

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 538**

51 Int. Cl.:

**C08J 3/12** (2006.01)  
**C08L 67/04** (2006.01)  
**C08K 5/42** (2006.01)  
**C08J 3/14** (2006.01)  
**B29B 9/12** (2006.01)  
**C08G 63/06** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.06.2010** **PCT/KR2010/003610**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.12.2010** **WO10140865**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2010** **E 10783614 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.05.2017** **EP 2439228**

54 Título: **Micropartículas poliméricas biodegradables y procedimiento de preparación de las mismas**

30 Prioridad:

**05.06.2009 KR 20090050043**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la  
traducción de la patente:  
**04.10.2017**

73 Titular/es:

**REGEN BIOTECH INC. (100.0%)**  
**1st Fl. 60, 209-59 Daehwa-dong Daedeok-gu**  
**Daejeon 306-801, KR**

72 Inventor/es:

**KIM, GUN POONG;**  
**LEE, YONG HOON y**  
**LEE, KUN PIL**

74 Agente/Representante:

**SALVA FERRER, Joan**

ES 2 635 538 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

Micropartículas poliméricas biodegradables y procedimiento de preparación de las mismas

5 [Campo técnico]

10 **[0001]** La presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de una micropartícula polimérica biodegradable. Se describe además una micropartícula polimérica biodegradable. Más particularmente, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una micropartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el procedimiento incluye las etapas de: disolver un polímero a base de poliéster biodegradable en DMSO (dimetil sulfóxido); pulverizar la solución en una solución de hidrocarburo a baja temperatura para proporcionar una micropartícula en DMSO congelada; añadir la micropartícula en una solución acuosa de sal a baja temperatura para disolver el DMSO; y la eliminar la sal.

15 [Técnica anterior]

20 **[0002]** Un andamio de polímeros biodegradables porosos se utiliza ampliamente como matriz para la regeneración de diversos tejidos. El andamio requiere una estructura porosa que tenga una alta interconectividad entre los poros a fin de lograr una densidad de adhesión celular suficiente y para facilitar el suministro de nutrientes y oxígeno para la proliferación celular y la diferenciación celular.

25 **[0003]** Existen varios procedimientos para la preparación de un andamio de polímeros biodegradables porosos. De entre los procedimientos, el más ampliamente utilizado es un procedimiento de lixiviación con porógenos. En el procedimiento, como porógeno, se pueden utilizar diversas partículas, tales como sal, sal espumante, hidrato de carbono, o cera de hidrocarburo, y a partir de una mezcla de polímero/disolvente/porógeno, el porógeno se disuelve o espuma selectivamente para formar poros. Además, hay otros procedimientos, tales como emulsificación/líofilización, separación de fases, expansión de la fase líquida crítica, la impresión tridimensional por inyección de tinta (A.G. Mikos, G. Sarakinos, S.M. Leite, J.P. Vacanti, R. Langer, Biomaterials, 14 (1993) 323-330; Z. Ma, C. Gao, Y. Gong, J. Shen, J. Biomed Mater Res 67B (2003) 610-617; A. Park, B. Wu, L.G. Griffith, J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 9 (1998) 89-110).

35 **[0004]** Dicho andamio de polímeros porosos induce la adhesión y la diferenciación de una célula, y por lo tanto, se puede utilizar de manera útil para la regeneración de hueso, cartílago e hígado. Sin embargo, dicho andamio es trasplantado en un organismo a través de una operación quirúrgica, imponiendo de ese modo una carga física/económica en un paciente. Por consiguiente, con el fin de minimizar los inconvenientes del paciente, se ha desarrollado un procedimiento para la inyección de un andamio de polímeros biodegradables a través de una jeringa. En este procedimiento, se inyecta un polímero líquido que incluye células, de modo que se puede formar un hidrogel a través de fotoreticulación o sol-gel (J. j. Marler, A. Guha, J. Rowley, R. Koka, D. Monney, J. Upton, J. p Vacanti, Plast Reconstr Surg 105 (2000) 2049-2058; S. He, M.J. Yaszemski, A.W. Yasko, P.S. Engel, A.G. Mikos, Biomaterials, 21 (2000) 2389-2394).

45 **[0005]** Sin embargo, dicho hidrogel no puede proporcionar el medio ideal requerido para una célula para adherirse sobre una superficie sólida, y no puede proteger a las células contenidas en el mismo debido a su baja resistencia mecánica. A fin de superar tal desventaja, se utiliza una amplia gama de micropartículas naturales/sintéticas, tales como Cultispher (una micropartícula preparada por una gelatina estructural porosa), para el cultivo de células animales dependientes de la adhesión. Sin embargo, tienen la desventaja de que la biocompatibilidad es baja, y la resistencia mecánica no es satisfactoria.

50 **[0006]** Un procedimiento utilizado actualmente para la preparación de micropartículas para la inyección es un procedimiento de emulsificación-evaporación de disolvente. Especialmente, en un procedimiento de doble emulsificación W/O/W, se llevan cabo dos etapas de emulsificación. De acuerdo con la estabilidad de la emulsión W/O en la primera etapa de emulsificación, se determina la estructura porosa. La emulsión tiene la desventaja de que su preparación es difícil, debido a que es termodinámicamente inestable, y por lo tanto una fase acuosa y una fase orgánica muestran una tendencia a separarse la una de la otra a través de la coalescencia, fusión, formación de crema, etc. (M. Kanouni, H.L. Rosano, N. Naouli, Adv Colloid Interface Sci. 99 (2002) 229-254; A.J. Webster, M.E. Cates, Langmuir, 14 (1998) 2068-2079).

60 **[0007]** Además, existe un procedimiento para preparar un microportador, el procedimiento que consiste en una etapa de doble emulsificación W/O/W, en la que se añade una fase orgánica que tiene un polímero de poliéster alifático disuelto en la misma con una solución acuosa con sal espumable disuelta en la misma para formar una emulsión W/O, y a continuación la emulsión se emulsiona al dispersarse en una solución acuosa que incluye tensioactivo hidrófilo (patente coreana No. 801194). El microportador tiene características, tales como biodegradabilidad, una alta porosidad, una alta interconectividad entre los poros, y desventajas, tales como una resistencia mecánica baja, dificultad en la producción en masa.

65 **[0008]** Por consiguiente, se ha requerido constantemente desarrollar un procedimiento para preparar una

micropartícula que se pueda inyectar a través de una jeringa debido a buenas propiedades físicas (tales como la biocompatibilidad, biodegradabilidad, porosidad, resistencia mecánica) y la ajustabilidad del tamaño del microportador, y que pueda ser fácilmente producida en masa.

5 **[0009]** El documento WO 00/76483 enseña un procedimiento para preparar una microesfera biodegradable que contiene un agente fisiológicamente activo mediante la emulsificación de una solución de dicho agente fisiológicamente activo y un polímero biodegradable en un alcohol miscible en agua.

10 **[0010]** El documento EP 0 765 660 A2 enseña un procedimiento para producir una microcápsula, por dispersión, en una fase acuosa, una dispersión de un compuesto de ácido 2-piperazinona-1-acético soluble en agua amorfo en una solución de un polímero para obtener una emulsión de tipo s/o/w.

[Descripción]

15 [Problema técnico]

**[0011]** Por consiguiente, los inventores de la presente invención investigaron el desarrollo de un procedimiento de preparación de micropartículas novedoso mediante la resolución de los problemas mencionados anteriormente que se producen en la técnica anterior, y descubrieron un procedimiento para preparar una micropartícula polimérica con una alta biocompatibilidad, una alta biodegradabilidad, una alta porosidad y una alta resistencia mecánica, en el que el procedimiento incluye las etapas de: disolver un polímero a base de poliéster biodegradable en DMSO (dimetil sulfóxido); pulverizar la solución en una solución de hidrocarburo a baja temperatura para proporcionar una micropartícula en DMSO congelada; y añadir la micropartícula en una solución acuosa de sal a baja temperatura para disolver el DMSO. La presente invención se basa en este descubrimiento.

25 **[0012]** Por consiguiente, un objetivo de la presente invención es proporcionar un nuevo procedimiento de preparación de micropartículas poliméricas biodegradables.

[Solución técnica]

30 **[0013]** Con el fin de lograr este objetivo, se proporciona un procedimiento para la preparación de una micropartícula polimérica biodegradable que comprende las etapas de:

(a) disolver un polímero a base de poliéster biodegradable en DMSO (dimetil sulfóxido) para formar una solución;  
 35 (b) pulverizar la solución en un hidrocarburo que tiene de 5 a 10 átomos de carbono (C5 a C10) a una temperatura inferior al punto de fusión del DMSO para proporcionar una micropartícula en DMSO congelada, en el que el hidrocarburo no se congela a una temperatura inferior a 0°C, y se separa en fases del DMSO, y se selecciona del grupo que consiste en pentano, hexano, heptano, octano, nonano, decano, éter de petróleo, y mezclas de los mismos;  
 40 (c) añadir la micropartícula en una solución acuosa de sal para disolver el DMSO en la solución y eliminar el DMSO; y  
 (d) eliminar la sal de la micropartícula.

**[0014]** Se describe además una micropartícula polimérica biodegradable preparada por el procedimiento.

45 **[0015]** En lo sucesivo, la presente invención se describirá en detalle.

**[0016]** La micropartícula polimérica biodegradable se prepara de acuerdo con la presente invención mediante la disolución de un polímero a base de poliéster biodegradable en DMSO, la pulverización de la solución en una solución de hidrocarburo a baja temperatura que tiene de 5 a 10 átomos de carbono (C5 a C10) para proporcionar una micropartícula en DMSO congelada, la introducción de la micropartícula en una solución acuosa de sal a baja temperatura, la disolución del DMSO, y la eliminación de la sal.

**[0017]** En general, dado que los disolventes orgánicos están bien mezclados entre sí, es imposible preparar una micropartícula mediante pulverización de un disolvente orgánico (disolvente orgánico A) en otro disolvente orgánico (disolvente orgánico B). En otras palabras, en el momento en el que un disolvente orgánico A que tiene un polímero disuelto en el mismo se pulveriza y entra en contacto con otro disolvente orgánico B, los dos disolventes orgánicos están mezclados entre sí, y por lo tanto el disolvente orgánico A no se puede congelar. En consecuencia, es imposible preparar una micropartícula.

60 **[0018]** Paralelamente, a pesar de que el DMSO y los hidrocarburos utilizan frecuentemente disolventes orgánicos, no se mezclan enter sí debido a una gran diferencia en sus polaridades. Además, el DMSO puede disolver bien un polímero a base de poliéster, y por lo tanto puede ser utilizado. Además, el DMSO tiene un punto de fusión alto de 18°C, y por lo tanto se puede congelar fácilmente. Dado que el DMSO se disuelve muy bien en agua, es fácil disolver el DMSO mediante la introducción de una partícula congelada en agua. Además, dado que el polímero disuelto en DMSO no se disuelve en agua, es posible preparar una micropartícula en forma congelada de DMSO. La presente invención se ha realizado basándose en los descubrimientos anteriores.

[0019] Como procedimiento de preparación de micropartículas, se ha utilizado convencionalmente de manera principal un procedimiento de emulsificación-evaporación de disolvente. Sin embargo, el procedimiento tiene la desventaja de que el proceso de preparación es complicado debido a la utilización de un agente tensioactivo, etc., existe una limitación en el ajuste del tamaño de una micropartícula, y no es fácil de ajustar la porosidad de la micropartícula.

[0020] Paralelamente, en la presente invención, dado que la porosidad se determina de acuerdo con la concentración de un polímero disuelto en DMSO, es fácil de ajustar la porosidad. Además, durante la pulverización de la solución de DMSO que tiene el polímero disuelto en el mismo, las cantidades de solución fluida y aire se pueden ajustar mediante una válvula en el exterior. De este modo, es posible ajustar fácilmente y de manera sencilla el tamaño de una micropartícula. Además, dado que en la presente invención, la micropartícula se prepara simplemente mediante la pulverización de una solución, existe la ventaja de que el proceso es simple y se mejora la productividad.

[0021] Más específicamente, el procedimiento para preparar una micropartícula polimérica biodegradable, de acuerdo con la presente invención, incluye las etapas de:

(a) disolver un polímero a base de poliéster biodegradable en DMSO para formar una solución;

(b) pulverizar la solución en un hidrocarburo que tiene de 5 a 10 átomos de carbono (C5 a C10) y una temperatura inferior al punto de fusión del DMSO para proporcionar una micropartícula en DMSO congelada, en el que el hidrocarburo no se congela a una temperatura inferior a 0°C, y se separa en fases del DMSO, y se selecciona del grupo que consiste en pentano, hexano, heptano, octano, nonano, decano, éter de petróleo, y mezclas de los mismos;

(c) añadir la micropartícula en una solución acuosa de sal para disolver el DMSO en la solución y eliminar el DMSO; y

(d) eliminar la sal de la micropartícula.

[0022] La etapa (a) es para la disolución de un polímero a base de poliéster biodegradable en DMSO.

[0023] En la presente invención, el polímero a base de poliéster biodegradable es un polímero a base de poliéster alifático, pero la presente invención no se limita al mismo. Además, el polímero a base de poliéster biodegradable se puede seleccionar del grupo que consiste en ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), ácido (poli D, L-láctico-co-glicólico (PLGA), policaprolactona (PCL), poli(valerolactona), poli(hidroxi butirato), poli(hidroxi valerato), y un derivado de los mismos, y se pueden usar solos o en combinaciones de dos o más. Preferiblemente, el polímero puede ser PLA, PGA, PLGA, o una mezcla de los mismos y, más preferiblemente, el polímero puede ser PLA o PLGA. El polímero puede tener preferiblemente un peso molecular promedio en peso de 10.000 a 250.000. Sin embargo, en el procedimiento para preparar la micropartícula polimérica biodegradable, de acuerdo con la presente invención, es fácil preparar micropartículas esféricas y controlar el tamaño de las micropartículas. Por lo tanto, el peso molecular promedio no limita el control del tamaño de una micropartícula.

[0024] En la presente invención, la solución de polímero a base de poliéster biodegradable se puede disolver en DMSO y después ajustarse de forma diversa de tal manera que el polímero correspondiente puede tener una concentración del 1% al 25% (p/v). Además, a través de dicho control de la concentración, es posible ajustar la porosidad de una micropartícula porosa biodegradable preparada. Cuando la concentración de la solución de polímero es inferior al 1%, la practicidad de la micropartícula se reduce debido a su baja resistencia mecánica. Cuando la concentración es superior al 25%, se provoca la ineficiencia de la pulverización debido a su muy alta viscosidad (por ejemplo, la formación de fibras).

[0025] En la presente invención, como disolvente orgánico utilizado para disolver el polímero a base de poliéster alifático, es necesario el uso de DMSO que tiene un punto de fusión elevado, y se separa en fases del hidrocarburo.

[0026] La etapa (b) es para la pulverización de la solución preparada en la etapa (a) en una solución de hidrocarburo que tiene de 5 a 10 átomos de carbono (C5 a C10) y a una temperatura inferior al punto de fusión de DMSO para proporcionar una micropartícula.

[0027] En la solución de hidrocarburo en la presente invención, el hidrocarburo tiene de 5 a 10 átomos de carbono (C5 a C10), no se congela a una temperatura inferior a 0°C, y se separa en fases del DMSO. Entre los ejemplos del hidrocarburo se pueden incluir hidrocarburos saturados, tales como pentano, hexano, heptano, octano, nonano, decano, éter de petróleo, y una mezcla de los mismos. Preferiblemente, como hidrocarburo, se puede utilizar n-hexano que tiene una alta volatilidad. Debido a la alta volatilidad, el n-hexano puede ser finalmente eliminado durante un proceso de liofilización o un proceso de secado natural. Los hidrocarburos con un número de carbonos inferior a 5 provocan dificultades en la producción debido a una muy alta volatilidad y, por otro lado, los hidrocarburos con un número de carbonos superior a 10 tienen una practicidad baja. La solución de hidrocarburo puede tener una temperatura inferior al punto de fusión del DMSO con el fin de congelar el DMSO, y puede tener preferiblemente una temperatura inferior a 18°C a 1 atmósfera. Más preferiblemente, la solución puede tener una temperatura de -20°C a 0°C a fin de facilitar la congelación del DMSO y la formación de una micropartícula. Lo más

preferiblemente, la solución puede tener una temperatura entre -10 a -5°C.

**[0028]** En la presente invención, como pulverizador para la pulverización de la solución acuosa de polímero a base de poliéster alifático, puede utilizarse una boquilla comercializada. No existe limitación en el pulverizador, siempre que pueda controlar la cantidad de aire pulverizado y la cantidad de solución de polímero a base de poliéster alifático pulverizada durante la pulverización de la solución en una solución de hidrocarburo. Se puede decir que en el procedimiento de preparación de acuerdo con la presente invención, una micropartícula se prepara mediante pulverización de la solución en el fluido criogénico.

**[0029]** En la presente invención, la cantidad de una solución de polímero a pulverizar puede ajustarse de diversas maneras en un intervalo de 0,2 g/min a 20,0 g/min, y la cantidad de aire a pulverizar puede variar en un intervalo de 1,0 l/min (litros por minuto) a 30,0 l/min. Esto permite controlar fácilmente el tamaño de una micropartícula.

**[0030]** Además, en esta etapa, la micropartícula pulverizada en la solución de hidrocarburo a baja temperatura se establece en un estado congelado, aunque su forma se mantiene mediante la separación en fases y la congelación. La mayor parte de la micropartícula congelada es el DMSO utilizado para disolver el polímero a base de poliéster alifático. Con el fin de eliminar el DMSO de la micropartícula, se utiliza una solución acuosa de sal para la disolución del DMSO en la siguiente etapa.

**[0031]** La etapa (c) es para la adición de la micropartícula que incluye DMSO, preparada en la etapa (b), en una solución acuosa de sal para disolver y eliminar el DMSO.

**[0032]** En la presente invención, la solución acuosa de sal se mantiene preferiblemente en un estado sin congelar a 0°C o menos. Con el fin de eliminar el DMSO, se puede usar agua. Sin embargo, para la estabilidad de una micropartícula en la producción, si es posible, se utiliza preferiblemente una solución que tiene una temperatura de 0°C o menos para eliminar el DMSO. Por lo tanto, se utiliza preferiblemente una solución acuosa de NaCl o CaCl<sub>2</sub> con una concentración del 5% al 30%. Preferiblemente, como solución acuosa de sal, se puede utilizar cloruro de sodio (NaCl) al 20% o 25% a una temperatura de -20°C a 0°C. Cuando la temperatura es inferior a -20°C, la solución acuosa se congela y por lo tanto no se puede utilizar. Por otro lado, cuando la temperatura es superior a 0°C, la estabilidad de las micropartículas en la preparación se reduce, y las partículas preparadas se adhieren entre sí. Esto reduce la productividad.

**[0033]** La etapa (d) es para eliminar la sal de la micropartícula después de que el DMSO haya sido eliminado de la micropartícula. La sal se puede eliminar mediante la adición de una cantidad en exceso de agua, preferiblemente de D.D.W (agua destilada desionizada), seguido de dilución.

**[0034]** A través de la presente invención, se puede preparar la micropartícula polimérica biodegradable. El procedimiento de preparación de la presente invención emplea una característica de separación en fases del DMSO (para disolver un polímero a base de poliéster alifático) de un hidrocarburo (como disolvente orgánico de refrigeración). El procedimiento de preparación es mucho más simple y eficiente, y presenta la característica de una producción en masa sencilla, en comparación con un procedimiento convencional. Además, es posible ajustar fácilmente el tamaño de la micropartícula. Esto permite inyectar la micropartícula en un organismo.

**[0035]** La micropartícula polimérica biodegradable preparado de acuerdo con la presente invención tiene un diámetro de 10 μm a 1000 μm. El diámetro de la micropartícula polimérica biodegradable preparada de acuerdo con la presente invención puede ajustarse apropiadamente de acuerdo con la concentración de un polímero a base de poliéster biodegradable en una solución acuosa de DMSO, y las cantidades de solución pulverizada y aire durante la pulverización de la solución en una solución de hidrocarburo. El diámetro se incrementa cuando se incrementa la concentración del polímero a base de poliéster biodegradable en la solución acuosa de DMSO, se incrementa la cantidad de la solución pulverizada en la solución de hidrocarburo, y se disminuye la cantidad de aire pulverizado en la solución de hidrocarburo.

**[0036]** La micropartícula polimérica biodegradable preparada de acuerdo con la presente invención, como se describe anteriormente, puede cultivarse de tal manera que las células pueden estar incluidas, y a continuación se puede utilizar como portador de células inyectable.

[Efectos ventajosos]

**[0037]** Por consiguiente, la presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de una microesfera polimérica novedosa que se puede inyectar a través de una jeringa debido a buenas propiedades físicas (tales como la biocompatibilidad, biodegradabilidad, porosidad, resistencia mecánica) y la ajustabilidad del tamaño del microportador, y que puede ser fácilmente producida en masa. La micropartícula preparada mediante el procedimiento de preparación de la presente invención puede tener tamaños variables con biodegradabilidad y biocompatibilidad, y por lo tanto puede utilizarse como portador celular para la regeneración de una célula o tejido dañados mediante la inyección en un organismo a través de una jeringa.

[Descripción de los dibujos]

**[0038]**

La figura 1 es una fotografía microscópica electrónica que muestra una micropartícula preparada de acuerdo con el procedimiento de la presente invención (X 1500; concentración de la solución de polímero: 7%, cantidad de pulverización: 0,2 g/min; velocidad de pulverización: 5 l/min);

la figura 2 es una fotografía microscópica electrónica que muestra una micropartícula preparada de acuerdo con el procedimiento de la presente invención (X 300; concentración de la solución de polímero: 7%, cantidad de pulverización: 3,0 g/min; velocidad de pulverización: 3 l/min);

la figura 3 es una fotografía microscópica electrónica que muestra una micropartícula preparada de acuerdo con el procedimiento de la presente invención (X 2300; concentración de la solución de polímero: 7%, cantidad de pulverización: 5,0 g/min; velocidad de pulverización: 1 l/min);

la figura 4 es una fotografía microscópica electrónica que muestra una micropartícula preparada de acuerdo con el procedimiento de la presente invención (X 550; concentración de la solución de polímero: 3%, cantidad de pulverización: 3,0 g/min; velocidad de pulverización: 3 l/min); y

la figura 5 es una fotografía microscópica electrónica que muestra una micropartícula preparada de acuerdo con el procedimiento de la presente invención (X 350; concentración de la solución de polímero: 12%, cantidad de pulverización: 3,0 g/min; velocidad de pulverización: 3 l/min);

[Modo de la invención]

**[0039]** En lo sucesivo, la presente invención se describirá en detalle con referencia a los Ejemplos siguientes. Sin embargo, los siguientes ejemplos son ilustrativos solamente, y el alcance de la presente invención no se limita a los mismos.

<Ejemplo 1>

**Preparación de una micropartícula polimérica de acuerdo con la presente invención**

**[0040]**

(1) Se disolvieron 35 g de ácido (poli D, L-láctico-co-glicólico (PLGA)) que tenía un peso molecular promedio de 110.000 y una relación de ácido láctico-ácido glicólico de 75:25 en 500 ml de DMSO (dimetil sulfóxido) para proporcionar una solución de polímero al 7% (p/v). La solución de polímero se pulverizó en n-hexano enfriado hasta -5°C en una cantidad de 0,2 g/min, con aire pulverizado en una cantidad de 5,0 l/min. Aquí, la solución de polímero pulverizada se congeló en una forma esférica en el n-hexano a baja temperatura.

La micropartícula congelada se recogió y se dejó en 1.000 ml de solución acuosa de NaCl al 25% (p/v) enfriada a -20°C durante 72 horas con el fin de disolver el componente de DMSO. A continuación, a través de filtración, se obtuvo una micropartícula polimérica de la que se había eliminado el DMSO. La micropartícula obtenida se lavó con 5,000 ml de agua destilada y se filtró para separar por filtración el DMSO restante y NaCl. A continuación, a través de liofilización, se obtuvo una micropartícula polimérica biodegradable preparada de acuerdo con la presente invención.

(2) Se preparó una micropartícula polimérica biodegradable de la misma manera que se describe en (1), excepto que la solución de polímero disuelta en DMSO se pulverizó en n-hexano en una cantidad de 3,0 g/min, con aire pulverizado en una cantidad de 3,0 l/min.

(3) Se preparó una micropartícula polimérica biodegradable de la misma manera que se describe en (1), excepto que la solución de polímero disuelta en DMSO se pulverizó en n-hexano en una cantidad de 5,0 g/min, con aire pulverizado en una cantidad de 1,0 l/min.

(4) Se disolvió un polímero a base de poliéster biodegradable PLGA que tenía un peso molecular promedio de 110.000 y una relación de ácido láctico-ácido glicólico de 75:25 en DMSO, de modo que el polímero a base de poliéster biodegradable puede tener concentraciones del 3,0% y el 12,0 %. A continuación, cada una de estas soluciones de polímero se pulverizó en una cantidad de 5,0 g/min, con aire pulverizado en una cantidad de 1,0 l/min. Mediante la medición de las densidades aparentes de las micropartículas porosas biodegradables preparadas a través del control de la concentración de una solución de polímero, se compararon las porosidades controladas entre sí.

<Ejemplo 2>

**Comprobación de las propiedades físicas de micropartículas poliméricas preparadas de acuerdo con la presente invención**

**[0041]** Con el fin de comprobar las propiedades de cada una de las micropartículas poliméricas biodegradables preparadas a partir de Ejemplo 1, se midieron el tamaño, el rendimiento y la densidad aparente de las micropartículas poliméricas biodegradables. Aquí, el tamaño de la micropartícula se midió a través de fotografía por microscopio electrónico, y el rendimiento se calculó mediante la cantidad de micropartículas finalmente obtenidas en comparación con la cantidad de polímero introducida. La densidad aparente se midió mediante la introducción de una cantidad predeterminada del microportador en un volumen predeterminado de un cilindro de masa, y pulsando

un número predeterminado de veces a una velocidad predeterminada mediante un densitómetro.

**[0042]** Como resultado, tal como se muestra en las figuras 1 a 5, y como se señala en la Tabla 1, se puede observar que, en proporción a la cantidad de solución de polímero pulverizada, y en proporción inversa a la cantidad de aire pulverizado, aumenta el tamaño de la micropartícula. Además, se puede observar que a medida que aumenta la concentración de una solución de polímero, aumenta la densidad aparente. El tamaño de la micropartícula preparada según el procedimiento de preparación de la presente invención era apropiado para ser inyectada en el organismo a través de un cultivo de células. Además, en vista del rendimiento, se determinó que la micropartícula tiene una eficiencia económica.

[Tabla 1]

| Condición de pulverización |                                              |                              | micropartícula | rendimiento | densidad aparente |
|----------------------------|----------------------------------------------|------------------------------|----------------|-------------|-------------------|
| Solución de polímero       | cantidad de solución de polímero pulverizada | cantidad de aire pulverizado | Tamaño (μm)    | (%)         | (g/ml)            |
| Concentración (%)          | (g/min)                                      | (l/min)                      |                |             |                   |
|                            | 0,2                                          | 5                            | 100 o menos    | 54          | 0,18              |
| 7                          | 3                                            | 3                            | 100~300        | 62          | 0,087             |
|                            | 5                                            | 1                            | 300~500        | 68          | 0,071             |
| 3                          | 3                                            | 3                            | 100~300        | 59          | 0,045             |
| 12                         | 3                                            | 3                            | 100~300        | 67          | 0,13              |

[Aplicabilidad industrial]

**[0043]** Como puede observarse anteriormente, la presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de una microesfera polimérica novedosa que se puede inyectar a través de una jeringa debido a buenas propiedades físicas (tales como la biocompatibilidad, biodegradabilidad, porosidad, resistencia mecánica) y la ajustabilidad del tamaño del microportador, y que puede ser fácilmente producida en masa. La micropartícula preparada mediante el procedimiento de preparación de la presente invención puede tener tamaños variables con biodegradabilidad y biocompatibilidad, y por lo tanto puede utilizarse como portador celular para la regeneración de una célula o tejido dañados mediante la inyección en un organismo a través de una jeringa.

# REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de una micropartícula polimérica biodegradable, que comprende las etapas de:  
5 (a) disolver un polímero a base de poliéster biodegradable en DMSO (dimetil sulfóxido) para formar una solución;  
(b) pulverizar la solución en un hidrocarburo que tiene de 5 a 10 átomos de carbono (C5 a C10) a una temperatura inferior al punto de fusión del DMSO para proporcionar una micropartícula en DMSO congelada, en el que el hidrocarburo no se congela a una temperatura inferior a 0°C, y se separa en fases del DMSO, y se selecciona del grupo que consiste en pentano, hexano, heptano, octano, nonano, decano, éter de petróleo, y mezclas de los mismos;  
10 (c) añadir la micropartícula en una solución acuosa de sal para disolver el DMSO en la solución y eliminar el DMSO; y  
(d) eliminar la sal de la micropartícula.
2. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que la micropartícula polimérica biodegradable tiene de 10 µm a  
15 1.000 µm de diámetro.
3. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que el polímero a base de poliéster biodegradable se selecciona del grupo que consiste en ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), ácido (poli D, L-láctico-co-glicólico (PLGA), policaprolactona (PCL), poli(valerolactona), poli(hidroxi butirato), poli(hidroxi valerato) y tiene un peso molecular promedio en peso de 10.000 a 250.000.  
20
4. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que la disolución de la etapa (a) es la disolución del polímero a base de poliéster biodegradable en DMSO hasta una concentración del 1% al 25%.
- 25 5. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que la solución acuosa de sal es una solución acuosa de NaCl o CaCl<sub>2</sub> con una concentración del 5% al 30%.



Figura 1

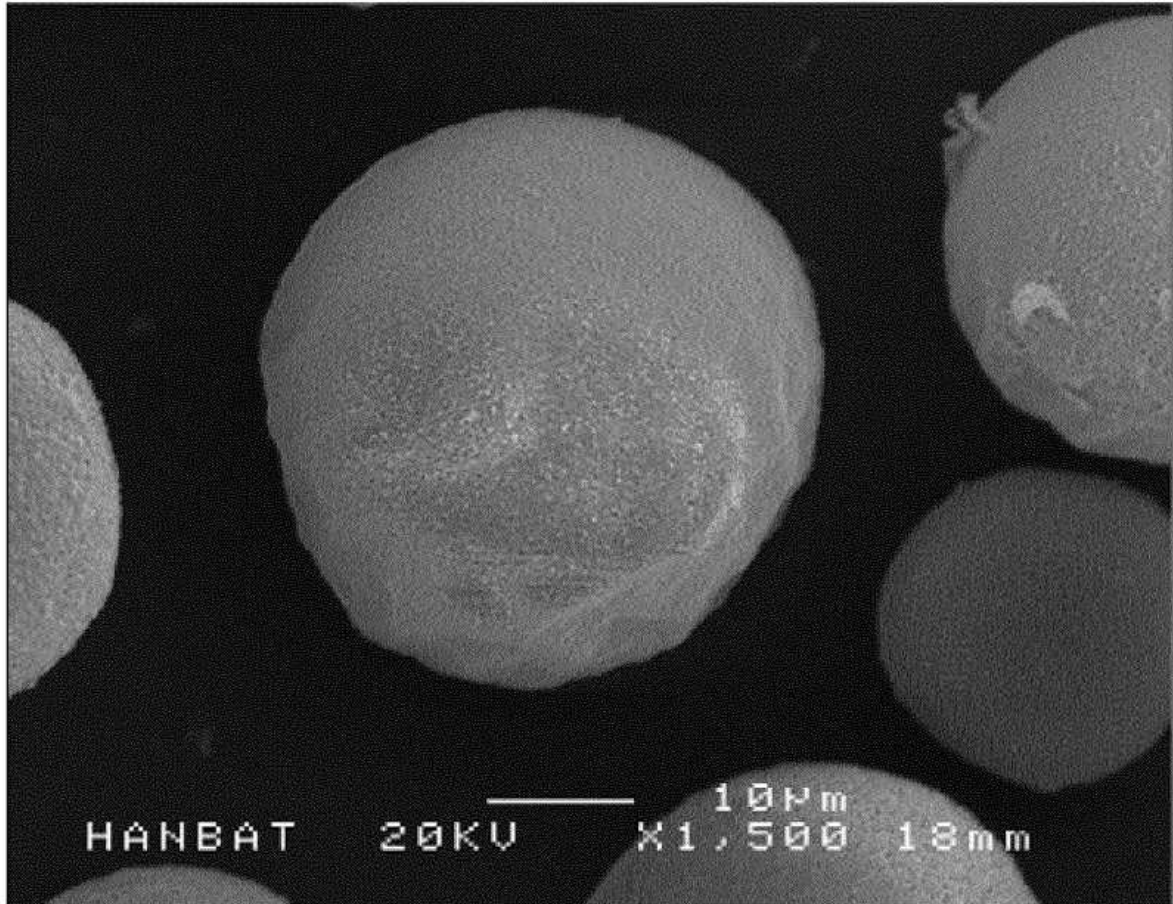


Figura 2

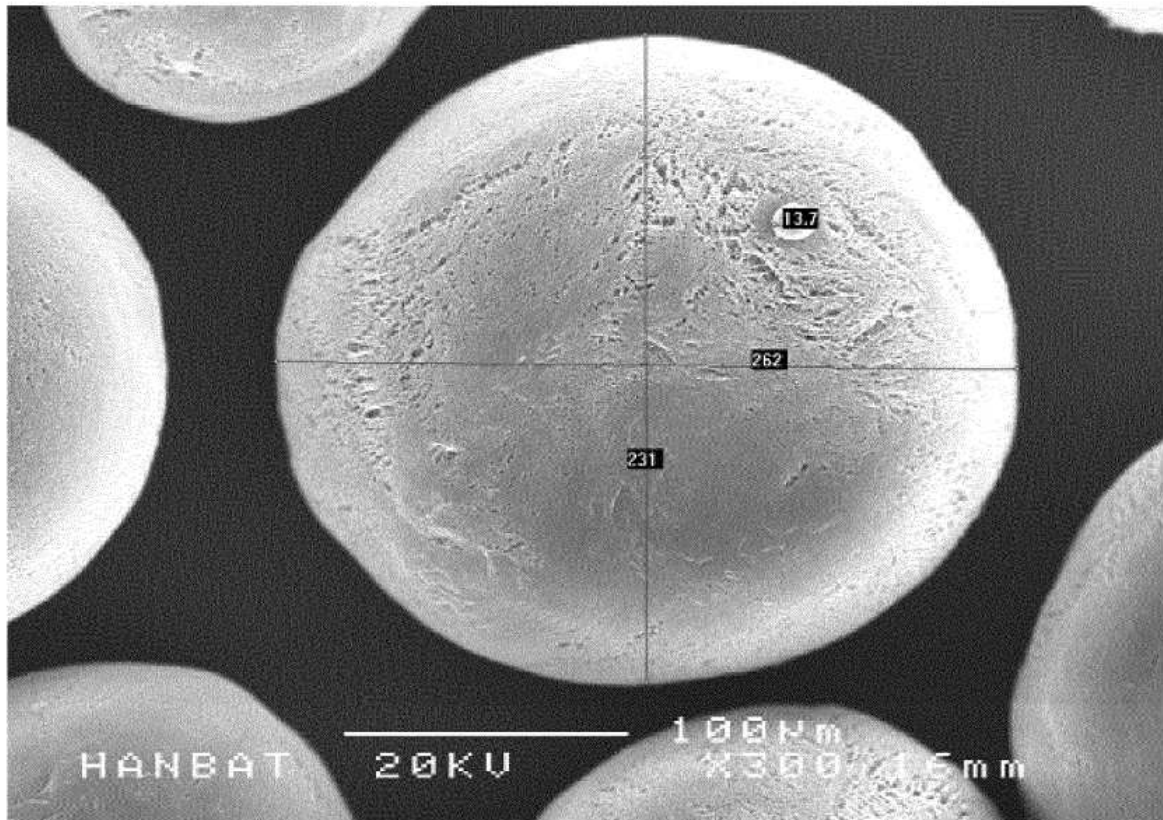
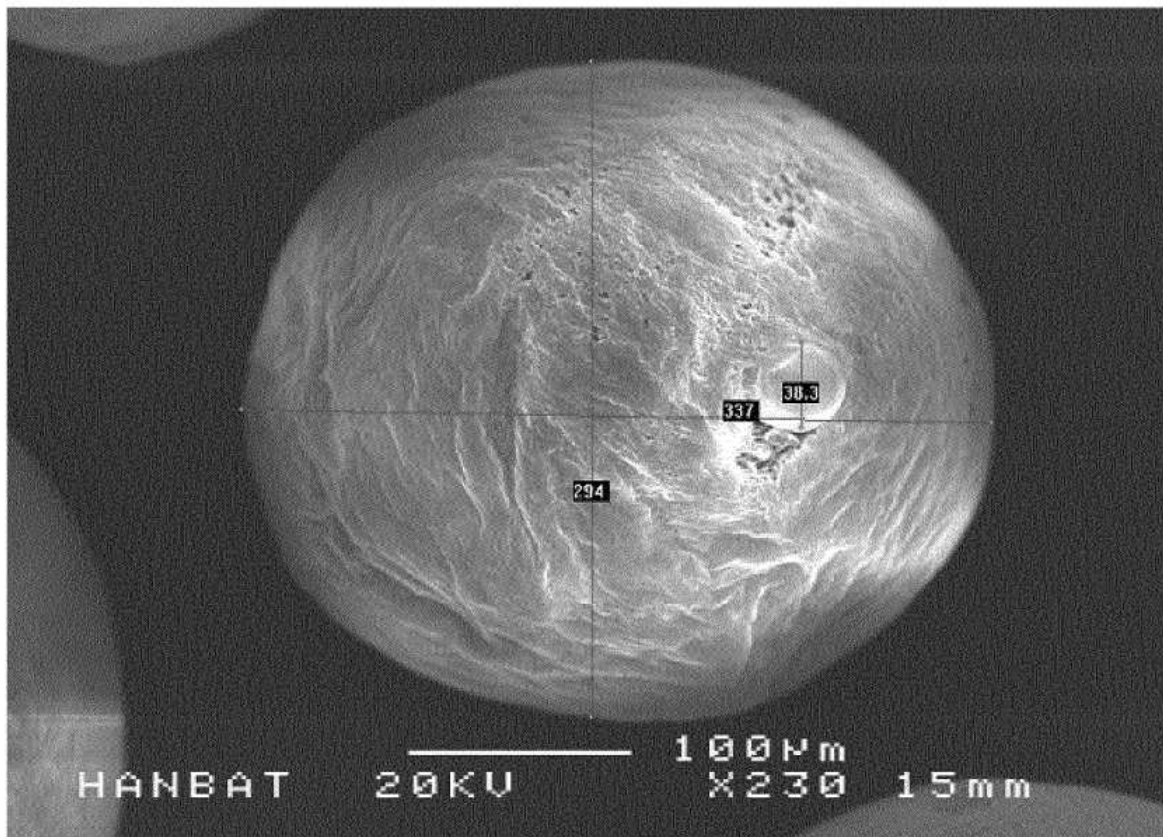


Figura 3





**Figura 4**

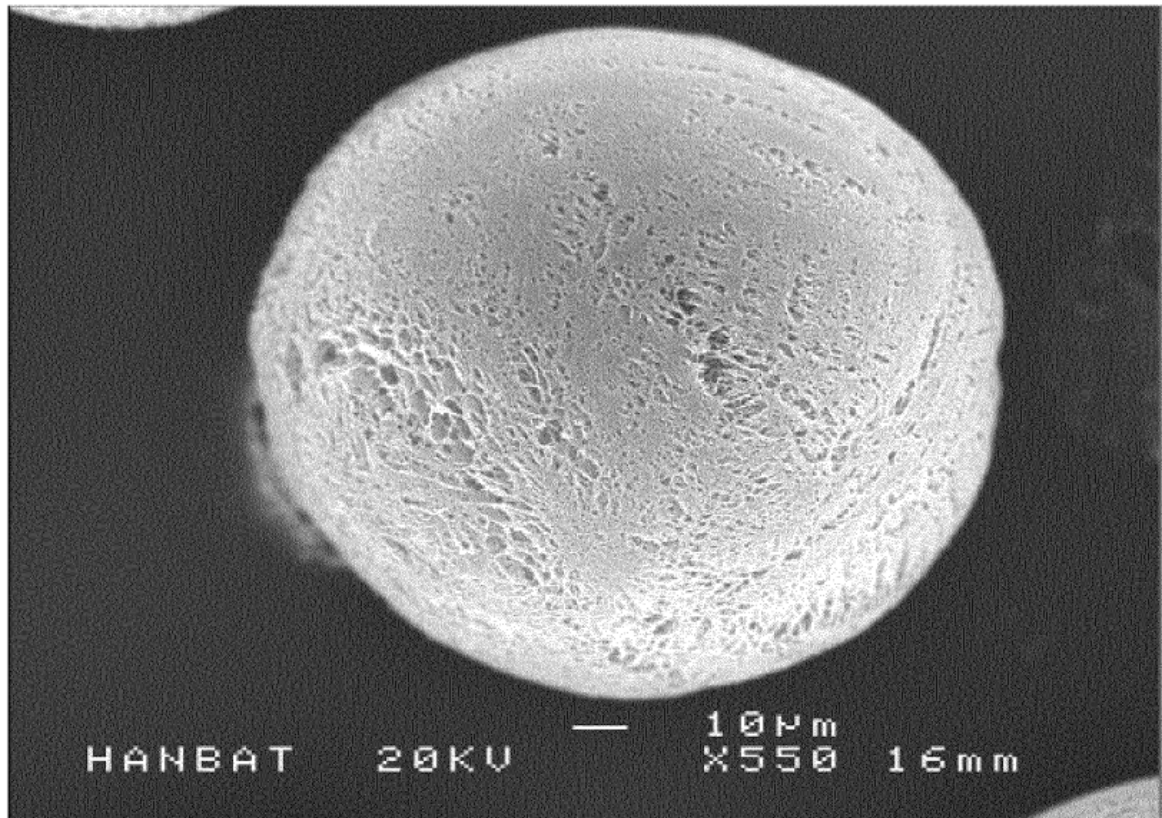


Figura 5

