

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 631 454**

51 Int. Cl.:

B01J 13/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2010 PCT/FR2010/000523**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.01.2011 WO11010017**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2010 E 10750148 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.04.2017 EP 2456550**

54 Título: **Procedimiento de fabricación de cápsulas**

30 Prioridad:

20.07.2009 FR 0955035

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

31.08.2017

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (50.0%)
3, rue Michel-Ange
75016 Paris, FR y
UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MASSIERA, GLADYS;
LOISEAU, ETIENNE y
ABKARIAN, MANOUK**

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 631 454 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

Procedimiento de fabricación de cápsulas

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere al campo de la fabricación de cápsulas útiles, en concreto, para encapsular una muestra de interés o como herramienta de calibración de material de análisis.

10 **Estado de la técnica**

Ya se han descrito en la literatura varios métodos para producir unas cápsulas. Por ejemplo, para un tipo de cápsulas cuya envoltura es una bicapa, existen unos métodos de hidratación, en particular, la electroformación, que consisten en hidratar una película de lípidos y que permiten producir unas cápsulas de buena calidad, pero con un rendimiento muy escaso y una gran polidispersidad en el tamaño de las cápsulas obtenidas. También existen unos métodos de producción de doble emulsión seguida de una evaporación del disolvente comprendido entre las dos monocapas anfífilicas; o también unos métodos de producción de una emulsión calibrada por microfluidica, después de dispersión de la emulsión producida en una solución acuosa de agua y de etanol.

No obstante, ninguno de los métodos que anteceden permiten fabricar, en unos plazos cortos, unas cantidades importantes de cápsulas de tamaño controlado, de buena calidad, es decir, esféricas y sin defecto, con una buena reproducibilidad del método. Por otra parte, un gran número de los métodos de la técnica anterior hacen que intervengan unos disolventes orgánicos, a menudo tóxicos, que hay que eliminar antes de poder utilizar las cápsulas.

El Solicitante se ha interesado particularmente por un método descrito en Pautot et al., Langmuir 2003, 19, 2.870 - 2.879, en el que una emulsión invertida se prepara por mezcla de una fase acuosa y de una primera fase oleaginoso en presencia de surfactante: las moléculas de surfactante presentes en el aceite se adsorben en la superficie de la gota acuosa y forman una monocapa. Una doble fase constituida por una fase acuosa, por una interfaz y por una fase intermedia se prepara a continuación como sigue: se vierte una segunda fase oleaginoso igualmente adicionada de surfactante sobre una fase acuosa, y se deja que se forme una interfaz. Siendo el aceite menos denso, permanece por encima del agua. La emulsión preparada inicialmente se vierte sobre esta doble fase, y las vesículas, más pesada que la fase oleaginoso, sedimentan hacia la fase acuosa. Atravesando la interfaz, se cubren de una segunda capa lipídica. En PNAS 2003, 19, vol. 100, 10.718 -10.721, Pautot et al. describe la fabricación de vesículas con membrana asimétricas a partir del mismo tipo de emulsión que la citada más arriba, y del mismo tipo de fase intermedia, después la aplicación de una fuerza centrífuga de 120 x g durante 10 minutos para transferir las gotitas de agua a través de la interfaz aceite/agua hacia la fase acuosa inferior.

No obstante, el método de Pautot et al., con o sin centrifugación, no permite obtener unas suspensiones de vesículas que tengan una polidispersidad satisfactoria. Por otra parte, los métodos de Pautot et al., no son lo suficientemente reproducibles para implementarse industrialmente.

Sophie PAUTOT, E.A.: "Production of Unilamellar Vesicles Using an Inverted Emulsion", LANGMUIR, vol. 19, nº. 7, 19 de febrero de 2003 (2003-02-19), páginas 2.870-2.879, XP002575093, describe un procedimiento de fabricación de vesículas, que comprende la puesta en contacto de una emulsión inversa con una fase de aceite que se encuentra en un tubo. En cambio, este documento no describe un procedimiento de fabricación en continuo y en una sola etapa.

En el campo de producción de cápsulas, se conoce que la productividad del método es un factor industrial importante. Unos procedimientos industrialmente eficaces y reproducibles, que permitan poder controlar el núcleo de la cápsula y la formación de las propias cápsulas, en su naturaleza, en su calidad, en su cantidad y en su índice de polidispersidad de manera que se controle la producción, se buscan siempre, por lo tanto.

Objeto de la invención

Por lo tanto, la invención tiene como objeto un nuevo procedimiento de fabricación de cápsulas, que es un procedimiento en una sola etapa, económico, sólido y que permite un control fino del tamaño de las cápsulas producidas y un alto rendimiento. El procedimiento según la invención permite obtener unas cápsulas que son sin defecto. La implementación del procedimiento según la invención evita cualquier coalescencia de las cápsulas entre sí.

Más concretamente, la invención se refiere a un procedimiento de fabricación en una sola etapa de cápsulas de 1 a 100 micras, que tienen un índice de polidispersidad inferior a un 10 %, tal como se define en la reivindicación 1, comprendiendo dicho procedimiento la puesta en contacto de gotitas de tamaños homogéneos de una composición acuosa, emitidas en continuo, con una fase intermedia que se encuentra en una cámara en rotación, comprendiendo dicha cámara una fase acuosa y una fase intermedia, formando estas dos fases una interfaz, a través de la cual dichas gotitas están forzadas por el efecto de la fuerza centrífuga generada por la rotación de la cámara, después la

recuperación de una suspensión acuosa de cápsulas. Por el efecto de la fuerza centrífuga, la interfaz es vertical. Ventajosamente, la fase intermedia es una dispersión de moléculas anfífilas en un disolvente no miscible en el agua y de densidad inferior a la del agua.

5 Siguiendo un modo de realización preferente de la invención, la fase acuosa tiene una densidad inferior en al menos 0,5 a 25 g/l a la densidad de la composición acuosa; ventajosamente, la fase acuosa y la composición acuosa son isoosmóticas. De manera particular, la composición acuosa se inyecta por medio de capilares a un caudal de 100 a 500 $\mu\text{l/h}$, preferentemente 150 a 250 $\mu\text{l/h}$, o a una presión fija de 80 a 500 mbar, preferentemente 100 a 200 mbar (según el tamaño del capilar) en la fase intermedia que se encuentra en la cámara en rotación, a una distancia fija y
10 determinada de la interfaz, teniendo como resultado dicha inyección, por la rotación, la producción de gotitas a intervalos regulares en la fase intermedia por un mecanismo de gota a gota o bien de chorro según el tamaño de las gotas que se desee producir. La polidispersidad de las gotitas producidas es, según el procedimiento de la invención, dependiente del tamaño del capilar y del número capilar de la fluencia en el extremo del capilar, siendo este número inferior a 1, preferentemente de 10^{-4} a 10^{-1} , muy preferentemente de aproximadamente $0,5 \cdot 10^{-3}$.

15 En otro modo de realización de la invención, la fase acuosa se inyectará a partir de un cilindro perforado que permite multiplicar el número de puntos de inyecciones y, por lo tanto, el rendimiento.

20 Se describe un dispositivo de implementación del procedimiento según la invención, comprendiendo este dispositivo

- una cámara en la cual se formarán las cápsulas; siendo esta cámara susceptible de ponerse en rotación, comprendiendo dicha cámara una fase acuosa y una fase intermedia, y
- unos medios de poner en contacto la composición acuosa con el contenido de la cámara.

25 Se describe igualmente una suspensión de cápsulas, susceptible de obtenerse por el procedimiento de la invención. En un modo de realización particular las cápsulas pueden sedimentarse sobre un sustrato para formar una red que se parece a un tejido artificial. Preferentemente, este tejido artificial es un tapiz de vesículas pegadas las unas a las otras. Estas cápsulas pueden contener unos filamentos de actina. Este tejido se obtiene a partir del procedimiento, por sedimentación de la suspensión directamente obtenida por el procedimiento según la invención.

30 Ventajosamente, las cápsulas de la suspensión de cápsulas comprenden una envoltura y un núcleo de composición acuosa. En un primer modo de realización, el espesor de la envoltura está comprendido entre 1 nm y 10 micras, preferentemente entre dos veces el tamaño de la molécula anfífila dispersada a 10 micras. En un primer modo de realización donde la envoltura es una bicapa lipídica, el espesor de la envoltura está comprendido entre 1 a 100 nm, muy preferentemente de 5 a 20 nm; en un segundo modo de realización donde la envoltura está constituida por fase
35 intermedia, el espesor de la envoltura es inferior o igual al radio del núcleo, y preferentemente está comprendido entre 100 nm a 10 micras. En este segundo modo de realización, el volumen de la envoltura puede tener de 3 a 10 veces, preferentemente aproximadamente 7 veces, el volumen del núcleo.

40 Se describe igualmente la utilización del procedimiento según la invención, para encapsular unas composiciones acuosas que comprenden o constituidas por unos principios activos farmacéuticos, unos activos cosméticos, unas sustancias biológicas, por ejemplo, unos ácidos nucleicos, unas proteínas, unas soluciones coloidales, unas muestras biológicas humanas o medioambientales, o también para encapsular unos productos sanguíneos. Se describe igualmente una suspensión de cápsulas susceptible de obtenerse por el procedimiento de la invención,
45 encapsulando dichas cápsulas unos principios activos farmacéuticos, unos activos cosméticos, unos ácidos nucleicos, unas proteínas, unas muestras biológicas humanas o medioambientales, o también unos productos sanguíneos (suspensión de hemoglobina o de sustituto sanguíneo, o cualquier producto sanguíneo lábil o estable, en concreto, del tipo concentrado de glóbulo rojo, concentrado de plaquetas, plasma; o también un medicamento derivado de la sangre del tipo, en concreto, proteínas coagulantes, inmunoglobulinas, albúmina).

50 Se describe igualmente la utilización del procedimiento según la invención, para la producción de productos sanguíneos artificiales, en concreto, de sustitutos sanguíneos. En un primer modo de realización, la envoltura es preferentemente una bicapa permeable a los gases e impermeable a la hemoglobina. Se describe igualmente una suspensión de cápsulas susceptible de obtenerse por el procedimiento de la invención, encapsulando dichas
55 cápsulas hemoglobina y siendo la envoltura de dicha cápsula permeable a los gases e impermeable a la hemoglobina.

60 Se describe igualmente la utilización de una suspensión de cápsulas como herramienta de calibración. En efecto, el procedimiento según la invención permite un control perfecto del tamaño y del contenido de las cápsulas, que permite de este modo utilizar unas suspensiones de cápsulas según la invención como herramienta de calibración.

En el sentido de la presente invención, el término:

65 - "cápsula" hace referencia a una esfera limitada por una envoltura susceptible de contener una composición acuosa, teniendo esta esfera un diámetro de 1 a 100 micras, preferentemente 5 a 80 micras, más preferentemente de 10 a 30 micras; en un modo de realización particular, la cápsula según la invención es una

vesícula, esto es, una cápsula cuya envoltura es una bicapa de anfífilico, preferiblemente una bicapa lipídica;

- "polidispersidad" hace referencia a la distribución de tamaño de una población de cápsulas. Esta se obtiene por análisis de imágenes, detectando los contornos de las cápsulas y ajustándolos con un círculo. El histograma de los diámetros de los círculos permite obtener la media y la varianza de la distribución, definiendo la relación varianza sobre media el índice de polidispersidad. Cuanto más pequeña es esta relación, más estrecha es la distribución y más se acerca la solución de cápsulas a una solución monodispersa de cápsulas.
- "Fase intermedia" hace referencia a una composición líquida, susceptible de estar compuesta por varios fluidos de masas volúmicas diferentes, siendo dicha fase intermedia:
 - de masa(s) volúmica(s) inferior(es) a la de la composición acuosa y a la de la fase acuosa,
 - no miscible con la composición acuosa y/o la fase acuosa
 - comprende o está constituida por unas moléculas anfífilicas, que pueden elegirse de entre, en concreto, unos lípidos, unos polímeros di, tri o multibloques, unos tensioactivos, unas proteínas.

De este modo, la invención tiene como objeto un procedimiento de fabricación de cápsulas o de una suspensión de cápsulas de 1 a 100 micras, que tienen un índice de polidispersidad inferior a un 10 %, preferentemente inferior a un 9 %, preferentemente inferior a un 7 %, muy preferentemente de aproximadamente un 6 %, en una sola etapa. El procedimiento se efectúa en continuo, la composición acuosa puede inyectarse a partir del capilar en la fase intermedia con una presión de 80 mbar a 500 mbar, preferentemente de 100 a 200 mbar, y las gotitas de composición acuosa se arrancan del extremo del capilar por la fuerza relacionada con la rotación del líquido (la fase intermedia) con el que el extremo del capilar está en contacto, situado en la cámara. De este modo, las gotitas llegan secuencialmente a la fase intermedia.

Esta fase intermedia es tal que el régimen de la fluencia del fluido alrededor del capilar es de escaso número capilar (inferior a 1), lo que asegura un régimen de gota a gota de la composición acuosa, estando este régimen dominado por la tensión interfacial entre la composición acuosa y la fase intermedia, y, por lo tanto, una gran reproducibilidad del tamaño de las gotas, es decir, un escaso índice de polidispersidad de las gotas de composición acuosa.

Cada gota arrancada del capilar está sometida a la fuerza centrífuga y se aleja rápidamente del capilar hacia la interfaz: de este modo, se evitan los fenómenos de coalescencia, por lo menos se minimizan.

Siguiendo un primer modo de realización, la fase intermedia comprende o consiste en dos capas de fluidos, de densidades diferentes: una primera capa menos densa y menos viscosa que la segunda, permite mantener un número capilar bajo para que el mecanismo de gota a gota de composición acuosa esté dominado por la tensión interfacial, lo que permite obtener una distribución de tamaño optimizado; una segunda capa, que es una dispersión de moléculas anfífilicas.

Siguiendo un segundo modo de realización, se utilizará una fase intermedia que incluye una capa única, la de la dispersión de moléculas anfífilicas, preferentemente de lípidos.

El espesor de la fase intermedia y la concentración de moléculas anfífilicas de esta fase intermedia de capa única, o de la segunda capa de la fase intermedia bicapa, son dos parámetros dependientes. De este modo, la concentración de moléculas anfífilicas fija el tiempo de adsorción de las moléculas anfífilicas sobre las gotas de composición acuosa hasta saturación. El espesor de esta capa de fase intermedia deberá elegirse, por lo tanto, de forma que las gotas formadas a partir del capilar en vuelo en la fase intermedia hayan tenido el tiempo de cubrirse hasta saturación de moléculas anfífilicas antes de alcanzar la interfaz. Siguiendo un modo de realización preferente de la invención, la concentración de moléculas anfífilicas es de 0,05 a 5 mM, preferentemente 0,1 a 1 mM, muy preferentemente de aproximadamente 0,5 mM.

La composición acuosa puede ser cualquier composición de interés, en concreto, del tipo que contiene unas sustancias biológicas, por ejemplo, unos ácidos nucleicos, unas proteínas, unas muestras biológicas humanas (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas...) o medioambientales, unos principios activos farmacéuticos, unos activos cosméticos, unas soluciones coloidales, etc. Siguiendo un modo de realización particular de la invención, la composición acuosa es un producto sanguíneo, preferentemente una suspensión de hemoglobina o de sustituto sanguíneo, o cualquier producto sanguíneo lábil o estable, en concreto, del tipo concentrado de glóbulo rojo, concentrado de plaquetas, plasma; o también un medicamento derivado de la sangre del tipo, en concreto, proteínas coagulantes, inmunoglobulinas, albúmina.

Siguiendo un modo de realización de la invención, la composición acuosa comprende unos lípidos; este modo de realización se prefiere cuando el lípido utilizado es más soluble en la composición acuosa que en la fase intermedia.

En un modo de realización, la fase intermedia es una dispersión de moléculas anfífilicas, preferentemente de lípidos, en una composición cuya densidad es inferior a la del agua, que puede ser, en concreto, un aceite mineral o una mezcla de aceites minerales, un alcano o una mezcla de alcanos, un alqueno o una mezcla de alquenos, un terpeno o una mezcla de terpeno u otros disolventes como el cloroformo, el tolueno o un alcohol (metanol, etanol). Ventajosamente, la composición es decano, el hexadecano, el dodecano, el escualeno. Según un modo de realización preferente de la invención, los lípidos se secan previamente a su dispersión en el aceite, de manera que

estén tan libres como sea posible, de agua. Preferentemente, la dispersión de las moléculas anfífilas en el aceite se efectúa por sonicación.

5 Siguiendo un modo de realización particular, la fase intermedia es una dispersión de lípidos en un aceite cuya densidad es inferior a la del agua, colocándose dichos lípidos en un disolvente miscible en el aceite, después el conjunto se mezcla con el aceite, evaporándose dicha dispersión a continuación para eliminar el disolvente y las eventuales trazas de agua.

10 Siguiendo un modo de realización particular de la invención, la fase acuosa es una solución salina o suero fisiológico, o una solución que comprende al menos un azúcar. Ventajosamente, la fase acuosa es una solución de glucosa. Siguiendo un modo de realización preferente, la fase acuosa es isoosmótica con la composición acuosa.

15 Siguiendo la invención, la composición acuosa, que se volverá el núcleo de la cápsula, se pone en contacto con la fase intermedia por inyección de gotitas de esta composición, siendo estas gotas de tamaño controlado y homogéneo, a una distancia fija y determinada de la interfaz.

20 Siguiendo un modo de realización particular de la invención, el medio de inyección de gotas de composición acuosa de tamaño controlado en la fase intermedia es uno o varios capilares, de 2 a 50 micras. Ventajosamente, estos capilares se forman con la ayuda de una estiradora de micropipeta, después el exterior del capilar se hace hidrófobo por cualquier medio apropiado. Siguiendo un modo de realización particular de la invención, el extremo del capilar se introduce en la fase intermedia en la proximidad de la interfaz aire-fase intermedia y la composición acuosa contenida en el capilar se inyecta a una tasa de 100 a 500 $\mu\text{l/h}$, preferentemente 250 $\mu\text{l/h}$.

25 Las gotitas inyectadas se someten a la fuerza centrífuga debida a la rotación de la cámara y, por la acción de esta fuerza centrífuga, efectúan un trayecto en la cámara, llamado "vuelo". Siguiendo un modo de realización de la invención, durante el vuelo, las gotitas se recubren de las moléculas anfífilas dispersadas en la fase intermedia. El tiempo de vuelo, es decir, el tiempo para que la gotita pase a la fase intermedia entre el momento en que se arranca del capilar hasta que entra en contacto con la interfaz, se controla por la fuerza centrífuga. El tiempo de vuelo también depende del radio de la gotita, de la viscosidad de la fase intermedia, y del espesor de la fase intermedia. El control del tiempo de vuelo permite obtener una buena calidad de cápsulas, esto es, esféricas y sin defecto de la envoltura.

30 De este modo, según la invención, el procedimiento se optimiza en función del tamaño de la cámara, y en función del tiempo de vuelo necesario para una buena cobertura de la gotita. De este modo, la determinación de la velocidad optimizada de rotación de la cámara se determina por ensayos sucesivos, muy sencillos de implementar para el experto en la materia.

35 Las cápsulas terminan el vuelo cuando entran en contacto con la interfaz, después, atraviesan la interfaz: durante esta travesía, en un primer modo de realización, se cubren de una segunda capa de moléculas anfífilas, para formar unas cápsulas bicapa anfífilas.

En un segundo modo de realización, la cápsula arrastra fase intermedia durante su travesía de la interfaz para formar unas cápsulas espesas.

45 Una vez atravesada la interfaz, las cápsulas se encuentran en la fase acuosa, de la cual se recuperan, por cualquier medio adecuado.

50 Ventajosamente, el procedimiento según la invención es un procedimiento de alto rendimiento, es decir, que permite una frecuencia de producción de 1 a 1.000 Hz, preferentemente de 500 a 1.000 Hz. Unas frecuencias más elevadas pueden obtenerse por sencilla adaptación del procedimiento.

La frecuencia de emisión de las gotitas se optimiza en función del tiempo de vuelo y del tiempo de paso de la interfaz, para evitar la coalescencia, en concreto, en vuelo y a la altura de la superficie de la interfaz.

55 En el modo de realización de la invención que utiliza unos capilares, las gotas se arrancan de los capilares a intervalos regulares.

60 La fuerza centrífuga tiene como efecto que hace variar el espesor de la envoltura; determina igualmente el tiempo de vuelo y el tiempo de paso a través de la interfaz, y, finalmente, tiene una influencia sobre el paso a través de la interfaz como tal.

Descripción de las figuras

65 La invención podrá comprenderse mejor con la lectura de la descripción que va a seguir que ilustra de manera no limitativa la invención y se lee con respecto a las figuras 1, 2 y 3.

La Figura 1 es un esquema de la cámara de fabricación de las cápsulas en vista desde arriba y en vista de lado y se lee con referencia al ejemplo 1.

La Figura 2 es un esquema de la cámara de fabricación de las cápsulas en vista desde arriba y en vista de lado y se lee con referencia al ejemplo 2.

5 La Figura 3 es un gráfico que muestra la polidispersidad de las suspensiones de cápsulas susceptibles de obtenerse por el procedimiento según la invención.

Descripción detallada de la invención

10 Ejemplo 1

Disolución de los lípidos y evaporación de las trazas de agua

15 Los lípidos (Egg Phosphatidyl Choline) se disuelven en 2 ml de metanol, después evaporado a una presión de 200 mbar durante 5-10 minutos a una temperatura de 40 °C. Una vez que el matraz está recubierto de una película homogénea de lípidos, la evaporación se prosigue durante una hora a la presión de 100 mbar (y una temperatura de 40 °C). El aceite mineral (SIGMA® M3516) se añade entonces a unos lípidos (Egg Phosphatidyl choline) a una concentración de 0,5 mM. Para dispersar los lípidos, la solución se somete a sonicación en un baño a la temperatura de 40 °C.

20 Preparación de los capilares

25 Unos capilares entre 2 y 50 micras se forman con la ayuda de una estiradora de micropipeta, después se silanizan mojando la punta capilar en una solución de silano (un 0,1 % de [3-(trimetoxisilil)propil] octadecil-dimetilamonio cloruro se añade a un 90 % de metanol, un 10 % de agua mezcla) durante 2 minutos utilizando un flujo de nitrógeno por medio del capilar para evitar que su parte interior se silanice. Esta silanización tiene como función hacer el exterior del capilar hidrófobo.

30 Descripción de la cámara

La cámara en la cual se forman las cápsulas está compuesta por una placa de Petri de 4 cm de diámetro cerrada herméticamente por pegado, y, por lo tanto, la parte superior está provista de un orificio de 1 cm con el fin de permitir la entrada del capilar.

35 Producción de las cápsulas

40 La cámara se fija sobre un motor en rotación (en este caso un motor que permite pasar de 5 a 70 giros por segundo). La cámara está en rotación a 10 giros por segundo, después se llena sucesivamente con 1,5 ml de solución de glucosa, 5 ml de solución de lípidos, que forman instantáneamente una interfaz vertical debido a la fuerza centrífuga. El capilar se introduce a continuación en la solución de lípidos en el aceite, en la proximidad de la interfaz aire-aceite y una solución de sacarosa se inyecta entonces a partir del capilar a una presión que va de 80 mbar a 500 mbar o de forma equivalente, a una tasa de 250 µl/h. En la Figura 1 se representa una cámara que contiene las dos capas de fluidos (solución acuosa, aceite). La cámara está en rotación alrededor de su eje de revolución a una frecuencia que puede ir de 5 a 70 giros por segundos. Los fluidos se encuentran, por lo tanto, en forma de capas verticales superpuestas, de la más densa (la más excéntrica) a la menos densa. La Figura 1 ilustra igualmente el principio de formación de las cápsulas según la invención: unas gotas se producen en primer lugar por inyección de una composición acuosa en la fase intermedia en movimiento de rotación, después, la gota se empuja por la fuerza centrífuga a través de la interfaz fase intermedia-fase acuosa, para volverse una cápsula.

50 Ejemplo 2

En la Figura 2 se representa un modo de realización particular de la invención, que utiliza una capa de aceite suplementaria, menos densa y menos viscosa que la otra capa de aceite, que permite asegurar un gota a gota dominado por la tensión interfacial (régimen capilar).

55 De este modo, para una distribución de tamaño muy estrecho, se ha utilizado una capa suplementaria de 1,5 ml de otro aceite (el decano), de viscosidad y de densidad inferior a la del aceite mineral y en el que se ha inyectado la solución de sacarosa. Una viscosidad más escasa, asegura que la producción de las gotitas por gota a gota está regulada por la tensión interfacial. Por ejemplo, el número capilar para unas gotitas de agua liberadas en el aceite mineral a 30 giros por segundo es igual a 0,14, mientras que solo es de 0,004 si las gotas se inyectan en decano. Las gotitas se forman de forma secuencial, recubiertas por los lípidos en el transcurso de su trayecto (vuelo) a través de la capa de solución lipídica, antes de atravesar la interfaz solución de aceite-glucosa, en el transcurso de la cual se recubren de una capa suplementaria de lípidos y se vuelven entonces unas cápsulas, en nuestro caso llena de sacarosa, y dispersadas en glucosa. La Figura 3 indica la distribución de tamaño de cápsulas obtenida con un capilar de 10 micras, una velocidad de 30 giro/s (x40 g), y una inyección a partir del capilar en decano a 400 mBar.

65

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de fabricación en continuo y en una sola etapa de una suspensión de cápsulas que tienen un diámetro de 1 a 100 micras y un índice de polidispersidad inferior a un 10 %,
5 implementándose dicho procedimiento en una cámara en rotación que contiene una fase acuosa y una fase intermedia,
comprendiendo dicho procedimiento la puesta en contacto de una composición acuosa, que se volverá el núcleo de la cápsula, con dicha fase intermedia por inyección de gotitas de esta composición acuosa, siendo estas gotitas de tamaño controlado y homogéneo, a una distancia fija y determinada de la interfaz entre dicha fase intermedia y dicha
10 fase acuosa, a través de la cual dichas gotitas están forzadas por el efecto de la fuerza centrífuga generada por la rotación de la cámara,
después la recuperación de una suspensión acuosa de cápsulas.
2. Procedimiento según la reivindicación **1**, en el que la fase intermedia es una dispersión de moléculas anfífilas en un disolvente no miscible en el agua y de densidad inferior a la del agua.
15
3. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones **1** o **2**, en el que la fase acuosa tiene una densidad inferior a la de la composición acuosa y la fase acuosa y la composición acuosa son isoosmóticas.
- 20 4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones **1** a **3**, en el que la composición acuosa se inyecta por medio de capilares a un caudal de 100 a 500 $\mu\text{l}/\text{h}$ o a una presión fija de 80 a 500 mbar en la fase intermedia que se encuentra en la cámara en rotación, a una distancia fija y determinada de la interfaz, teniendo como resultado dicha inyección la producción de gotitas a intervalos regulares en la fase intermedia.
- 25 5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones **1** a **4**, en el que la polidispersidad de las gotitas producidas es dependiente del número capilar de la fluencia en el extremo del capilar.
6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones **2** a **5**, en el que las moléculas anfífilas dispersadas en la fase intermedia se eligen de entre los lípidos.
30

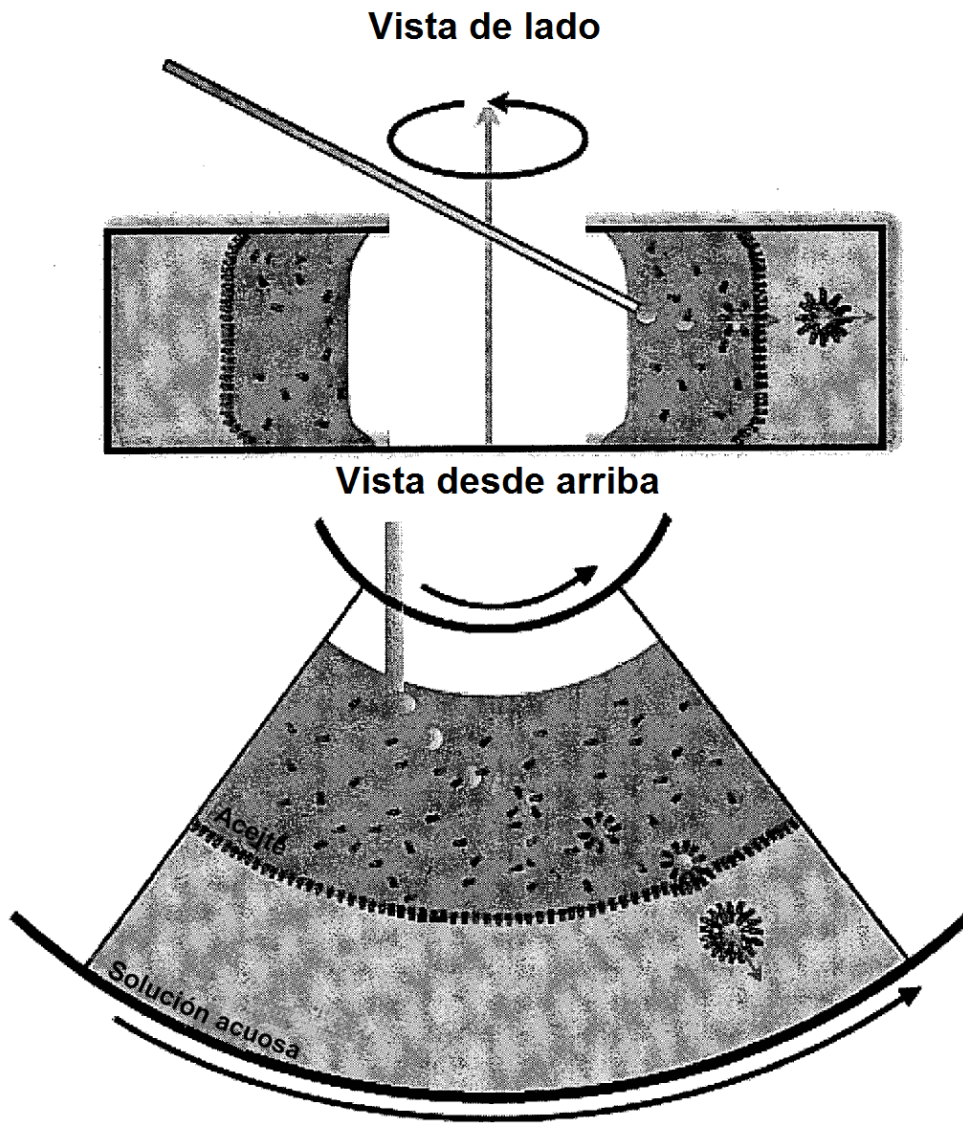


Figura 1

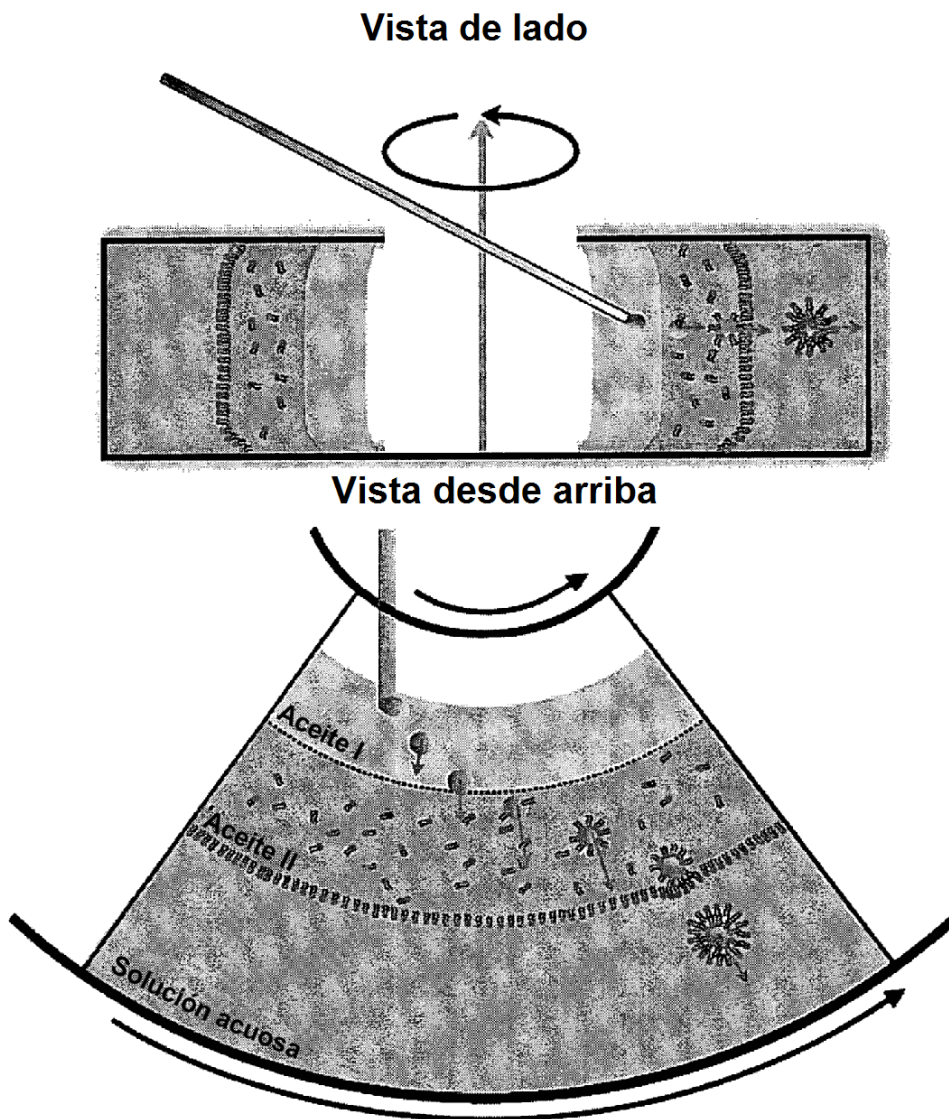


Figura 2

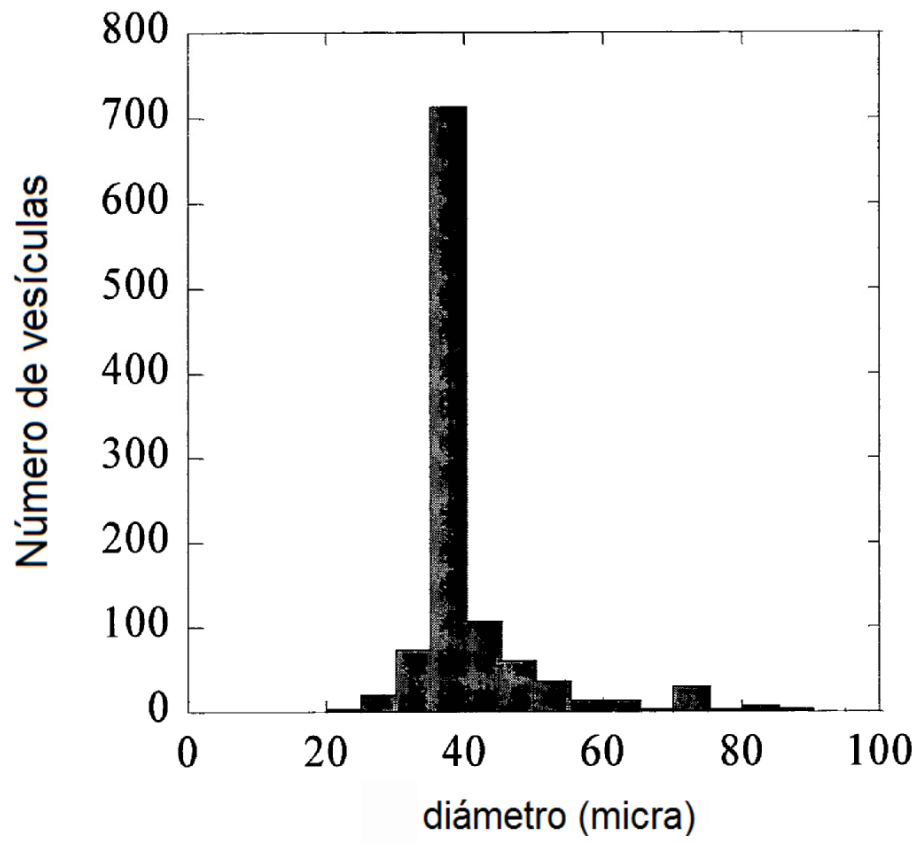


Figura 3