



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 280 850**

51 Int. Cl.:
B01D 11/02 (2006.01)
B01D 11/04 (2006.01)
B01J 2/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03816733 .4**
86 Fecha de presentación : **06.10.2003**
87 Número de publicación de la solicitud: **1549410**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **06.07.2005**

54 Título: **Procedimiento para preparar partículas compuestas.**

30 Prioridad: **11.10.2002 US 417941 P**
07.02.2003 US 445944 P
19.05.2003 US 441137

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.09.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.09.2007

73 Titular/es: **Ferro Pfanstiehl Laboratories, Inc.**
1219 Glenn Rock Avenue
Waukegan, Illinois 60085, US

72 Inventor/es: **Chattopadhyay, Pratibhash;**
Shekunov, Boris, Y.;
Seitzinger, Jeffrey, S. y
Huff, Robert, W.

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

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 para preparar partículas compuestas.

5 **Antecedentes de la invención****1. Referencia a solicitudes relacionadas**

Esta patente reivindica prioridad a la solicitud de patente provisional número de serie 60/417.941, presentada el 11 de Octubre de 2002; y 60/445.944, presentada el 7 de Febrero de 2003.

2. Campo de la invención

La presente invención se refiere en general a un procedimiento de producción de partículas compuestas, y de forma específica a un procedimiento de producción de partículas compuestas que comprenden un polímero y un material biológicamente activo mediante procesamiento con fluido supercrítico.

3. Descripción de la técnica relacionada

Procedimientos convencionales de preparación de partículas poliméricas de material compuesto o simple incluyen secado por pulverización y molienda por chorro. Además se han producido partículas a partir de emulsiones usando técnicas tales como polimerización por emulsión, evaporación de emulsión, y extracción con disolvente de emulsiones. Técnicas de secado por pulverización típicas incluyen la evaporación de un disolvente que contiene el polímero usando aire caliente. Las elevadas temperaturas usadas para tal procesamiento pueden degradar a veces térmicamente fármacos y polímeros lábiles. Además, las partículas obtenidas mediante secado por pulverización tienen de forma típica una amplia distribución de tamaños, normalmente en el intervalo micrométrico.

La molienda por chorro es una técnica usada para producir partículas pequeñas, sin embargo, tales partículas tienden a tener anchas distribuciones de tamaño no deseables. Sólo una pequeña fracción de las partículas producidas usando molienda por chorro tiene un tamaño que está en un intervalo nanométrico deseado. De forma adicional, la energía de cizallamiento requerida por la molienda por chorro puede degradar algunos materiales biológicamente activos y polímeros.

Como se indicó anteriormente, se encuentran disponibles técnicas convencionales que producen partículas a partir de emulsiones. Los procedimientos de producción convencionales incluyen polimerización por emulsión, evaporación de emulsión, extracción de emulsión y destilación a vacío de emulsiones. En lo referente a polimerización por emulsión se preparan partículas pequeñas a partir de monómeros polimerizables libres de radicales mediante uso de un procedimiento de polimerización en presencia de agua. La polimerización por emulsión tiene un efecto secundario desafortunado en cuanto a que quedan en la suspensión materiales indeseados tales como monómeros, oligómeros e iniciadores residuales.

El procedimiento de evaporación de emulsión puede producir una suspensión de partículas nanométricas pero el procedimiento tiene distintas desventajas. Una de las desventajas es que el procedimiento se realiza a una velocidad indeseablemente lenta que supera las 4 horas en algunos casos. En el procedimiento de extracción de emulsión se usan disolventes orgánicos que ha dado lugar a complicaciones relativas a posibles afecciones ambientales y de salud que surgen del disolvente residual en las partículas producidas.

Se han usado extracción con disolvente o de emulsión de emulsiones agua-en-aceite-en-agua (W/O/W) para obtener partículas pequeñas. Desafortunadamente el procedimiento de extracción de emulsión requiere grandes cantidades de disolvente para extracción, que conduce a grandes corrientes de residuo, mayor coste y toxicidad del disolvente residual. De forma similar, la dilución con agua de emulsiones aceite-en-agua (O/W) preparadas usando disolventes orgánicos parcialmente solubles en agua puede dar partículas pequeñas. Pero este procedimiento puede dar lugar a bajas concentraciones de polímero en la dispersión final y usa cantidades indeseablemente grandes de agua.

La destilación a vacío ha producido partículas a partir de emulsiones pero el elevado coste de operación asociado hace de este procedimiento económicamente indeseable. Además los tiempos de procesamiento requeridos son prolongados para conseguir un contenido en disolvente residual bajo en partículas producidas por este procedimiento.

El documento US 5.874.029 describe un procedimiento para crear micropartículas mediante precipitación de las partículas desde una solución que es pulverizada en un anti-disolvente supercrítico mediante una boquilla de pulverización. Además el documento US 6.183.783 describe un procedimiento para la preparación de microcápsulas, que comprenden una sustancia activa recubierta con una capa de polímero polar en la que el disolvente orgánico se extrae de la suspensión que comprende la sustancia activa y el polímero polar mediante un fluido supercrítico. Además, el documento US-A-5639441 describe la suspensión de materiales en un disolvente y la mezcla de la suspensión con un fluido supercrítico.

A la vista de las limitaciones de los procedimientos de procesamiento de la técnica anterior, sería deseable producir partículas que usen una técnica que pueda dar lugar a partículas que tengan un tamaño de partícula reducido en

un estrecho intervalo de distribución de tamaños, un tiempo de procesamiento reducido y un coste reducido, y que no dañen o degrade los componentes. Sería deseable además producir partículas sin usar cantidades de disolvente indeseablemente grandes.

5 Resumen de la invención

La presente invención proporciona un procedimiento para la producción de partículas compuestas usando una técnica de extracción con fluido supercrítico en una emulsión. De acuerdo con la presente invención, el primero y segundo materiales (por ejemplo, un polímero y un material biológicamente activo) se disuelven en un disolvente no polar (es decir, aceite) para formar una solución. De forma alternativa si el material biológicamente activo es insoluble en el disolvente orgánico no polar, el material se puede suspender en el disolvente para formar una suspensión de disolvente. El polímero se puede disolver luego en la suspensión de disolvente. La solución/suspensión se dispersa o emulsiona en un disolvente polar (por ejemplo, agua) para formar una emulsión. Preferiblemente, el disolvente es un disolvente orgánico, y se añade un tensioactivo para formar así una emulsión aceite-en-agua estable. La emulsión aceite-en-agua se pone en contacto con un fluido supercrítico para extraer el disolvente. Debido a que el fluido supercrítico elimina el disolvente de la emulsión, los materiales disueltos se sobresaturan y precipitan fuera de la solución como partículas compuestas que incluyen tanto el primer como segundo materiales. De acuerdo con lo anterior, las partículas compuestas se producen de modo que el material biológicamente activo se encapsula o introduce en una matriz polimérica biodegradable.

Adicionalmente de acuerdo con la invención, el material biológicamente activo se disuelve en un disolvente polar (por ejemplo, agua) para formar una solución polar o acuosa. El polímero se disuelve en un disolvente no polar y preferiblemente orgánico para formar una solución disolvente. La solución acuosa se emulsiona en la solución disolvente con un tensioactivo para formar una emulsión agua-en-aceite (W/O). La emulsión (W/O) se emulsiona luego en una segunda fase acuosa para formar una emulsión agua-en-aceite-en-agua (W/O/W). La emulsión agua-en-aceite-en-agua (W/O/W) se pone en contacto con un fluido supercrítico para extraer el disolvente de la solución y con ello producir partículas compuestas que incluyen tanto el polímero como el material biológicamente activo. El material biológicamente activo se puede solvatar aún en la solución acuosa a al vez que se dispersa en toda la matriz polimérica de la partícula compuesta.

De forma alternativa, si el material biológicamente activo es insoluble en agua, este se suspende en agua para formar una suspensión acuosa. El polímero se disuelve en el disolvente para formar una solución disolvente o aceite. La solución de aceite y suspensión acuosa se dispersan para formar una emulsión agua-en-aceite (W/O). Esto es, la solución de aceite forma la fase continua, y la suspensión acuosa se dispersa en la solución de aceite como una fase discontinua. La emulsión agua-en-aceite (W/O) se invierte con una segunda fase acuosa para formar una emulsión (W/O/W) múltiple. Por tanto, se encuentran dispersadas dentro de la emulsión (W/O/W) múltiple gotas o micelas que contienen una fase de aceite discontinua, y dispersadas dentro de la fase de aceite se encuentran gotas o micelas internas de la suspensión acuosa. Cuando el disolvente o aceite se extrae de acuerdo con la invención, las partículas compuestas resultantes tienen una matriz polimérica con el material biológicamente activo (que puede suspenderse aún si se desea o se puede secar para eliminar todo el agua) dispersado en su interior.

La presente invención tiene utilidad en industrias no relacionadas con la industria farmacéutica. Además, en otro aspecto de la invención, una partícula compuesta se produce que incluye, por ejemplo, un polímero y un pigmento, un óxido metálico u otro material activo no biológico.

45 Breve descripción de los dibujos

La fig. 1 es un dibujo esquemático de una cámara de extracción usada en un procedimiento de acuerdo con la invención que opera en un modo de proceso por lotes;

la fig. 2 es una vista esquemática en sección transversal de una partícula compuesta producida de acuerdo con la invención;

la fig. 3 es un dibujo esquemático de un equipo para uso con un procedimiento de acuerdo con la invención;

la fig. 4 es una micrografía SEM de partículas compuestas producidas en el Ejemplo 1 de la presente invención;

la fig. 5 es un gráfico del perfil de liberación de las partículas compuestas mostradas en la fig. 4;

la fig. 6 es una micrografía SEM de partículas compuestas producidas en el Ejemplo 2 de la presente invención;

la fig. 7 es un gráfico del perfil de liberación de las partículas compuestas mostradas en la fig. 6;

la fig. 8 es una micrografía SEM de partículas compuestas producidas en el Ejemplo 3 de la presente invención;

la fig. 9 es una micrografía SEM de partículas compuestas producidas en el Ejemplo 4(a) de la presente invención;

la fig. 10 es una curva de distribución del diámetro medio numérico de partículas compuestas mostradas en la fig. 9;

la fig. 11 es un gráfico que muestra la interrelación del tamaño de gota de emulsión frente al tamaño de partícula compuesta de las partículas mostradas en la fig. 9; y

la fig. 12 es un gráfico del perfil de liberación de las partículas compuestas producidas en los Ejemplos 4(a) y 4(b) respecto a un control.

10 Descripción de realizaciones preferidas

La presente invención proporciona un procedimiento de producción de partículas compuestas nanométricas y micrométricas que usa extracción con fluido supercrítico de una emulsión. Para formar las partículas compuestas, el primer y segundo materiales, por ejemplo, un polímero y un material biológicamente activo, se disuelven en un disolvente adecuado para formar una solución. Si el material biológicamente activo es insoluble en el disolvente orgánico, este se dispersa en el disolvente en la forma de una suspensión. La solución (o suspensión) se dispersa o emulsiona luego en un medio fluido incompatiblemente soluble, de forma típica usando uno o más tensioactivos, para formar una emulsión. El disolvente es no polar (por ejemplo, orgánico o basado en aceite), forma la fase discontinua y es soluble en fluido supercrítico. La fase continua es polar (por ejemplo, agua) y no es soluble en el fluido supercrítico que se usa para extracción.

La emulsión se pone en contacto con el fluido supercrítico, que elimina o extrae el disolvente soluble en fluido preferencialmente supercrítico de la emulsión. La sobresaturación o transferencia de materia provocada por la eliminación del disolvente forma partículas compuestas suspendidas en la fase continua. Las partículas compuestas son, por ejemplo, partículas nanométricas poliméricas biodegradables que han incorporado material biológicamente activo suspendido en agua. El secado de la suspensión de partículas compuestas produce un polvo de las partículas compuestas.

La presente invención proporciona también un procedimiento de producción de partículas compuestas nanométricas y micrométricas usando un fluido supercrítico y una emulsión múltiple o agua-en-aceite-en-agua (W/O/W). De acuerdo con este aspecto de la invención, el polímero se disuelve en el disolvente. El material biológicamente activo se disuelve en agua, o si el material biológicamente activo es insoluble en agua entonces el material biológicamente activo se suspende en agua. La disolución o suspensión del material biológicamente activo forma la fase acuosa. La fase acuosa o primera fase de agua se emulsiona en el disolvente con un tensioactivo para formar una primera emulsión de agua-en-aceite (W/O). Es decir, la primera emulsión tiene una fase de aceite continua y una fase de agua discontinua. La primera emulsión (W/O) se emulsiona luego en una segunda fase de agua (preferiblemente una fase acuosa) para formar una segunda emulsión de agua-en-aceite-en-agua (W/O/W). Es decir, la segunda fase de agua llega a ser la fase continua; la fase discontinua contiene la primera emulsión (W/O). La primera fase de agua forma así microgotitas dispersadas en una fase de aceite, y la fase de aceite se dispersa por sí misma en la segunda fase de agua. No se pretende que el término "microgotitas" implique que las microgotitas sean de escala micrométrica o de tamaño micrométrico, sino más bien que las microgotitas sean menores respecto al tamaño de las gotitas de emulsión (W/O) que contiene las microgotitas.

La emulsión de agua-en-aceite-en-agua (W/O/W) se pone en contacto con un fluido supercrítico para extraer el disolvente. El fluido supercrítico elimina el disolvente de la emulsión para producir una partícula compuesta que incluye tanto el polímero como el agente biológicamente activo. El material biológicamente activo se puede disolver o suspender aún en la fase acuosa mientras entra en la matriz polimérica. Además, durante la formación, se puede usar un co-disolvente para precipitar el material biológicamente activo de la fase acuosa, mientras que el fluido supercrítico provoca que el polímero precipite de la fase de aceite.

Durante la formación de las partículas compuestas se puede usar un co-disolvente opcional para extraer o eliminar la fase continua mientras que el fluido supercrítico provoca que los materiales (por ejemplo, el material biológicamente activo + polímero) precipiten de la fase de disolvente o de aceite. La eliminación de la fase continua seca las partículas compuestas suspendidas y puede dar lugar a una suspensión concentrada, torta o polvo seco. Un co-disolvente adecuado para uso en una emulsión aceite-en-agua es, por ejemplo, un alcohol, y en particular n-pentanol. El co-disolvente se debería seleccionar con la condición de que el co-disolvente no disuelva o re-disuelva los materiales usados para formar las partículas compuestas.

Las partículas nanométricas compuestas poliméricas biodegradables son de uso en formulaciones de liberación controlada para la administración de materiales biológicamente activos debido al prolongado tiempo de circulación en el cuerpo y a su capacidad como vehículo efectivo. Las formulaciones de liberación controlada diseñadas que usan partículas nanométricas poliméricas biodegradables son a veces deseables en aplicaciones tales como aplicaciones médicas, agrícolas, veterinarias y farmacéuticas. Las ventajas de estas formulaciones pueden incluir una cantidad reducida de concentraciones de fármaco residual debido a pocas dosis de fármaco, un mejor direccionamiento de los fármacos a la zona afectada en el cuerpo, una eficacia conservada de fármacos inestables, una menor necesidad de cuidados de seguimiento del paciente así como también mayor comodidad y complacencia del paciente.

ES 2 280 850 T3

En la fig. 1 se muestra un equipo de extracción 100 de acuerdo con la invención. El equipo de extracción 100 incluye un extractor 102. El extractor 102 tiene paredes que definen una cámara de extracción 104. Una entrada 110 y una salida 120 comunican con la cámara de extracción 104 a través de las paredes del extractor 102, y están preferiblemente en extremos opuestos del extractor 102. Está dispuesta una frita 130 en la cámara de extracción 104 en un extremo del extractor 102. Están dispuestas una primera capa 134 rica en emulsión, y una segunda capa 138 de fluido supercrítico y rica en disolvente generalmente en serie en la cámara de extracción 104, con la capa 134 rica en emulsión próxima a la frita 130 y la segunda capa 138 de fluido supercrítico y rica en disolvente próxima a la salida 120.

Una fuente de fluido supercrítico 150 comunica con la entrada 110 y suministra un fluido supercrítico a la entrada 110. En un procedimiento preferido de acuerdo con la invención el fluido supercrítico contiene dióxido de carbono (CO_2). El fluido supercrítico se introduce en la cámara de extracción 104 a través de la entrada 110 y además a través de la frita 130. Es decir, el fluido supercrítico entra por la entrada 110 y atraviesa la frita 130 hasta la cámara de extracción 104. Debido a que la primera capa 134 está próxima a la frita 130, el fluido supercrítico entra en la cámara de extracción 104 en la primera capa 134. El fluido supercrítico fluye luego en una dirección indicada por la DIRECCIÓN marcada por la flecha a través de la primera capa 134.

La frita 130 es preferiblemente metal, y más preferiblemente acero inoxidable. Además, la frita 130 tiene preferiblemente una elevada porosidad con pequeños orificios y está dispuesta dentro de la cámara de extracción 104 próxima a la entrada 110. Un flujo de fluido supercrítico que pasa a través de la frita 130 se rompe en muchos flujos, gotitas o burbujas de menor tamaño de fluido supercrítico, aumentando así una superficie o área de contacto interfacial del fluido supercrítico.

En la primera capa 134 rica en emulsión se suspenden gotitas de emulsión 160 y gotitas de CO_2 162 en una matriz acuosa 166. En este procedimiento, la matriz acuosa 166 es un disolvente polar y es preferiblemente agua. Las gotitas de emulsión 160 y gotitas de CO_2 162 entran en contacto entre ellas en la primera capa 134. Debido a que el disolvente es preferentemente soluble en las gotitas de CO_2 162, el disolvente migra desde las gotitas de emulsión 160 a las gotitas de CO_2 162 y se queda atrapado en ellas.

Las gotitas de CO_2 162 continúan hacia dentro y a través de la segunda capa 138 portando el disolvente disuelto en su interior. Se puede disponer una capa opcional de lana de vidrio 170 en la cámara de extracción 104 para reducir el volumen muerto de la cámara de extracción 104, preferiblemente la lana de vidrio 170 es co-extensiva con la segunda capa 138. Si la lana de vidrio 170 está presente las gotitas de CO_2 162 que portan el disolvente atraviesan esta. Las gotitas de CO_2 162 (que portan el disolvente disuelto en su interior) salen de la cámara de extracción 104 a través de la salida 120. Una unidad de recuperación 190 puede recuperar el fluido supercrítico y/o cualquier disolvente incorporado o disuelto en el fluido supercrítico, o el fluido supercrítico y/o disolvente se pueden emitir a la atmósfera, según se desee.

Tal como se usa en esta invención, se usan de forma intercambiable fluido supercrítico polar, acuoso, insoluble y agua. Disolvente no polar, orgánico y fluido supercrítico soluble se usan de forma intercambiable. Preferiblemente se selecciona un disolvente orgánico que es inmiscible o emulsionable con agua. Disolventes orgánicos preferidos que son inmiscibles en agua incluyen, por ejemplo, tolueno, ciclohexano y hexano.

El material biológicamente activo es, por ejemplo, un agente terapéutico que tiene al menos una de las siguientes propiedades: soluble en un disolvente o fase de aceite, soluble en agua o la fase acuosa, adecuado para formación de suspensiones en agua o una fase acuosa y/o es adecuado para la formación de suspensiones en el disolvente orgánico de la fase de aceite. El agente terapéutico puede ser un esteroide, fármaco, agente medicinal, material nutricional, proteína, péptido, alcaloide, alquiloide, extracto de animal y/o de planta, antígeno, ácido nucleico u otra secuencia genética, material vírico, antibiótico, azúcar, nutricional y/o una vitamina. Adicionalmente se reconoce que ciertas combinaciones de materiales biológicamente activos son particularmente efectivas cuando se usan juntas. Por ejemplo, son especialmente efectivos cuando se usan juntos antibióticos múltiples (un "cóctel antibiótico") o una proteína con un agente estabilizante tal como un azúcar. También, son particularmente eficaces algunos materiales biológicamente activos cuando se usan con una sustancia activante, por ejemplo, insulina con glucosa. Y, algunas combinaciones de material biológicamente activo actúan sinérgicamente cuando se usan juntos. De acuerdo con lo anterior, el uso de uno o más materiales biológicamente activos se encuentra dentro del alcance del término "material biológicamente activo".

El polímero es preferiblemente un polímero biodegradable que es soluble en una fase no polar, es decir, un disolvente orgánico. Dependiendo de la aplicación son útiles otros tipos de polímeros. Un mecanismo de liberación deseado influye en la determinación de la idoneidad del polímero. Los mecanismos de liberación por vía oral, nasal, por colon, transdérmica, rectal, vaginal, subcutánea, por inhalación o pulmonar y otros, son todas aplicaciones adecuadas que tienen diferentes requerimientos para el polímero. De acuerdo con lo anterior, se determinan polímeros apropiados según lo que demande la aplicación. El polímero puede estar también en la forma precursores monoméricos o poliméricos y puede tener lugar la polimerización antes o durante el contacto con el fluido supercrítico. Además se pueden usar lípidos como el material de la matriz.

Para la liberación por vía oral de fármacos que se van a liberar en el colon se selecciona un polímero que puede resistir el ácido estomacal y metabolismo de los enzimas pancreáticos de modo que libera el material biológicamente

activo pasado el estómago y posteriormente en el tracto gastrointestinal. Además, se puede añadir también un inhibidor de enzima para reducir la degradación por el paso a través del estómago. Esta liberación dirigida al colon se contempla como un subconjunto de un mecanismo de liberación retardada en el tiempo o un procedimiento de liberación específico de la zona. Mediante el control de la velocidad de biodegradación y/o de la migración de material biológicamente activo fuera de la partícula compuesta, se controla estrechamente el tiempo, velocidad y mecanismo de liberación del material biológicamente activo.

Para aplicaciones por vía transdérmica el polímero es controlado de modo que protege y libera el material biológicamente activo dentro del cuerpo de una persona antes de liberar el material biológicamente activo. Por ejemplo, si se requiere un material iónico para una aplicación por vía transdérmica pero el material biológicamente activo no es iónico se selecciona un polímero iónico. De forma alternativa, si el material biológicamente activo es soluble en agua y es necesario un material lipófilo para la aplicación por vía transdérmica se puede seleccionar de nuevo un polímero apropiado. Polímeros biodegradables preferibles incluyen poliésteres alifáticos termoplásticos tales como polilactida (PLA), poliglicolida (PGA) y el copolímero de lactida y glicolida designado polilactida-co-poliglicolida (PLGA) debido a su bio-compatibilidad, biodegradabilidad y resistencia mecánica deseables.

El emulsiónamiento de las fases polar y no polar se consigue mediante un dispositivo de emulsiónamiento. El dispositivo de emulsiónamiento puede ser un microfluidizador, un emisor de ultrasonidos, un dispersador, un mezclador estático, un molino coloidal, un molino por energía de un fluido, un mezclador de turbina, una técnica de emulsiónamiento espontáneo o equivalentes comercialmente disponibles de los mismos.

Se puede añadir un tensioactivo para controlar la estabilidad de la emulsión. La cantidad de tensioactivo se minimiza debido a la rápida velocidad de la extracción del disolvente de la emulsión. La extracción relativamente rápida reduce el tiempo que la emulsión necesita permanecer estable. Preferiblemente el tensioactivo se añade con el fin de obtener partículas uniformes o finas, encapsulamiento o dispersión efectiva del material biológicamente activo en la matriz polimérica, u otra propiedad relacionada con el uso o administración de la partícula compuesta. Durante la formación de partícula las moléculas de tensioactivo presentes en el sistema pueden formar en el entorno núcleos tras la formación para impedir el crecimiento de partícula debido a aglomeración.

El fluido supercrítico es preferiblemente dióxido de carbono supercrítico ("CO₂"). Sin embargo, fluidos supercríticos preferibles alternativos adecuados incluyen nitrógeno, trifluorometano, óxido nitroso, dimetiléter, alcanos C1-C6 de cadena lineal o ramificada, alcanos, alcoholes, y combinaciones de los mismos. Alcanos y alcoholes preferibles incluyen etano, etanol, propano, propanol, butano, butanol, isopropano, isopropanol y similares. El fluido supercrítico se selecciona por lo general en referencia a la solubilidad del disolvente y/o co-disolventes presentes en la emulsión. Tal como se usa en esta invención supercrítico puede incluir gas casi crítico, comprimido y licuado así como también fluidos supercríticos.

En lo referente a la fig. 1 y a un primer procedimiento de acuerdo con la presente invención, se disuelve un polímero en un disolvente orgánico adecuado para formar una solución. Se disuelve también un material biológicamente activo (bioactivo) en la solución. La solución anterior se dispersa luego en un líquido no miscible (que es preferiblemente agua) para formar una emulsión. Esta es una emulsión aceite-en-agua (O/W). Ambos, el polímero y el material biológicamente activo se disuelven en el disolvente o fase de aceite. De forma alternativa, el material biológicamente activo es insoluble en el disolvente orgánico, y se suspende en el disolvente orgánico para formar una suspensión. El polímero es soluble en el disolvente orgánico, y se disuelve en el disolvente orgánico para formar una solución. La suspensión/solución orgánica anterior se dispersa en agua para formar una emulsión aceite-en-agua (O/W).

En otra realización alternativa, se disuelve en agua un material biológicamente activo soluble en agua para formar una solución acuosa. Se disuelve un polímero en un disolvente orgánico para formar una solución disolvente. La solución acuosa se dispersa en la solución orgánica para crear una emulsión agua-en-aceite (W/O). Se añade un tensioactivo para estabilizar la solución. Además, se debe usar un disolvente parcialmente soluble. La emulsión W/O se dispersa en un segundo líquido acuoso para formar una emulsión W/O/W. La emulsión W/O/W es por tanto una fase acuosa que tiene dispersado en su interior micelas muy finas de una emulsión O/W. El fluido supercrítico se burbujea a través de la emulsión W/O/W. Cuando el fluido supercrítico entra en contacto con una micela, el disolvente migra a la fase de fluido supercrítico. Cuando el disolvente migra, la micela colapsa atrapando e incorporando el material biológicamente activo soluble en agua dentro de los límites de la partícula insoluble en agua. Se recupera luego la partícula compuesta.

Las emulsiones aceite-en-agua (O/W) son particularmente adecuadas para situaciones en las que tanto el polímero como el material biológicamente activo son solubles en un disolvente orgánico, o si el polímero es soluble en el disolvente orgánico y si el material biológicamente activo forma una suspensión adecuada en el disolvente. Por el contrario, emulsiones agua-en-aceite-en-agua (W/O/W) o múltiples son particularmente adecuadas para situaciones en las que el polímero es soluble en un disolvente orgánico y el material biológicamente activo es soluble o se puede suspender en agua. Debido a que la solubilidad es rara vez absoluta, hay una plétora de aplicaciones en las que son particularmente eficaces permutaciones en la emulsión. Por ejemplo, el disolvente es parcialmente miscible con agua o preferentemente soluble en el fluido supercrítico respecto al agua. De forma adicional, el polímero, los materiales biológicamente activos y cualquiera de los materiales adicionales que se incorporan en la partícula compuesta pueden tener grados variados de solubilidad en el disolvente o en el agua. De acuerdo con lo anterior, el uso de emulsiones agua-en-aceite-

en-agua (W/O/W) o emulsiones (W/O/W/O...) se selecciona de forma que se consiguen criterios predeterminados, tales como, por ejemplo, facilidad de procesamiento y tamaño de partícula.

La emulsión es un medio acuoso o fase continua en la que las micelas de disolvente orgánico se suspenden para formar la fase discontinua. Las micelas de disolvente orgánico incluyen el polímero disuelto y el material biológicamente activo. En función de la elección de tensioactivo, las micelas pueden tener el tensioactivo dispersado en toda la micela, o las micelas forman una esfera y disposición de envoltura con el tensioactivo. En la esfera y envoltura, la micela de disolvente forma la esfera, y el tensioactivo recubre la superficie de la esfera para formar barrera entre la emulsión dentro y el medio acuoso fuera. El tensioactivo se puede seleccionar también de modo que cuando se usa en el procedimiento, el tensioactivo actúa como una barrera química para impedir que la partícula se aglomere una vez haya sucedido la particularización.

Si se desea se dispersa la emulsión (O/W) en una fase acuosa con agitación usando uno o más tensioactivos adicionales para formar una segunda emulsión (W/O/W) agua-en-aceite-en-agua. Este procedimiento se repite tantas veces como se desee o sea práctico. Por tanto, es posible una emulsión W/O/W/O/W... Cada una de las iteraciones puede reducir adicionalmente el tamaño de partícula, y puede incorporar materiales adicionales que se disolvían en el medio de emulsionamiento. Se pueden reconocer ventajas adicionales de esta técnica en el futuro, pero actualmente parece haber un retorno de disminución de las ventajas de numerosas iteraciones de la emulsión.

Se usan preferiblemente tensioactivos convencionales que pueden formar emulsiones agua-en-aceite, aceite-en-agua y agua-en-aceite-en-agua con este procedimiento. Tensioactivos particularmente adecuados incluyen albúmina de suero bovino, poli(alcohol vinílico), fosfatidilcolina, glicocolatos y oleatos. Oleatos preferidos incluyen monooleato de sorbitán (SPAN) y monooleato de polioxietilensorbitán (TWEEN). TWEEN y SPAN se encuentran comercialmente disponibles en ICI Americas, Inc. Preferiblemente el tensioactivo usado en esta realización tiene un equilibrio hidrófobo/lipófilo (HLB) adecuado para formar emulsiones w/o u o/w o w/o/w estables. Se prefiere el uso de un tensioactivo aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) no tóxico. El tensioactivo se selecciona usando criterios adicionales de modo que cuando se usa en el procedimiento, el tensioactivo actúa como una barrera química para impedir que las partículas compuestas se aglomeren.

Ajustando la concentración de tensioactivo, la velocidad de agitación dentro del dispersador y el grado de homogenización se controla el tamaño de las micelas de la emulsión. Mayores concentraciones de tensioactivos mayores velocidades de agitación y mayores grados de homogenización tienden a producir micelas más pequeñas. Además de la concentración de tensioactivo, y velocidad y tiempo de agitación y homogenización, las propiedades de las micelas se ven afectadas por otros factores que se controlan. Los otros factores incluyen tamaño de gotitas de emulsión, concentración del polímero en el disolvente orgánico, concentración de aceite en la emulsión, contenido en agua en la emulsión y cantidad del material biológicamente activo en la emulsión. Los factores anteriores son parámetros que se seleccionan para controlar el tamaño de partícula final y propiedades. Una vez formadas, las micelas se mantienen preferiblemente en el tamaño deseado durante periodos prolongados de tiempo y producen tamaños de partículas que varían preferiblemente de 0,1 nanómetros a 10 micrómetros. La distribución de tamaño de partícula se controla estrechamente. Si se desea, se controlan los parámetros de proceso de modo que los tamaños de partícula compuesta pueden variar hasta varios micrómetros en diámetro, sin embargo se prefieren partículas compuestas que tengan diámetros en el intervalo nanométrico.

De forma alternativa se burbujea CO₂ supercrítico a través de una emulsión W/O/W. El CO₂ supercrítico extrae el disolvente de las micelas de W/O que están dispersadas en la fase acuosa. Debido a la pérdida del disolvente de la micela de W/O, el polímero y el material biológicamente activo precipitan de la emulsión W/O/W. El precipitado polimérico forma una matriz en la que está incorporado el material biológicamente activo. Es decir, las partículas compuestas contienen el material biológicamente activo contenido dentro o dispersado en toda la matriz polimérica. El material biológicamente activo está en general suspendido en la fase de agua original dentro de la matriz polimérica. Tal partícula compuesta que tiene un polímero biodegradable es útil, por ejemplo, como una formulación de liberación controlada para liberación de fármaco y para direccionamiento de fármaco.

El tamaño de partícula compuesta está estrechamente relacionado con el tamaño de la gotita de la emulsión de partida cuando se usan emulsiones O/W. Esto es debido a que la difusión gradual del disolvente fuera de la gotita de emulsión hace que el polímero en las gotitas auto-agregue y precipite.

En lo referente a la fig. 2 se muestra un diagrama en sección transversal esquemático de una partícula compuesta producida mediante un procedimiento de acuerdo con la invención. Cuando la micela de emulsión o gotita entra en contacto con una gotita de fluido supercrítico en una cámara de extracción, el disolvente no polar se transfiere desde la micela de emulsión al fluido supercrítico. Cuando el disolvente migra fuera de la micela de emulsión, el polímero y el material biológicamente activo permanecen en la micela de emulsión. La micela de emulsión colapsa en una partícula compuesta fina sólida 200. La partícula compuesta 200 tiene una matriz polimérica 210. Se incorporan cantidades discretas de material biológicamente activo 220 dentro de la matriz polimérica 210.

En un segundo procedimiento de acuerdo con la presente invención se prepara una emulsión O/W o W/O/W de forma similar a la forma anteriormente descrita, pero se usa un disolvente orgánico parcialmente soluble en agua más que un disolvente no miscible. Es decir, los materiales que se van a particulatizar, por ejemplo, un polímero se disuelve en un disolvente parcialmente soluble en agua o se suspende en agua o el disolvente orgánico parcialmente soluble en

ES 2 280 850 T3

agua. Disolventes orgánicos adecuados que son parcialmente miscibles en agua pueden incluir, por ejemplo, acetato de etilo, acetato de propilo y 2-butanona.

El disolvente parcialmente soluble en agua que porta el polímero se emulsiona con el material biológicamente activo en el agua con un tensioactivo para formar una emulsión O/W o W/O/W (bien suspendido o bien disuelto en el disolvente) en el agua con un tensioactivo para formar una emulsión O/W. Debido a la solubilidad parcial del disolvente en el agua, se forma un equilibrio termodinámico entre el disolvente parcialmente solvatado y la fase acuosa de la emulsión O/W. Cuando se disuelve o suspende el material biológicamente activo en agua se dispersa la solución o suspensión acuosa en el disolvente parcialmente soluble en agua para formar una emulsión W/O. La emulsión W/O se puede emulsionar luego o bien dispersarse en una segunda fase de agua para formar una emulsión W/O/W. Como en el caso de emulsiones O/W, se forma un equilibrio termodinámico entre el disolvente parcialmente solvatado y la fase acuosa en caso de la emulsión W/O/W.

Subsiguientemente, la emulsión se pone en contacto con el fluido supercrítico de acuerdo con la invención. El fluido supercrítico extrae el disolvente de la emulsión. Debido a que hay una porción adicional de disolvente parcialmente solvatado en la fase acuosa, además de extraer el disolvente directamente de las micelas de emulsión, el fluido supercrítico también extrae el disolvente que se disuelve en la fase acuosa externa de la emulsión O/W o W/O/W.

La extracción del disolvente altera y desplaza el equilibrio termodinámico entre el disolvente parcialmente solvatado y la fase acuosa. Como consecuencia de la alteración tiene lugar una transferencia de materia rápida del disolvente desde la gotita de emulsión y hacia la fase acuosa. La transferencia de materia da lugar a la sobresaturación y precipitación del material biológicamente activo y del polímero como partículas compuestas.

La velocidad de extracción de disolvente/transferencia de materia es útil para determinar el tamaño de partícula compuesta. Con CO₂ supercrítico la velocidad de extracción del disolvente orgánico es muy rápida. La extracción rápida puede llevar a la formación de partículas muy pequeñas.

Las composiciones o materiales que se van a particulatizar, por ejemplo, el polímero y el material biológicamente activo, son preferiblemente insolubles o sólo ligeramente solubles en agua. Debido a que muchos compuestos farmacéuticos y polímeros son insolubles o ligeramente solubles en agua, algunos procedimientos de acuerdo con la invención son particularmente adecuados para uso con tales productos farmacéuticos, polímeros y combinaciones de los mismos. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a pacientes como suspensiones coloidales en agua. De forma alternativa, el particulado se puede filtrar de la fase acuosa y recuperar para uso en una forma distinta a una suspensión coloidal, por ejemplo, como un polvo seco o una torta concentrada o pasta.

En otro procedimiento de acuerdo con la invención se usan un disolvente orgánico inmiscible y un co-disolvente. Se usa un co-disolvente diferente del co-disolvente citado anteriormente para extraer agua con un polímero que es relativamente difícil de disolverse sólo en el disolvente orgánico. El co-disolvente mejora la solubilidad del polímero en el disolvente. Un ejemplo de un co-disolvente adecuado respecto al carbonato de propileno polimérico es acetona, o si se disuelve el polímero de lactida/glicolida (PLG) en acetato de etilo.

En otro procedimiento de acuerdo con la invención se proporciona un equipo 300. Una carcasa 302 define una cámara 304 en la que se mantiene una fase supercrítica 310. Una fuente de emulsión 320 proporciona una emulsión W/O/W u O/W a una boquilla 330. La boquilla 330 define un conjunto de finas aperturas. La emulsión se dirige a la boquilla 330 y a través de las aperturas y dentro de la fase supercrítica 310 de modo que se inyecta en el CO₂ supercrítico 310. Se forman minúsculas gotitas de pulverización de emulsión 360 en la fase supercrítica 310. Las gotitas de pulverización de emulsión 360 tienen diámetros que son aproximadamente los mismos que un diámetro de las aperturas definidas por la boquilla 330. Debido a que las gotitas de pulverización de la emulsión 360 son una emulsión, las gotitas de pulverización de emulsión 360 comprenden una fase orgánica y una fase acuosa. Una transferencia de materia entre la fase orgánica en las gotitas de pulverización de emulsión 360 y la fase supercrítica 310 provoca la sobresaturación en las gotitas de pulverización de emulsión 360. La sobresaturación precipita el polímero y el material biológicamente activo co-disuelto o suspendido en la forma de partículas compuestas finas 380. Las partículas compuestas 380 caen al fondo de la carcasa 310 y son recogidas en un colector 390 ahí localizado.

En este procedimiento, la velocidad de transferencia entre la fase orgánica y la fase supercrítica es rápida. El movimiento de las minúsculas gotitas de pulverización de emulsión 360 dentro de la fase supercrítica 310 mejora la velocidad de transferencia. Se añade un tensioactivo bien a la fase supercrítica 310 o bien a la emulsión. El tensioactivo inhibe el crecimiento de partícula mediante la estabilización de los núcleos formados en las gotitas de pulverización de emulsión 360 durante o inmediatamente después de la transferencia de materia. Las partículas 380 obtenidas usando el procedimiento se encuentran de forma típica en el intervalo nanométrico y son en general de forma esférica y de aguja.

Las partículas 380 se obtienen en la forma de una suspensión acuosa. Las partículas puras se obtienen mediante filtrado de la suspensión acuosa usando ultrafiltración o centrifugación a alta velocidad. El procedimiento se usa para preparar partículas compuestas de una variedad de diferentes materiales, y es adecuado para uso con disolventes orgánicos tanto insolubles en agua como parcialmente solubles en agua.

En una realización preferida de acuerdo con la invención, la emulsión y el fluido supercrítico se suministran a la cámara de extracción de forma continua. Se forman partículas de forma similar a los procesos de formación de partícula descritos anteriormente. La suspensión acuosa de las partículas y el fluido supercrítico que porta el disolvente se retiran de la cámara de extracción de modo que la masa, volumen y presión en la cámara de extracción se mantienen en general invariables. Es decir, la velocidad de eliminación de materiales desde la cámara de extracción es aproximadamente la misma que la velocidad a la que los materiales entran en la cámara. De acuerdo con lo anterior, el procedimiento de formación de partícula se mantiene de forma continua, más que como un procedimiento por lotes.

En una aplicación alternativa, se introduce un segundo material, es decir, algún otro distinto al material biológicamente activo descrito anteriormente, en una matriz polimérica para formar la partícula compuesta. Por ejemplo, la industria de recubrimientos tiene aplicación para un pigmento o un colorante más que el material biológicamente activo. En una aplicación de este tipo la partícula compuesta incluye el pigmento introducido en una matriz polimérica. Cuando la aplicación para la partícula compuesta no es para uso dentro de un organismo vivo, se usan otros procedimientos para liberar el material introducido desde la matriz polimérica. Por ejemplo, el pigmento se libera mediante fusión por calor del polímero más que por biodegradación o migración.

De acuerdo con lo anterior, la presente invención es adecuada para uso en la producción de partículas nanométricas o partículas micrométricas de un polímero que tenga un material no biológicamente activo introducido dentro de él, de modo que forma una partícula compuesta. Estas partículas compuestas pueden ser de uso en distintas industrias. Industrias ejemplo incluyen industrias farmacéuticas, de pintura y recubrimientos, electrónica, agrícolas, médicas y veterinarias. Los materiales incluyen preferiblemente una toxina, insecticida, ayuda de diagnóstico, producto químico agrícola, tinte, pigmento, pintura, cosmético, explosivo, enzima, catalizador o una combinación de los mismos.

Ejemplos

Ejemplo 1

Ejemplo 1 - Ilustra la producción de partículas de polilactida-co-glicolida (PLGA) cargadas de indometacina (IN) (carga del 10%)

Preparación de la emulsión de PLGA/IN

Inicialmente se preparó una solución de PLGA/IN mediante disolución de 10% de PLGA (p/p_{EA}) (6,0 g) e IN (0,6 g) en acetato de etilo saturado en agua (EA) para formar la SOLUCIÓN 1(a). Se disolvió 0,7 g de tensioactivo poli(alcohol vinílico) (PVA) en agua saturada con acetato de etilo para formar la SOLUCIÓN 1(b). La SOLUCIÓN 1(a) se mezcló en 140 gramos de SOLUCIÓN 1(b) para formar la MEZCLA 1(a). De acuerdo con lo anterior, las concentraciones resultantes fueron EA al 30% en p/p total, agua al 70% en p/p total, EU a 10% en p/p en EA, y PVA al 0,5% p/p en agua. La MEZCLA 1(a) se emulsionó usando un dispersador durante 3 minutos a 5000 rpm para formar la EMULSIÓN 1(a).

Producción de partículas de PLGA cargadas con IN

En una cámara de extracción que tiene un volumen de 10 ml, se empaquetaron lana y esferas de vidrio en el volumen muerto de la cámara de extracción para evitar la entrada de líquido durante la extracción. La lana y esferas de vidrio también minimizó la re-precipitación del tolueno residual durante la despresurización. Se cargó una alícuota de 6,0 ml de la EMULSIÓN 1(a) en la cámara de extracción. Se burbujeó luego CO_2 supercrítico en la cámara de extracción a través de una frita de acero inoxidable de $0,5 \mu m$ que se dispuso en el fondo de la cámara de extracción. Las condiciones en la cámara de extracción se mantuvieron en una presión de 80 bar y una temperatura de 45 grados Celsius ($^{\circ}C$). El CO_2 se burbujeó a través de la cámara de extracción a un caudal de 1 mililitro por minuto (ml/min). La extracción de EA se completó en 60 minutos. Se despresurizó la cámara de extracción y se abrió. Se obtuvo una suspensión coloidal acuosa de partículas compuestas de PLGA/IN y se retiró de la cámara de extracción.

Análisis de partículas de PLGA/IN

Se llevó a cabo un análisis de la morfología de partículas de PLGA/IN en la suspensión coloidal acuosa obtenida usando microscopía electrónica de barrido (SEM). Se llevó a cabo el análisis de distribución de tamaños usando dispersión de luz dinámica (DLS). De la micrografía SEM, un ejemplo de la misma se muestra en la fig. 4, se determinó que las partículas de PLGA/IN estaban en la forma de partículas esféricas aisladas que tienen un tamaño medio generalmente uniforme. De los resultados de DLS, las partículas de PLGA/IN tenían un volumen medio de 881 nanómetros (nm) con una desviación estándar de 507 nm. El gráfico de la fig. 5 ilustra el perfil de liberación de IN de las partículas compuestas en una solución de tampón fosfato (pH 7,4) a $37^{\circ}C$. La figura muestra que aproximadamente el 80% del fármaco se libera en 400 minutos.

Ejemplo 2

Ejemplo 2 - Ilustra la producción de partículas de polilactida-co-glicolida (PLGA) cargadas de cetoprofeno (KP) (carga del 25%)

Preparación de emulsión de PLGA/KP

Se preparó la EMULSIÓN 2(a) en Ejemplo 2 de forma similar a la EMULSIÓN 1(a) en Ejemplo 1 excepto en lo indicado a continuación. Se preparó la EMULSIÓN 2(a) usándose 4,0 g de PLGA y 1,0 g de KP en 40,0 g de acetato de etilo, que se dispersó en 160,0 g de agua con PVA al 0,5% en p/p.

Producción de partículas de PLGA/KP

Las partículas en Ejemplo 2 se produjeron en la misma forma que las partículas que fueron producidas en el Ejemplo 1.

Análisis de las partículas PLGA/IN

Se realizó el análisis de la morfología de partículas de PLGA/KP en la suspensión coloidal acuosa obtenida de la misma forma que en el Ejemplo 1. La fig. 6 es una micrografía SEM de partículas de PLGA/KP producidas en el Ejemplo 2. Como en el Ejemplo 1, las partículas son de forma esférica presentando una distribución de tamaños claramente estrecha. De los resultados de DLS las partículas producidas tenían un volumen medio de 900 nanómetros (nm) con una desviación estándar de 553 nm. El gráfico de la fig. 7 ilustra el perfil de liberación de KP de las partículas compuestas en una solución de tampón fosfato (pH 7,4) a 37°C. La figura muestra que aproximadamente el 80% del fármaco se libera en 400 minutos.

Ejemplo 3

Ejemplo 3 - Ilustra la producción de insulina (INS) encapsulada en partículas de PLGA huecas

Preparación de la emulsión PLGA/INS

Inicialmente se disolvió 1,0 g de insulina (INS) en 10 mililitros de una solución muy diluida de ácido clorhídrico (pH 4) para producir la SOLUCIÓN 3(a). Se preparó la SOLUCIÓN 3(b) mediante disolución en diclorometano (DCM): PLGA al 5% en p/p en DCM, y poli(alcohol vinílico) al 5% en p/p en DCM. Se mezcló 10 ml de la SOLUCIÓN 3(a) en 100 ml de la SOLUCIÓN 3(b) para formar la MEZCLA 3(a). Se dispersó la MEZCLA 3(a) usando un homogenizador comercialmente disponible (por ejemplo, Microfluidics Inc., modelo 110L) a 14.000 psi (3 pasos) para formar una EMULSIÓN 3(a) W/O.

Se disolvió PVA al 5% (p/p) en 160,0 gramos de EA saturada de agua para formar la SOLUCIÓN 3(c). Se mezcló 40,0 gramos de la EMULSIÓN 3(a) en 160 de SOLUCIÓN 3(c) para formar la MEZCLA 3(b). La MEZCLA 3(b) se emulsionó usando un dispersador durante 3 minutos a 6000 rpm para formar una EMULSIÓN 3(B) múltiple W/O/W.

Producción de partículas de PLGA cargadas con INS

Se produjeron partículas en el Ejemplo 3 de forma similar a la usada en el Ejemplo 1.

Análisis de partículas de PLGA/INS

Se realizó el análisis de la morfología de las partículas de PLGA/INS en la suspensión coloidal acuosa obtenida usando microscopía electrónica de barrido (SEM). A partir de la micrografía SEM, de la que se muestra un ejemplo en la fig. 8, se determinó que las partículas de PLGA/INS eran envolturas esféricas huecas aisladas que tienen un tamaño medio en un intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 micrómetros.

Ejemplo 4

Ejemplo 4 - Ilustra la precipitación de partículas nanométricas de indometacina (IN) encapsuladas con poli(lactida)-glicolida (PLGA) producidas de forma continua mediante un procedimiento de acuerdo con la invención

Preparación de emulsiones de PLGA/IN

Se añadieron 50 g de poli(lactida)-glicolida (PLGA) y 0,85 g de indometacina (IN) en 40,1 g de acetato de etilo saturado con agua. Una vez añadido se disolvió el PLGA e IN para formar la SOLUCIÓN 4(a). La SOLUCIÓN 4(b) se formó disolviendo PVA (al 1% en peso) en agua saturada con acetato de etilo. La SOLUCIÓN 4(a) se mezcló en 160 g de SOLUCIÓN 4(b) para formar la MEZCLA 4(a).

ES 2 280 850 T3

La MEZCLA 4(a) se dividió en porciones, que se homogenizaron usando un microfluidizador para formar EMULSIONES 4(a)-4(c). Otra porción de la mezcla se homogenizó usando un dispersador para formar la EMULSIÓN 4(d). Se determinaron los tamaños de las gotitas usando DLS y se enumeran en la Tabla 1.

TABLA 1

Tamaños de la gotita y condiciones de homogenización para las EMULSIONES 4(a)-4(d)

Número de emulsión	Condiciones de homogenización	Tamaño de la gotita (nm)
4 (a)	18000 psi (4 pasos)	312
4 (b)	7025 psi (4 pasos)	428
4 (c)	3525 psi (4 pasos)	703
4 (d)	4000 rpm durante 2 minutos	1887

Preparación de partículas nanométricas de PLGA/IN

En primer lugar se cargaron o bombearon 200 mililitros (ml) de la emulsión del Ejemplo 1 mediante la bomba de emulsión en el extractor. De forma simultánea la bomba de fluido supercrítico bombeó CO₂ supercrítico a la cámara de extracción a través de la frita en el fondo del extractor. Se mantuvo la cámara de extracción a una presión y temperatura constantes (80 bar y 40°C respectivamente) en todo el experimento. El caudal de CO₂ supercrítico y la emulsión a través de la cámara de extracción se mantuvieron también a una velocidad constante: 20 g/min de CO₂ y 1 ml/min de emulsión. El CO₂ supercrítico fluyó hacia la parte superior y entró en contacto con las gotitas de pulverización de emulsión que fluían hacia la parte inferior. El CO₂ supercrítico disolvió el acetato de etilo de las gotitas de pulverización de emulsión y llevó el acetato de etilo fuera de la cámara. La disolución y pérdida del acetato de etilo de las gotitas de pulverización de emulsión provocó que el PLGA precipitara en partículas finas suspendidas en la fase de agua de las gotitas de pulverización de emulsión. Las partículas suspendidas y la mezcla agua/tensioactivo fluyeron hacia abajo dentro de la fase de suspensión líquida. Se obtuvo una suspensión coloidal acuosa de partículas de PLGA encapsuladas con IN.

Análisis de partículas nanométricas de PLGA/IN

Se realizó el análisis de la suspensión coloidal acuosa de partículas compuestas de PLGA/IN usando un microscopio electrónico de barrido (SEM) y DLS. Se determinó el contenido en disolvente residual en la suspensión acuosa usando cromatografía de gases (CG) y se encontró que es aproximadamente 50 partes por millón (ppm).

Después de que se secaran las partículas compuestas de PLGA/IN, las micrografías SEM mostraron que las partículas compuestas de PLGA/IN eran partículas de forma esférica monodispersadas que tienen un volumen medio de 188 nm. La fig. 9 es una micrografía SEM de las partículas compuestas obtenidas en el Ejemplo 4(a). Los tamaños medios numéricos de las partículas compuestas de PLGA/IN obtenidas de cada una de las EMULSIONES 4(a)-4(d) se muestran en la Tabla 2. La fig. 10 es una curva de distribución de tamaño numérico de las partículas compuestas de PLGA/IN producidas en el Ejemplo 4. Como se ilustra en la fig. 11 y Tabla 2 hay un aumento en el tamaño de partícula con un aumento en el tamaño de la gotita de emulsión. La fig. 12 es un gráfico que muestra el perfil de liberación en el tiempo de las partículas compuestas producidas en los Ejemplos 4(a)-4(b) respecto a un control de indometacina puro.

TABLA 2

Tamaño de partícula con referencia al tamaño de gotita de emulsión para partículas nanométricas compuestas PLGA/IN

EJEMPLO	Tamaño de gotita (nm)	Tamaño de partícula (nm)	Desviación estándar del tamaño de partícula (nm)
4 (a)	312	279	73
4 (b)	428	299	103
4 (c)	703	434	254
4 (d)	1887	886	537

Los procedimientos y realizaciones descritas en esta invención son ejemplos de estructuras, sistemas y procedimientos que tienen elementos que corresponden a elementos de la invención citados en las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la producción de partículas compuestas (200, 380), que comprende: poner en contacto una emulsión (134) con un fluido supercrítico (162, 310), comprendiendo la emulsión (134) una fase continua de un líquido polar no soluble en el fluido supercrítico y una fase discontinua de una pluralidad de gotitas (160, 360), comprendiendo las gotitas (160, 360) una solución de un disolvente no polar soluble en el fluido supercrítico y presentando un primer material disuelto en su interior y un segundo material (220) disuelto o suspendido en su interior, siendo el primer material generalmente insoluble en el líquido polar, y extrayendo el disolvente no polar de la emulsión (134) usando el fluido supercrítico (162, 310) con lo que precipitan partículas compuestas (200, 380) en el líquido polar para formar una suspensión, comprendiendo las partículas compuestas (200, 380) el primer material y el segundo material (220).

2. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que el primer material es un polímero y el segundo material es un material biológicamente activo (220) que es soluble en el disolvente, y las partículas compuestas (200, 380) están constituidas esencialmente por el material biológicamente activo (200, 380) dispersado en una matriz (210) formada por el polímero.

3. El procedimiento como se define en la reivindicación 2, en el que el material biológicamente activo (220) es un material farmacéuticamente activo y el polímero es un polímero biodegradable, y el material biológicamente activo (220) se introduce o encapsula en la matriz polimérica (210), con lo que las partículas compuestas (200, 380) se adaptan para responder a la toma de las partículas compuestas (200, 380) por una persona mediante la biodegradación del polímero y se adaptan para liberar el material farmacéuticamente activo (220) de la matriz polimérica (210) en la persona de una forma retardada en el tiempo o en un lugar específico en la persona.

4. Un procedimiento como se define en la reivindicación 2, en el que el material biológicamente activo (220) y el polímero son por lo general insolubles en agua, y la fase continua es una fase acuosa, con lo que el primer y el segundo materiales (220) precipitan como partículas compuestas por lo general insolubles en agua (200, 380) en una fase acuosa para formar una suspensión acuosa de partículas compuestas (200, 380).

5. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que al menos uno de los primer y segundo materiales (220) se selecciona del grupo constituido por agente terapéutico, esteroide, fármaco, agente medicinal, material nutricional, proteína, péptido, alcaloide, alquiloide, extracto de animal y/o planta, nutricional, antígeno, ácido nucleico y otra secuencia genética, material vírico, antibiótico, azúcar, vitamina, lípido, polímero, precursor polimérico, toxina, insecticida, adyuvante de diagnóstico, producto químico para agricultura, tinte, pigmento, pintura, óxido de metal, cosmético, explosivo, enzima y catalizador.

6. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que el segundo material (220) comprende una pluralidad de diferentes materiales biológicamente activos (220), comprendiendo además el procedimiento la etapa de seleccionar cada uno de los materiales biológicamente activos (220) en referencia uno con otro para crear un efecto terapéutico mejorado o sinérgico tras toma de las partículas compuestas (220, 380) por una persona.

7. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, que comprende además la etapa de formar la emulsión usando un microfluidizador, un emisor de ultrasonidos, un dispersador, un mezclador estático, un molino coloidal, un molino por energía de un fluido, un mezclador de turbina, o una técnica de emulsión espontáneo.

8. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, que comprende además la etapa de seleccionar una concentración de las gotitas en la fase continua para obtener un tamaño de partícula compuesta deseado, en el que un aumento en la concentración de las gotas da lugar a un aumento en el tamaño de partícula compuesta, y una reducción de la concentración de las gotas da lugar a una reducción en el tamaño de la partícula compuesta.

9. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, que comprende además la etapa de formar gotitas de pulverización de emulsión (360) que comprende la fase continua, en las que las partículas compuestas (380) están precipitadas y suspendidas en la fase continua en las gotitas de emulsión (360) tras la etapa de poner en contacto la emulsión con el fluido supercrítico (310).

10. El procedimiento como se define en la reivindicación 9, que comprende además la etapa de seleccionar un tamaño de gotitas de pulverización de emulsión (360) para obtener un tamaño de partícula compuesta deseado, en la que un aumento en el tamaño de las gotitas de pulverización de emulsión (360) da lugar a un aumento en el tamaño de partículas compuestas, y una reducción del tamaño de las gotitas de pulverización de emulsión (360) da lugar a una reducción en el tamaño de las partículas compuestas.

11. El procedimiento como se define en la reivindicación 9, en el que la emulsión se inyecta a través de una boquilla (330) tal que la emulsión se pulveriza en un volumen de fluido supercrítico (310) para formar las gotitas de pulverización de emulsión (360), y la boquilla (330) es una boquilla capilar, una boquilla coaxial o una boquilla ultrasónica.

ES 2 280 850 T3

12. El procedimiento definido en la reivindicación 9, en el que la etapa de puesta en contacto comprende hacer funcionar un mezclador para aumentar el área de contacto entre las gotitas de pulverización de emulsión (360) y el fluido supercrítico (310), siendo el mezclador una superficie vibrante o un mezclador de hélice o un agitador estático, y con ello aumentar la velocidad de transferencia de materia del disolvente desde las gotitas de emulsión al fluido supercrítico.
13. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, que comprende además la etapa de seleccionar un tamaño de las gotitas en la fase continua para obtener un tamaño deseado de las partículas compuestas (200, 380), en el que un aumento en el tamaño de las gotitas da lugar a un aumento en el tamaño de las partículas compuestas, y una reducción del tamaño de las gotitas da lugar a una reducción en el tamaño de las partículas compuestas.
14. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, que comprende además la etapa de filtrar la suspensión de fase continua a través de un filtro de alta presión para formar una suspensión concentrada o torta que contiene las partículas compuestas (200, 380), en el que la suspensión concentrada o torta es adecuada para secado.
15. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, que comprende además la etapa de seleccionar una concentración del primer material en la solución para obtener un tamaño de partículas compuestas deseado, en el que un aumento en la concentración de primer material da lugar a un aumento en el tamaño de partículas compuestas, y una reducción de la concentración de primer material da lugar a una reducción en el tamaño de partículas compuestas.
16. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, en la que el segundo material (220) se encapsula en el primer material en las partículas compuestas (200, 380), o el segundo material (220) está disperso en todo el primer material en las partículas compuestas (200, 380), siendo el segundo material un material biológicamente activo (220) y siendo el primer material un polímero biodegradable.
17. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, en la que el etapa de poner en contacto comprende burbujear el fluido supercrítico (162) a través de la emulsión (134).
18. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que las partículas compuestas (200, 380) tienen un diámetro medio en un intervalo de 0,1 nanómetros a 10,0 micrómetros.
19. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que el disolvente es una mezcla de co-disolventes orgánicos que son miscibles entre ellos, y al menos uno de los adyuvantes co-disolventes en la disolución de al menos uno del primer y segundo materiales (220).
20. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que el disolvente es parcialmente soluble en agua o una mezcla de disolventes orgánicos parcialmente solubles en agua.
21. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que el fluido supercrítico es una mezcla que comprende un disolvente generalmente soluble en agua, comprendiendo además el procedimiento la etapa de extraer el líquido polar de la suspensión usando el disolvente generalmente soluble en agua, con lo que se reduce una cantidad del líquido polar en la suspensión.
22. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, que comprende además la etapa de añadir un tensioactivo a la emulsión, con lo que se estabiliza la emulsión antes de la etapa de poner en contacto la emulsión con el fluido supercrítico (162, 310) o se impide el crecimiento de partículas compuestas (200, 380) después de la etapa de poner en contacto la emulsión con el fluido supercrítico (162, 310).
23. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que el fluido supercrítico (162, 310) comprende dióxido de carbono supercrítico, comprimido o licuado.
24. Un procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que la emulsión es una emulsión agua-en-aceite, y el procedimiento comprende además la etapa de emulsionar la emulsión agua-en-aceite en agua para formar una emulsión agua-en-aceite-en-agua.
25. El procedimiento como se define en la reivindicación 24, en el que las gotitas (162, 360) comprenden un disolvente orgánico no polar que tiene el primer material disuelto en las mismas, y las gotitas comprenden además microgotitas, y el segundo material (220) se disuelve o suspende en las microgotitas, con lo que las partículas compuestas (220, 380) tienen cada una una matriz (2120) formada por el primer material, y el segundo material (220) se dispersa en la matriz (210).
26. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que las partículas compuestas (200, 380) son producidas en una operación continua.
27. El procedimiento como se define en la reivindicación 26, que comprende además la etapa de formar la emulsión, en el que la emulsión se forma de modo continuo y se dirige a la cámara de extracción (104, 304) en general inmediatamente tras la formación de la emulsión.

ES 2 280 850 T3

28. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, en el que la fase continua de la emulsión es de un primer líquido polar y las gotitas de la fase discontinua comprenden un disolvente no polar que tiene dispersado en el mismo microgotitas de un segundo líquido polar, el segundo material (220) se disuelve o suspende en el segundo líquido polar; y las partículas compuestas (200, 380) comprenden una matriz (210) del primer material estando el
5 segundo material (220) dispersado en la misma.

29. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que el primer material es un polímero y el segundo material es un material biológicamente activo (220), y las partículas compuestas (200, 380) están constituidas esencialmente por las microgotitas que comprenden el material biológicamente activo (220) dispersado en una matriz
10 (210) formada por el polímero.

30. El procedimiento como se define en la reivindicación 29, en el que el material biológicamente activo (220) es un material farmacéuticamente activo y el polímero es un polímero biodegradable, y el material biológicamente activo es introducido o encapsulado en la matriz polimérica (210), con lo que las partículas compuestas (200, 380) se
15 adaptan para responder a la toma de las partículas compuestas (200, 380) por una persona mediante la biodegradación del polímero y se adaptan para liberar el material farmacéuticamente activo desde la matriz polimérica (210) en la persona de una forma retardada en el tiempo o en una localización específica en la persona.

31. Un procedimiento como se define en la reivindicación 29, en el que el material biológicamente activo (220) y el polímero son ambos por lo general insolubles en agua, y la fase continua es una fase acuosa, con lo que el primer y
20 segundo materiales (220) precipitan como partículas compuestas generalmente insolubles en agua (200, 380) en una fase acuosa para formar una suspensión acuosa de partículas compuestas insolubles en agua (200, 380).

32. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que al menos uno del primero y segundo materiales (220) se selecciona del grupo constituido por agente terapéutico, esteroide, fármaco, agente medicinal, material nutricional, proteína, péptido, alcaloide, alquiloide, extracto de animal y/o planta, nutriceútico, antígeno, ácido nucleico y otra secuencia genética, material vírico, antibiótico, azúcar, vitamina, lípido, polímero, precursor
25 polimérico, toxina, insecticida, adyuvante de diagnóstico, producto químico para agricultura, tinte, pigmento, pintura, óxido de metal, cosmético, explosivo, enzima y catalizador.

33. El procedimiento como se define en la reivindicación 32, en el que el segundo material (220) comprende una pluralidad de diferentes materiales biológicamente activos (220), el procedimiento comprende además la etapa de seleccionar cada uno de los materiales biológicamente activos (220) en referencia a cada uno de los otros para
30 crear un efecto terapéutico mejorado o sinérgico tras toma de las partículas compuestas (200, 380) por una persona.

34. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, que comprende además la etapa de formar la emulsión usando un microfluidizador, un emisor de ultrasonidos, un dispersador, un mezclador estático, un molino coloidal, un
40 molino por energía de un fluido, un mezclador de turbina, o una técnica de emulsionamiento espontáneo.

35. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, que comprende además la etapa de seleccionar una concentración de las gotitas en la fase continua para obtener un tamaño de partícula compuesta deseado, en el que un aumento en la concentración de las gotitas da lugar a un aumento en el tamaño de partícula compuesta, y una reducción de la concentración de las gotitas da lugar a una reducción en el tamaño de partícula compuesta.
45

36. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, que comprende además la etapa de formar gotitas de pulverización de emulsión que comprenden la fase continua, en el que las partículas compuestas se precipitan y suspenden en la fase continua en las gotitas de pulverización de emulsión después de la etapa de poner en contacto la emulsión con el fluido supercrítico.
50

37. El procedimiento como se define en la reivindicación 36, que comprende además seleccionar un tamaño de las gotitas de pulverización de emulsión para obtener un tamaño de partícula compuesta deseado, en el que un aumento en el tamaño de las gotitas de pulverización de emulsión da lugar a un aumento en el tamaño de partículas compuestas, y una reducción del tamaño de las gotitas de pulverización de emulsión da lugar a una reducción en el tamaño de
55 partículas compuestas.

38. El procedimiento como se define en la reivindicación 36, en el que la emulsión se inyecta a través de una boquilla tal que la emulsión se pulveriza en un volumen del fluido supercrítico (310) para formar las gotitas de pulverización de emulsión (360), y la boquilla (330) es una boquilla capilar, una boquilla coaxial o una boquilla ultrasónica.
60

39. El procedimiento definido en la reivindicación 36, en la que la etapa de poner en contacto comprende hacer funcionar un mezclador para aumentar el área de contacto entre las gotitas de pulverización de emulsión (360) y el fluido supercrítico (310), siendo el mezclador una superficie vibrante o un mezclador de paletas o un mezclador estático, y con lo que aumenta una velocidad de transferencia de materia del disolvente desde las gotitas de pulverización de emulsión (360) al fluido supercrítico (310).
65

40. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, que comprende además la etapa de seleccionar un tamaño de las gotitas en la fase continua para obtener un tamaño deseado de las partículas compuestas (200, 380), en

ES 2 280 850 T3

el que un aumento en el tamaño de las gotitas da lugar a un aumento en el tamaño de las partículas compuestas, y una reducción del tamaño de las gotitas da lugar a una reducción en el tamaño de las partículas compuestas.

5 41. El procedimiento como se define en la reivindicación 1, que comprende además la etapa de filtrar la suspensión de fase continua a través de un filtro de alta presión para formar una suspensión concentrada o torta que contiene las partículas compuestas (200, 380), en la que la suspensión concentrada o torta es adecuada para secado.

10 42. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, que comprende además la etapa de seleccionar una concentración del primer material en el disolvente no polar para obtener un tamaño de partícula compuesta deseado, en el que un aumento en la concentración del primer material da lugar a un aumento en el tamaño de partículas compuestas, y una reducción de la concentración de primer material da lugar a una reducción en el tamaño de partículas compuestas.

15 43. Un procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que el segundo material se encapsula en el primer material en las partículas compuestas (200, 380), o el segundo material (220) se dispersa en todo el primer material en las partículas compuestas (200, 380), siendo el segundo material un material biológicamente activo (220) y siendo el primer material un polímero biodegradable.

20 44. Un procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que la etapa de poner en contacto comprende burbujear el fluido supercrítico (310) a través de la emulsión (134).

45. Un procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que las partículas compuestas (200, 380) tienen un diámetro medio en un intervalo de 0,1 nanómetros a 10,0 micrómetros.

25 46. Un procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que el disolvente no polar es una mezcla de co-disolventes orgánicos que son miscibles entre ellos, y al menos uno de los adyuvantes co-disolventes en la disolución de al menos uno del primer y segundo (220) materiales.

30 47. Un procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que el disolvente no polar es parcialmente soluble en agua o una mezcla de disolventes orgánicos parcialmente soluble en agua.

35 48. Un procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que el fluido supercrítico es una mezcla que comprende un disolvente generalmente soluble en agua, el procedimiento comprende además la etapa de extraer el líquido polar de la suspensión usando el disolvente generalmente soluble en agua, con lo que se reduce una cantidad del líquido polar en la suspensión.

40 49. Un procedimiento como se define en la reivindicación 28, que comprende además la etapa de añadir un tensioactivo a la emulsión, con lo que se estabiliza la emulsión antes de la etapa de poner en contacto la emulsión con el fluido supercrítico o se impide el crecimiento de partículas compuestas (200, 380) después de la etapa de poner en contacto la emulsión con el fluido supercrítico.

50. Un procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que el fluido supercrítico (162, 310) comprende dióxido de carbono supercrítico, comprimido o licuado.

45 51. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, en el que las partículas compuestas (200, 380) son producidas en una operación en continuo.

50 52. El procedimiento como se define en la reivindicación 28, que comprende además la etapa de formar la emulsión, en la que la emulsión se forma de manera continua y se dirige a la cámara de extracción (104, 304) en general inmediatamente tras la formación de la emulsión.

55

60

65

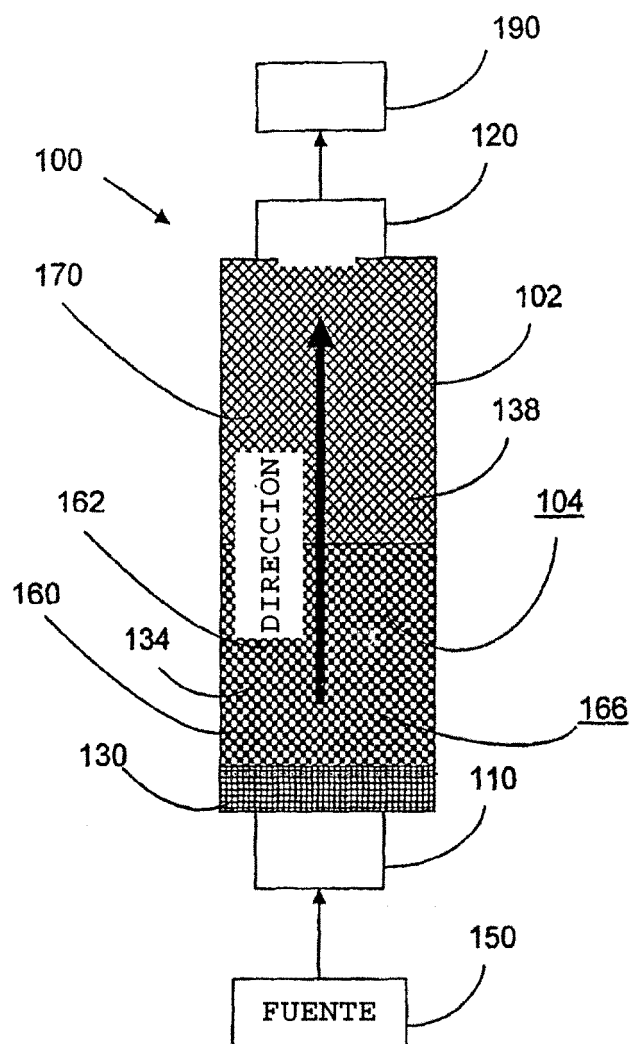


Fig. 1

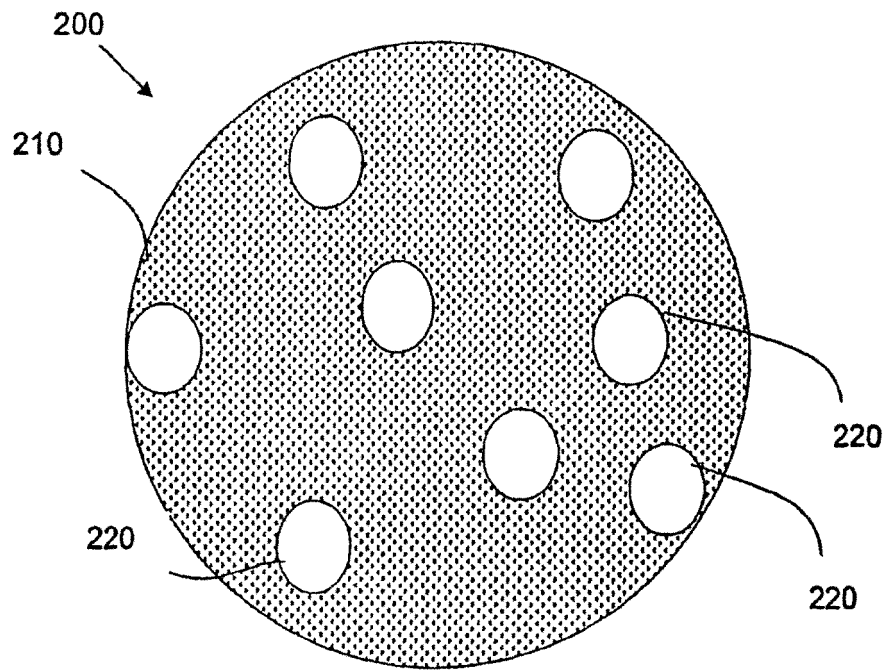


Fig. 2

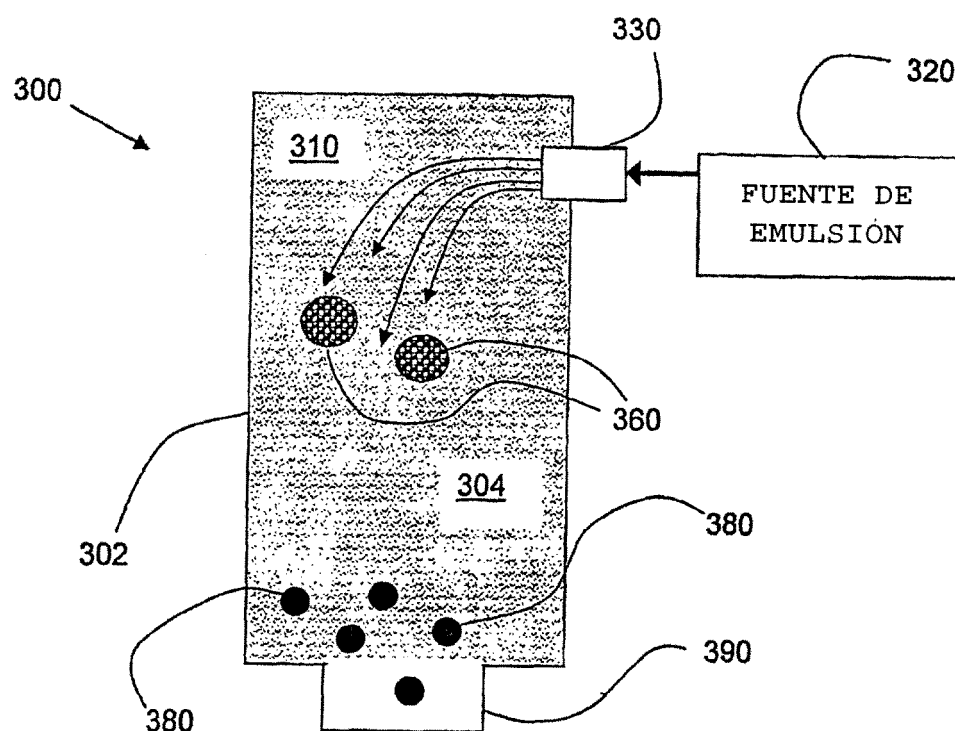


Fig. 3

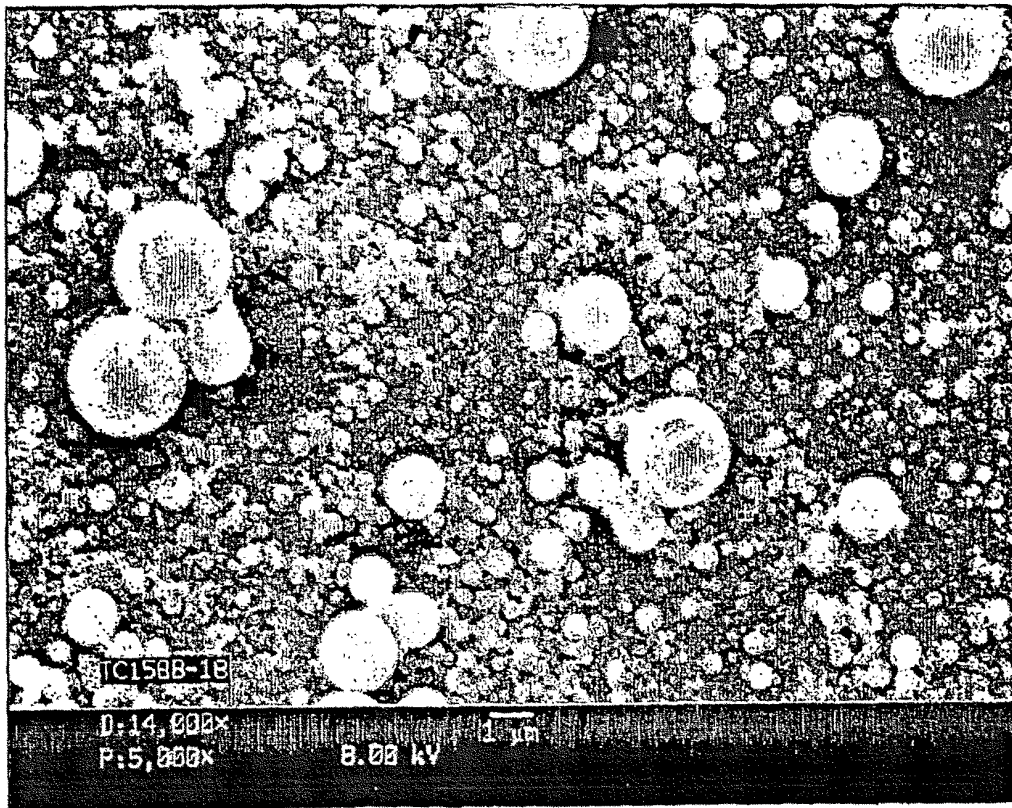


Fig. 4

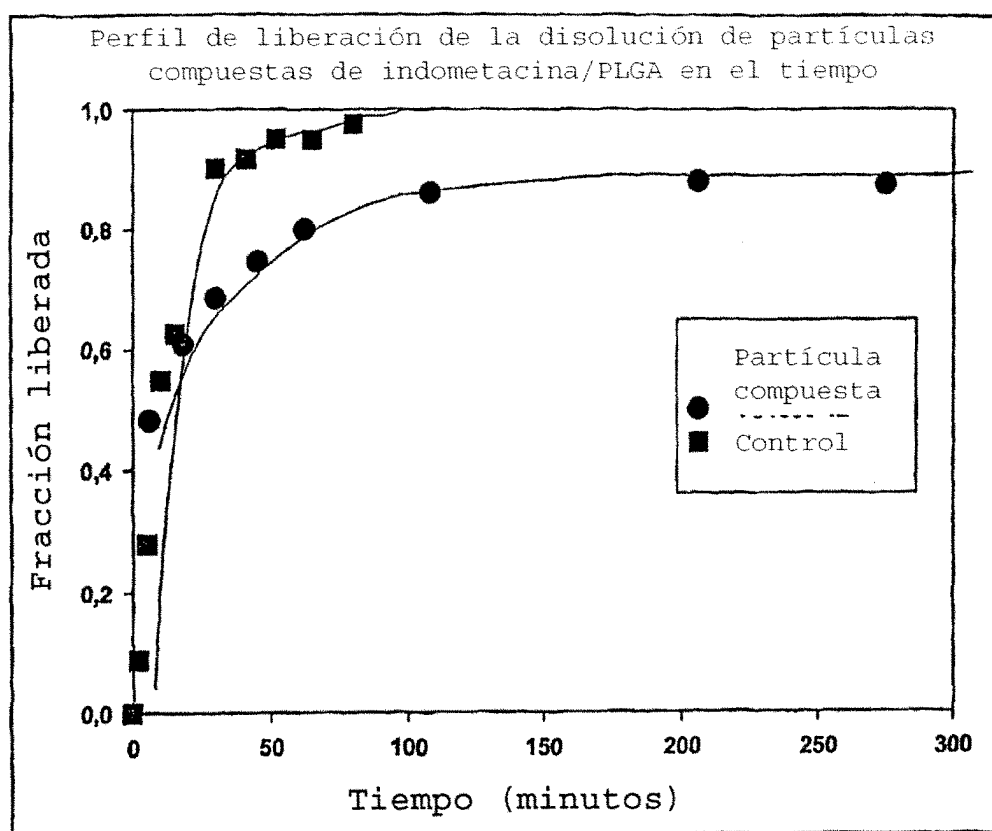


Fig. 5

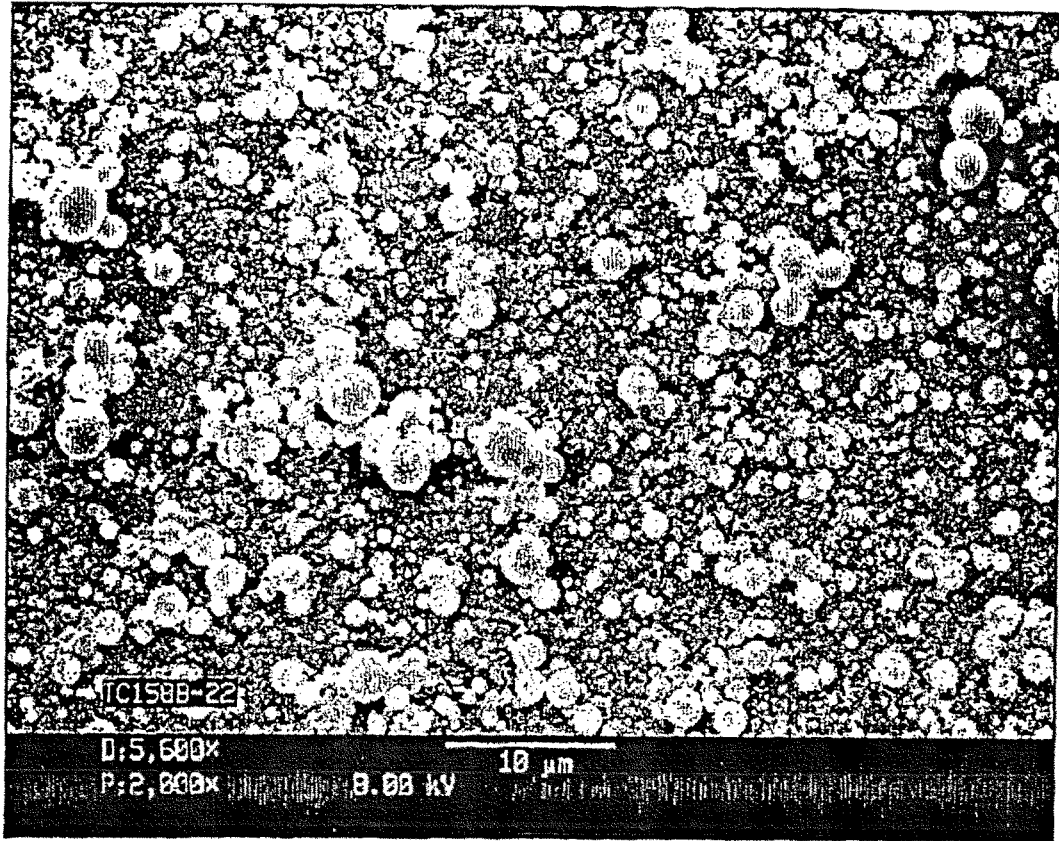


Fig. 6

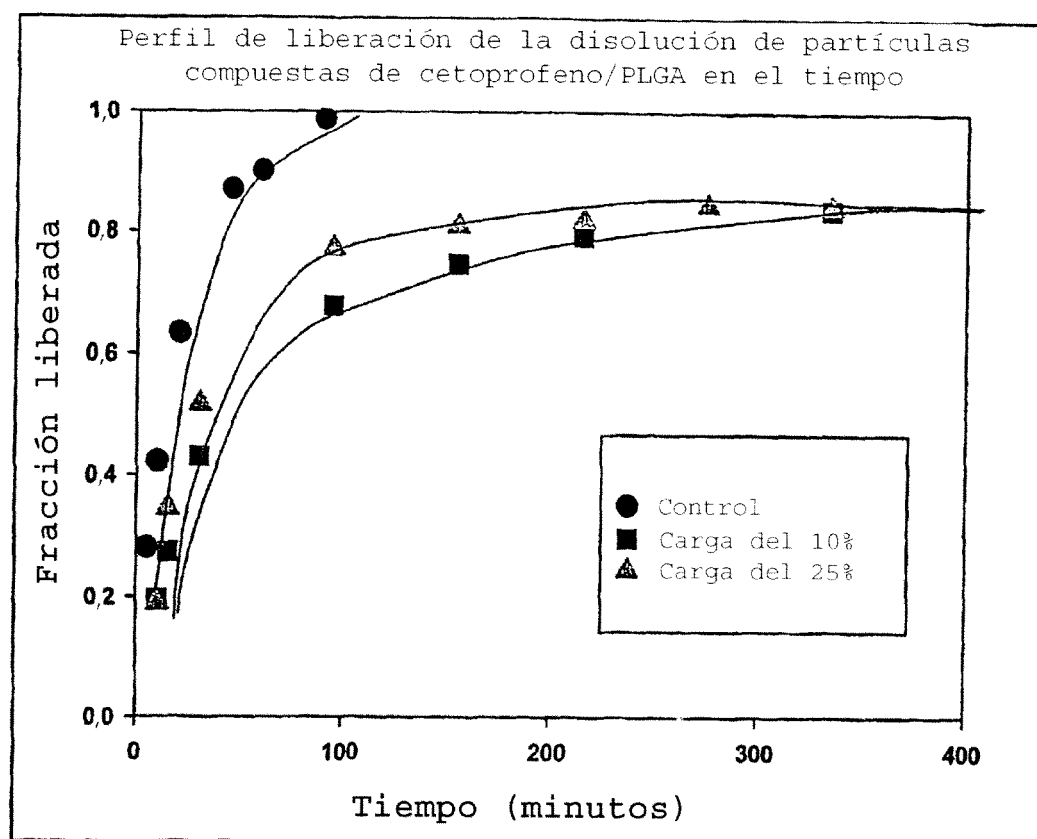


Fig. 7



Fig. 8

ES 2 280 850 T3

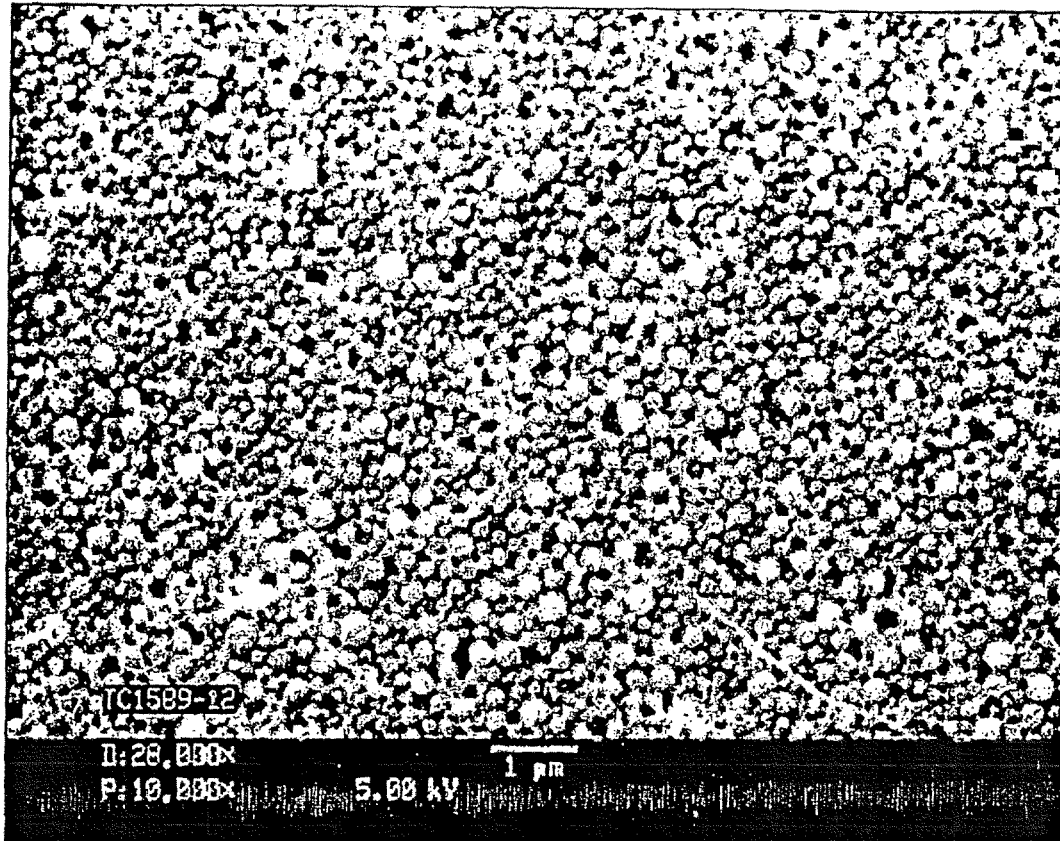


Fig. 9

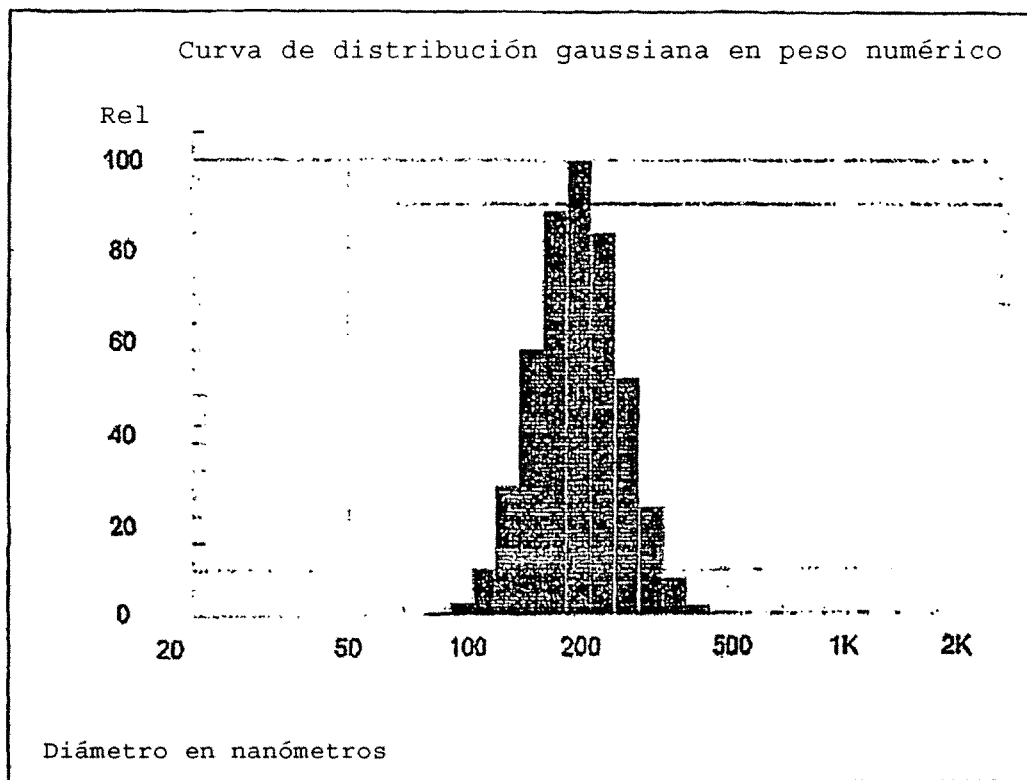


Fig. 10

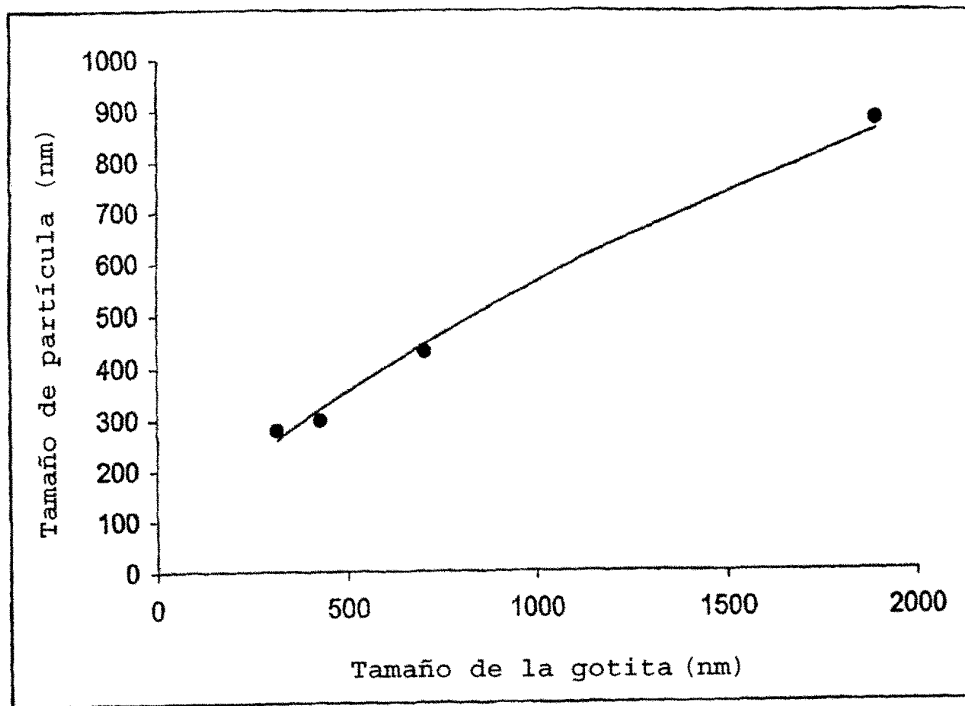


Fig. 11

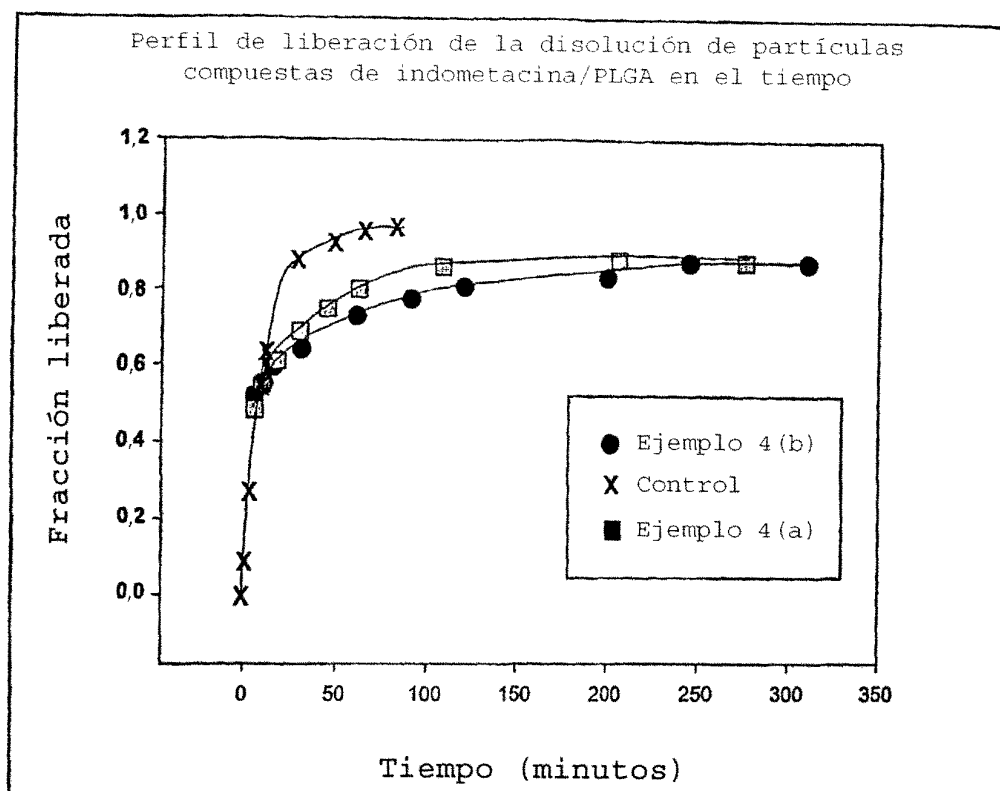


Fig. 12