

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 885**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/50** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.01.2010 PCT/US2010/021742**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.07.2010 WO10085607**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.01.2010 E 10701599 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.09.2017 EP 2389160**

54 Título: **Procedimiento continuo por emulsión doble para fabricar micropartículas**

30 Prioridad:

**23.01.2009 US 146884 P**

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

**30.11.2017**

73 Titular/es:

**EVONIK CORPORATION (100.0%)  
299 Jefferson Road  
Parsippany NJ 07054, US**

72 Inventor/es:

**MARKLAND, PETER**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 644 885 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 continuo por emulsión doble para fabricar micropartículas

## ANTECEDENTES

5 La preparación de micropartículas que contienen agentes bioactivos solubles en agua en ellas es una alternativa atractiva a las formas de dosificación convencionales. El encapsulamiento en micropartículas ofrece numerosas ventajas, tales como toxicidad reducida y eficacia mejorada, entre otras. Muchos protocolos de encapsulamiento en micropartículas también proporcionan un perfil farmacológico mejorado de liberación del fármaco, y como tal, pueden proporcionar un mejor cumplimiento por el paciente.

10 Existen diversos métodos para encapsular un agente bioactivo soluble en agua dentro de una micropartícula. Unos pocos ejemplos son el procedimiento de extracción de líquidos por emulsión doble, métodos de separación de fase orgánica, métodos de fluidos supercríticos, y métodos de secado por pulverización. A menudo, sin embargo, los métodos tradicionales se basan en el procesamiento discontinuo, en el que fases, disoluciones o dispersiones individuales se preparan, se mezclan, y/o se procesan de forma separada de las otras fases, \* disoluciones, o dispersiones. De este modo, tales procedimientos pueden estar limitados por restricciones engorrosas de tiempo, así como otros retos que surgen típicamente durante el procesamiento discontinuo.

15 Como tal, existe la necesidad de procedimientos mejorados que proporcionen un enfoque más práctico y económico al encapsulamiento en micropartículas. Estas y otras necesidades se satisfacen mediante la presente invención.

20 Freitas et al., en "Flow-through ultrasonic emulsification combined with static micromixing for aseptic production of microspheres by solvent extraction", Eur J Pharm Biopharm. 2005 Oct; 61(3):181-7, describen un procedimiento que utiliza un emulsionamiento ultrasónico de circulación para la preparación de la emulsión primaria ( $W_1/O$ ), en combinación con una micromezcladora estática para la producción de la emulsión doble ( $W_1/O/W_2$ ). El procedimiento descrito para obtener micropartículas se produce en tres etapas distintas.

25 Katou et al., en "Kinetics of solvent extraction/evaporation process for PLGA microparticle fabrication", Int J Pharm. 2008 Nov 19; 364(1):45-53, describe la cinética de la extracción y evaporación de disolventes a partir de una emulsión o/w. Específicamente, se describe un modelo matemático que describe la cinética del transporte de disolventes desde la fase oleosa a la fase acuosa circundante. Además, se describe un procedimiento de cinco etapas para formar las micropartículas.

30 Freitas et al., en "Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology", J Control Release. 2005 Feb 2; 102(2):313-32, describen el microencapsulamiento mediante extracción/evaporación de disolventes, y exponen generalmente un enfoque de emulsión doble de agua en aceite en agua para el microencapsulamiento.

35 El documento DE 10045374 A1 describe un procedimiento para preparar micropartículas que utiliza dos fases o emulsiones oleosas primarias. Para superar las desventajas percibidas de las técnicas de emulsionamiento doble  $W_1/O/W_2$  o del emulsionamiento O/W para la formación de micropartículas, se describe el encapsulamiento del mismo ingrediente activo en al menos dos polímeros individuales.

40 El documento WO 00/66087 describe un procedimiento a base de una emulsión para obtener micropartículas. El procedimiento descrito utiliza una fase dispersa, una fase continua, y una fase de extracción. Las etapas para la formación de la emulsión se describen como sigue: en primer lugar, se forma la fase dispersa; en segundo lugar, se añade el agente activo a la fase dispersa; en tercer lugar, se forma la fase continua; y en cuarto lugar, la fase dispersa se mezcla con la fase continua, mezclamiento el cual se puede realizar de forma continua o por lotes.

El documento WO 2007/058642 A1 describe un método para preparar micropartículas, que comprende la formación de una emulsión doble. El procedimiento implica la preparación por lotes de las diversas fases. Se describe un procedimiento de etapa por etapa o en serie para la formación de micropartículas.

## SUMARIO

45 Se describen aquí métodos para formar micropartículas, que comprenden: (a) proporcionar una primera fase que comprende un agente bioactivo disuelto o disperso en una primera fase acuosa; (b) proporcionar una segunda fase que comprende un polímero disuelto o disperso en una fase orgánica; (c) #mezclar las fases primera y segunda para formar una emulsión de agua en aceite; (d) #mezclar la emulsión de la etapa (c) con una segunda fase acuosa para formar una emulsión doble de agua en aceite en agua; y (e) eliminar los materiales orgánicos para formar las micropartículas. También se describen micropartículas obtenidas mediante los métodos descritos. #: continuamente

Las ventajas de la invención se expondrán en parte en la descripción que sigue, y en parte serán obvias a partir de la descripción, o se pueden aprender mediante la práctica de los aspectos descritos más abajo. Las ventajas descritas más abajo se realizarán y lograrán por medio de los elementos y combinaciones señalados particularmente en las reivindicaciones anejas. Se ha de entender que tanto la descripción general anterior como la descripción

detallada siguiente son ejemplares y explicativas solamente, y no son restrictivas.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 5 Las Figuras 1a-c muestran imágenes de SEM y de Raman confocal de secciones transversales de micropartículas ejemplares de micropartículas obtenidas mediante el procedimiento discontinuo descrito en el Ejemplo 1.
- 10 Las Figuras 2a-c muestran imágenes de SEM de secciones transversales de micropartículas recogidas de la porción (a) inicial, (b) central, y (c) última del experimento del Ejemplo 1 (procedimiento de emulsión doble discontinuo que usa una energía de mezclado de 12.000 RPM para preparar la emulsión primaria) (aumento 250x).
- 15 Las Figuras 3a-c muestran imágenes de SEM de secciones transversales de micropartículas recogidas de la porción (a) inicial, (b) central, y (c) última del experimento del Ejemplo 2 (procedimiento de emulsión doble continuo que usa una energía de mezclado de 12.000 RPM para preparar la emulsión primaria) (aumento 250x).
- Las Figuras 4a-c muestran imágenes de SEM de secciones transversales de micropartículas recogidas de la porción (a) inicial, (b) central, y (c) última del experimento del Ejemplo 3 (procedimiento de emulsión doble discontinuo que usa una relación elevada de agua de fase interna para preparar la emulsión primaria) (aumento 250x).
- 20 Las Figuras 5a-c muestran imágenes de SEM de secciones transversales de micropartículas recogidas de la porción (a) inicial, (b) central, y (c) última del experimento del Ejemplo 4 (procedimiento de emulsión doble continuo que usa una relación elevada de agua de fase interna para preparar la emulsión primaria) (aumento 250x).

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

- 25 Antes de que se expliquen y se describan los presentes compuestos, composiciones, materiales compuestos, artículos, dispositivos, métodos, o usos, se ha de entender que los aspectos descritos más abajo no están limitados a compuestos, composiciones, materiales compuestos, artículos, dispositivos, métodos, o usos específicos, y como tales pueden, por supuesto, variar. También se ha de entender que la terminología usada aquí es con el fin de describir aspectos particulares solamente, y no está destinada a ser limitante.

En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, se hará referencia a un número de términos que se deberán definir para que tengan los siguientes significados:

- 30 A lo largo de esta memoria descriptiva, excepto que el contexto lo requiera de otro modo, se entenderá que la palabra “comprender”, o variaciones tales como “comprende” o “que comprende”, implica la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas señalados, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

- 35 Se debe observar que, como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones anejas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales excepto que el contexto dicte claramente otra cosa. De este modo, por ejemplo, la referencia a “un agente bioactivo” incluye mezclas de dos o más de tales agentes, y similares.

“Opcional” u “opcionalmente” significa que elemento o circunstancia descrita subsiguientemente puede ocurrir o no, y que la descripción incluye casos en los que ocurre el suceso o circunstancia y casos en los que no.

- 40 Los intervalos se pueden expresar aquí como desde “alrededor de” un valor particular, y/o hasta “alrededor de” otro valor particular. Cuando se expresa tal intervalo, otro aspecto incluye desde el un valor particular y/o hasta el otro valor particular. De forma similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente “alrededor de”, se entenderá que el valor particular forma otro aspecto. Se entenderá además que los puntos finales de cada uno de los intervalos son significativos tanto en relación con el otro punto final, como
- 45 independientemente del otro punto final.

Un porcentaje en peso de un componente, excepto que se señale específicamente lo contrario, se basa en el peso total de la formulación o composición en la que se incluye el componente.

- 50 El término “micropartícula” se usa aquí para referirse generalmente a una variedad de estructuras que tienen tamaños de alrededor de 10 nm a 2000 micrómetros (2 milímetros), e incluye microcápsula, microesfera, nanopartícula, nanocápsula, nanoesfera, así como partículas, en general, que tienen menos de alrededor de 2000 micrómetros (2 milímetros). En un aspecto, el agente bioactivo se encapsula en la microcápsula.

El término “biocompatible” se refiere a una sustancia que es sustancialmente no tóxica para el sujeto.

“Biodegradable” se refiere generalmente aquí a un material que se erosionará en especies solubles o que se degradará en condiciones fisiológicas en unidades más pequeñas o especies químicas que son, en sí mismas, no tóxicas (biocompatibles) para el sujeto, y son capaces de ser metabolizadas, eliminadas, o excretadas por el sujeto.

5 Un “agente bioactivo” se refiere a un agente que tiene actividad biológica. El agente biológico se puede usar para tratar, diagnosticar, curar, mitigar, prevenir (es decir, profilácticamente), mejorar, modular, o tener un efecto de otro modo favorable sobre una enfermedad, trastorno, infección, y similar. Un “agente bioactivo liberable” es aquel que se puede liberar a partir de una micropartícula descrita. Los agentes bioactivos también incluyen aquellas sustancias que afectan a la estructura o función de un sujeto, o un profármaco, que se hace bioactivo o más bioactivo después de que se ha colocado en un entorno fisiológico predeterminado.

10 Se describen compuestos, composiciones, y componentes que se pueden usar para, se pueden usar conjuntamente con, se pueden usar en la preparación de, o son productos de los métodos y composiciones descritos. Estos y otros materiales se describen aquí, y se entiende que cuando se describen combinaciones, subconjuntos, interacciones, grupos, etc., de estos materiales que, que aunque pueden no describirse explícitamente la referencia específica de cada una de las diversas combinaciones y permutaciones individuales y colectivas de estos compuestos, cada uno se contempla específicamente y se describe aquí. Por ejemplo, si se describe y explica un número de diferentes polímeros y agentes, todas y cada una de las combinaciones y permutaciones del polímero y agente se contemplan específicamente excepto que se indique específicamente lo contrario. De este modo, si se describe una clase de moléculas A, B, y C, así como una clase de moléculas D, E, y F, y se describe un ejemplo de una molécula de combinación, A-D, entonces incluso si cada una no se cita individualmente, cada una se contempla individual y colectivamente. De este modo, en este ejemplo, cada una de las combinaciones A-E, A-F, B-D, B-E, B-F, C-D, C-E, y C-F se contemplan específicamente, y se deberían de considerar descritas a partir de la descripción de A, B, y C; D, E y F; y la combinación ejemplar A-D. Igualmente, también se contempla y describe específicamente cualquier subconjunto o combinación de estas. De este modo, por ejemplo, se contempla el subgrupo de A-E; B-F, y C-E, y se debería de considerar descrito a partir de la descripción de A, B, y C; D, E, y F; y la combinación ejemplar A-D. Este concepto se aplica a todos los aspectos de esta descripción, incluyendo, pero sin limitarse a, las etapas en los métodos para obtener y usar las composiciones descritas. De este modo, si hay una variedad de etapas adicionales que se pueden realizar, se entiende que cada una de estas etapas adicionales se puede realizar con cualquier realización o combinación específica de realizaciones de los métodos descritos, y que cada una de tales combinaciones se contempla específicamente y se debería de considerar descrita.

30 En un aspecto, los métodos descritos comprenden etapas continuas para el encapsulamiento en micropartículas, en los que cada etapa de mezclado o etapa de alimentación es continua con la siguiente. De este modo, en un aspecto, los presentes métodos evitan el procesamiento discontinuo (por ejemplo, por lotes), en el que se preparan, mezclan, y/o procesan separadamente fases, disoluciones, o dispersiones individuales de otras fases, disoluciones, o dispersiones, y subsiguientemente se mezclan juntas. Será manifiesto que el uso de un procedimiento continuo permite un enfoque costosamente más eficiente y más eficiente en el tiempo para el encapsulamiento en micropartículas. Adicionalmente, se pierde menos agente bioactivo debido a los tiempos de producción más rápidos producidos por los métodos descritos, conduciendo de ese modo a una mayor eficiencia de la carga de agente bioactivo. Además, el control y reproducibilidad de la emulsión primaria (emulsión de agua en aceite) se puede lograr usando un procedimiento continuo, que proporciona un potencial para mejorar el control y reproducibilidad del producto en micropartículas final. Sorprendentemente, las micropartículas de la presente invención, obtenidas mediante el procedimiento continuo de la invención aquí, muestran un estallido inicial reducido. Como será manifiesto, la morfología mejorada y relativamente consistente de las partículas formadas mediante el procedimiento de emulsión doble continuo descrito aquí dio como resultado una reducción en el estallido inicial para un agente bioactivo encapsulado en la micropartícula. Esto probablemente fue un resultado de la distribución controlada y mejorada del agente bioactivo a lo largo de la matriz polimérica, además de una excelente reproducibilidad y consistencia en la distribución del agente bioactivo y atributos de las partículas, que se mantuvieron bien a lo largo del procedimiento continuo. También será manifiesto que las micropartículas formadas a partir del procedimiento de emulsión doble continuo descrito aquí son más consistentes en su aspecto de sección transversal y morfología que las micropartículas formadas a partir de un procedimiento discontinuo (por ejemplo, por lotes).

50 En un aspecto, el método como se define en las reivindicaciones para formar micropartículas comprende: (a) proporcionar una primera fase que comprende un agente bioactivo disuelto o disperso en una primera fase acuosa; (b) proporcionar una segunda fase que comprende un polímero disuelto o disperso en una fase orgánica; (c) #mezclar las fases primera y segunda para formar una emulsión de agua en aceite; (d) #mezclar la emulsión de la etapa (c) con una segunda fase acuosa para formar una emulsión doble de agua en aceite en agua; y (e) eliminar los materiales orgánicos para formar las micropartículas. #: continuamente

60 La primera fase que comprende la primera fase acuosa que tiene el agente bioactivo disuelto o disperso en ella se puede proporcionar usando cualquier medio adecuado. En un aspecto, una cantidad deseada del agente bioactivo se disuelve o dispersa en una disolución o disolvente acuoso adecuado. Se puede usar cualquier cantidad del agente bioactivo, dependiendo de la carga deseada del agente bioactivo en la micropartícula. Igualmente, se puede usar cualquier volumen adecuado de la disolución o disolvente acuoso. El agente bioactivo puede estar presente en la fase acuosa en cualquier % en peso deseado. Por ejemplo, el agente bioactivo puede estar presente en la primera fase acuosa en alrededor de 1% a alrededor de 90% en peso, incluyendo, sin limitación, alrededor de 5%, 10%,

15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, u 80% en peso.

La primera fase puede comprender cualquier disolvente acuoso adecuado. Preferiblemente, el disolvente acuoso es aquel que no alterará sustancialmente la composición del agente bioactivo. Un ejemplo no limitante de un disolvente acuoso es agua. En un aspecto, el agua se puede mezclar con otro disolvente miscible, por ejemplo etanol, metanol, DMSO, DMF, alcohol isopropílico, entre muchos otros disolventes polares miscibles con el agua. En diversos aspectos, la primera fase puede contener otros excipientes, tales como amortiguadores, sales, azúcares, tensioactivos y/o agentes modificadores de la viscosidad, o combinaciones de los mismos. En un aspecto específico, la primera fase puede comprender agua y acetato de etilo.

La segunda fase se puede proporcionar mezclando el polímero en un disolvente orgánico adecuado. En general, el disolvente orgánico se puede seleccionar en base a la solubilidad del polímero o la dispersabilidad del polímero en ese disolvente. Adicionalmente, el disolvente orgánico se puede seleccionar en base a su inmiscibilidad con la fase acuosa. De este modo, se puede usar una amplia variedad de disolventes orgánicos. Los ejemplos no limitantes incluyen acetato de etilo, disolventes clorados tales como cloruro de metileno, hexanos, o una combinación de los mismos, entre muchos otros disolventes orgánicos inmiscibles con el agua. El polímero puede estar presente en la segunda fase en cualquier % en peso deseado. Por ejemplo, el polímero puede estar presente en la segunda fase en alrededor de 1% a alrededor de 90% en peso, incluyendo, sin limitación, alrededor de 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, u 80% en peso. La segunda fase puede comprender además aditivos tales como codisolventes, tensioactivos, emulsionantes, mezclas de dos o más polímeros, o una combinación de los mismos, entre otros aditivos.

Las fases primera y segunda se mezclan de forma continua para formar una emulsión de agua en aceite. La emulsión de agua en aceite comprende la primera fase acuosa que comprende el agente bioactivo como la fase interna, que está sustancialmente rodeada por la fase oleosa, que comprende la segunda fase que contiene el polímero. En un aspecto, la formación de la emulsión de aceite en agua puede ser ayudada por una mezcladora, que está típicamente en línea con el procedimiento continuo. En un aspecto, por ejemplo, la primera fase y la segunda fase pueden fluir independientemente a través de líneas de alimentación que conducen a una mezcladora continua. La mezcladora continua puede comprender cualquier medio de mezclamiento adecuado, incluyendo una mezcladora estática y/o dinámica. La mezcladora puede ser cualquier mezcladora que comprenda partes de mezclamiento mecánicas o no mecánicas. En un aspecto, la mezcladora continua comprende una mezcladora estática que tiene brazos de mezclamiento estáticos que crean turbulencia en el flujo, de manera que la primera y segunda fase se mezclan para formar de ese modo la emulsión de agua en aceite. En otros aspectos, la mezcladora continua comprende un emulsionante, un dispositivo de emulsionamiento, o una homogeneizadora (por ejemplo, una homogeneizadora en línea o continua, o una homogeneizadora de tipo rotor/estator). Los ejemplos incluyen, sin limitación, emulsionadores de lecho empaquetado, tamices, y emulsionadores de membrana. En un aspecto, la mezcladora continua tiene partes de mezclamiento que pueden mezclar las fases a unas revoluciones por minuto deseadas, tal como desde alrededor de 8.000 rpm hasta alrededor de 15.000 rpm, incluyendo, por ejemplo, 12.000 rpm.

La emulsión de agua en aceite (es decir, la emulsión primaria) se mezcla entonces continuamente con una segunda fase que comprende una segunda fase acuosa para formar una emulsión doble de agua en aceite en agua. Una vez formada, la emulsión de agua en aceite se alimenta típicamente de forma inmediata de manera continua al segundo procedimiento continuo, minimizando de ese modo la pérdida de agente bioactivo de la primera fase acuosa. La emulsión de agua en aceite comprende la primera fase acuosa que comprende el agente bioactivo como la fase interna, que está sustancialmente rodeada por la fase oleosa, que comprende la segunda fase que contiene el polímero, estando la segunda fase sustancialmente rodeada por la segunda fase acuosa. La segunda fase acuosa se denomina típicamente como el medio de procesamiento continuo. De este modo, por ejemplo, se puede introducir agua, como la segunda fase acuosa, a la emulsión de agua en aceite alimentando agua al procedimiento en línea después de que se ha hecho pasar la emulsión de agua en aceite a través de la primera mezcladora continua.

Los procedimientos continuos se pueden hacer rápidamente, del orden de segundos o incluso menos de un segundo por etapa. La formación de la emulsión doble de agua en aceite en agua en el segundo procedimiento continuo puede estar ayudada por el uso de una segunda mezcladora continua estática o dinámica, incluyendo cualquiera de las mezcladoras descritas anteriormente. Las mezcladoras primera y segunda pueden ser dispositivos de mezclamiento distintos, y pueden comprender los mismos tipos de dispositivos de mezclamiento o diferentes. O, los dispositivos de mezclamiento primero y segundo pueden ser un dispositivo de mezclamiento continuo que tiene puntos de alimentación por etapas a lo largo de la dirección transversal del dispositivo para las diversas fases que se están mezclando, de manera que los procedimientos continuos primero y segundo se llevan a cabo todos ellos en un dispositivo de mezclamiento continuo.

La segunda fase continua puede comprender cualquier disolvente acuoso deseable. Un ejemplo no limitante de un disolvente acuoso es agua. En un aspecto, el agua se puede mezclar con otro disolvente miscible, disolvente semimiscible, o disolvente poco miscible con agua, por ejemplo etanol, metanol, DMSO, DMF, alcohol isopropílico, acetato de etilo, diclorometano, etc., entre muchos otros disolventes polares miscibles con el agua, disolventes semimiscibles, o disolventes poco miscibles con el agua. En un aspecto, la segunda fase acuosa puede comprender un estabilizante que estabiliza la emulsión doble. Los ejemplos no limitantes de estabilizantes adecuados incluyen

tensioactivos o auxiliares del emulsiónamiento, tales como poli(alcohol vinílico), PVA, o tensioactivos de polisorbato, o poloxámeros. La fase acuosa primera o segunda también puede comprender un emulsionante, que ayuda a la formación de la emulsión o de la emulsión doble. Un ejemplo no limitante de un emulsionante es el tensioactivo Tween 80, o el poloxámero Pluronic F168. En otros aspectos, la segunda fase acuosa puede comprender otros aditivos tales como un disolvente orgánico, un codisolvente, un amortiguador, una sal, un azúcar, o una combinación de los mismos. En un aspecto particular, la segunda fase acuosa comprende un disolvente orgánico además de una sal añadida (tal como cloruro sódico).

Una vez que se forma la emulsión doble de agua en aceite en agua, las micropartículas se pueden formar a partir de la emulsión doble. Las micropartículas se forman típicamente eliminando el disolvente orgánico. El disolvente orgánico se puede eliminar por cualesquiera métodos adecuados. En un aspecto, los materiales orgánicos se pueden eliminar extrayendo los materiales orgánicos con un líquido de extracción, tal como agua. En otros aspectos, los materiales orgánicos se pueden eliminar mediante secado, tal como secado por pulverización, secado a presión reducida, evaporación del disolvente, o una combinación de los mismos. Típicamente, el procedimiento para eliminar los materiales orgánicos se debería de realizar rápidamente para minimizar la pérdida de agente bioactivo de la primera fase acuosa. La eliminación también se puede llevar a cabo usando un procedimiento continuo, tal como un procedimiento de extracción de líquido continuo.

El procedimiento continuo de las etapas (a)-(d) se puede aplicar a un procedimiento de emulsión de aceite en agua en aceite. Por ejemplo, un agente bioactivo se puede disolver o dispersar en una fase oleosa, y se puede disolver o dispersar un polímero en una fase acuosa. A continuación, se puede añadir un disolvente orgánico para formar una emulsión doble. Cualquiera de las etapas anteriores del procedimiento descritas anteriormente se puede usar según el procedimiento de emulsión doble de aceite en agua en aceite descrito.

Se puede usar una amplia variedad de polímeros con los métodos descritos aquí. En un aspecto, el perfil de liberación deseado del agente bioactivo puede influir en la selección del polímero. Por ejemplo, se puede seleccionar un polímero biocompatible para liberar o permitir la liberación del agente bioactivo a partir de él en un momento transcurrido deseado después de que se ha administrado la micropartícula a un sujeto. Por ejemplo, el polímero se puede seleccionar para liberar o permitir la liberación del agente bioactivo antes de que el agente bioactivo comience a disminuir su actividad, en el momento en el que el agente bioactivo comienza a disminuir su actividad, cuando el agente bioactivo ha disminuido parcialmente su actividad, por ejemplo al menos 25%, al menos 50% o al menos 75% disminuida, cuando el agente bioactivo ha disminuido sustancialmente la actividad, o cuando el agente bioactivo ha desaparecido completamente o ya no tiene actividad.

Cuando se usa un polímero biodegradable, la micropartícula se puede formular para que se degrade en un intervalo de tiempo deseado, una vez presente en un sujeto. En algunos aspectos, el intervalo de tiempo puede ser de alrededor de menos de un día a alrededor de 1 mes. Los intervalos de tiempo más prolongados se pueden alargar hasta 6 meses, incluyendo, por ejemplo, matrices poliméricas que se degradan desde alrededor de  $\geq 0$  hasta alrededor de 6 meses, o de alrededor de 1 a alrededor de 6 meses. En otros aspectos, el polímero se puede degradar en intervalos de tiempo más prolongados, hasta 2 años o más, incluyendo, por ejemplo, desde alrededor de  $\geq 0$  hasta alrededor de 2 años, o de alrededor de 1 mes hasta alrededor de 2 años.

Los ejemplos no limitantes de polímeros adecuados incluyen poliésteres, polihidroxicanoatos, polihidroxibutiratos, polidioxanonas, polihidroxicvaleratos, polianhídridos, polioctoésteres, polifosfatenos, polifosfatos, polifosfoésteres, polidioxanonas, polifosfoésteres, polifosfatos, polifosfonatos, polifosfatos, polihidroxicanoatos, policarbonatos, polialquilcarbonatos, poliortocarbonatos, poliesteramidas, poliamidas, poliaminas, polipéptidos, poliuretanos, alquilatos de polialquileño, oxalatos de polialquileño, succinatos de polialquileño, ácidos grasos polihidroxicados, poliacetales, policianoacrilatos, policetales, polieterésteres, poliéteres, polialquilenglicoles, polióxidos de alquileño, polietilenglicoles, polióxidos de etileno, polipéptidos, polisacáridos, o polivinilpirrolidonas. Otros polímeros no biodegradables pero duraderos incluyen, sin limitación, copolímero de etileno-acetato de vinilo, politetrafluoroetileno, polipropileno, polietileno, y similares. Igualmente, otros polímeros no biodegradables adecuados incluyen, sin limitación, siliconas y poliuretanos.

En un aspecto adicional, el polímero puede ser un polisacárido, incluyendo formas modificadas o sustituidas de polisacáridos. Los ejemplos incluyen, sin limitación, maltodextrina, incluyendo tanto formas modificadas como sustituidas de una maltodextrina, almidones, glucógeno, celulosa, quitina, quitosano, dextrina, dextranos, glicanos, glucanos, hialuronanos, y sus versiones modificadas o sustituidas.

En un aspecto adicional, el polímero puede ser una poli(lactida), una poli(glicolida), una poli(lactida-co-glicolida), una poli(caprolactona), un poli(ortoéster), un poli(fosfazeno), un poli(hidroxicbutirato) o un copolímero que contiene un poli(hidroxicbutirato), una poli(lactida-co-caprolactona), un policarbonato, una poliesteramida, un polianhídrido, una poli(dioxanona), un poli(alquilato de alquileño), un copolímero de polietilenglicol y un polioctoéster, un poliuretano biodegradable, un poli(aminoácido), una poliamida, una poliesteramida, un polieteréster, un poliactal, un policianoacrilato, un copolímero de poli(oxietileno)/poli(oxipropileno), poliacetales, policetales, polifosfoésteres, polihidroxicvaleratos o un copolímero que contiene un polihidroxicvalerato, polioxalatos de alquileño, polisuccinatos de alquileño, poli(ácido maleico), y copolímeros, terpolímeros, combinaciones o mezclas de los mismos.

En todavía un aspecto adicional, los polímeros biocompatibles útiles son aquellos que comprenden uno o más restos de ácido láctico, ácido glicólico, lactida, glicolida, caprolactona, hidroxibutirato, hidroxivaleratos, dioxanonas, polietilenglicol (PEG), polióxido de etileno, o una combinación de los mismos. En todavía un aspecto adicional, los polímeros biocompatibles útiles son aquellos que comprenden uno o más restos de lactida, glicolida, caprolactona, o una combinación de las mismas.

5

En un aspecto, los polímeros biodegradables útiles son aquellos que comprenden uno o más bloques de polímeros hidrófilos o solubles en agua, incluyendo, pero sin limitarse a, polietilenglicol (PEG), o polivinilpirrolidona (PVP), en combinación con uno o más bloques de otro polímero biocompatible o biodegradable que comprenda lactida, glicolida, caprolactona, o una combinación de las mismas.

10 En aspectos específicos, el polímero biodegradable puede comprender uno o más restos de lactida. Para ese fin, el polímero puede comprender cualquier resto de lactida, incluyendo todas las formas racémicas y estereoespecíficas de lactida, incluyendo, pero sin limitarse a, L-lactida, D-lactida, y D,L-lactida, o una mezcla de las mismas. Los polímeros útiles que comprenden lactida incluyen, pero no se limitan a, poli(L-lactida), poli(D-lactida), y poli(DL-lactida); y poli(lactida-co-glicolida), incluyendo poli(L-lactida-co-glicolida), poli(D-lactida-co-glicolida), y poli(DL-lactida-co-glicolida); o copolímeros, terpolímeros, combinaciones o mezclas de los mismos. Los polímeros de lactida/glicolida se pueden obtener convenientemente mediante polimerización en estado fundido a través de apertura del anillo de monómeros de lactida y glicolida. Adicionalmente, los polímeros de DL-lactida racémicos, de L-lactida, y de D-lactida están comercialmente disponibles. Los L-polímeros pueden ser más cristalinos y se resorben de forma más lenta que los DL-polímeros. Además de los copolímeros que comprenden glicolida y DL-lactida o L-lactida, los copolímeros de L-lactida y DL-lactida están comercialmente disponibles. Los homopolímeros de lactida o glicolida también están comercialmente disponibles.

15

20

Cuando el polímero biodegradable es poli(lactida-co-glicolida), poli(lactida), o poli(glicolida), la cantidad de lactida y glicolida en el polímero puede variar. En un aspecto adicional, el polímero biodegradable contiene 0 a 100% en moles, 40 a 100% en moles, 50 a 100% en moles, 60 a 100% en moles, 70 a 100% en moles, o 80 a 100% en moles de lactida, y de 0 a 100% en moles, 0 a 60% en moles, 10 a 40% en moles, 20 a 40% en moles, o 30 a 40% en moles de glicolida, en el que la cantidad de lactida y glicolida es 100% en moles. En un aspecto adicional, el polímero biodegradable puede ser poli(lactida), 95:5 poli(lactida-co-glicolida) 85:15 poli(lactida-co-glicolida), 75:25 poli(lactida-co-glicolida), 65:35 poli(lactida-co-glicolida), o 50:50 poli(lactida-co-glicolida), cuando las relaciones son relaciones en moles.

25

30 En un aspecto adicional, el polímero puede ser una poli(caprolactona) o una poli(lactida-co-caprolactona). En un aspecto, el polímero puede ser una poli(lactida-caprolactona), que, en diversos aspectos, puede ser 95:5 poli(lactida-co-caprolactona), 85:15 poli(lactida-co-caprolactona), 75:25 poli(lactida-co-caprolactona), 65:35 poli(lactida-co-caprolactona), 50:50 poli(lactida-co-caprolactona), 40:60 poli(lactida-co-caprolactona), 25:75 poli(lactida-co-caprolactona), 10:90 poli(lactida-co-caprolactona), o 5:95 poli(lactida-co-caprolactona), cuando las relaciones son relaciones en moles.

35

Se entiende que se puede usar cualquier combinación de los polímeros biodegradables mencionados anteriormente, incluyendo, pero sin limitarse a, copolímeros de los mismos, mezclas de los mismos, o mezclas de los mismos. Igualmente, se entiende que cuando se describe un resto de un polímero biodegradable, también se considera descrito cualquier polímero, copolímero, mezcla, o mezcla adecuados, que comprenden el resto descrito. Cuando se describen individualmente restos múltiples (es decir, no en combinación entre sí), se entiende que se puede usar cualquier combinación de los restos individuales.

40

En general, mediante los métodos descritos aquí se puede producir cualquier micropartícula. Las micropartículas pueden tener una amplia variedad de formas y tamaños. En un aspecto, las micropartículas descritas pueden tener un tamaño promedio o medio de partículas de alrededor de 20 micrómetros a alrededor de 125 micrómetros. En una realización, el intervalo de tamaño medio de partículas es de alrededor de 40 micrómetros a alrededor de 90 micrómetros. En otra realización, el intervalo de tamaños medios de partículas es de alrededor de 50 micrómetros a alrededor de 80 micrómetros. Las distribuciones de tamaños de partículas se miden mediante técnicas de difracción de láser conocidas por los expertos en la técnica.

45

En un aspecto adicional, como se explica anteriormente, el procedimiento de emulsión doble descrito proporciona una micropartícula que comprende el agente bioactivo encapsulado, microencapsulado, o de otro modo contenido en la micropartícula. Como se sabe en la técnica, la micropartícula puede modular la liberación del agente bioactivo, dependiendo de la cantidad de agente bioactivo presente en la primera fase acuosa. Por ejemplo, la micropartícula puede comprender 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% en peso de agente bioactivo, con respecto al peso de la micropartícula, incluyendo cualquier intervalo entre los porcentajes descritos. Será manifiesto que los métodos descritos en el presente proporcionan, en un aspecto, un mejor perfil de carga y liberación de una micropartícula, con respecto a una micropartícula preparada mediante un procedimiento discontinuo. En un aspecto específico, la micropartícula puede comprender al menos alrededor de 3% de agente bioactivo en peso, o por ejemplo, de alrededor de 3% a alrededor de 8%, o de alrededor de 4% a alrededor de 6% de agente bioactivo.

50

55

Como será manifiesto, dependiendo de las condiciones de procesamiento de la emulsión doble, el polímero usado como material de partida puede ser o no el mismo polímero presente en la micropartícula final. Por ejemplo, el polímero usado durante el procesamiento puede sufrir reacciones de polimerización o despolimerización, que finalmente pueden producir un polímero diferente que se usó antes del procesamiento. De este modo, el término “polímero”, como se usa aquí, cubre los polímeros usados como materiales de partida, así como el polímero final presente en el dispositivo producido por los métodos descritos aquí. Los métodos para obtener micropartículas se pueden usar en combinación con los métodos de secado y parámetros de secado descritos anteriormente.

Se puede usar una amplia variedad de agentes bioactivos con los métodos descritos aquí. En un aspecto, el agente bioactivo puede ser un agente bioactivo liberable, es decir, un agente bioactivo que se puede liberar de la micropartícula en los tejidos o fluidos adyacentes de un sujeto. En ciertos aspectos, el agente bioactivo puede estar en o sobre la micropartícula.

Se pueden usar diversas formas del agente bioactivo, que son capaces de ser liberadas desde la micropartícula a los tejidos o fluidos adyacentes. Para ese fin, se puede incorporar un agente bioactivo líquido o sólido en las micropartículas descritas aquí. Los agentes bioactivos son al menos muy ligeramente solubles en agua, y preferiblemente moderadamente solubles en agua. Los agentes bioactivos pueden incluir sales del ingrediente activo. Como tales, los agentes bioactivos pueden ser sales ácidas, básicas, o anfóteras. Pueden ser moléculas no iónicas, moléculas polares, o complejos moleculares capaces de un enlace de hidrógeno. El agente bioactivo se puede incluir en las composiciones en forma de, por ejemplo, una molécula no cargada, un complejo molecular, una sal, un éter, un éster, una amida, un conjugado de polímero-fármaco, u otra forma, para proporcionar la actividad biológica o fisiológica eficaz.

Los ejemplos de agentes bioactivos que se incorporan en sistemas aquí incluyen, pero no se limitan a, péptidos, proteínas tales como hormonas, enzimas, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y similares, ácidos nucleicos tales como aptámeros, ARNi, ADN, ARN, ácido nucleico antisentido o similar, análogos de ácido nucleico antisentido o similares, compuestos de bajo peso molecular, o compuestos de peso molecular elevado. Los agentes bioactivos contemplados para uso en las micropartículas descritas incluyen agentes anabólicos, antiácidos, agentes antiasmáticos, agentes antiolesterolémicos y antilipidémicos, anticoagulantes, anticonvulsionantes, antidiarreicos, antieméticos, agentes antiinfecciosos, incluyendo agentes antibacterianos y antimicrobianos, agentes antiinflamatorios, agentes contra la manía, agentes antimetabolitos, agentes antináuseas, agentes antineoplásicos, agentes antiobesidad, agentes antipiréticos y analgésicos, agentes antiespasmódicos, agentes antitrombóticos, agentes antitusivos, agentes antiuricémicos, agentes contra el crecimiento vascular, agentes contra el crecimiento endotelial vascular, agentes contra la angina, antihistaminas, supresores del apetito, sustancias biológicas, dilatadores cerebrales, dilatadores coronarios, broncodilatadores, agentes citotóxicos, descongestionantes, diuréticos, agentes de diagnóstico, agentes eritropoyéticos, expectorantes, sedantes gastrointestinales, agentes hiperglicémicos, hipnóticos, agentes hipoglucémicos, agentes inmunomoduladores, resinas de intercambio iónico, laxantes, suplementos minerales, agentes mucolíticos, fármacos neuromusculares, vasodilatadores periféricos, psicotrópicos, sedantes, estimulantes, agentes tiroideos y anti-tiroideos, agentes del crecimiento tisular, agentes del crecimiento vascular, agentes del crecimiento endotelial vascular, relajantes uterinos, vitaminas, o materiales antigénicos.

Otros agentes bioactivos incluyen inhibidores de andrógenos, polisacáridos, factores de crecimiento, hormonas, factores contra la angiogénesis, dextrometorfano, hidrobromuro de dextrometorfano, noscapina, citrato de carbetapentano, hidrocloreto de clofedianol, maleato de clorfeniramina, tartrato de fenindamina, maleato de pirilamina, succinato de doxilamina, citrato de fenil-toloxamina, hidrocloreto de fenilefrina, hidrocloreto de fenilpropranolamina, hidrocloreto de pseudoefedrina, efedrina, fosfato de codeína, sulfato de codeína, morfina, suplementos minerales, colestiramina, N-acetilprocainamida, acetaminofeno, aspirina, ibuprofeno, hidrocloreto de fenilpropranolamina, cafeína, guaifenesina, hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, péptidos, polipéptidos, proteínas, aminoácidos, hormonas, interferones, citocinas, y vacunas.

Los fármacos representativos que se pueden usar como agentes bioactivos en las micropartículas incluyen, pero no se limitan a, fármacos peptídicos, fármacos proteicos, materiales desensibilizadores, antígenos, agentes antiinfecciosos tales como antibióticos, agentes antimicrobianos, antivirales, antibacterianos, antiparasitarios, sustancias antifúngicas y combinaciones de los mismos, antialérgicos, esteroides androgénicos, descongestionantes, hipnóticos, agentes antiinflamatorios esteroideos, anticolinérgicos, simpatomiméticos, sedantes, mióticos, vigorizantes psíquicos, tranquilizantes, vacunas, estrógenos, agentes progestágenos, agentes humorales, prostaglandinas, analgésicos, antiespasmódicos, antimaláricos, antihistaminas, agentes cardioactivos, agentes antiinflamatorios no esteroideos, agentes antiparkinsonianos, agentes antihipertensivos, agentes bloqueantes  $\beta$ -adrenérgicos, agentes nutricionales, y los alcaloides de benzofenantridina. El agente puede ser además una sustancia capaz de actuar como estimulante, sedante, hipnótico, analgésico, anticonvulsionante, y similar.

La micropartícula puede comprender un gran número de agentes bioactivos, ya sea de forma individual o en combinación. Otros agentes bioactivos incluyen, pero no se limitan a, analgésicos tales como acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, y similares; anestésicos tales como lidocaína, xilocaína, y similares; anoréxicos tales como dexadrina, tartrato de fendimetrazina, y similares; antiartríticos tales como metilprednisolona, ibuprofeno, y similares;



antiasmáticos tales como sulfato de terbutalina, teofilina, efedrina, y similares; antibióticos tales como sulfisoxazol, penicilina G, ampicilina, cefalosporinas, amikacina, gentamicina, tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, clindamicina, isoniazida, rifampina, y similares; antifúngicos tales como anfotericina B, nistatina, ketoconazol, y similares; antivirales tales como aciclovir, amantadina, y similares; agentes contra el cáncer tales como ciclofosfamida, metotrexato, etretinato, y similares; anticoagulantes tales como heparina, warfarina, y similares; anticonvulsivos tales como fenitoína sódica, diazepam, y similares; antidepresivos tales como isocarboxazida, amoxapina, y similares; antihistaminas tales como difenhidramina HCl, maleato de clorfeniramina, y similares; hormonas tales como insulina, progestinas, estrógenos, corticoides, glucocorticoides, andrógenos, y similares; tranquilizantes tales como torazina, diazepam, clorpromazina HCl, reserpina, clordiazepóxido HCl, y similares; antiespasmódicos tales como alcaloides de belladona, hidrocloreuro de dicitolmina, y similares; vitaminas y minerales tales como aminoácidos esenciales, calcio, hierro, potasio, cinc, vitamina B<sub>12</sub>, y similares; agentes cardiovasculares tales como prazosina HCl, nitroglicerina, propranolol HCl, hidralazina HCl, pancrelipasa, ácido succínico deshidrogenasa, y similares; péptidos y proteínas tales como LHRH, somatostatina, calcitonina, hormona del crecimiento, péptidos similares a glucagón, factores liberadores del crecimiento, angiotensina, FSH, EGF, proteína morfogénica ósea (BMP), eritropoyetina (EPO), interferón, interleucina, colágeno, fibrinógeno, insulina, Factor VIII, Factor IX, Enbrel<sup>®</sup>, Rituxam<sup>®</sup>, Herceptin<sup>®</sup>, alfa-glucosidasa, Cerazyme/Ceredose<sup>®</sup>, vasopresina, ACTH, seroalbúmina humana, gamma globulina, proteínas estructurales, proteínas del producto de la sangre, proteínas complejas, enzimas, anticuerpos, anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, y similares; prostaglandinas; ácidos nucleicos; hidratos de carbono; grasas; narcóticos tales como morfina, codeína, y similares, sustancias psicoterapéuticas; antimaláricos, L-dopa, diuréticos tales como furosemida, espironolactona, y similares; fármacos contra la úlcera tales como rantidina HCl, cimetidina HCl, y similares.

El agente bioactivo también puede ser un inmunomodulador, incluyendo, por ejemplo, citocinas, interleucinas, interferón, factor estimulante de colonias, factor de necrosis tumoral, y similares; alérgenos tales como caspa de gato, polen de abedul, ácaro doméstico, polen de la hierba, y similares; antígenos de organismos bacterianos tales como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyrogenes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Bordetella pertussis*, *Francisella tularensis*, *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Treponema pallidum*, *Leptospira interrogans*, *Borrelia burgdorferi*, *Campylobacter jejuni*, y similares; antígenos de virus tales como viruela, gripe A y B, sincitial respiratorio, parainfluenza, sarampión, VIH, SARS, varicela Zóster, herpes simple 1 y 2, citomegalovirus, Epstein-Barr, rotavirus, rinovirus, adenovirus, virus del papiloma, poliovirus, paperas, rabia, rubéola, virus Cocksackie, encefalitis equina, encefalitis japonesa, fiebre amarilla, fiebre del Valle del Rift, coriomeningitis linfocítica, hepatitis B, y similares; antígenos de organismos fúngicos, protozoarios y parasitarios, tales como *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Nocardia asteroides*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia trachomatis*, *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas vaginalis*, *Schistosoma mansoni*, y similares. Estos antígenos pueden estar en forma de organismos muertos completos, péptidos, proteínas, glicoproteínas, hidratos de carbono, o combinaciones de los mismos.

En un aspecto específico adicional, el agente bioactivo comprende un antibiótico. El antibiótico puede ser, por ejemplo, uno o más de amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, paromomicina, ansamicinas, geldanamicina, herbimicina, carbacefem, loracarbef, carbapenems, ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina, meropenem, cefalosporinas (primera generación), cefadroxilo, cefazolina, cefalotina o cefalotina, cefalexina, cefalosporinas (segunda generación), cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozilo, cefuroxima, cefalosporinas (tercera generación), cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, cefazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefalosporinas (cuarta generación), cefepime, cefalosporinas (quinta generación), ceftobiprol, glicopéptidos, teicoplanina, vancomicina, macrólidos, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina, espectinomina, monobactamas, aztreonam, penicilinas, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, metilicina, nafcilina, oxacilina, penicilina, piperacilina, ticarcilina, polipéptidos, bacitracina, colistina, polimixina b, quinolonas, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina, sulfonamidas, mafenida, prontosilo (arcaico), sulfacetamida, sulfametazol, sulfanilimida (arcaico), sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprima, trimetoprima-sulfametazol (co-trimoxazol) (TMP-SMX), tetraciclinas, incluyendo demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, y otras; arsfenammina, cloranfenicol, clindamicina, lincomicina, etambutol, fosfomicina, ácido fusídico, furazolidona, isoniazida, linezolid, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoina, platensimicina, pirazinamida, quinupristina/dalfopristina, rifampicina (rifampina en los Estados Unidos de América), tinidazol, o una combinación de los mismos. En un aspecto, el agente bioactivo puede ser una combinación de rifampicina (rifampina en los Estados Unidos de América) y minociclina.

En ciertos aspectos, el agente bioactivo puede estar presente como un componente en una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar convenientemente en una forma de dosificación deseada, incluyendo, por ejemplo, una forma de dosificación unitaria o una forma de dosificación de liberación controlada, y preferiblemente mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. En

general, las composiciones farmacéuticas se preparan asociando uniforme e íntimamente el agente bioactivo con un vehículo líquido o un vehículo sólido finamente dividido, o con ambos. El vehículo farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo, un sólido, líquido o gas. Los ejemplos de vehículos sólidos incluyen lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio, y ácido esteárico. Los ejemplos de vehículos líquidos son jarabe de azúcar, aceite de cacahuete, aceite de oliva, y agua. Los ejemplos de vehículos gaseosos incluyen dióxido de carbono y nitrógeno. Otros vehículos o componentes farmacéuticamente aceptables que se pueden mezclar con el agente bioactivo pueden incluir, por ejemplo, un ácido graso, un azúcar, una sal, un polímero soluble en agua tal como polietilenglicol, una proteína, polisacárido, o carboximetilcelulosa, un tensioactivo, un plastificante, un porosígeno de peso molecular elevado o bajo, tal como polímero o una sal o azúcar, o un compuesto hidrófobo de bajo peso molecular, tal como colesterol o una cera.

La micropartícula se puede administrar a cualquier sujeto deseado. El sujeto puede ser un vertebrado, tal como un mamífero, un pez, un pájaro, un reptil, o un anfibio. El sujeto de los métodos descritos aquí puede ser, por ejemplo, un ser humano, primate no humano, caballo, cerdo, conejo, perro, oveja, cabra, vaca, gato, cobaya o roedor. El término no representa una edad o sexo particular. De este modo, se pretende cubrir sujetos adultos y neonatos, así como fetos, ya sea machos o hembras.

## EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a aquellos de pericia normal en la técnica una descripción y explicación completa de cómo los compuestos, composiciones y métodos descritos y reivindicados aquí se obtienen y evalúan, y están destinados a ser puramente ejemplares y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención. Se han realizado esfuerzos para asegurar la exactitud con respecto a los números (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deberían de considerar algunos errores y desviaciones. Excepto que se indique de otro modo, las partes están en peso, las temperatura están en grados Centígrados (°C) o está a temperatura ambiente, y la presión está a presión atmosférica o cerca de ella. Hay numerosas variaciones y combinaciones de condiciones de reacción, por ejemplo concentraciones de componentes, mezclas de componentes, disolventes deseados, mezclas de disolventes, temperaturas, presiones y otros intervalos y condiciones de reacción que se pueden usar para optimizar la pureza y rendimiento del producto obtenidos del procedimiento descrito. Solo se requerirá una experimentación razonable y normal para optimizar tales condiciones del procedimiento. El polímero usado para los siguientes ejemplos fue una 75:25 poli(D,L-lactida-co-glicolida) que tiene una viscosidad intrínseca de 0,42 dl/g.

### 30 **Ejemplo 1. Emulsión doble discontinua (mezclamiento de emulsión primaria a velocidad elevada).**

Se preparó una disolución polimérica (DP1) disolviendo 15 gramos de polímero en 60 gramos de cloruro de metileno (20% de concentración de polímero total, en peso). Se preparó una disolución de goserelina (DP2) disolviendo 970 mg de acetato de goserelina (Genzyme Pharmaceuticals; Cambridge, MA) en 6 ml de agua. Por separado, se preparó una disolución de fase continua (CP) añadiendo 90 gramos de acetato de etilo a 1200 gramos de una disolución acuosa que contiene 1% en peso de poli(alcohol vinílico), PVA (Amresco, Solon, OH). Se preparó una emulsión primaria de agua en aceite (la emulsión primaria) añadiendo la disolución de fármaco DP2 a la disolución de polímero DP1 y homogeneizando entonces estas disoluciones usando tres ciclos de mezclamiento de 10 segundos con una mezcladora de sonda IKA Ultra-Turrax UTL-25 equipada con una punta rotora/estatora gruesa que funciona a una velocidad del rotor de 12.000 RPM. Esta emulsión primaria (la disolución de fase dispersa (DP)) se colocó entonces inmediatamente en una jeringuilla de 60 ml, la cual se colocó entonces en una bomba de jeringuilla dual Cole-Parmer.

La disolución DP (la emulsión primaria) y la disolución CP se suministraron por separado a la entrada de un cabezal de mezcladora en línea de laboratorio de una homogeneizadora Silverson L4R-T equipada con un tamiz estator de cabezal disgregador de cizallamiento elevado. La disolución DP se suministró a una velocidad de 10 g/min. La disolución CP se suministró a una velocidad de 125 g/min. La Silverson se ajustó a una velocidad de la mezcladora de 1.000 RPM. La emulsión efluente de la mezcladora Silverson se diluyó entonces inmediatamente con agua de fase de extracción adicional (EP), que se suministró a la corriente de la emulsión efluente a una velocidad de 3500 gramos/min. El efluente resultante se dirigió a través de un tubo a un tanque de 18 galones que estaba equipado con una mezcladora adecuada (Lightnin G3U05R o similar) ajustada para agitar la suspensión a alrededor de 600-900 RPM. Inicialmente, la válvula en la parte inferior en el tanque de 18 galones se dejó abierta, y se hizo pasar un primer minuto de producto de emulsión a desecho. Después del primer minuto, se captó una porción de 2 l de emulsión a partir del tubo de salida hacia un vaso de precipitados de 4 l, que entonces se agitó con una barra agitadora magnética usando una placa agitadora magnética. Después de recoger esta porción de la emulsión, el tubo de salida se dirigió nuevamente al tanque de 18 galones, en el que el efluente resultante se hizo pasar a través de la válvula abierta hacia desecho.

Aproximadamente a la mitad del experimento, se recogió una segunda porción de 2 l del producto en un vaso de precipitados de 4 l de una manera similar a la primera muestra. Una vez recogido, el efluente se hizo pasar hacia desecho. Cerca del final del experimento, la válvula de la parte inferior en el tanque de 18 galones se cerró, y se recogió la porción final del experimento en este tanque. De esta manera, se recogieron tres porciones del experimento desde la porción inicial, central, y última del experimento. Todas las muestras se manipularon entonces

de forma similar. Cada muestra se agitó durante 90 minutos para permitir la extracción completa de disolvente de las partículas. En este punto, cada muestra se hizo pasar a través de un conjunto de tamices de ensayo de 125 micrómetros y 25 micrómetros (tamices de ensayo de acero inoxidable estándar (Standard FisherBrand U.S.) a fin de recoger el producto de 25-125 micrómetros, que se obtuvo en la malla de 25 micrómetros. Cada muestra se lavó con 4 l de agua desionizada. A continuación, el producto se suspendió en 200 ml de agua desionizada, se congeló, y se liofilizó para eliminar el agua (aproximadamente 48 horas), a fin de obtener el producto en forma de micropartículas en polvo seco. Tras secar, el producto de las micropartículas se transfirió a un vial de centelleo, que se cerró de forma segura y se almacenó desecado y congelado hasta análisis posterior.

### Ejemplo 2. Emulsión doble continua (mezclamiento de emulsión primaria a velocidad elevada).

La disolución de polímero (DP1), la disolución acuosa de goserelina (DP2), y las disoluciones CP se prepararon como se describió en el Ejemplo 1. La misma sonda IKA usada en el Ejemplo 1 (la mezcladora de sonda IKA Ultra-Turrax UTL-25 equipada con una punta de rotor/estator gruesa) se insertó en un adaptador de cabezal de mezcladora en línea IKA, a fin de operar en un modo de mezclamiento continuo. Las tuberías se configuraron para permitir que tanto la disolución de polímero DP1 como la disolución acuosa de goserelina DP2 se introdujeran individualmente en la entrada del adaptador del cabezal de mezcladora en línea. Al suministrar al mismo tiempo ambas disoluciones DP1 y DP2 en el cabezal de la mezcladora en línea, fue posible generar la emulsión primaria de manera continua. La disolución de polímero DP1 se bombeó a una velocidad de 10 g/min., mientras que la disolución de goserelina DP2 se suministró a una velocidad de 1 ml/min.; la mezcladora IKA se ajustó a una velocidad de la mezcladora de 12.000 RPM. La emulsión primaria resultante (la disolución DP) se produjo por lo tanto a una velocidad de alrededor de 11 g/min. de manera continua. La emulsión primaria (la disolución DP) se suministró entonces de manera continua directamente a la entrada de un cabezal de mezcladora en línea de laboratorio de una homogeneizadora Silverson L4R-T junto con la disolución CP como se describe en el Ejemplo 1. La disolución CP se suministró a una velocidad de 125 g/min. El experimento y la recogida de las tres fracciones de la porción inicial, central, y última del experimento se llevaron a cabo como se describió en el Ejemplo 1. Las muestras se recogen, se lavaron y se secaron como se describió en el Ejemplo 1.

El contenido de fármaco (goserelina) se llevó a cabo en muestras selectas mediante HPLC. La liberación in vitro se llevó a cabo incubando muestras a 37°C en disoluciones salinas amortiguadas con fosfato, y analizando porciones del medio de liberación mediante HPLC en los intervalos de tiempo indicados. En cada caso, se analizaron porciones de las muestras procedentes de la porción central y última de cada experimento, en las que las condiciones de procesamiento habían alcanzado el estado estacionario.

Se llevó a cabo la microscopía electrónica de barrido (SEM) en muestras selectas. Las secciones transversales de las micropartículas se llevaron a cabo usando una técnica de criomicrotomo. Se utilizó Raman confocal para observar la distribución de componentes dentro y a lo largo de todo el volumen de las micropartículas individuales.

El producto obtenido del procedimiento de emulsión primaria discontinuo exhibió un estallido inicial relativamente grande, como resultado de la variabilidad en la morfología del producto de micropartículas resultante. La población de partículas que tienen fármaco pobremente distribuido atrapado en las partículas produjo una liberación de goserelina en forma de estallido relativamente grande. Por el contrario, la morfología de la sección transversal mejorada y relativamente consistente de partículas formadas mediante el procedimiento de emulsión doble continuo dio como resultado una reducción en el estallido. Esto fue probablemente un resultado de la distribución controlada y mejorada del fármaco por toda la matriz polimérica, junto con una excelente reproducibilidad y consistencia en la distribución del fármaco y atributos de las partículas a lo largo del experimento. Los datos de comportamiento para las micropartículas de los Ejemplos 1 y 2 se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización de formulaciones de los Ejemplos 1 y 2.

Ejemplo	Condiciones del procesamiento	Porción del experimento	Carga de fármaco teórica	Carga de fármaco medida	Liberación in vitro, porcentaje acumulativo		
					2 horas	24 horas	48 horas
1	Emulsión primaria discontinua; mezclamiento de la emulsión primaria a 12.000 RPM	Central	6%	5,6%	12,3	20,9	29,7
		Última	6%	5,9%	14,6	23,3	30,4
2	Emulsión primaria continua; mezclamiento de la emulsión primaria a 12.000 RPM	Central	6%	5,3%	0	12,9	15,2
		Última	6%	5,25	0	14,8	16,2

### Ejemplo 3. Procedimiento de emulsión doble discontinuo (relación elevada de agua de fase interna usada en la preparación de la emulsión primaria).

Se preparó una formulación de manera similar al procedimiento de emulsión doble discontinuo del Ejemplo 1, excepto que durante la preparación de la emulsión primaria se usó una relación más grande de agua. En este caso,

se preparó una disolución de polímero (DP1) disolviendo 20 gramos de polímero en 80 gramos de cloruro de metileno (concentración de polímero total 20%, en peso). Se preparó una disolución de goserelina (DP2) disolviendo 1,29 g en 20 ml de agua. De forma independiente, se preparó una disolución de fase continua (CP) añadiendo 90 gramos de acetato de etilo a 1200 gramos de una disolución acuosa que contiene 1% en peso de poli(alcohol vinílico) PVA (Amresco, Solon, OH). Las dos disoluciones se homogeneizaron juntas (como se describe en el Ejemplo 1) usando una mezcladora de sonda IKA a 12.000 rpm para formar la disolución de fase dispersa (DP) (la emulsión primaria). Esta emulsión se colocó entonces dentro de una jeringuilla de 100 ml, la cual se colocó a su vez en una bomba de jeringuilla dual Cole-Parmer. La disolución DP y la disolución CP se suministraron entonces a y se homogeneizaron usando una homogeneizadora Silverson L4R-T como se describe en el Ejemplo 1. Las etapas restantes también se llevaron a cabo como se describió en el Ejemplo 1 a fin de obtener muestras del producto de micropartículas procedentes de las porciones inicial, central y última del experimento.

**Ejemplo 4. Procedimiento de emulsión doble continuo (relación elevada de agua de fase interna usada en la preparación de la emulsión primaria).**

Se preparó una formulación de manera similar al procedimiento de emulsión doble continuo del Ejemplo 2, excepto que durante la preparación de la emulsión primaria se usó una relación más grande de agua. En este caso, las disoluciones de polímero, de goserelina y CP se prepararon como se describió en el Ejemplo 3. Entonces se llevaron a cabo otras etapas de procesamiento como se describe en el Ejemplo 2 para la preparación de las micropartículas usando un procedimiento de emulsión doble continuo. Se recogieron porciones del producto a partir de las porciones inicial, central y última del experimento como se describe en el Ejemplo 2.

Las muestras del Ejemplo 4 tuvieron cargas muy elevadas del fármaco soluble en agua (eficiencias de encapsulamiento), a pesar de prepararlas con cantidades relativamente grandes de agua de fase interna. Esto no se observó cuando las muestras se prepararon a partir de una emulsión primaria discontinua (Ejemplo 3). El procedimiento continuo del Ejemplo 4 produjo un producto que solamente liberó fármaco de forma lenta a lo largo de las primeras 48 horas del sistema de liberación in vitro. Esto demuestra la distribución y encapsulamiento del fármaco relativamente mejorados y consistentes proporcionados por el procedimiento de emulsión doble continuo (en comparación con el procedimiento discontinuo usado en el Ejemplo 3). Los datos de comportamiento para las micropartículas de los Ejemplos 3 y 4 se resumen en la Tabla 2. El contenido de fármaco, la liberación in vitro, y las SEM se midieron usando el mismo protocolo como en los Ejemplos 1 y 2 anteriores.

Tabla 2. Caracterización de formulaciones de los Ejemplos 3 y 4.

Ejemplo	Condiciones del procesamiento	Porción del experimento	Carga de fármaco teórica	Carga de fármaco medida	Liberación in vitro, porcentaje acumulativo		
					2 horas	24 horas	48 horas
3	Emulsión primaria discontinua; mezclamiento de la emulsión primaria a 12.000 RPM	Central	6%	3,4	25,0	26,3	47,4
		Última	6%	3,2	25,9	26,4	47,8
4	Emulsión primaria continua; mezclamiento de la emulsión primaria a 12.000 RPM	Central	6%	6,8	14,1	14,3	26,2
		Última	6%	6,5	13,6	13,9	25,5

Con referencia a la Figura 1, se puede ver que las micropartículas preparadas aquí mediante el procedimiento discontinuo descrito en el Ejemplo 1 observadas mediante secciones transversales de SEM tienen cantidades y distribuciones variables de poros u orificios. La Figura 1a muestra una sección transversal de SEM representativa de poros formados cerca de la superficie de una micropartícula individual. El análisis de Raman confocal, mostrado en la Figura 1b, proporciona pruebas que apoyan que hubo fármaco concentrado alrededor de la periferia de estos poros, así como que estuvo distribuido en y a lo largo de la matriz de polímero como se muestra en la Figura 1c. En la Figura 1, el área gris representa la matriz de polímero; el área negra representa los espacios vacíos o poros llenos de aire; el área gris claro (blanca a gris claro) representa fármaco (goserelina).

Estas observaciones pueden proporcionar pruebas de que estos poros representan los espacios vacíos dejados por gotitas más grandes de la fase acuosa de la emulsión primaria (la disolución acuosa que contiene fármaco) que se formaron durante la formación de las partículas. De otro modo, en todos los casos se encontró que el fármaco estaba uniformemente distribuido a lo largo del resto de la matriz rica en polímero (libre de espacios vacíos), como se demuestra en la Figura 1 (c). De este modo, es probable que las regiones ricas en polímero dentro de las partículas se formaran a partir de una emulsión primaria que contiene fármaco muy finamente dispersa. Por el contrario, los espacios vacíos o poros se formaron a partir de gotitas de la emulsión primaria que sufrieron coalescencia para formar gotitas acuosas más grandes a medida que la calidad de la emulsión primaria se degradó lentamente.

Con referencia a las Figuras 2a-c, se puede observar que secciones transversales de micropartículas retiradas de diversas porciones del procedimiento de micropartículas del Ejemplo 1 mostraron atributos variados. Algunas son

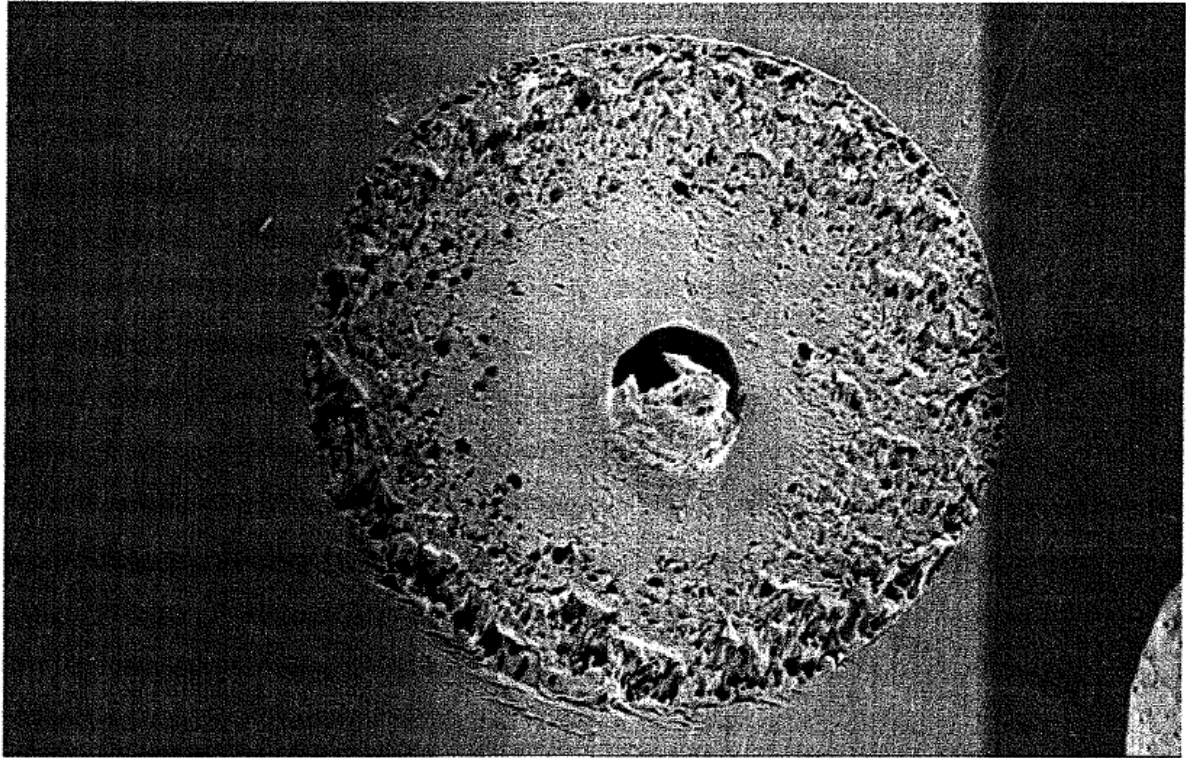
5 casi sólidas (no porosas), mientras que una mayoría de partículas parecen porosas a lo largo de sus diámetros. Además, las partículas porosas varían en términos de sus tamaños de poros: algunas partículas exhiben una porosidad fina, mientras que otras partículas exhiben una porosidad fina a gruesa. En general, sin embargo, las micropartículas preparadas con un procedimiento de emulsión primaria discontinuo son bastante variables e inconsistentes en su morfología interna.

10 A diferencia del procedimiento de emulsión doble discontinuo del Ejemplo 1, la preparación continua de la emulsión primaria usada para preparar la muestra del Ejemplo 2 produjo una emulsión primaria relativamente bien definida, como se evidenció por la falta de espacios vacíos o poros en el interior de estas partículas. Con referencia a las Figuras 3a-c, se proporcionan imágenes de SEM de partículas del Ejemplo 2 (una emulsión doble continua que usa 12.000 RPM para la preparación de la emulsión primaria). Como se menciona con referencia a la Figura 1, las imágenes de Raman confocal (datos no mostrados) muestran partículas de fármaco que son homogéneas en tamaño y que están bien distribuidas a lo largo de toda la matriz polimérica de la partícula individual. Además, la morfología interior de las partículas permanece virtualmente idéntica de una partícula a otra a lo largo de todo el experimento. Esta consistencia entre partículas demuestra la ventaja de control y reproducibilidad en los atributos del producto al usar un procedimiento de emulsión doble continuo. Con referencia a las Figuras 4a-c y Figuras 5a-c, y similarmente a aquellas de las Figuras 2 y 3 (de los Ejemplos 1 y 2), se puede observar que las partículas formadas usando el procedimiento discontinuo (Ejemplo 3) (Figuras 4a-c) son inconsistentes y variables en la morfología de la sección transversal. Por el contrario, las partículas formadas a partir del procedimiento de emulsión doble continuo (Ejemplo 4) (Figuras 5a-c) son más consistentes en su aspecto y morfología de la sección transversal.

20 Se pueden realizar diversas modificaciones y variaciones a los compuestos, materiales compuestos, kits, artículos, dispositivos, composiciones, y métodos descritos aquí. Otros aspectos de los compuestos, materiales compuestos, kits, artículos, dispositivos, composiciones, y métodos descritos aquí serán manifiestos al considerar la memoria descriptiva y la práctica de los compuestos, materiales compuestos, kits, artículos, dispositivos, composiciones, y métodos descritos aquí. Se pretende que la memoria descriptiva y los ejemplos sean considerados como ejemplares.

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para formar micropartículas, que comprende:
  - (a) proporcionar una primera fase que comprende un agente bioactivo disuelto o disperso en una primera fase acuosa;
  - 5 (b) proporcionar una segunda fase que comprende un polímero disuelto o disperso en una fase orgánica;
  - (c) mezclar de forma continua las fases primera y segunda para formar una emulsión de agua en aceite;
  - (d) mezclar continuamente la emulsión de la etapa (c) con una segunda fase acuosa para formar una emulsión doble de agua en aceite en agua; y
  - (e) eliminar los materiales orgánicos para formar las micropartículas.
- 10 2. El método de la reivindicación 1, en el que el agente bioactivo es soluble en agua o dispersable en agua.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en el que las etapas (c) y (d) se llevan a cabo cada una independientemente usando una mezcladora estática, una homogeneizadora de rotor/estator, o una combinación de las mismas.
4. El método de cualquier reivindicación anterior, en el que la eliminación del material orgánico comprende extraer el material orgánico con un líquido de extracción.
- 15 5. El método de cualquier reivindicación anterior, en el que el polímero es poli(lactida), poli(glicolida), poli(caprolactona), o un copolímero de las mismas.
6. El método de cualquier reivindicación anterior, en el que el polímero es poli(lactida-co-glicolida).
7. El método de cualquier reivindicación anterior, en el que el polímero es una 75:25 poli(D,L-lactida-co-glicolida).
8. El método de la reivindicación 7, en el que el polímero tiene una viscosidad intrínseca de 0,42 dl/g.
- 20 9. Una micropartícula obtenida mediante el método de cualquier reivindicación anterior.



Signal A = SE2 3µm  
EHT = 0.70 kV  
WD = 4 mm Mag = 1.00 K X

Figura 1a

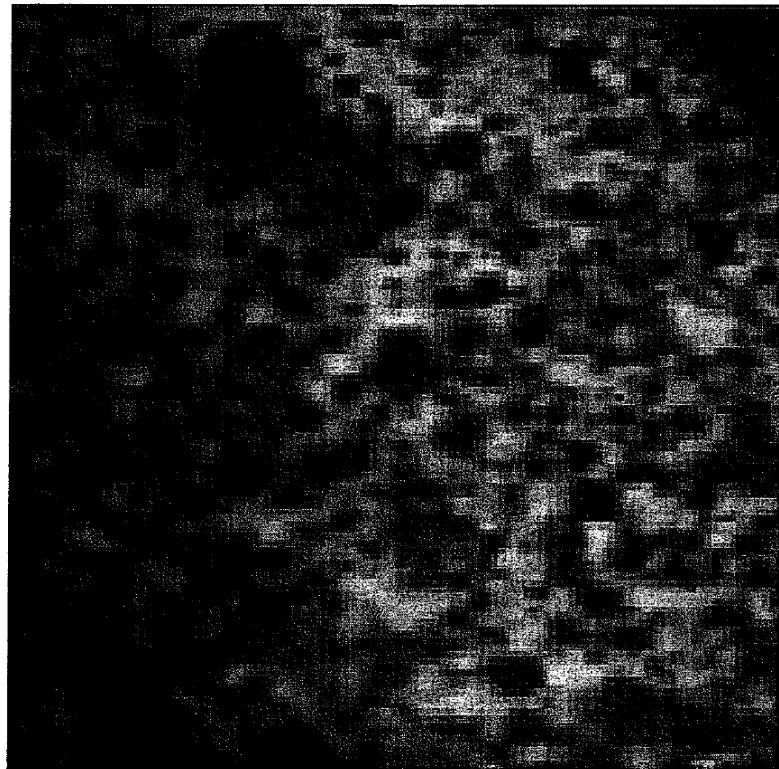


Figura 1b

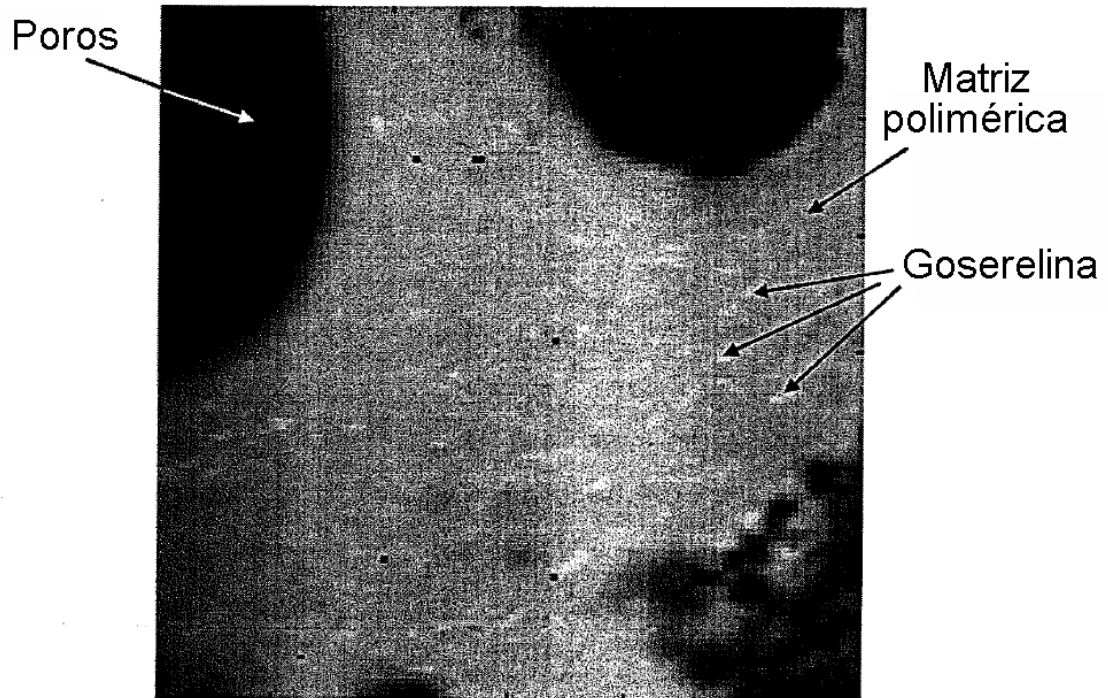
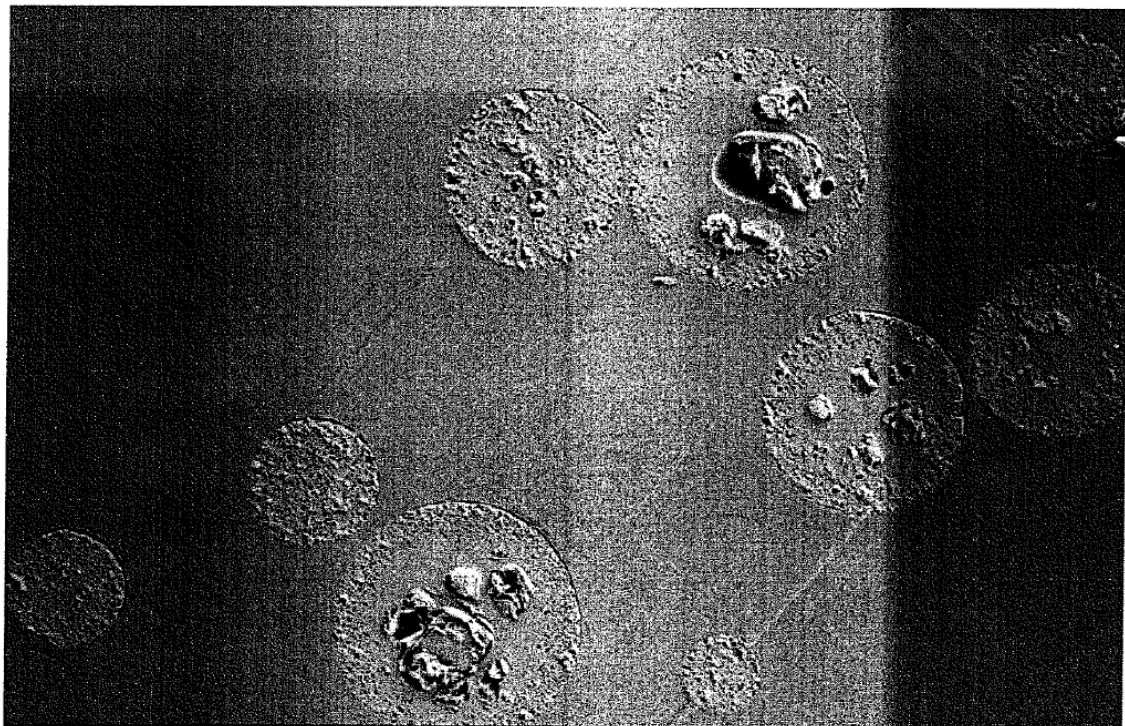


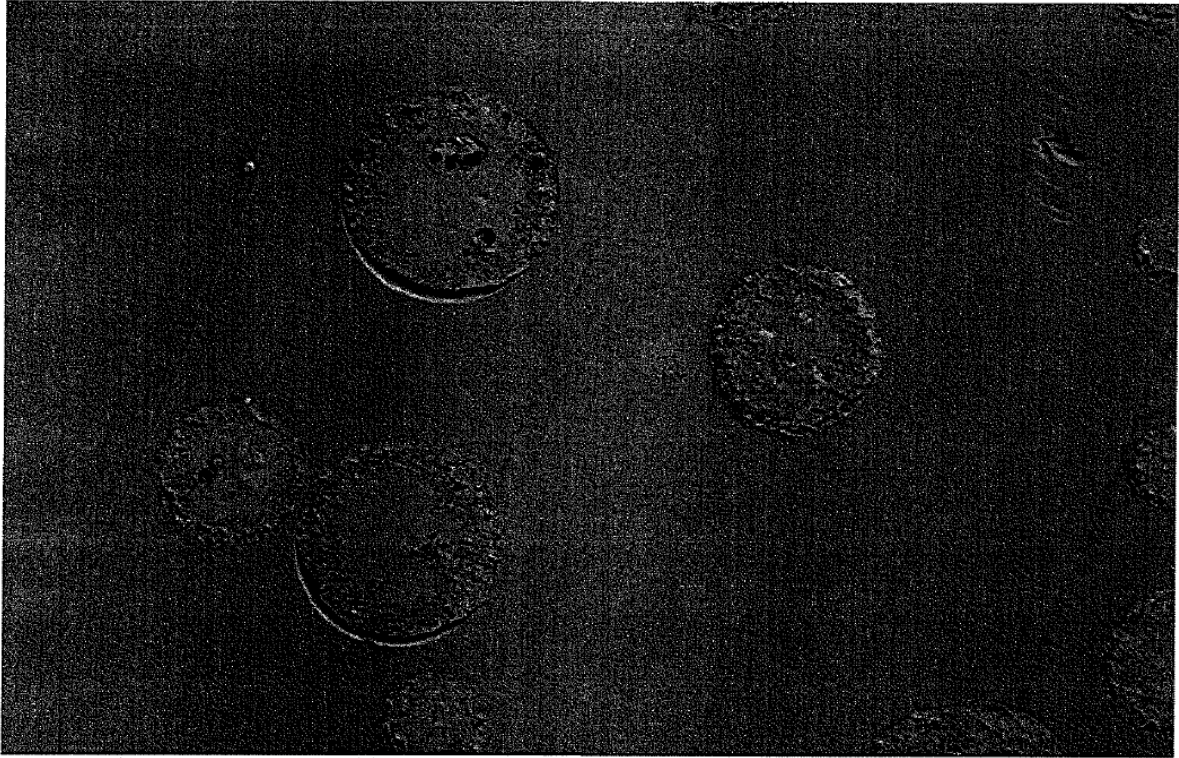
Figura 1c



Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.70 kV    |—|  
WD = 4 mm        Mag = 250 X

Figura 2a






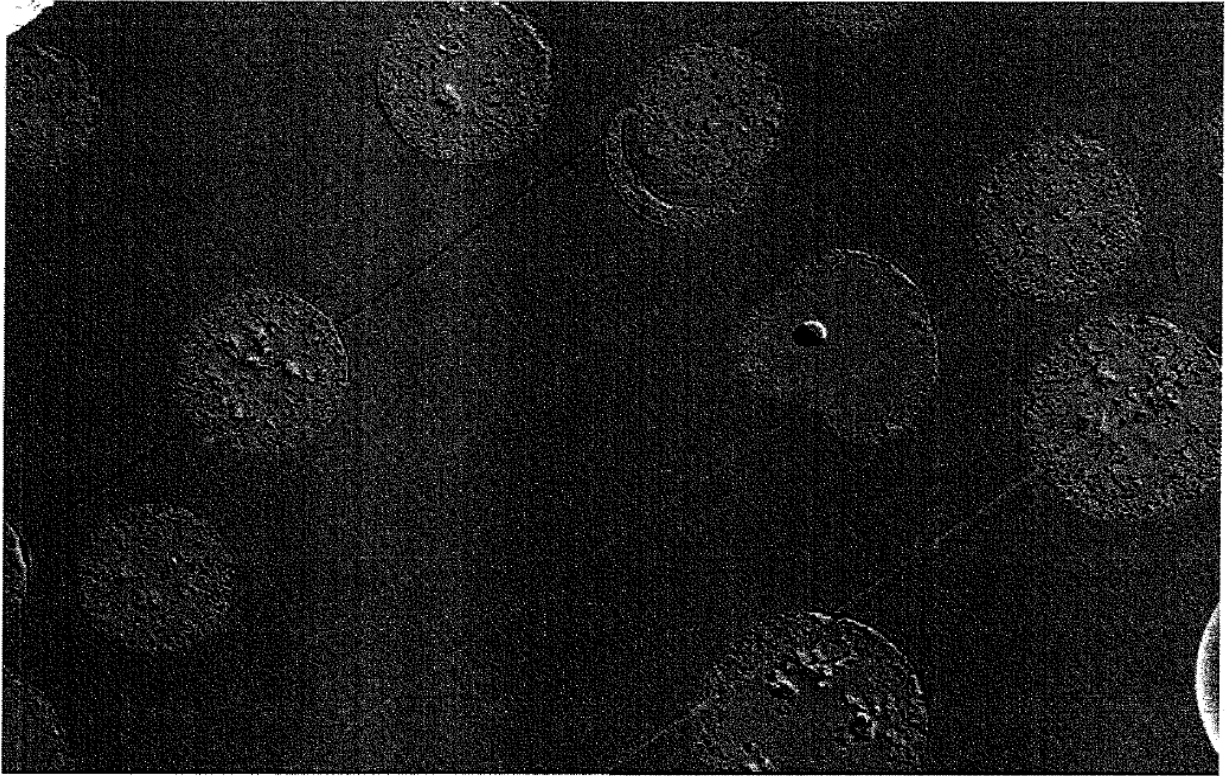
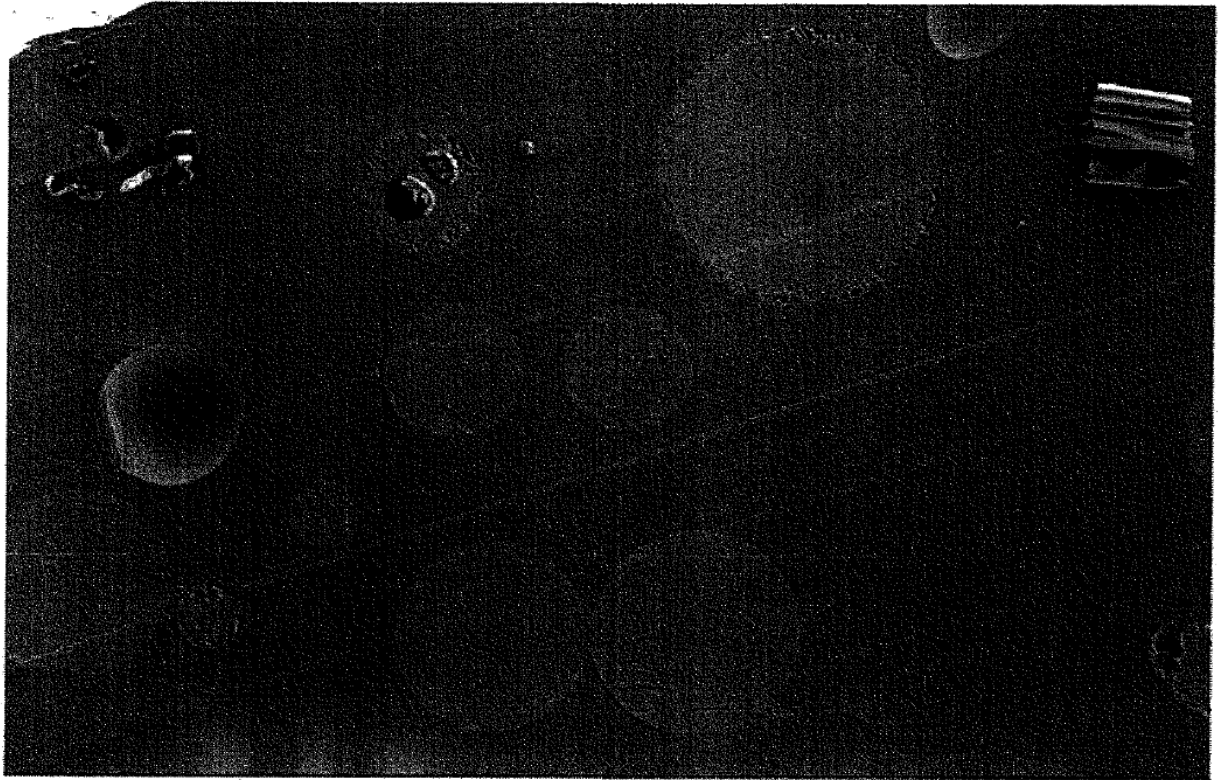
Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.70 kV      
WD = 4 mm        Mag = 250 X

Figura 2b



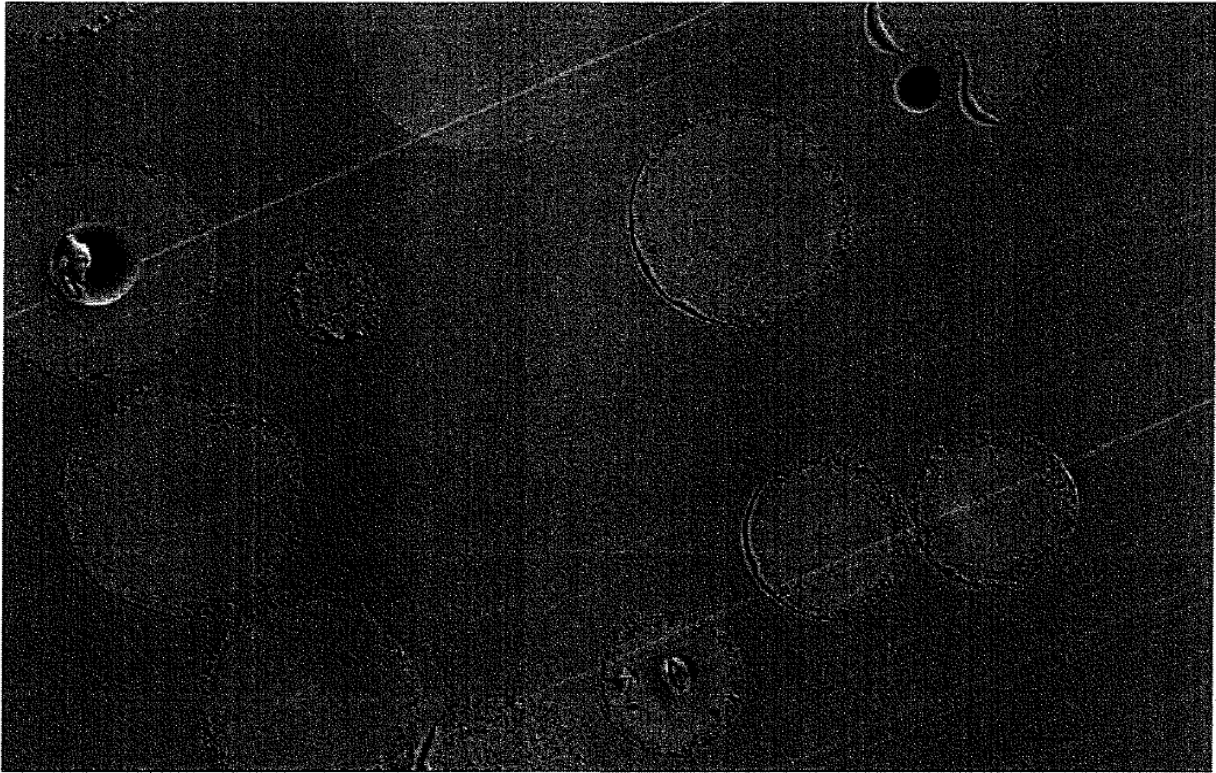
Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.70 kV    ┆┆┆  
WD = 4 mm        Mag = 250 X

Figura 2c



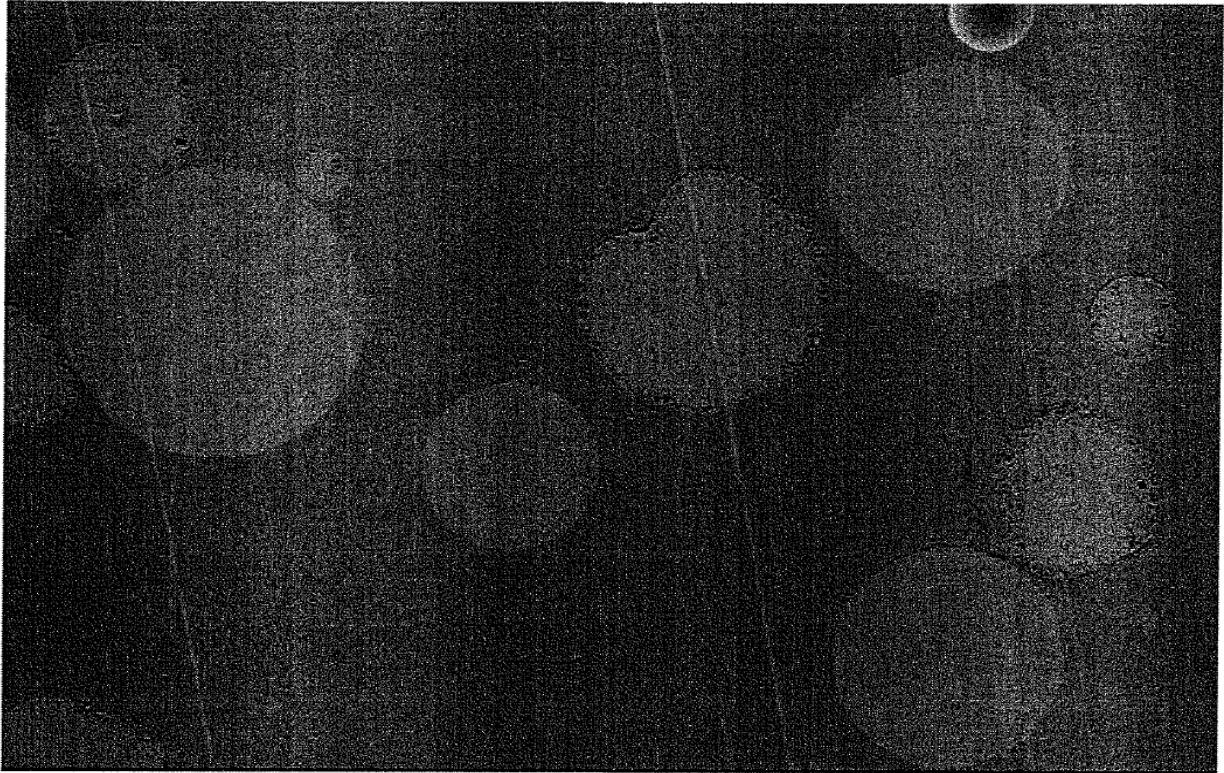
Signal A = SE2    30µm  
EHT = 1.00 kV    ┆───┆  
WD = 5 mm        Mag = 250 X

Figura 3a



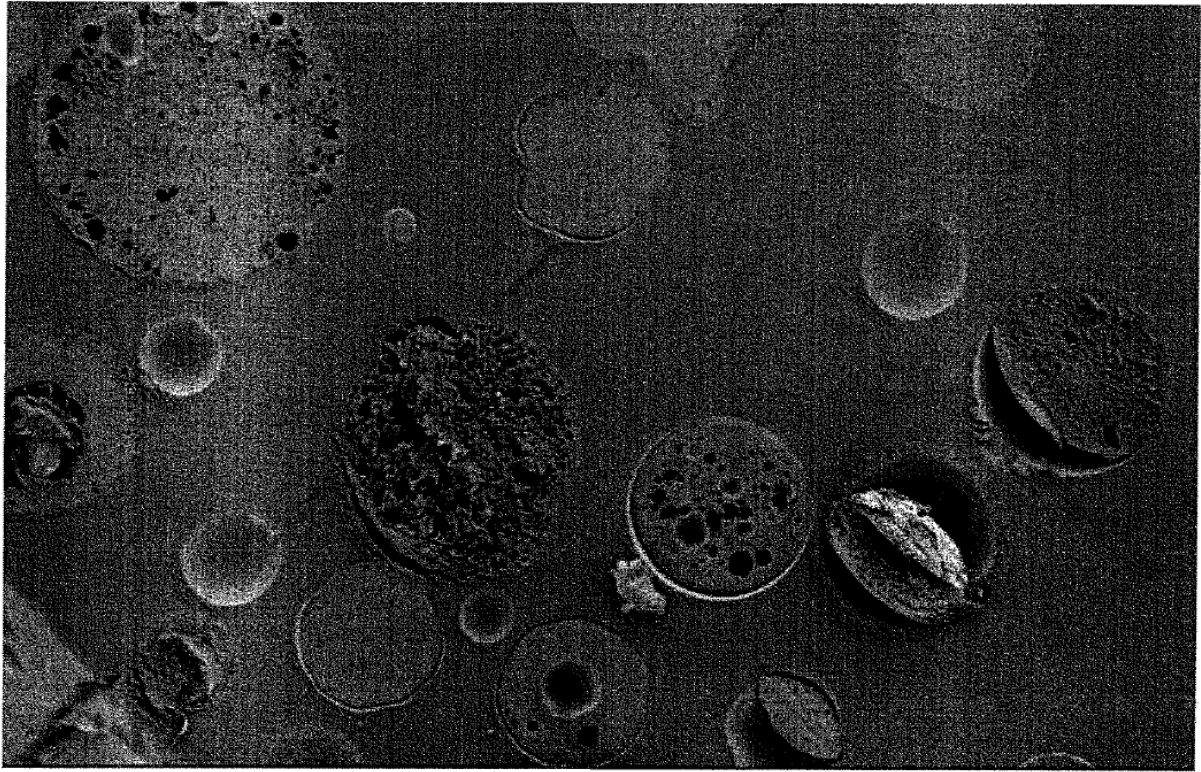
Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.80 kV    |—|  
WD = 4 mm        Mag = 250 X

Figura 3b



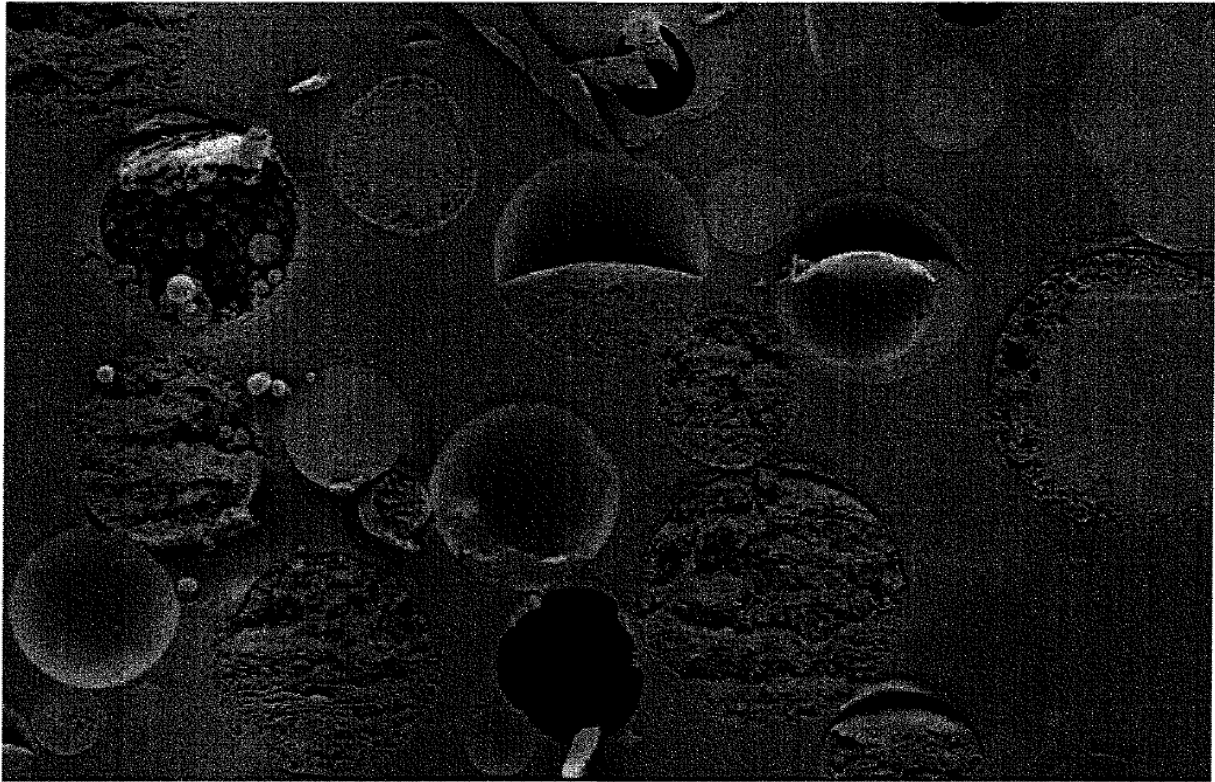
Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.80 kV    ┌───┐  
WD = 4 mm        Mag = 250 X

Figura 3c



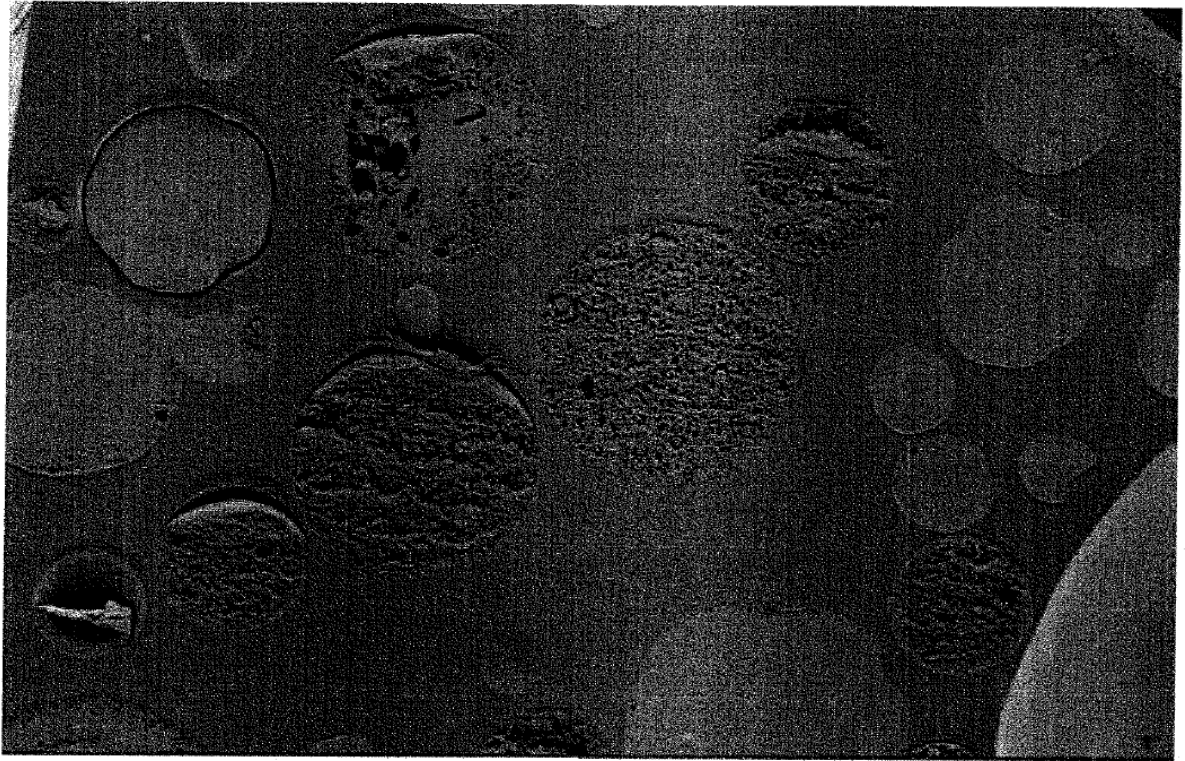
Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.80 kV    ┆──┆  
WD = 5 mm       Mag = 250 X

Figura 4a



Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.80 kV    ┆┆┆  
WD = 5 mm        Mag = 250 X

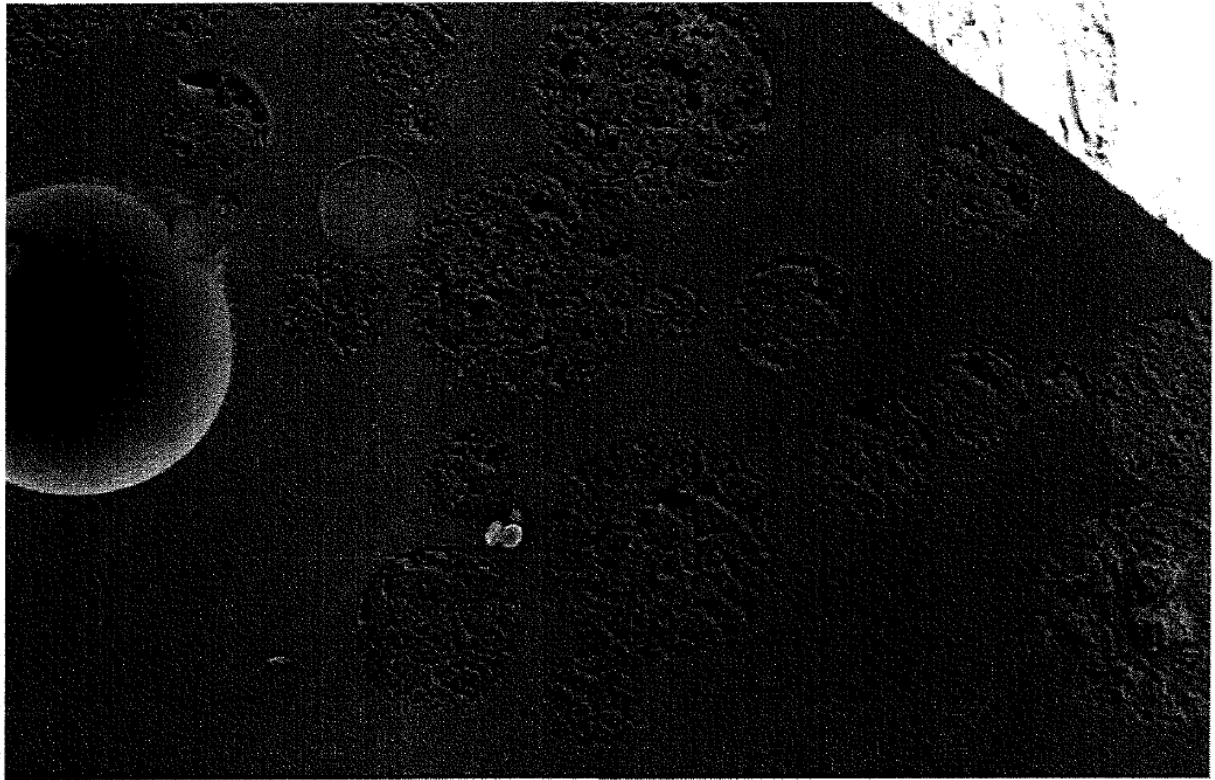
Figura 4b



Signal A = SE2 10µm  
EHT = 0.80 kV H  
WD = 5 mm Mag = 250 X

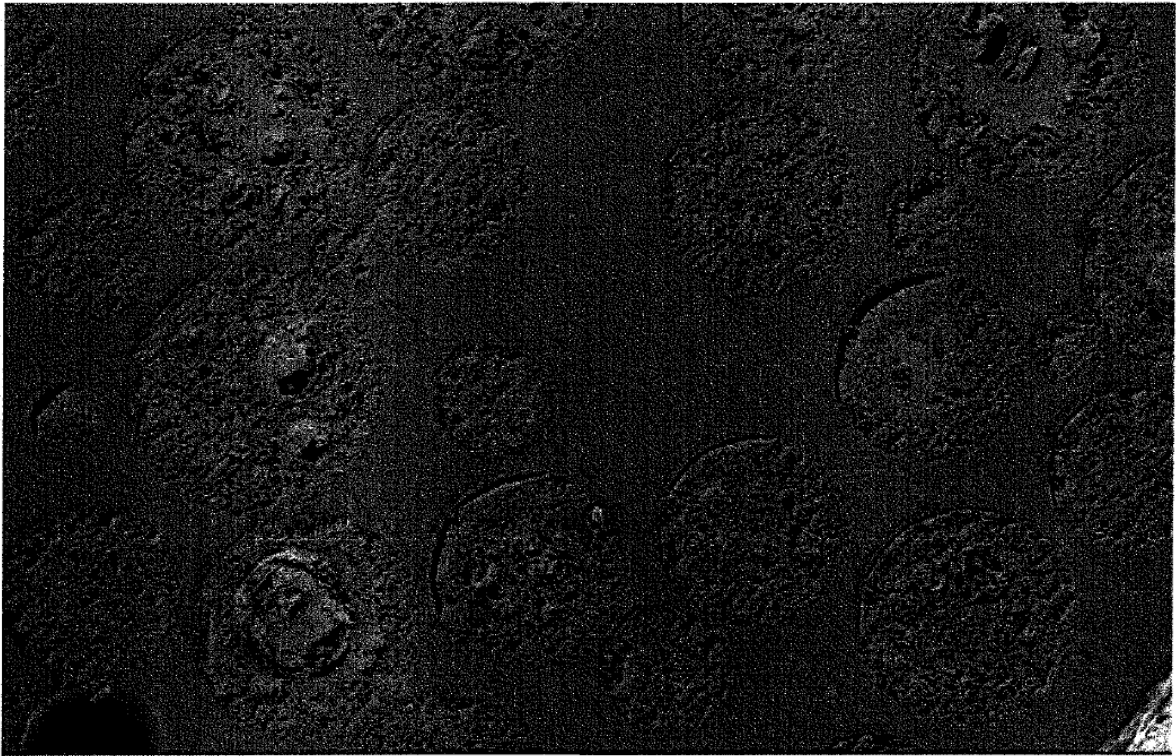
Figura 4c





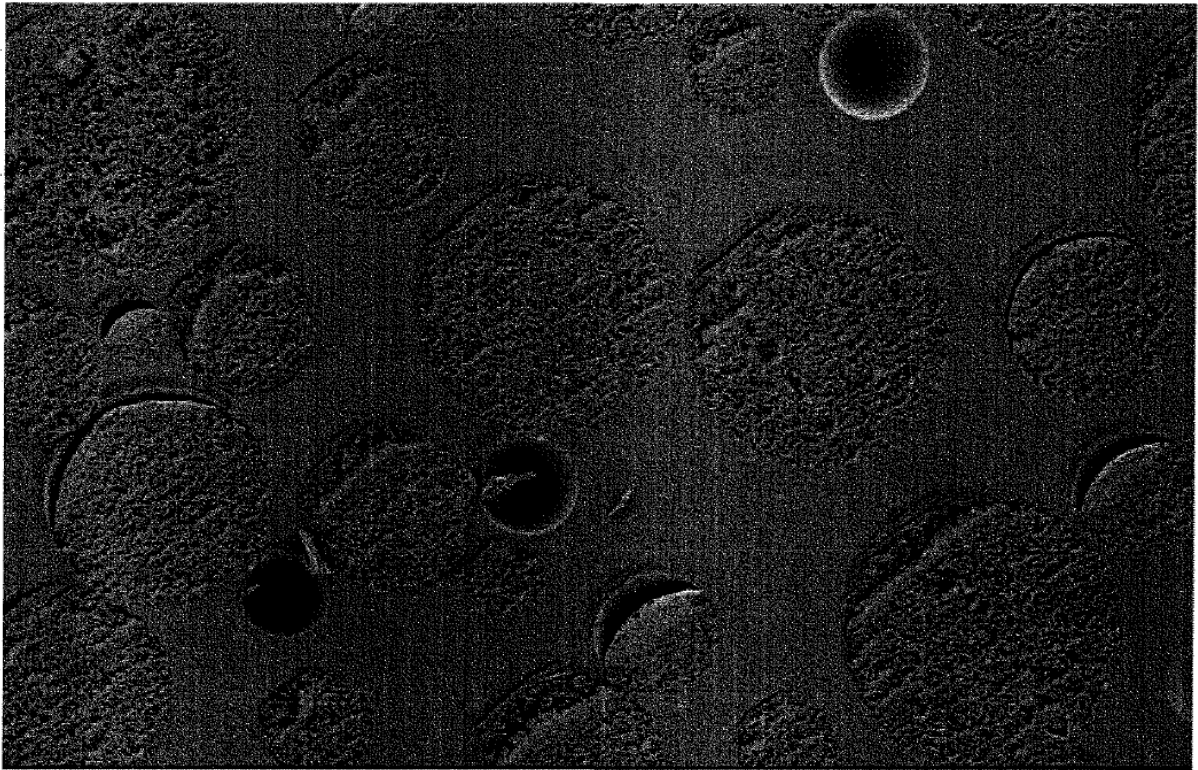
Signal A = SE2 10µm  
EHT = 0.80 kV H  
WD = 3 mm Mag = 250 X

Figura 5a



Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.80 kV    |—|  
WD = 4 mm        Mag = 250 X

Figura 5b



Signal A = SE2    20µm  
EHT = 0.80 kV    |—|  
WD = 5 mm        Mag = 250 X

Figura 5c