadamente 300.

REIVINDICACIONES

1. Método para procesar dispersiones multifásicas, que comprende:
 - proporcionar una dispersión multifásica que incluye fases dispersas y continuas, comprendiendo la dispersión micropartículas sólidas y conteniendo al menos la fase continua un primer material no volátil; y
 - proporcionar un no-disolvente;
 - 5 combinar la dispersión multifásica y el no-disolvente; y
 - Llevar a cabo una migración selectiva de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo de modo que la mayoría de las micropartículas se separa de la dispersión,
 - 10 donde la fase continua es acuosa o miscible con líquidos acuosos, comprendiendo el primer material no volátil un polímero no iónico soluble en líquidos acuosos o un polímero no iónico miscible con líquidos acuosos, siendo las micropartículas esencialmente insolubles en el no-disolvente y teniendo el no-disolvente una densidad mayor que la de la fase continua o una viscosidad mayor que la de la fase continua,
 - donde proporcionar el no-disolvente comprende introducir el no-disolvente en un aparato de centrifugación para formar así una capa de no-disolvente dentro de éste,
 - 15 donde combinar la dispersión multifásica y el no-disolvente comprende la disposición de una capa de la dispersión multifásica sobre una superficie superior de la capa de no-disolvente, formando así una composición en capas; y
 - donde la migración selectiva de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo comprende una centrifugación de la composición en capas.
- 20 2. Método según la reivindicación 1, que adicionalmente comprende proporcionar del no-disolvente en un tubo de centrífuga, congelar el no-disolvente en el tubo de centrífuga antes de combinar la dispersión multifásica y el no-disolvente, y después descongelar el no-disolvente antes de la realización selectiva de una migración de las micropartículas dentro del no-disolvente o a través del mismo.
- 25 3. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque el aparato de centrifugación comprende una centrífuga de flujo continuo.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque el no-disolvente comprende un segundo material no volátil.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque el no-disolvente es un diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 30 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, caracterizado porque las micropartículas tienen una densidad D_p , la fase continua tiene una densidad D_c y el no-disolvente es homogéneo con una densidad D_n , tal que $D_p \geq D_n \geq D_c$.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, caracterizado porque el no-disolvente comprende un gradiente de densidad.
- 35 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, caracterizado porque el no-disolvente comprende uno o más componentes seleccionados de entre el grupo consistente en líquidos acuosos, líquidos orgánicos, líquidos halogenados, materiales no volátiles y combinaciones de los mismos.
9. Método según la reivindicación 4, caracterizado porque la concentración del segundo material no volátil en el no-disolvente es mayor que la concentración del primer material no volátil en la dispersión.
- 40 10. Método según la reivindicación 9, caracterizado porque el segundo material no volátil es diferente del primer material no volátil y tiene un menor peso molecular que éste.
- 45 11. Método según la reivindicación 4, caracterizado porque el primer y el segundo material no volátil comprenden polímeros no iónicos seleccionados independientemente 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 que contienen pirrolidona no

iónicos, carbohidratos poliméricos no iónicos, derivados y sales de dichos materiales, y combinaciones de los mismos.

12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, caracterizado porque el no-disolvente es soluble en la fase continua o es miscible con ésta.
- 5 13. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-12, caracterizado porque las micropartículas comprenden al menos un agente activo.
14. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-13, caracterizado porque el agente activo se selecciona de entre el grupo consistente en agentes bioactivos, agentes farmacéuticos, agentes diagnósticos, suplementos nutricionales y agentes cosméticos.
- 10 15. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-14, caracterizado porque el agente activo es un agente bioactivo que comprende al menos una macromolécula bioactiva seleccionada de entre el grupo consistente en carbohidratos, péptidos, proteínas, vectores, ácidos nucleicos y complejos, conjugados y combinaciones de los mismos.