

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 944 885**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61M 37/00 (2006.01)
A61B 17/20 (2006.01)
B29C 43/02 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.08.2015 PCT/US2015/047563**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2016 WO16033540**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2015 E 15762884 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2023 EP 3193828**

(54) Título: **Matriz de microestructuras para administración de agentes activos**

(30) Prioridad:

29.08.2014 US 201462044051 P

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

26.06.2023

(73) Titular/es:

**CORIUM PHARMA SOLUTIONS, INC. (100.0%)
4558 50th Street SE
Grand Rapids, MI 49512, US**

(72) Inventor/es:

**CHEN, GUOHUA;
KATIKANENI, SAHITYA;
GHARTEY-TAGOE, ESI y
SINGH, PARMINDER**

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 944 885 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

- Matriz de microestructuras para administración de agentes activos
- 5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas
- Esta solicitud reclama el beneficio de la Solicitud Provisional de Estados Unidos Núm. 62/044.051, presentada el 29 de agosto de 2014.
- 10 Campo técnico
- La divulgación se refiere en general a un método para fabricar una matriz de microestructuras que comprende un agente activo de vacuna, y a una matriz de microestructuras obtenida mediante este método.
- 15 Antecedentes
- Las matrices de microagujas se propusieron como una forma de administrar fármacos a través de la piel en la década de 1970. Las matrices de microagujas o microestructuras pueden facilitar el paso de fármacos a través o dentro de la piel humana y otras membranas biológicas en circunstancias en las que la administración transdérmica ordinaria es 20 inadecuada. Las matrices de microestructuras también se pueden usar para muestrear fluidos encontrados en las proximidades de una membrana biológica tal como fluido intersticial, que luego se prueba para detectar la presencia de biomarcadores.
- 25 En los últimos años, las matrices de microestructuras se han preparado de una manera que hace financieramente factible su uso generalizado. La Patente de los Estados Unidos 6.451.240 divulga métodos ilustrativos para fabricar matrices de microagujas. Si las matrices son suficientemente baratas, se pueden proporcionar como dispositivos desechables. Un dispositivo desechable es preferible a un dispositivo reutilizable ya que la integridad del dispositivo no se ve comprometida debido al uso anterior, y se elimina la necesidad potencial de volver a esterilizar el dispositivo después de cada uso y mantener el dispositivo en condiciones de almacenamiento controladas. Además, las matrices de microestructuras son 30 ventajosas para su uso en países en desarrollo, ya que se elimina la necesidad de agujas y refrigeración.
- 35 A pesar de mucho trabajo inicial en la fabricación de matrices de microagujas usando silicio o metales, hay ventajas significativas para las matrices poliméricas en lugar de metálicas o basadas en silicio. Métodos de fabricación de matrices de microagujas poliméricas se describen en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.451.240, en tanto que también se han descrito matrices preparadas principalmente de polímeros biodegradables. Ver, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Núm. 6.945.952 y las Solicitudes de Patente Publicadas de los Estados Unidos Núms. 2002/0082543 y 2005/0197308. Una descripción detallada de la fabricación de una matriz de microagujas ilustrativa hecha de ácido poliglicólico (PGA) se encuentra en Park et al., J. of Controlled Release, 104:51-66 (2005). La administración de vacunas a través de matrices de microagujas se describe, por ejemplo, en la publicación de patente de los Estados Unidos Núm. 40 2009/0155330. Las matrices de microsalientes de disolución también se describen en la misma.
- 45 Recientemente se ha descrito la administración transdérmica de vacunas usando microagujas que incluyen revestir o encapsular la vacuna sobre o dentro de microagujas (Prausnitz et al., Curr Top Microbiol Immunol, 2009, 333:369-393). La administración intradérmica provocó las mismas respuestas inmunitarias a dosis más bajas en comparación con la inyección intramuscular. Prausnitz et al. no mencionan el uso de un adyuvante en la formulación de vacuna.
- 50 Las sales de aluminio insolubles se han utilizado durante casi 80 años como adyuvantes inmunológicos. US 2009/035446 A1 divulga un método para producir una microaguja con un fármaco seleccionado concentrado en la punta o en la superficie de la punta, donde el método comprende: (1) proporcionar un componente particulado que comprende una partícula inerte con un fármaco adsorbido, donde el fármaco es una vacuna o una proteína; (2) combinar el componente particulado con un material de matriz soluble para formar una suspensión/solución que comprende el componente particulado; (3) vaciar la suspensión/solución en un molde de microagujas; (4) centrifugar en condiciones que mueven el componente particulado hacia la punta o superficie de la punta de la microaguja; y (5) secar y separar la microaguja del molde. La partícula inerte es polí(ácido láctico-co-glicólico), hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio. El material de 55 matriz es un hidrogel, que comprende preferentemente carboximetilcelulosa sódica. Se sabe que el uso de sales de aluminio como adyuvante produce nódulos subcutáneos de larga vida. Se supuso durante mucho tiempo que estos nódulos eran centrales para la actividad adyuvante al proporcionar un depósito del antígeno. Un estudio reciente concluyó que la formación de nódulos no es necesaria para la capacidad de las sales de aluminio para actuar como un depósito para retener el antígeno en el cuerpo o para actuar como adyuvantes (Munks, et al., Blood, 2010, 116(24):5191-5199).
- 60 65 La administración transdérmica asistida por microagujas de agentes terapéuticos es un desarrollo tecnológico bastante reciente. Existe una necesidad actual de formulaciones y matrices de microsalientes mejoradas para administrar de manera efectiva agentes activos, a través de la piel, en tanto que se proporciona una buena estabilidad de la formulación (incluido el mantenimiento de la potencia de agente activo) tras la fabricación y el almacenamiento, y durante la administración, para administrar de manera conveniente una cantidad terapéutica y/o inmunogénicamente efectiva de agente activo sin la incomodidad, inconveniente o inestabilidad química asociada de los métodos tradicionales basados

en líquidos y basados en agujas.

Breve descripción

- 5 La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que se encuentre fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solo con fines informativos.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un método para fabricar una matriz de microestructuras, que comprende: (i) proporcionar una formulación líquida acuosa que comprende un agente activo de vacuna, un adyuvante de sal de aluminio en partículas insoluble, un polímero hidrófilo seleccionado del grupo que consiste en polisacáridos, polivinilpirrolidonas, alcohol polivinílico, polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, y copolímeros de bloque de polí(ácido láctico-co-glicólico) y polietilenglicol, y al menos un co-disolvente seleccionado del grupo que consiste en alcohol isopropílico, etanol, metanol y butanol en un amortiguador acuoso; (ii) dispensar la formulación líquida del paso (i) sobre un molde que tiene una matriz de cavidades de microestructura y llenar las cavidades de microestructura para formar un molde lleno de formulación; (iii) eliminar el exceso de formulación líquida de una superficie superior del molde; (iv) secar el molde lleno de formulación; (v) colocar una capa de refuerzo sobre el molde seco de (iv), por lo que la capa de refuerzo forma una base que tiene un punto de unión a la formulación seca en cada una de las cavidades de microestructura para proporcionar una matriz de microestructuras moldeada; y (vi) eliminar la matriz de microestructuras de (v) del molde. En una realización adicional, el molde se purga con un gas soluble antes de dispensar la formulación sobre el molde. En realizaciones específicas, el gas soluble se selecciona de CO₂ y CH₄. En otras realizaciones, el método incluye aplicar presión a la formulación y el molde después de dispensar la formulación líquida en el molde. En una realización, la presión se aplica después de eliminar el exceso de formulación de la superficie de molde. En una realización, se aplica una presión de al menos aproximadamente 68,95-206,84 kPa (10-30 lb/pulg²) por encima de la atmosférica. En otra realización, la presión se aplica durante al menos aproximadamente 5 segundos a al menos aproximadamente 2 minutos.

En una realización, el método por encima comprende secar el molde lleno de formulación a alrededor de 5-50°C durante aproximadamente 20 minutos a aproximadamente dos horas. En realizaciones adicionales, el molde lleno de formulación se seca durante aproximadamente 30-60 minutos. En realizaciones específicas, el molde relleno con la formulación se seca durante al menos aproximadamente 20 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 90 minutos o dos horas. En otras realizaciones, el método incluye secar la formulación de la capa de refuerzo. En realizaciones, secar la formulación de la capa de refuerzo comprende secar el molde y/o la matriz en un horno a aproximadamente 5-50°C.

35 En otra realización relacionada con lo anterior, el método anterior comprende además fijar un sustrato de refuerzo a una capa de refuerzo. Sustratos de refuerzo de ejemplo incluyen, por ejemplo, un adhesivo sensible a la presión, un adhesivo sensible a la presión impregnado no tejido transpirable y un adhesivo curado con luz ultravioleta en una película polimérica (por ejemplo, policarbonato o poliéster).

40 En aun otra realización, el método incluye un paso de secado adicional que incluye secar la matriz de microestructuras a 5-50°C durante al menos aproximadamente 2-12 horas. En realizaciones, el paso secado adicional se realiza a aproximadamente 35°C. En otras realizaciones, el secado se realiza al vacío. En realizaciones específicas, el secado se realiza en una cámara que tiene una presión parcial de agua de aproximadamente 6,66 Pa (0,05 Torr).

45 En realizaciones adicionales, la formulación líquida comprende además al menos uno de un azúcar, un surfactante o un antioxidante. En realizaciones adicionales, el azúcar se selecciona de sorbitol, sacarosa, trehalosa, fructosa o dextrosa. En otras realizaciones, el surfactante se selecciona de Polisorbato 20 o Polisorbato 80. En aun otras realizaciones, el antioxidante se selecciona de metionina, cisteína, acetato de D-alfa tocopherol, EDTA o vitamina E. En realizaciones adicionales, la formulación líquida es una solución o una suspensión.

50 En un segundo aspecto, la invención proporciona una matriz de microestructuras obtenida por el método descrito anteriormente, que comprende: una base aproximadamente plana que tiene una primera superficie y una segunda superficie opuesta a la misma; una pluralidad de microestructuras biodegradables que se extienden hacia afuera desde la base, cada microestructura que tiene un punto de unión a la base y una porción distal para penetrar en la piel de un sujeto, donde (i) toda la porción distal de cada microestructura en la pluralidad de microestructuras comprende al menos un agente activo antigénico de vacuna, y un adyuvante de sal de aluminio particulado insoluble en una matriz polimérica biocompatible y soluble en agua, la matriz polimérica biocompatible y soluble en agua que comprende al menos un polímero formador de estructura, donde el polímero formador de estructura es un polímero hidrófilo seleccionado de polisacáridos, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol y copolímeros de bloque de polí(ácido láctico-co-glicólico) y polietilenglicol; y (ii) la base comprende una matriz polimérica biocompatible no soluble en agua, donde las microestructuras, al penetrar en la piel del sujeto, se disuelven para administrar de este modo el agente activo antigénico y el adyuvante de sal de aluminio particulado. En una realización adicional, el agente activo antigénico de vacuna se dirige contra al menos uno de adenovirus, ántrax, difteria, hepatitis, *Haemophilus influenzae* a y/o b, virus del papiloma humano, influenza, encefalitis japonesa, enfermedad de Lyme, sarampión, infección por meningococo y neumococo, paperas, tos ferina, poliomielitis, rabia, rotavirus, rubéola, culebrilla, viruela, tétanos, tuberculosis, fiebre tifoidea, varicela o fiebre amarilla.

En realizaciones particulares, la sal de aluminio se selecciona de hidróxido de aluminio, sulfato de aluminio y potasio y fosfato de aluminio.

- 5 En realizaciones adicionales, la matriz comprende además uno o más excipientes. En algunas realizaciones, las microestructuras comprenden además al menos uno de un azúcar, un surfactante o un antioxidante. En realizaciones particulares, el al menos un azúcar se selecciona de sorbitol, sacarosa, trehalosa, fructosa y dextrosa. En otras realizaciones particulares, el surfactante se selecciona de Polisorbato 20 o Polisorbato 80. En aun realizaciones adicionales, el antioxidante se selecciona de metionina, cisteína, acetato de D-alfa tocoferol, EDTA o vitamina E.
- 10 En realizaciones adicionales, la matriz de microestructuras comprende además un sustrato de refuerzo fijado a la base plana en un lado opuesto de la pluralidad de microestructuras.

En realizaciones, las microestructuras tienen una sección transversal de diamante. En realizaciones adicionales, las microestructuras tienen una altura desde la punta hasta la capa de refuerzo de al menos aproximadamente 50-500 µm. 15 En otras realizaciones, las microestructuras tienen una altura de aproximadamente 100-300 µm. En aun otras realizaciones, las microestructuras tienen una altura de al menos aproximadamente 200 µm.

20 En la presente se proporciona, pero no de acuerdo con la invención, un método para administrar una vacuna o inmunizar a un sujeto. El método comprende aplicar una matriz de microestructuras como se describe en la presente al sujeto, donde la formación de granulomas en la piel se reduce en comparación con otras formas de administración de una vacuna, incluida la administración subcutánea o intradérmica.

25 Realizaciones adicionales de las presentes microestructuras, matrices, métodos y similares, serán evidentes a partir de la siguiente descripción, dibujos, ejemplos y reivindicaciones. Como se puede apreciar a partir de la descripción anterior y siguiente, todas y cada una de las características descritas en la presente, y todas y cada una de las combinaciones de dos o más de estas características, se incluyen dentro del alcance de la presente divulgación siempre que las características incluidas en esta combinación no sean mutuamente inconsistentes.

30 Aspectos y ventajas adicionales de la presente invención se establecen en la siguiente descripción y reivindicaciones, particularmente cuando se consideran junto con los ejemplos y dibujos anexos.

Breve descripción de los dibujos

35 Las figuras 1A-1 B son imágenes de matrices de microestructuras preparadas con (figura 1A) y sin presurización (figura 1B).
 Las figuras 2A-2B son imágenes de formulaciones secas en el molde preparado con (figura 2A) y sin presurización (figura 2B).
 La figura 3 es una ilustración de una matriz de microestructuras de ejemplo.
 La figura 4 es una ilustración de un método de ejemplo para formar una matriz de microestructuras.
 40 Las figuras 5A-5E son ilustraciones de formas de ejemplo para microestructuras de las matrices descritas en la presente.

Descripción detallada

45 Diversos aspectos de la matriz de microestructuras, formulaciones de agentes activos y métodos relacionados se describirán más completamente más adelante. Sin embargo, estos aspectos se pueden incorporar en muchas formas diferentes y no se deben considerar como limitados a las realizaciones expuestas en la presente; en su lugar, estas realizaciones se proporcionan de tal forma que esta divulgación será exhaustiva y completa, y transmitirá completamente su alcance a los expertos en la técnica.

50 La práctica de la presente divulgación empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de química, bioquímica y farmacología, dentro de la experiencia de la técnica. Estas técnicas se explican completamente en la literatura. Ver, por ejemplo; A.L. Lehninger, Biochemistry (Worth Publishers, Inc., edición actual); Morrison and Boyd, Organic Chemistry (Allyn and Bacon, Inc., edición actual); J. March, Advanced Organic Chemistry (McGraw Hill, edición actual); Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro, Ed., 20^a Ed.; Goodman & Gilman The Pharmacological Basis of Therapeutics, J. Griffith Hardman, L. L. Limbird, A. Gilman, 10^a Ed.

55 Donde se proporciona un intervalo de valores, se pretende que cada valor intermedio entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor establecido o intermedio en ese intervalo establecido esté comprendido dentro de la divulgación. Por ejemplo, si se establece un intervalo de 1 µm a 8 µm, se pretende que también se divulguen explícitamente 2 µm, 3 µm, 4 µm, 5 µm, 6 µm y 7 µm, así como el intervalo de valores mayor que o igual a 1 µm y el intervalo de valores menor que o igual a 8 µm.

Definiciones

60 65 Como se usa en esta especificación, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a un "polímero" incluye un único polímero así

como dos o más del mismo o diferentes polímeros, la referencia a un "excipiente" incluye un único excipiente así como dos o más del mismo o diferentes excipientes, y similares.

5 Al describir y reivindicar la presente invención, se usará la siguiente terminología de acuerdo con las definiciones descritas más adelante.

10 Un "adyuvante", como se usa en la presente, se refiere generalmente a un agente que modifica el efecto de otros agentes. En un uso particular, "adyuvante" se refiere a un agente incluido en una formulación de vacuna para modificar la respuesta inmunitaria de la vacuna.

15 "Biodegradable" se refiere a materiales naturales o sintéticos que se degradan enzimáticamente, no enzimáticamente o ambos para producir subproductos biocompatibles y/o toxicológicamente seguros que se pueden eliminar mediante vías metabólicas normales.

20 "Polímero hidrófobo", como se usa en la presente, se refiere a polímeros que son insolubles o poco solubles en disolventes acuosos. "Polímero hidrófilo", como se usa en la presente, se refiere a polímeros que son solubles o sustancialmente solubles en disolventes acuosos.

25 Los términos "microprotuberancia", "microsaliente", "microestructura" o "microaguja" se usan indistintamente en la presente para referirse a elementos adaptados para penetrar o perforar al menos una porción del estrato córneo u otras membranas biológicas. Por ejemplo, las microestructuras ilustrativas pueden incluir, además de las descritas en la presente, microcuchillas como se describe en la patente de los Estados Unidos núm. 6.219.574, microagujas con bordes como se describe en la patente de los Estados Unidos núm. 6.652.478 y microprotuberancias como se describe en la publicación de patente de los Estados Unidos núm. US 2008/0269685 y US 2009/0155330.

30 "Opcional" u "opcionalmente" significa que la circunstancia descrita posteriormente puede o no ocurrir, de modo que la descripción incluye instancias donde ocurre la circunstancia e instancias donde no ocurre.

35 "Sustancialmente" o "esencialmente" significa casi total o completamente, por ejemplo, 90% o más de alguna cantidad dada.

40 "Transdérmico" se refiere a la administración de un agente en y/o a través de la piel para terapia local y/o sistémica. Los mismos principios se aplican a la administración a través de otras membranas biológicas tal como aquellas que recubren el interior de la boca (por ejemplo, mucosa oral), tracto gastrointestinal, barrera hematoencefálica u otros tejidos u órganos corporales o membranas biológicas que se exponen o son accesibles durante cirugía o durante procedimientos tal como laparoscopia o endoscopia.

45 Un material que es "soluble en agua" se puede definir como soluble o sustancialmente soluble en disolventes acuosos. Un material que es "soluble en agua" se disuelve preferiblemente en, dentro o debajo de la piel u otra membrana que es sustancialmente de naturaleza acuosa.

Visión general

50 La presente divulgación se dirige, al menos en parte, al descubrimiento de una matriz biocompatible y soluble en agua como se describe en las reivindicaciones, donde la matriz comprende un agente activo de vacuna y un adyuvante, para su uso en una matriz de microestructuras para administrar transdérmicamente el agente activo, especialmente donde la administración de la vacuna no causa o sustancialmente no causa nódulos subcutáneos.

Matrices de microestructuras

55 En general, la matriz de microestructuras incluye una pluralidad de microestructuras como se describe en las reivindicaciones. La matriz incluye un refuerzo o base plana en la que las microestructuras se extienden hacia fuera desde una superficie del refuerzo. Al menos una porción de las microestructuras de disolución proporcionadas en la presente comprende una matriz polimérica biocompatible y soluble en agua y una vacuna, de acuerdo con las reivindicaciones.

60 La figura 3 es una ilustración de una matriz de microestructuras de ejemplo 20. La matriz incluye una pluralidad de microestructuras 24 adyacentes a una capa de refuerzo, capa base o base 22. En otras realizaciones, las microestructuras comprenden al menos una porción de la capa de refuerzo y la punta distal como se muestra en la figura 3. Los componentes de vacuna están contenidos al menos en una porción distal de la matriz de microestructuras. En las microestructuras de la figura 3, cada microestructura incluye al menos un antígeno 26 y al menos un adyuvante 28 dentro de una matriz polimérica biodegradable 30. Al menos la porción distal y/o puntas de las microestructuras comprenden la matriz polimérica biodegradable que incluye los componentes de vacuna. La matriz puede incluir además un soporte de refuerzo 23 adyacente a la capa de soporte. Las microestructuras pueden incluir una o más capas con composiciones similares o diferentes. Cada una de la pluralidad de microestructuras se forma al menos parcialmente de una matriz polimérica biodegradable. Preferiblemente, al menos una porción distal o los extremos distales de las microestructuras se forman de la matriz polimérica biodegradable. La matriz polimérica biodegradable comprende al menos un polímero

- formador de estructura y una vacuna, de acuerdo con las reivindicaciones. Al menos los extremos distales de las microestructuras, al penetrar en la piel de un sujeto, se disuelven para administrar de este modo la vacuna.
- 5 Las microestructuras pueden comprender uno o más agentes activos adicionales. En una o más realizaciones, al menos una porción de las microestructuras puede incluir un revestimiento que puede contener opcionalmente uno o más agentes activos, que pueden ser los mismos o diferentes del agente o agentes activos en las microestructuras.
- 10 En una realización, el agente activo en la matriz de microsalientes es una o más proteínas o péptidos para su uso como una vacuna. Las vacunas estimulan el sistema inmunológico de un cuerpo al inducir inmunidad adaptativa específica de patógeno. Las vacunas contienen típicamente al menos un antígeno y al menos un adyuvante, cada uno considerado un agente activo de vacuna en la presente.
- 15 El antígeno puede ser cualquier sustancia que provoque una respuesta inmunitaria. Los antígenos generalmente son sustancias extrañas. Ejemplos no limitantes de antígenos incluyen proteínas, péptidos, polisacáridos o porciones de los mismos. A menudo, los antígenos usados en las vacunas incluyen al menos una porción de una bacteria, virus u otro microorganismo del que se desea protección. En otras realizaciones, el antígeno se puede producir por la bacteria, virus u otro microorganismo tal como una toxina o proteína.
- 20 El adyuvante potencia las respuestas inmunitarias específicas de antígeno del antígeno específico. Adyuvantes particulados, y sales de aluminio insolubles en particular, se han utilizado durante más de 80 años. El uso de adyuvantes particulados insolubles da como resultado la formación de nódulos en el sitio de inyección. Un estudio de 1955 encontró que se formó un nódulo un día después de la inyección subcutánea de ovoalbúmina o toxoide diftérico cuando se usó con fosfato de aluminio como adyuvante (White et al., J Exp Med, 1955, 102(1): 73-82). La presencia del antígeno dentro de los nódulos durante días o semanas dio lugar a la "teoría del depósito" de que los nódulos forman un depósito de antígeno en el sitio de inoculación y liberan lentamente el antígeno a lo largo del tiempo proporcionando un efecto de cebado y refuerzo (Munks et al. Blood, 2010, 116(24):5191-5199). Por lo tanto, la formación de nódulos se ha considerado durante mucho tiempo un requisito para la acción de los adyuvantes.
- 25
- 30 Los nódulos adyuvantes, o granulomas, pueden estar asociados con dolor, picazón, alteraciones locales de la piel y síntomas sistémicos (Avchin et al., Acta Dermatoven APA, 2007, 17(4):182-184). Las alteraciones pueden incluir hipertricosis, eccema, excoriación e hiperpigmentación (Avchin et al.). Estos nódulos pueden persistir durante varios meses o años. La formación de nódulos varía con el modo de administración. La formación de nódulos es común cuando el adyuvante se administra por administración subcutánea o intradérmica en comparación con la inyección intramuscular (Pittman, Vaccine, 2002, S48-S50). La formación de nódulos también es más común en mujeres en comparación con hombres (Pittman). Por lo tanto, la administración de vacunas que contienen sales de aluminio ha sido desfavorable para la administración subcutánea o intradérmica.
- 35 Recientemente se ha descubierto que no se requiere la formación de nódulos para que las sales de aluminio actúen como adyuvante (Munks). En tanto que la presentación de antígeno probablemente depende de partículas pequeñas del antígeno y el adyuvante, los nódulos grandes que producen molestias no son necesarias (Munks). Las presentes matrices de microestructuras, por lo tanto, proporcionan adyuvantes particulados insolubles que potencian la respuesta inmunitaria específica de antígeno pero no forman nódulos con administración subcutánea o intradérmica.
- 40
- 45 Los agentes activos de vacuna pueden incluir, por ejemplo, los aprobados en los Estados Unidos para su uso contra el ántrax, difteria, hepatitis A, hepatitis B, *Haemophilus influenzae* tipo a y/o tipo b, virus del papiloma humano, gripe, encefalitis japonesa, enfermedad de Lyme, sarampión, enfermedades meningocócicas y neumocócicas, paperas, tos ferina, poliomielitis, rabia, rotavirus, rubéola, culebrilla, viruela, tétanos, tuberculosis, fiebre tifoidea, varicela y fiebre amarilla. El agente activo puede comprender bacterias vivas atenuadas o muertas, virus vivos atenuados, vacunas de subunidades, vacunas conjugadas, vacunas sintéticas, vectores virales, vacunas de polisacáridos y vacunas de ADN.
- 50 Entre las vacunas contra el ántrax, se da preferencia particular a vacunas que comprenden el PA (antígeno protector), particularmente antígeno protector que se produce recombinantemente (rPA, es decir, antígeno protector recombinante). En una realización particular, pero no limitante, al menos una porción de la vacuna es una vacuna basada en proteína.
- 55 Agentes adicionales incluyen aquellos dirigidos contra el virus de la gripe aviar (pandémica), *Campylobacter* sp., *Chlamydia* sp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium difficile*, virus de la fiebre del dengue, *E. coli*, virus del Ébola, virus de Epstein Barr, *Haemophilus influenzae* no tipificable, hepatitis C, hepatitis E, virus del herpes incluido herpes zoster, VIH, parásitos leishmaniales y de la malaria, serogrupo B meningocócico, nicotina, parainfluenza, alérgeno de la ambrosía, virus sincitial respiratorio (RSV), virus de la fiebre del Valle del Rift, coronavirus asociado al SARS, *Shigella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* de Grupo A (GAS), *Streptococcus* de Grupo B (GBS), encefalitis transmitida por garrapatas, encefalitis equina venezolana y virus del Nilo Occidental.
- 60 Otros agentes incluyen aquellos usados típicamente para usos veterinarios incluidas vacunas para gatos, perros y otros animales pequeños así como aquellos para uso con ganado tal como ganado vacuno, cerdos, cabras, caballos, pollos, etc. Los agentes veterinarios incluyen aquellos dirigidos contra parvovirus, virus del moquillo, adenovirus, virus de la parainfluenza, *Bordetella bronchiseptica*, *Leptospira* spp., *Borrelia burgdorferi*, herpesvirus felino, calcivirus felino, virus de la panleucopenia felina, virus de la leucemia felina, virus de la inmunodeficiencia felina y *Chlamydia felis*. Agentes
- 65

veterinarios incluyen además aquellos dirigidos contra enfermedades respiratorias virales (rinotraqueitis infecciosa bovina - IBR, diarrea viral bovina - BVD, virus parainfluenza-3 - PI3, virus sincitial respiratorio bovino - BRSV), *Campylobacter fetus* (Vibriosis) *Leptospirosis* sp., *Tricomoniasis*, *Moraxella bovis* (conjuntivitis), Clostridial (pata negra), Brucellosis, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somni*, *Escherichia coli*, *Anaplasmosis*, virus de la fiebre aftosa (FMDV), parvovirus procino, peste porcina, virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS), gripe porcina, virus de la gastroenteritis transmisible (TGE), *Staphylococcus hyicus*, *Actinobacillus pleuropneumonia*, rinitis atrófica, neumonía enzoótica, *Haemophilus parasuis*, meningitis estreptocócica, *Mycoplasma gallisepticum*, *Salmonella*, virus de la enfermedad de Marek y virus de la bronquitis infecciosa. Otros agentes veterinarios incluyen aquellos dirigidos contra encefalomielitis equina oriental/occidental, gripe equina, fiebre equina de Potomac, estrangulamientos, virus del herpes equino y la arteritis viral equina.

Se apreciará que las vacunas descritas en la presente pueden incluir uno o más antígenos y uno o más adyuvantes. Por ejemplo, la vacuna contra la gripe estacional típicamente incluye agentes dirigidos contra varias cepas de gripe. Donde se incluyen múltiples antígenos en la vacuna, los antígenos se pueden dirigir a conferir una respuesta inmune a una o más bacterias, virus o microorganismos. Por ejemplo, se puede incluir más de un antígeno específico para la misma bacteria, virus o microorganismo en la vacuna. Alternativamente, se pueden incluir múltiples antígenos específicos para diferentes bacterias, virus o microorganismos en la vacuna. Donde la vacuna incluye múltiples antígenos, la vacuna puede incluir múltiples adyuvantes. El número de adyuvantes incluidos en la vacuna puede ser el mismo, menor o mayor que el número de antígenos correspondientes incluidos en la vacuna. En una realización, una vacuna que incluye un solo antígeno puede incluir múltiples adyuvantes.

Debido al uso generalizado de vacunas, la estabilidad de la vacuna es una consideración importante cuando existe una elección entre múltiples tipos de vacunas para una afección particular. Por ejemplo, en casos en los que un agente activo es sensible al calor, es necesario mantener una cadena de suministro controlada por temperatura para la vacuna, a menudo denominada "cadena fría". Las cadenas de frío para las vacunas comúnmente se dirigen a mantener la vacuna a 2-8 ° C. Esto presenta dificultades particulares en países pobres con climas cálidos. Por lo tanto, para muchas vacunas, la formulación de estado sólido de las matrices de microsalientes proporciona una mayor estabilidad y facilidad de manejo con respecto a las vacunas líquidas correspondientes. En otras realizaciones, la formulación de estado sólido de las matrices de microsalientes proporciona estabilidad mejorada y facilidad de manejo para almacenamiento a temperatura ambiente (por ejemplo, 20-25°C).

La matriz de microestructuras también incluye uno o más adyuvantes. El adyuvante es uno o más adyuvantes de sal de aluminio en partículas insolubles. Realizaciones particulares, pero no limitantes, incluyen hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio y sulfato de aluminio y potasio.

La matriz de microestructuras también puede incluir excipientes adicionales para su inclusión en la matriz biocompatible y soluble en agua, que incluyen, por ejemplo, conservantes, estabilizadores de moléculas pequeñas, surfactantes, antioxidantes y similares.

40 Composición de matriz de microestructuras

Las características generales de las matrices de microestructuras adecuadas para su uso con las formulaciones y los métodos proporcionados en la presente se describen en detalle en la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2008/0269685, la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2009/0155330, la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2011/0006458 y la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2011/0276028. La matriz de microestructuras comprende una base aproximadamente plana y unida a la base hay una pluralidad de microestructuras de disolución, cada una con un punto de unión a la base y una punta distal para penetrar en la piel de un sujeto.

Al menos una porción de las microestructuras comprende una matriz biocompatible y soluble en agua que comprende uno o más polímeros hidrófilos solubles en agua. En particular, al menos toda la porción distal de las microestructuras comprende la matriz biocompatible y soluble en agua. Los polímeros hidrófilos solubles en agua incluyen polisacáridos, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol (por ejemplo, Pluronics®) y copolímeros de bloque de PLGA y PEG.

55 La biodegradabilidad de una matriz de microestructuras también se puede facilitar mediante la inclusión de polímeros hinchables en agua tales como PVP reticulado, glicolato de almidón de sodio, ácido poliacrílico reticulado, croscarmelosa de sodio, celulosas, gomas naturales y sintéticas, polisacáridos o alginatos.

60 El (los) polímero(s) empleado(s) puede(n) poseer una variedad e intervalo de pesos moleculares. Los polímeros empleados son típicamente polidispersos, de modo que sus pesos moleculares son realmente pesos moleculares promedio en peso. Los polímeros pueden, por ejemplo, tener pesos moleculares de al menos aproximadamente 1 kilodalton, al menos aproximadamente 5 kilodaltons, al menos aproximadamente 10 kilodaltons, al menos aproximadamente 20 kilodaltons, al menos aproximadamente 30 kilodaltons, al menos aproximadamente 50 kilodaltons, o al menos aproximadamente 100 kilodaltons, o más. Para microestructuras biodegradables, puede ser deseable tener porciones biodegradables que comprendan uno o más polímeros que tengan un peso molecular más bajo, dependiendo de la selección de polímeros. La relación resistencia-peso molecular en polímeros es una relación inversa, de manera que

típicamente, los polímeros con pesos moleculares más bajos exhiben una resistencia más baja y tienen una tendencia a exhibir una biodegradabilidad más alta y, por lo tanto, es más probable que se rompan debido a su menor resistencia mecánica. En una realización, al menos la capa distal comprende por lo menos un polímero que tiene un peso molecular más bajo, por ejemplo, menos de aproximadamente 100 kilodaltons. En otra realización, al menos la capa distal comprende un polímero que tiene un peso molecular menor que aproximadamente 80 kilodaltons.

5 Formulaciones de ejemplo abarcan aquellas en las que la matriz biocompatible y soluble en agua de las microestructuras de disolución comprende un polímero como se ha descrito anteriormente que tiene un peso molecular promedio que cae dentro de uno de los siguientes intervalos: de aproximadamente 1 a 1.000 kDa, de aproximadamente 5 a 800 kDa, o de 10 aproximadamente 15 a 700 kDa. Por ejemplo, para polisacáridos tal como dextrano, los pesos moleculares promedio ilustrativos incluyen 1 kD, 40 kD, 60 kD y 70 kD. Para hidroxietilalmidón o HES, un peso molecular promedio ilustrativo es de aproximadamente 600.000 kD, donde el peso molecular del hidroxietilalmidón varía típicamente de aproximadamente 20 kD a aproximadamente 2.500 kD. Un intervalo de peso molecular de ejemplo para hidroxietilalmidón es de 15 aproximadamente 450 kD a aproximadamente 800 kD. Polisacáridos ilustrativos para preparar la matriz biocompatible y soluble en agua incluyen dextrano 40, dextrano 60, dextrano 70, tetralmidón y hetalmidón.

Se pueden incluir aditivos y/o excipientes de ejemplo en la matriz polimérica de las microestructuras. Excipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a, uno o más estabilizadores, plastificantes, surfactantes, agentes quelantes y/o 20 antioxidantes.

25 La matriz de microsalientes puede incluir uno o más azúcares. La biodegradabilidad y/o capacidad de disolución de la matriz de microsalientes se puede facilitar mediante la inclusión de uno o más azúcares. Azúcares de ejemplo incluyen dextrosa, fructosa, galactosa, maltosa, maltulosa, isomaltulosa, manosa, lactosa, lactulosa, sacarosa y trehalosa. El azúcar también puede ser un alcohol de azúcar, por ejemplo, lactitol, maltitol, sorbitol, manitol, glicerol, xilitol, galactitol y eritritol. Las ciclodextrinas también se pueden usar ventajosamente en matrices de microagujas, por ejemplo α , β y γ ciclodextrinas, por ejemplo hidroxipropil- β -ciclodextrina y metil- β -ciclodextrina. Se prefieren particularmente alcoholes de 30 azúcar, preferiblemente alcoholes de azúcar lineales polihidroxilados acíclicos, que, cuando se combinan con un polisacárido como se describió anteriormente, parecen ser particularmente eficaces tanto para estabilizar los componentes de agente activo (por ejemplo, péptidos y proteínas o fragmentos de proteínas) en el estado seco, como para mejorar las propiedades mecánicas de las microsalientes exhibiendo un efecto de tipo plastificante sobre el componente de polímero de polisacárido. Un alcohol de azúcar particularmente preferido en este sentido es sorbitol.

35 Se pueden añadir uno o más surfactantes a la solución de vaciado para cambiar la tensión superficial de las soluciones y/o reducir las interacciones hidrófobas de las proteínas. Se puede usar cualquier surfactante adecuado como se conoce en la técnica. Surfactantes de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, emulsionantes tal como Polisorbato 20 y Polisorbato 80. En otra realización, la elección de disolvente, o la adición de un disolvente, en la solución o suspensión de la formulación se usa para mejorar la propagación y/o carga de la formulación en un molde.

40 La solución o formulación de vaciado incluye uno o más co-disolventes, como se reivindica, para mejorar la propagación y el movimiento de la formulación sobre el molde y/o sobre y dentro de las cavidades de molde. Además, los co-disolventes también pueden o alternativamente mejorar la solubilidad de antígeno o adyuvante. En una realización, aproximadamente 1-25% de un co-disolvente se incluye en la formulación. En realizaciones, aproximadamente 1-20%, 1-15%, 1-10%, 1-5%, 5-20%, 5-15%, 5-10%, 10-20%, 10-15% o 15-20% de un co-disolvente se incluye en la formulación. Un co-disolvente de 45 ejemplo es alcohol isopropílico. Co-disolventes adicionales incluyen alcohol etílico, metanol y butanol. En una realización, el co-disolvente mejora la propagación y/o el movimiento de la formulación al disminuir el ángulo de contacto de la formulación en la superficie de molde. En realizaciones, el ángulo de contacto es menor que aproximadamente 100°. En otras realizaciones, el ángulo de contacto es menor que aproximadamente 90°. En otras realizaciones, el ángulo de contacto es menor que aproximadamente 90-100°. Como se describe en el Ejemplo 1, la inclusión de alcohol isopropílico al 10% en peso disminuyó el ángulo de contacto de la formulación en el molde de 110 grados a 79 grados, una reducción 50 de casi un tercio del ángulo original.

55 Se pueden añadir uno o más antioxidantes a la solución de vaciado. Se puede usar cualquier antioxidante adecuado como se conoce en la técnica. Antioxidantes de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, metionina, cisteína, acetato de D-alfa tocoferol, EDTA y vitamina E.

Las formulaciones de microestructuras proporcionadas en la presente pretenden abarcar las formulaciones tanto en forma seca, por ejemplo, en las propias microestructuras, como en forma líquida, por ejemplo, para preparar las microestructuras. Más específicamente, las formulaciones líquidas incluyen componentes como se describió anteriormente en un amortiguador acuoso. Amortiguadores de ejemplo incluyen solución salina amortiguada con fosfato e histidina.

60 La capa distal (es decir, capa de microestructuras o microagujas) puede comprender uno o más polímeros que tienen un peso molecular más bajo, en tanto que la capa proximal y/o el refuerzo o base pueden comprender polímeros que tienen un peso molecular más alto. Los polímeros para las porciones distal y/o proximal se pueden seleccionar con base en al menos parcialmente en el peso molecular de los polímeros para facilitar la separación o el desprendimiento de al menos una porción de las microestructuras tras la administración.

En general, el número de microestructuras que forman la pluralidad en la matriz es al menos aproximadamente 50, preferiblemente al menos aproximadamente 100, al menos aproximadamente 500, al menos aproximadamente 1000, al menos aproximadamente 1400, al menos aproximadamente 1600, al menos aproximadamente 2000, al menos aproximadamente 3000 o al menos aproximadamente 4000. Por ejemplo, el número de microestructuras en la matriz puede variar de aproximadamente 1000 a aproximadamente 4000, o de aproximadamente 1000 a aproximadamente 3000, o de aproximadamente 2000 a aproximadamente 4000, o de aproximadamente 2000 a aproximadamente 3500, o de aproximadamente 2000 a aproximadamente 3000, o de aproximadamente 2200 a aproximadamente 3200. La densidad de área de las microestructuras, dado su pequeño tamaño, puede no ser particularmente alta, pero, por ejemplo, el número de microestructuras por cm^2 puede ser al menos aproximadamente 50, al menos aproximadamente 250, al menos aproximadamente 500, al menos aproximadamente 750, al menos aproximadamente 1000, al menos aproximadamente 2000 o al menos aproximadamente 3000 microestructuras por cm^2 o más.

En tanto que la matriz en sí misma puede poseer cualquiera de una serie de formas, la matriz está generalmente dimensionada para poseer un diámetro de aproximadamente 5 milímetros a aproximadamente 25 milímetros, o de aproximadamente 7 a aproximadamente 20 milímetros, o de aproximadamente 8 a aproximadamente 16 milímetros. Diámetros de ejemplo incluyen 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 y 25 milímetros.

Los tamaños de las microagujas y otras protuberancias son una función de la tecnología de fabricación y de la aplicación precisa. En general, sin embargo, se puede esperar que las microestructuras y otras microprotuberancias usadas en la práctica tengan una altura de al menos aproximadamente 20 a aproximadamente 1000 micrones, más preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 750 micrones y lo más preferiblemente de aproximadamente 100 a aproximadamente 500 micrones. En realizaciones específicas, pero no limitantes, las microestructuras tienen una altura de al menos aproximadamente 100 μm , al menos aproximadamente 150 μm , al menos aproximadamente 200 μm , al menos aproximadamente 250 μm o al menos aproximadamente 300 μm . En general, también se prefiere que las microsalientes tengan una altura de no más de aproximadamente 1 mm, no más de aproximadamente 500 μm , no más de aproximadamente 300 μm o, en algunos casos, no más de aproximadamente 200 μm o 150 μm . Generalmente, las microprotuberancias son lo suficientemente largas como para penetrar al menos parcialmente a través de la capa del estrato córneo de la piel en algún punto adecuado de aplicación a un sujeto, por ejemplo, un sujeto mamífero, por ejemplo, el muslo, la cadera, el brazo o el torso. Las microsalientes pueden tener una relación de aspecto de al menos 3:1 (altura a diámetro en la base), al menos aproximadamente 2:1 o al menos aproximadamente 1:1.

Las microsalientes pueden poseer cualquier forma adecuada que incluye, pero no se limita a, poligonal o cilíndrica. Realizaciones particulares incluyen piramidal que incluye una pirámide de cuatro lados, una forma de embudo, un cilindro, una combinación de forma de cilindro y embudo que tiene una punta de embudo y una base cilíndrica, y un cono con un fondo poligonal, por ejemplo hexagonal o en forma de rombo. Una forma ilustrativa para las microestructuras es un cono con un fondo poligonal, por ejemplo, que tiene forma hexagonal o de rombo. Se muestran formas de microsalientes posibles adicionales, por ejemplo, en la solicitud de patente publicada de los Estados Unidos. 2004/0087992. En realizaciones, al menos una porción de la forma de microestructura puede ser sustancialmente cilíndrica, en forma de cono, en forma de embudo o piramidal. En algunos casos, las microsalientes pueden tener una forma que se vuelve más gruesa hacia la base, por ejemplo, microsalientes que tienen aproximadamente la apariencia de un embudo, o más generalmente donde el diámetro de la microsaliente crece más rápido que linealmente con la distancia al extremo distal de la microsaliente. Se apreciará que las microsalientes poligonales también pueden tener una forma que se vuelve más gruesa hacia la base o donde un radio o diámetro crece más rápido que linealmente con la distancia al extremo distal de microsaliente. Donde las microsalientes son más gruesas hacia la base, una porción de la microsaliente adyacente a la base, que se puede llamar la "cimiento", se puede diseñar para no penetrar en la piel. En realizaciones adicionales, al menos una porción de las microestructuras tiene una forma transversal asimétrica. Formas asimétricas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, rectangular, cuadrada, ovalada, elíptica, circular, romboidal, triangular, poligonal, en forma de estrella, etc. En algunas realizaciones, la capa distal tiene una dimensión cruzada en una dirección que es más pequeña que la dimensión cruzada en la otra dirección. Formas de dimensiones cruzadas de ejemplo con esta configuración incluyen, pero no se limitan a, rectangular, en forma de rombo, elipse y ovalada (ver, figuras 5A-5E para ejemplos no limitantes). Se apreciará además que diferentes porciones y/o capas de una microestructura pueden tener diferentes formas de dimensiones cruzadas. Al menos una porción de las microestructuras puede incluir una o más cuchillas o elementos de perforación a lo largo de su longitud y/o en la punta distal. En algunas realizaciones preferidas, al menos una porción de las microestructuras tiene un extremo distal afilado, puntiagudo o en forma de punta.

En algunas realizaciones, la forma de microestructura se puede entender en términos de una punta, un vástago y un embudo. El ángulo en la punta es el ángulo de ápice - incluido el ángulo por los planos o el cono, y puede tener valores de aproximadamente 5 grados a aproximadamente 60 grados. El vástago recto o sustancialmente recto puede o no estar presente en un diseño de microestructura particular. En la base del vástago o punta, hacia el extremo distal, el ángulo incluido tiene una discontinuidad o un punto de inflexión. El ángulo incluido salta para tomar un valor mayor que el ángulo de ápice para una punta sin vástago y a más de 0 grados para microestructuras con un vástago. Las porciones de la microestructura más allá de este punto de inflexión se pueden referir como un "embudo". Las figuras 5D y 5E muestran ejemplos de elevación en sección transversal de las microestructuras 10 que delinean diferentes regiones que incluyen la punta 12, el vástago 14, el punto de inflexión o borde 18 y el embudo 16. El embudo permite que se use una mayor cantidad de relleno en la formación de las matrices y un mayor volumen resultante de o porción de las matrices que incluye

- el agente activo. En la figura 5D, el diámetro de la microestructura crece más rápido que la moda lineal con respecto a la distancia desde el extremo distal. La figura 1A muestra una matriz de microestructuras que comprende una pluralidad de microestructuras formadas de acuerdo con el Ejemplo 2. Las microestructuras de la figura 1A tienen un extremo distal afilado. Como en la figura 5D, el diámetro de las microestructuras de la figura 1A crece más rápido que el movimiento lineal desde la punta distal al extremo proximal. Donde las microestructuras son más gruesas hacia la base, una porción de la microestructura adyacente a la base, que se puede denominar en la presente como una "porción proximal", "porción de refuerzo", "sótano", "cimiento" o como una "porción superior", se puede diseñar para no penetrar en la piel. De esta manera, la porción o región de base se puede usar para limitar la profundidad de penetración de las microestructuras.
- 10 La forma de embudo proximal permite que se dispensen volúmenes relativamente mayores en el molde de microestructura para una longitud total dada de la microestructura. La forma de embudo proximal proporciona un volumen más grande (para llenar) sin requerir un incremento proporcional en la altura de microestructura o altura de la porción de las microestructuras que contienen el agente activo, que da como resultado una porción que contiene fármaco más larga en la microestructura. Por lo tanto, la forma de embudo proximal permite un mayor volumen sólido para la porción distal de la microestructura con un solo llenado del molde. Otras formas pueden requerir varios ciclos de llenado y secado para lograr la misma cantidad de porción distal sólida que un ciclo de llenado y secado para las microestructuras en forma de embudo.
- 15 En una realización de ejemplo, al menos una porción de las microestructuras tiene una forma de embudo cilíndrico como se ve, por ejemplo, en la figura 5E. Las microestructuras con esta forma tienen un vástago cilíndrico 14 y un embudo opcional 16 en el extremo proximal. En esta realización, las puntas distales de las microestructuras típicamente, pero no siempre, tienen un extremo distal afilado, puntiagudo o cónico 12 para facilitar y/o facilitar la penetración. Las microestructuras pueden tener además una forma de embudo en el extremo proximal y un vástago cilíndrico entre los extremos distal y proximal. Se apreciará que el embudo no necesita tener una forma de "embudo". En su lugar, la sección de embudo puede tener cualquier forma que permita un mayor llenado de un molde y/o modificación de penetración de las microestructuras. Por ejemplo, la sección de embudo puede tener una forma de polígono donde el diámetro del polígono crece más rápido que el movimiento lineal desde el punto de inflexión al extremo proximal.
- 20 25 30 35 En una realización de ejemplo, al menos una porción de las microestructuras tiene una forma de embudo cilíndrico como se ve, por ejemplo, en la figura 5E. Las microestructuras con esta forma tienen un vástago cilíndrico 14 y un embudo opcional 16 en el extremo proximal. En esta realización, las puntas distales de las microestructuras típicamente, pero no siempre, tienen un extremo distal afilado, puntiagudo o cónico 12 para facilitar y/o facilitar la penetración. Las microestructuras pueden tener además una forma de embudo en el extremo proximal y un vástago cilíndrico entre los extremos distal y proximal. Se apreciará que el embudo no necesita tener una forma de "embudo". En su lugar, la sección de embudo puede tener cualquier forma que permita un mayor llenado de un molde y/o modificación de penetración de las microestructuras. Por ejemplo, la sección de embudo puede tener una forma de polígono donde el diámetro del polígono crece más rápido que el movimiento lineal desde el punto de inflexión al extremo proximal.
- 30 35 La porción de embudo también se puede usar para limitar la profundidad de penetración. Dado que el embudo tiene un volumen varias veces mayor por unidad de altura que la punta o el vástago, también requiere varias veces más energía para penetrar por unidad de profundidad que la punta o el vástago. Por lo tanto, para una energía dada, la microestructura puede penetrar no más de la longitud de la punta y el vástago. Por lo tanto, el embudo puede actuar eficazmente como elemento de diseño en la microestructura que limita la profundidad de penetración, asegurando así una sensación tolerable. Se apreciará que se pueden usar otras formas de extremo proximal para limitar o afectar de otro modo la penetración de las microestructuras. Esto es cierto especialmente donde el extremo proximal tiene un diámetro o sección transversal mayor que el árbol o sección media de las microestructuras.
- 40 En una o más realizaciones, las microestructuras tienen una punta o punta afilada. Puede ser deseable un diámetro de punta menor que aproximadamente 5 µm o 2 µm. Se prefiere un diámetro de punta de menos de aproximadamente 1,5 µm, al igual que un diámetro de punta de menos de aproximadamente 1 µm.
- 45 Las micosalientes están típicamente separadas entre sí aproximadamente 0-500 µm. En realizaciones específicas, pero no limitantes, las micosalientes están separadas aproximadamente 0 µm, aproximadamente 50 µm, aproximadamente 100 µm, aproximadamente 150 µm, aproximadamente 200 µm, aproximadamente 250 µm, aproximadamente 300 µm, aproximadamente 350 µm, aproximadamente 400 µm, aproximadamente 450 µm o aproximadamente 500 µm. El espacio entre las micosalientes se puede medir desde la base de las micosalientes (base a base) o desde la punta (punta a punta).
- 50 55 En realizaciones adicionales, al menos una porción de las micosalientes se puede separar de la matriz de micosalientes. Las matrices de micosalientes desmontables se describen en la publicación de patente de los Estados Unidos 2009/0155330 y en la solicitud de patente de los Estados Unidos Núm. 61/745,513. Las matrices de micosalientes desmontables se pueden lograr mediante una serie de enfoques que incluyen, pero no se limitan a, un enfoque en capas en el que la matriz está compuesta de múltiples capas, y una capa que comprende las áreas donde las micosalientes se unen a la base de la matriz es más fácilmente degradable que otras capas.
- 60 Una ventaja de separar las micosalientes es la eliminación de los requisitos de eliminación afilados, en tanto que otra es la eliminación de la lesión por pinchazo de aguja. Adicionalmente, la separación de micosalientes ventajosamente puede reducir sustancialmente o eliminar el mal uso, por ejemplo, compartir agujas, ya que el sustrato o base ausente de las micosalientes o con micosalientes cuyas puntas se han embotado debido a la biodegradabilidad no penetrará en la piel. Otra ventaja del desprendimiento de micosalientes es la evitación del uso indebido de fármaco, ya que las puntas enriquecidas con fármaco se disuelven en la piel, dejando nada o mínimo de fármaco restante en la matriz después de la administración.
- 65 Alternativamente, se puede emplear una matriz hecha de un material homogéneo, en la que el material se degrada más fácilmente a pH más bajos. Las matrices hechas de este material tenderán a degradarse más fácilmente cerca de los puntos de unión porque estos, al estar más cerca de la superficie de la piel, están a un pH más bajo que los extremos

distales de las microsalientes. (El pH de la superficie de la piel es generalmente menor que el de la piel más hacia adentro, el pH, por ejemplo, que es de aproximadamente 4,5 en la superficie y de aproximadamente 6,5 a 7,5 hacia adentro).

5 Los materiales cuya solubilidad depende del pH pueden ser, por ejemplo, insolubles en agua pura pero disolverse en un entorno de pH ácido o básico. Usando estos materiales o combinación de materiales, se puede hacer que las matrices se biodegraden diferencialmente en la superficie de la piel (pH de aproximadamente 4,5) o dentro de la piel. En la primera realización, toda la matriz se puede biodegradar, en tanto que en la última, la porción de microsaliente de la matriz se biodegradará permitiendo que el sustrato base se elimine y se deseche. En una realización preferida, la matriz de microestructuras corresponde a la última, donde la porción de microsaliente de la matriz se disuelve y se biodegrada tras 10 la administración del agente activo, lo que permite que el sustrato base se elimine y deseche.

15 Materiales cuya degradabilidad en un medio acuoso depende del pH se pueden fabricar, por ejemplo, utilizando los copolímeros de acrilato vendidos por Rohm Pharma con el nombre comercial Eudragit®, que se usan ampliamente en formulaciones farmacéuticas. Un ejemplo adicional de un material con solubilidad dependiente del pH es ftalato de hidroxipropilcelulosa. Se han desarrollado materiales con solubilidad dependiente del pH, por ejemplo, para su uso como 20 revestimientos entéricos en formas de dosificación oral. Ver, por ejemplo, Patente de Estados Unidos Núm. 5.900.252 y Remington's Pharmaceutical Sciences (18^a ed. 1990).

25 También puede ser deseable, en ciertos casos, que las matrices de microsalientes proporcionadas en la presente comprendan una o más capas adicionales además de la capa de matriz biocompatible y soluble en agua que comprende 20 un polímero tal como un polisacárido, un alcohol de azúcar y el agente activo. Hay varias razones por las que pueden ser deseables matrices con múltiples capas. Por ejemplo, a menudo es deseable que, en comparación con el volumen total de la matriz de microsalientes, las propias microsalientes posean una mayor concentración de ingrediente activo tal como 30 un agente activo. Esto es así, por ejemplo, porque se puede esperar que las microsalientes, en muchos casos, se disuelvan más rápidamente, estando en un entorno más hidratado que la base de la matriz. Además, en ciertos protocolos para la aplicación de matrices, la matriz se puede dejar durante un corto período de tiempo durante el cual esencialmente solo las microsalientes se pueden disolver en una medida sustancial. La conveniencia de colocar una mayor concentración de agente activo en las propias salientes es particularmente aguda cuando el activo es costoso. Una manera de lograr una mayor concentración de activo en las propias salientes es tener una primera capa que contiene activo que incluye las 35 microsalientes o una proporción sustancial de las microsalientes, y una segunda capa con una concentración reducida o cero de activo que incluye la base o una proporción sustancial de la base.

40 Generalmente, en una configuración de matriz de microestructuras preferida que comprende dos o más capas diferentes, es decir, una capa que comprende una pluralidad de microestructuras o salientes, y una capa base o de refuerzo que 45 soporta las microestructuras, la capa base comprende una matriz biocompatible, no soluble en agua y no biodegradable. Una vez que la matriz de microestructuras penetra en la piel, la microestructura (porciones de punta) se disuelve, administrando así el agente activo por vía transdérmica. La capa base comprende cualquiera de varios polímeros biocompatibles, no solubles en agua, incluidos poliésteres, poliaminoácidos, polianhídridos, poliorthoésteres, poliuretanos, 50 policarbonatos, polieterésteres, policaprolactonas (PCL), poliesteramidas y copolímeros de los mismos. Polímeros ilustrativos incluyen poliacrilatos, celulosas, polí(ácido láctico) (PLA), polí(ácido glicólico) (PGA), polí(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), polí(ácido butírico), polí(ácido valérico). Una capa de base o de refuerzo de ejemplo comprende polilactida-polí-glicolida (PLGA 75/25 o PLGA 50/50). En algunas realizaciones, una capa de base o de refuerzo de ejemplo comprende PLGA que tiene al menos aproximadamente 50% de contenido de lactida. Ver, por ejemplo, el Ejemplo 4 que 55 describe vaciar una formulación de capa de refuerzo líquida que comprende PLGA (75/25) sobre la formulación que comprende un agente activo de vacuna secado en el molde. En realizaciones, el polímero para su uso en la capa de refuerzo o base tiene una semivida de degradación de al menos 1-24 horas cuando se coloca en o sobre la piel u otra membrana biológica.

60 En otra realización, la capa de refuerzo o base comprende un adhesivo u otra capa que se preforma y se aplica a las microestructuras. En realizaciones adicionales, la capa de refuerzo se forma a partir de un adhesivo líquido que se vierte sobre la formulación seca que comprende un agente activo de vacuna secado en el molde. Estos adhesivos se curan típicamente en lugar de requerir la eliminación del disolvente. Adhesivos adecuados incluyen, pero no se limitan a los adhesivos para dispositivos médicos Dymax® curables por UV 1128A-M, 1161-M, 1162-M, 1165-M, 1180-M y 1187-M disponibles de Dymax. Se apreciará que cualquier adhesivo biocompatible es adecuado para su uso con, en y/o como la 65 capa de refuerzo. La capa de refuerzo también puede ser una película no tejida o porosa revestida doblemente con adhesivo sensible a la presión.

60 Las matrices de microestructuras deben tener suficiente resistencia mecánica para penetrar al menos parcialmente el estrato córneo u otra superficie de membrana de un sujeto. Se apreciará que se requerirá diferente resistencia mecánica para la aplicación en diferentes sitios. Un método para evaluar la resistencia mecánica es un estudio de eficiencia de penetración en la piel (SPE) como se describe en el Ejemplo 7. Preferentemente, las matrices tienen una SPE de aproximadamente 50-100%. En otras realizaciones, las matrices tienen una SPE de aproximadamente 50-80%, aproximadamente 50-85%, aproximadamente 50-90%, aproximadamente 50-95%, aproximadamente 60-80%, aproximadamente 60-85%, aproximadamente 60-90%, aproximadamente 60-95%, aproximadamente 60-100%, 65 aproximadamente 75-80%, aproximadamente 75-85%, aproximadamente 75-90%, aproximadamente 75-95%, aproximadamente 75-100%, aproximadamente 80-85%, aproximadamente 80-90%, aproximadamente 80-95%,

aproximadamente 80-100%, aproximadamente 90-95% y aproximadamente 90-100%. En realizaciones específicas, no limitantes, las matrices tienen una SPE de aproximadamente 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% y 100%.

Preferiblemente, al menos aproximadamente 50-100% del agente activo se administra por las MSA descritas en la presente. La eficacia de suministro se puede determinar preparando la MSA y aplicando la MSA *in vivo* o *in vitro*. Un método *in vitro* para determinar la eficiencia de administración incluye sumergir MSA en un medio de extracción acuoso durante un período de tiempo, por ejemplo, 30 minutos) como se describe en el Ejemplo 7. Luego se analiza el medio de extracción para el agente. Un método de análisis es SEC-HPLC. La dosis aparente administrada por unidad y la eficiencia de administración se calculan con las fórmulas:

$$\text{Dosis aparente administrada} = \text{carga inicial de fármaco} - \text{fármaco residual}$$

$$\% \text{ De eficiencia de administración de fármaco} = 100 \times \text{dosis administrada aparente}/\text{carga de fármaco inicial}.$$

En realizaciones, la MSA tiene una eficiencia de administración de al menos aproximadamente 50-60%, aproximadamente 50-70%, aproximadamente 50-75%, aproximadamente 50-80%, aproximadamente 50-90%, aproximadamente 50-95%, aproximadamente 50-99%, aproximadamente 60-70%, aproximadamente 60-75%, aproximadamente 60-80%, aproximadamente 60-90%, aproximadamente 60-95%, aproximadamente 60-99%, aproximadamente 70-75%, aproximadamente 70-80%, aproximadamente 70-90%, aproximadamente 70-95%, aproximadamente 70-99%, aproximadamente 75-80%, aproximadamente 75-90%, aproximadamente 75-95%, aproximadamente 75-99%, aproximadamente 80-90%, aproximadamente 80-95%, aproximadamente 80-99%, aproximadamente 90-95%, aproximadamente 90-99% o aproximadamente 95-99%. En realizaciones específicas, pero no limitantes, la MSA tiene una eficiencia de administración de al menos aproximadamente 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95%, 99% o 100%.

Agentes activos

La matriz de microestructuras de la invención comprende un agente activo de vacuna. En general, pero no siempre, es deseable que la concentración de agente activo en peso en las matrices de microsalientes sea comparativamente alta, ya que permite que se presente una mayor concentración de agente activo al individuo tras la inserción de las microsalientes en la piel. Concentraciones ilustrativas en los sólidos que forman la matriz (la matriz biocompatible y soluble en agua) son como sigue: al menos aproximadamente 0,1%, 0,5%, 1%, 2%, 5%, 10%, 15% o 20% en peso de agente activo, es decir, una vacuna. Más preferentemente, el porcentaje en peso de sólidos en la matriz biocompatible y soluble en agua que forma las salientes de microestructura varía de aproximadamente 1-15% de agente activo. Es decir, porcentajes de ejemplo en peso de agente activo, es decir, una vacuna, en la pluralidad de microsalientes sólidas incluyen 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% y 15% o más. Para las formulaciones líquidas correspondientes, la cantidad de agente activo generalmente variará de aproximadamente 0,05% en peso a aproximadamente 10% en peso de agente activo, o preferiblemente, de aproximadamente 0,1% en peso a aproximadamente 5% en peso de agente activo. En realizaciones específicas, pero no limitantes, la cantidad de agente activo en las formulaciones líquidas es de aproximadamente 0,1% en peso, aproximadamente 0,2% en peso, 0,25% en peso, 0,3% en peso, 0,4% en peso, 0,5% en peso, 0,6% en peso, 0,7% en peso, 0,75% en peso, 0,8% en peso, 1% en peso, 2% en peso, 3% en peso, 4% en peso, 5% en peso, 6% en peso, 7% en peso, 8% en peso, 9% en peso o 10% en peso por cm².

La dosis que se administra al cuerpo es la apropiada para provocar una respuesta terapéutica y/o inmunitaria sustancial en una gran mayoría de individuos. En general, una dosis deseable es al menos aproximadamente 0,1 pg/cm², al menos aproximadamente 0,5 pg/cm², al menos aproximadamente 1 pg/cm², al menos aproximadamente 2 pg/cm², al menos aproximadamente 5 pg/cm² o al menos aproximadamente 10 µg/cm².

Alternativamente, la dosis de agente activo se puede medir como un porcentaje de la dosis administrada por otras vías, por ejemplo, por vía intramuscular. Puede ser deseable, por ejemplo, administrar al menos aproximadamente 1%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 100%, al menos aproximadamente 150% o al menos aproximadamente 200% de la dosis administrada por otras vías, por ejemplo, de la dosis administrada por vía intramuscular o intradérmica a través de una jeringa. Alternativamente, se puede desear administrar no más de aproximadamente el 200%, no más de aproximadamente el 150%, no más de aproximadamente el 100%, no más de aproximadamente el 75%, no más de aproximadamente el 50%, no más de aproximadamente el 25%, no más de aproximadamente el 10% o no más de aproximadamente el 1% de la dosis administrada por otras vías. Como con los parches transdérmicos convencionales, la administración de dosis (DED) mediante una matriz de microsalientes puede ser menor que el contenido total de agente activo de las matrices de microsalientes.

Fabricación de las matrices de microsalientes

Las matrices de microsalientes se pueden fabricar empleando las técnicas para la fabricación de matrices de dos capas descritas en la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2008/0269685.

Se proporcionan ejemplos de formación de diversas matrices de microestructuras usando formulaciones de ejemplo en los Ejemplos 1-5. La matriz de microestructuras de la invención se prepara de acuerdo con el método descrito en las reivindicaciones. Los términos solución de vaciado, formulación y solución o suspensión polimérica se usan

indistintamente en la presente y el análisis o referencia a uno pretende incluir y aplicarse a todos y cada uno de los términos. La formulación también puede incluir excipientes que incluyen, pero no se limitan a, surfactantes, azúcares, potenciadores de degradación, agentes quelantes y antioxidantes. La formulación incluye uno o más co-disolventes. Donde el agente activo y los polímeros se mezclan por separado, los excipientes se pueden mezclar con el agente activo y/o el polímero. Se apreciará que algunos de los excipientes se pueden mezclar con el agente activo en tanto que otros se mezclan con el polímero. Además, los excipientes se pueden mezclar por separado y añadirse a la solución de agente activo, la solución de polímero o la solución o suspensión mixta de agente activo/polímero. En realizaciones, el molde se purga con un gas soluble antes de vaciar la solución o suspensión polimérica sobre el molde. El método incluye además eliminar el exceso de solución, suspensión o formulación en la superficie de molde. Típicamente, el exceso de formulación se raspa o limpia de la superficie de molde. El exceso de formulación se elimina de la superficie de molde antes de secar o eliminar de otro modo el disolvente. El disolvente o la mezcla de disolventes se puede eliminar por cualquier medio adecuado que incluye, pero no se limita a, secar el molde lleno con la solución, formulación o suspensión de vaciado. En una realización, el molde lleno con la solución, formulación o suspensión de vaciado se coloca en un horno adecuado para el secado. En una realización, secar o eliminar el disolvente comprende colocar el molde en un horno a aproximadamente 5°C a 50°C. Las propias microsalientes comprenden el agente activo, a diferencia de tener el agente activo presente como un revestimiento sobre una microsaliente o microaguja hecha de un material biocompatible tal como un metal. Donde las microestructuras no son integrales con un sustrato y/o capa de refuerzo, las microestructuras se fijan típicamente al sustrato y/o capa de refuerzo con un adhesivo antes del desmoldeo.

Los moldes utilizados para formar las matrices en los métodos de la presente se pueden fabricar utilizando una variedad de métodos y materiales. Moldes y métodos de fabricación de moldes de ejemplo se describen, por ejemplo, en la publicación de patente de los Estados Unidos Núm. 2008/0269685. En una realización de ejemplo, el molde es un molde negativo formado a partir de una silicona tal como polidimetilsilicona. Un molde negativo se forma típicamente preparando una matriz de microsalientes maestra y vaciando un material de molde líquido sobre la matriz maestra. Se puede usar una herramienta de matriz de microestructuras que tiene diferentes geometrías para fabricar el molde negativo (generalmente, pero no necesariamente, usando polidimetilsilicona). Los materiales de molde negativos adicionales incluyen poliuretanos, materiales cerámicos, ceras y similares. Este molde se utiliza luego para fabricar una matriz de microestructuras (MSA) que replica la geometría de la herramienta original. Una herramienta de ejemplo posee una forma de diamante con una altura de microsaliente de aproximadamente 200 µm, una anchura de base de aproximadamente 70 µm y una separación de saliente a saliente de aproximadamente 200 µm como se describe en el Ejemplo 6. El molde se deja secar y endurecer, lo que da como resultado un molde que comprende cavidades correspondientes a las microsalientes de la matriz maestra. Se apreciará que los moldes adecuados para su uso en los presentes métodos se pueden preparar de acuerdo con otros métodos.

Volviendo al método de preparación de una matriz de microestructuras, generalmente se forma una matriz de microprotuberancias o microsalientes al (a) proporcionar un molde con cavidades correspondientes al negativo de las microprotuberancias, (b) vaciar una solución que comprende componentes adecuados para formar una matriz biocompatible y soluble en agua, el agente activo y un disolvente sobre el molde, (c) eliminar el disolvente y (d) desmoldear la matriz resultante del molde. El método de la invención es, más específicamente, de acuerdo con las reivindicaciones. El Ejemplo 1 proporciona formulaciones líquidas de ejemplo para las formulaciones de vaciado. Aunque las formulaciones mostradas en el Ejemplo 1 no incluyen antígeno como agente activo de vacuna, se apreciará que se incluirán típicamente uno o más antígenos en las formulaciones líquidas de vaciado. Estas formulaciones líquidas comprenden una combinación de dextrano, sorbitol y una sal de aluminio ("alumbre") como adyuvante. Las formulaciones 2 y 4 incluyen adicionalmente alcohol isopropílico como surfactante para disminuir la tensión superficial entre la formulación y la superficie de molde. El llenado del molde se puede ver afectado por la tensión superficial y/o viscosidad de la formulación. Por ejemplo, el hidróxido de aluminio tiene una superficie polar, que produce una tensión superficial más alta cuando se usa con un molde de silicona no polar. En realizaciones mostradas en el Ejemplo 1, las formulaciones incluyen aproximadamente 10% en peso de alcohol isopropílico. El surfactante reduce la tensión superficial de la formulación permitiendo un mejor flujo de la formulación sobre la superficie de molde, lo que permite que la formulación fluya hacia las cavidades de manera más efectiva. Reducir el ángulo de contacto de la formulación en la superficie de molde disminuye la resistencia al flujo de la formulación en el molde. La adición de un surfactante puede reducir el ángulo de contacto de la formulación y, por lo tanto, mejorar el flujo. Como se ve en el Ejemplo 1, la inclusión de 10-15% en peso de alcohol isopropílico como surfactante redujo el ángulo de contacto de la formulación de 110° a 79°, una reducción de 31° (aproximadamente 28% de reducción en el ángulo de contacto). Como se ve en el Ejemplo 1, las formulaciones que contienen 10% de un surfactante tal como alcohol isopropílico (IPA) (formulación 2 en la Tabla 1) se extienden mucho mejor en comparación con formulaciones sin IPA (formulación 1) como se evidencia por la reducción en el ángulo de contacto entre la formulación y la superficie de molde. Se esperaría asimismo que otros surfactantes redujeran el ángulo de contacto de la formulación en la superficie de molde. Solo las formulaciones de vaciado líquidas acuosas que comprenden un agente activo de vacuna, un adyuvante de sal de aluminio particulado insoluble, un polímero hidrófilo y un co-disolvente en un amortiguador acuoso, como se reivindica, son de acuerdo con la invención.

Una formulación de agente activo líquido como se describió anteriormente se forma mezclando generalmente un agente activo de vacuna, un adyuvante como se reivindica, un polímero como se reivindica, un co-disolvente como se reivindica y opcionalmente otros excipientes o aditivos, en un amortiguador acuoso.

La formulación se dispensa sobre la superficie de molde y/o dentro de las cavidades del molde. Despues, el molde se

- 5 Illeña usando cualquiera de una serie de técnicas adecuadas, tal como limpieza, compresión, presurización, y la formulación se mueve a las cavidades por cualquier medio adecuado. En una realización, la formulación se dispensa en la superficie de molde. La superficie de molde se limpia con una herramienta con bordes y la formulación se mueve hacia las cavidades a medida que la formulación se limpia a través del molde. En otra realización, la superficie de molde con solución sobre la misma se cubre para extender la solución o formulación sobre el molde y al menos parcialmente en las cavidades. En aun otras realizaciones, la solución se extiende sobre el molde sin cubrir. El exceso de solución se puede limpiar o eliminar de otro modo de la superficie de molde. En otra realización, se usa un gas soluble para mover la solución de vaciado dentro o más adentro de las cavidades. Gases solubles específicos, pero no limitantes, son CO₂ y CH₄.
- 10 En una realización adicional, el molde se presuriza, con o sin una cubierta, para mover la solución dentro o más adentro de las cavidades del molde. Se puede usar presurización cuando la formulación se dispensa sobre la superficie de molde y/o cuando la formulación se dispensa dentro de las cavidades. La presurización se puede lograr colocando el molde con la solución de vaciado en un recipiente a presión como se conoce en la técnica. La presurización puede implicar una presión de al menos aproximadamente 20,68 kPa (3 lb/pulg²), aproximadamente 34,47 kPa (5 lb/pulg²), aproximadamente 15 68,94 kPa (10 lb/pulg²), aproximadamente 101,35 kPa (14,7 lb/pulg²), aproximadamente 137,895 kPa (20 lb/pulg²), aproximadamente 206,84 kPa (30 lb/pulg²), aproximadamente 275,79 kPa (40 lb/pulg²) o aproximadamente 344,73 kPa (50 lb/pulg²) por encima de la atmosférica. En otras realizaciones, la presurización implica una presión de al menos 20,68 kPa-344,73 kPa (3-50 lb/pulg²) por encima de la atmosférica. En otras realizaciones, la presurización implica una presión de al menos 20,68 kPa-275,79 kPa (3-40 lb/pulg²), aproximadamente 20,68 kPa-206,84 kPa (3-30 lb/pulg²), aproximadamente 20,68 kPa-137,89 kPa (3-20 lb/pulg²), aproximadamente 20,68 kPa-101,35 kPa (3-14,7 lb/pulg²), aproximadamente 20,68 kPa-68,94 kPa (3-10 lb/pulg²), aproximadamente 20,68 kPa-34,47 kPa (3-5 lb/pulg²), aproximadamente 34,47 kPa-344,73 kPa (5-50 lb/pulg²), aproximadamente 34,47 kPa-206,84 kPa (5-30 lb/pulg²), aproximadamente 34,47 kPa-137,895 kPa (5-20 lb/pulg²), aproximadamente 34,47 kPa-101,35 kPa (5-14,7 lb/pulg²), aproximadamente 34,47 kPa-68,94 kPa (5-10 lb/pulg²), aproximadamente 68,94 kPa-344,73 kPa (10-50 lb/pulg²), aproximadamente 68,94 kPa-206,84 kPa (10-30 lb/pulg²), aproximadamente 68,94 kPa-137,89 kPa (10-20 lb/pulg²), aproximadamente 68,94 kPa-101,35 kPa (10-14,7 lb/pulg²), aproximadamente 137,895 kPa-344,73 kPa (20-50 lb/pulg²), aproximadamente 137,895 kPa-206,84 kPa (20-30 lb/pulg²) o aproximadamente 206,84 kPa-275,79 kPa (30-40 lb/pulg²) por encima de la atmosférica, donde 1 lb/pulg² corresponde a 6,89 kPa. Como se describe en el Ejemplo 2 y se muestra en las figuras 1A-1 B y 2A-2B, la presurización del molde antes del secado empuja o arrastra la formulación 25 líquida hacia las cavidades antes de que comience el proceso de secado. Como se ve en la figura 2A, el nivel de llenado de la formulación es menor después de la presurización que el nivel de llenado de la formulación en las cavidades sin presurización (ver, figura 2B). El nivel de llenado inferior de las cavidades indica que la formulación se ha movido más adentro de la cavidad, especialmente la punta de la cavidad. Esto se evidencia adicionalmente en la figura 1A, que muestra 30 microestructuras que se formaron usando un paso de presurización antes del secado. Como se observa en la figura, las microestructuras tienen bordes afilados y definidos que indican que la formulación contactó completamente con la superficie del molde, incluso en las puntas distales. Por el contrario, como se ve en la figura 1B, las microestructuras formadas sin un paso de presurización son troncales e irregulares, lo que indica que las cavidades del molde no se llenaron 35 con la formulación dejando huecos de aire.
- 40 Se puede aplicar presión durante un período de tiempo adecuado para empujar o arrastrar la formulación dentro de las cavidades de molde. En realizaciones, la presión se aplica durante al menos aproximadamente 5 segundos a aproximadamente 5 minutos. En otras realizaciones, la presión se aplica durante al menos aproximadamente 5 segundos a 4 minutos, aproximadamente 5 segundos a 3 minutos, aproximadamente 5 segundos a 2 minutos, aproximadamente 5-90 segundos, aproximadamente 5-60 segundos, aproximadamente 5-30 segundos, aproximadamente 5-15 segundos, 45 aproximadamente 30 segundos a aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 30 segundos a 4 minutos, aproximadamente 30 segundos a 3 minutos, aproximadamente 30 segundos a 2 minutos, aproximadamente 30-90 segundos, aproximadamente 30-60 segundos, aproximadamente 1-5 minutos, aproximadamente 1-4 minutos, aproximadamente 1-3 minutos, aproximadamente 1-2 minutos, aproximadamente 60-90 segundos, aproximadamente 90 segundos a 50 aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 90 segundos a 4 minutos, aproximadamente 90 segundos a 3 minutos, aproximadamente 90 segundos a 2 minutos, aproximadamente 2-5 minutos, aproximadamente 2-4 minutos, aproximadamente 2-3 minutos, aproximadamente 3-5 minutos, aproximadamente 3-4 minutos o aproximadamente 4-5 minutos. En realizaciones específicas, pero no limitantes, la presión se aplica durante al menos aproximadamente 5 segundos, 10 segundos, 15 segundos, 20 segundos, 30 segundos, 45 segundos, 60 segundos, 90 segundos, 2 minutos, 3 minutos, 4 minutos o 5 minutos.
- 55 55 El molde se puede tratar antes de dispensar la solución de vaciado para mejorar la dispensación de la solución de vaciado y/o para evitar o reducir la presencia de burbujas de aire. En realizaciones, el molde, o porciones de este, se tratan para mejorar la capacidad de la solución de vaciado para humedecer el molde. Los tratamientos adecuados se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en la publicación de patente de los Estados Unidos Núm. 2008/0269685. Además, o por separado, la solución de vaciado puede incluir ingredientes para prevenir, reducir o minimizar el burbujeo. Un ingrediente de ejemplo es un agente antiespumante. Otra realización de un tratamiento de superficie incluye revestir al menos una porción del molde con una sustancia que mejora la capacidad de la solución o suspensión de vaciado para humedecer la superficie de molde. En realizaciones no limitantes, al menos una porción de la superficie de molde se reviste con al menos uno de carbonato de calcio, acetato de etilo, un fluido de silicona o plasma de oxígeno.
- 60 65 Después de mover la formulación a las cavidades, la formulación líquida contenida en el molde se seca en uno o múltiples

pasos de secado primario, dependiendo, por ejemplo, de las propiedades fisicoquímicas de las formulaciones líquidas respectivas, tales como viscosidad, contenido de sólidos, interacción superficial entre la formulación líquida y el molde, etc. En un paso de secado primario, la formulación líquida contenida en el molde se coloca directamente en un horno de incubación a una temperatura que varía de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 40 °C para eliminar el agua. El secado de un paso puede tener lugar en cualquier lugar desde 20 minutos hasta varias horas. En un proceso de secado de dos pasos, el primer paso es un paso de secado lento en el que el molde lleno de formulación líquida se seca bajo humedad controlada y/o bajo presión. En una realización, el molde se coloca primero en una cámara de humedad controlada, por ejemplo, con una humedad relativa de aproximadamente 10-95% o 75-90% RH a una temperatura de aproximadamente 5-50° C, durante aproximadamente 1 minuto a 60 minutos. En otra realización, el molde se seca inicialmente en una cámara que tiene una presión parcial de agua de aproximadamente 1,33 mPa (0,01 mTorr) a aproximadamente 30,66 kPa (230 Torr) a una temperatura de aproximadamente 5-50°C o aproximadamente 10-50°C. El paso de secado inicial es seguido de la colocación del molde en un horno de incubación a una temperatura que varía de aproximadamente 5-50°C durante aproximadamente 20 minutos a varias horas.

En otra realización, el molde con la formulación se seca desde debajo, por debajo o por debajo del molde. Se apreciará que la formulación se puede secar sustancialmente por debajo, bajo o por abajo del molde. El método anterior de secado tiene la ventaja de reducir el tiempo necesario para el secado. En realizaciones, la formulación de microestructura se seca desde abajo durante 5-30 minutos. En otras realizaciones, la formulación se seca desde abajo durante 5-25 minutos, 5-20 minutos, 5-15 minutos, 5-10 minutos, 10-25 minutos, 10-20 minutos, 10-15 minutos, 15-25 minutos, 15-20 minutos o 20-25 minutos. En realizaciones específicas, la formulación se seca desde abajo durante aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25 o 30 minutos. En realizaciones, el molde se calienta para mantener o mantener sustancialmente la temperatura de la formulación a aproximadamente 5-50 °C. La formulación se puede secar desde abajo usando calentamiento conductivo y/o radiativo. En realizaciones, la superficie del molde se calienta desde abajo. Se apreciará que los parámetros que incluyen, pero no se limitan a, temperatura, tiempo y equipo como se describió anteriormente se contemplan y pretenden aplicarse al método de secado por debajo.

Los pasos de secado secundarios se pueden realizar al vacío. Métodos de secado se describen además en la publicación de los Estados Unidos Núm. (Expediente de Abogado Núm. 091500-0501/8131.US00).

Después del secado, se puede vaciar una capa de refuerzo sobre el molde que contiene la formulación seca para unirse de este modo a la pluralidad de microsalientes. En otra realización, la capa de refuerzo se fija de otro modo a la pluralidad de microsalientes.

En una realización, se dispensa una formulación de refuerzo líquida sobre el molde o dentro de las cavidades. La formulación de refuerzo líquida se prepara típicamente disolviendo o suspendiendo uno o más polímeros en un disolvente adecuado. En una realización preferida, el uno o más polímeros son biocompatibles. Típicamente, pero no siempre, los polímeros no son biodegradables. En otra realización, la formulación de refuerzo puede comprender uno o más polímeros biodegradables y/o no biodegradables. Los polímeros biodegradables adecuados se describen anteriormente. Polímeros no biodegradables adecuados se conocen en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, poliuretanos anfifílicos, poliéster poliuretano (PEU), poliéster éter cetona (PEEK), polí(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), ácido poliláctico (Pla), tereftalato de polietileno, policarbonato, polímeros acrílicos tales como los vendidos con el nombre comercial Eudragit®, polivinilpirrolidonas (PVP), poliamida-imida (PAI) y/o copolímeros de los mismos. Otros polímeros adecuados se describen en la patente de los Estados Unidos Núm. 7.785.301. En una realización, los componentes de las microsalientes (es decir, los componentes de la formulación) no son solubles en el disolvente utilizado en la capa de refuerzo. Generalmente, el disolvente utilizado en el vaciado de la capa de refuerzo es un disolvente orgánico tal como acetonitrilo, etanol, alcohol isopropílico, acetato de etilo y similares. Una formulación de refuerzo de ejemplo se describe en el Ejemplo 3.

En realizaciones adicionales, la capa de refuerzo es un adhesivo líquido no basado en disolvente. Estos adhesivos se curarán en lugar de requerir la eliminación del disolvente. Adhesivos adecuados incluyen, pero no se limitan a los adhesivos para dispositivos médicos Dymax® curables por UV 1128A-M, 1161-M, 1162-M, 1165-M, 1180-M y 1187-M. Se apreciará que cualquier adhesivo biocompatible es adecuado para su uso con, en y/o como la capa de refuerzo. Esta capa también puede ser una película no tejida o porosa revestida doblemente con adhesivo sensible a la presión.

Formulaciones de refuerzo líquidas se pueden mover a las cavidades mediante los mismos métodos o métodos similares que para la solución de vaciado de agente activo. Donde se usa una formulación de capa de refuerzo líquida, el disolvente de la formulación de capa de refuerzo se elimina mediante un proceso de secado. Las condiciones de secado para secar la capa de refuerzo se deben controlar de modo que el disolvente de la capa de refuerzo se pueda eliminar eficazmente sin afectar a la estabilidad de un agente activo y/o para formar adecuadamente (por ejemplo, uniforme) la capa de refuerzo. En una realización, el molde se coloca en una caja de aire seco comprimido (CDA) bajo flujo de aire controlado y luego se coloca en un horno a aproximadamente 5-50 °C.

La capa de refuerzo generalmente se seca primero en una caja de aire seco comprimido (CDA) durante un período de tiempo con flujo de aire controlado, por ejemplo, de aproximadamente 15 minutos a 2 horas, seguido de secado en un horno de convección, por ejemplo, a una temperatura que varía de 35°C a 80°C, durante aproximadamente 30 - 90 minutos. Entonces, se coloca opcionalmente un sustrato de refuerzo sobre la capa de refuerzo o base. El material de sustrato de refuerzo puede ser, por ejemplo, un adhesivo sensible a la presión no tejido transpirable o un adhesivo curado

con luz ultravioleta en una película de policarbonato, aunque se pueden usar muchos tipos de materiales. La figura 4 es una ilustración del método de vaciado para formar microestructuras que tienen un fármaco en punta (DIT) y una capa de refuerzo. Se vacía una solución líquida de DIT sobre un molde que tiene al menos una cavidad en la forma deseada para las microestructuras. La superficie superior del molde se limpia para eliminar el exceso de formulación. El DIT líquido se seca entonces en condiciones controladas para eliminar el disolvente dando como resultado una capa sólida de DIT en el fondo o extremo distal de la cavidad. Esta porción de DIT seca es la porción distal de la matriz de microestructuras. Una capa de refuerzo se moldea de tal manera que el espacio restante en la cavidad se llena y, opcionalmente, una capa de formulación de capa de soporte se extiende entre las cavidades. La capa de refuerzo se seca de tal manera que la matriz resultante tiene una capa de refuerzo con una pluralidad de microestructuras que se extienden en ángulo desde la capa de refuerzo. La capa de refuerzo con microestructuras unidas se desmoldea y preferiblemente, pero no siempre, se somete a un paso de secado final para formar la matriz de microestructuras (MSA). Se apreciará que la MSA se puede desmoldear antes de someterse al paso de secado final.

Las microsalientes con una capa de refuerzo se pueden colocar opcionalmente sobre una base o sustrato. El sustrato puede ser además de o usarse en lugar de una capa de soporte. Las microsalientes o capa de refuerzo se pueden unir al sustrato por cualquier medio adecuado. En una realización no limitante, las microestructuras se unen al sustrato usando un adhesivo. Adhesivos adecuados incluyen, pero no se limitan a, adhesivos acrílicos, adhesivos de acrilato, adhesivos sensibles a la presión, cinta adhesiva de doble cara, película no tejida o porosa revestida con adhesivo de doble cara y adhesivos curables por UV. Un ejemplo de cinta de doble cara es la cinta médica doble revestida #1513 disponible en 3M. Adhesivos curables por UV de ejemplo, pero no limitantes, son los adhesivos médicos Dymax tal como el adhesivo curable por luz UV 1187-M. Se apreciará que sería adecuado cualquier adhesivo de dispositivo médico conocido en la técnica. En una realización, el sustrato es un adhesivo sensible a la presión no tejido transpirable. El sustrato se coloca en la capa de refuerzo donde está presente o en una superficie proximal de las microsalientes. El sustrato se adhiere o se une a las microsalientes. En otra realización, el sustrato es un adhesivo curado con UV en una película de policarbonato. El adhesivo UV se dispensa en la parte superior de la capa de refuerzo o la superficie proximal de las microsalientes, se cubre con una película de policarbonato (PC) para extender el adhesivo y se cura usando un sistema de fusión UV. En una realización, una dosis de curado UV es de aproximadamente 1,6 J/cm². Después de unir o adherir el sustrato a las microsalientes, la matriz de microsalientes se retira del molde. Se apreciará que cuando la matriz incluye una capa de refuerzo, el sustrato se une o adhiere a la capa de refuerzo como se describió anteriormente para las microestructuras.

Como se describe en los Ejemplos 2 y 4, se moldea una matriz de polímero sobre un molde. Solo los polímeros hidrófilos como se reivindica son de acuerdo con la invención. El molde se purga con CO₂ y el exceso de formulación se elimina de la superficie superior de molde. El molde se presuriza y la formulación se seca con un método de secado para formar las porciones o extremos distales de las matrices de microestructuras que comprenden los agentes activos. Una capa de refuerzo de polímero se vierte sobre el molde. El molde con la formulación de refuerzo se seca como se describe en el Ejemplo 4 y anteriormente. En una realización opcional, un sustrato de respaldo que consiste en una capa no tejida transpirable y un adhesivo sensible a la presión se coloca sobre la capa de refuerzo como se describe en el Ejemplo 5. En otra realización, se dispensa un adhesivo de UV sobre la capa de respaldo, se cubre con una película de polímero tal como una película de PC de 5 mL y el adhesivo de UV se cura mediante el uso de un sistema de Fusión de UV con una dosis de curado de UV de 1,6 J/cm² para formar un sustrato de refuerzo.

Después de la retirada del molde, la matriz de microestructuras se corta típicamente con troquel en secciones de tamaño apropiado, luego se puede someter a un paso de secado final para eliminar la humedad residual de la formulación que contiene el agente activo seco y el disolvente residual de la capa de refuerzo. El paso de secado final se puede llevar a cabo al vacío (~6,66 Pa (~0,05 Torr)) a temperatura ambiente o superior, por ejemplo, 35°C, durante un período prolongado de varias horas.

Si se desea, las matrices de microestructuras entonces se pueden envasar o sellar, ya sea colectiva o individualmente, preferiblemente en un empaque hermético. Las matrices de microestructuras envasadas también pueden incluir un desecante. Una matriz de microestructuras como se proporciona en la presente también se puede proporcionar como parte de un kit, donde el kit también puede incluir un dispositivo aplicador.

Características de las matrices de microestructuras

Las presentes matrices de microestructuras comprenden una matriz biocompatible de disolución y soluble en agua que estabiliza el agente activo contenido en la misma, tanto en forma líquida como en forma seca (en términos de mantenimiento de la integridad química y la potencia de agente activo) y adicionalmente da como resultado una matriz de microestructuras que tiene buen rendimiento mecánico y buena estabilidad de almacenamiento.

Las matrices de microestructuras de ejemplo de acuerdo con la divulgación demostraron una estabilidad ventajosa del agente activo, tanto durante la fabricación como durante el almacenamiento. Por ejemplo, el agente activo que comprende una matriz biocompatible y soluble en agua, cuando se disuelve en un amortiguador acuoso a una concentración de agente activo que varía de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 7% en peso, se caracteriza además por la estabilidad del agente activo durante al menos 7 días a 5°C, medida por uno o más de mantenimiento del tamaño de partícula del agente activo, integridad química y potencia de agente activo. Preferiblemente, las formulaciones líquidas usadas para preparar la matriz de microestructuras son suficientemente estables para mantener la integridad del agente

activo durante el proceso de fabricación. Métodos de ejemplo para evaluar la estabilidad de las formulaciones se describen en el Ejemplo 8. Además, las matrices de microestructuras poseen preferiblemente buena estabilidad de almacenamiento a temperatura ambiente durante un período de tiempo prolongado (es decir, al menos 1-3 meses). Ver, por ejemplo, Ejemplo 8. Finalmente, la respuesta inmunogénica resultante de la administración transdérmica de un agente activo de ejemplo a través de una matriz de microestructuras como se proporciona en la presente es preferiblemente al menos tan buena como la respuesta observada para la administración intramuscular de un agente activo líquido similar. Por lo tanto, lo anterior respalda las características ventajosas de las matrices de microestructuras, formulaciones relacionadas y métodos proporcionados en la presente.

10 Métodos de uso

Los métodos, kits, matrices de microestructuras y dispositivos y formulaciones relacionados descritos en la presente se utilizan para administrar transdérmicamente un agente activo a un sujeto humano o veterinario.

15 Las matrices de microestructuras descritas se pueden aplicar manualmente a la piel, por ejemplo, al presionar la matriz en la piel. Más preferiblemente, se usa un aplicador para proporcionar un mecanismo para ayudar en la aplicación de la matriz de microestructuras a y a través de la piel. Un tipo preferido de aplicador es uno que tiene un mecanismo cargado por resorte, para impulsar de ese modo la matriz en la piel en virtud de la energía almacenada en un resorte. Aplicadores adecuados e ilustrativos incluyen los descritos en la publicación de los Estados Unidos Núm. 2011/0276027. Por ejemplo, 20 un aplicador de ejemplo incluirá típicamente un émbolo o pistón donde la matriz de microestructuras se coloca en un extremo distal del émbolo, y se acciona un accionador (o miembro de accionamiento) para liberar de ese modo el émbolo. El émbolo se mantiene típicamente en una posición restringida o restringida hasta que se libera. Tras la liberación del émbolo, el émbolo impacta entonces en la piel y, por lo tanto, permite que la matriz de microestructuras perfore o rompa 25 la superficie de la piel. La porción restante de la matriz de microestructuras se puede remover del extremo distal del émbolo de forma automática o manual.

Ejemplos

30 Los siguientes ejemplos son de naturaleza ilustrativa y no se propone que sean limitantes. Se han hecho esfuerzos para asegurar la precisión con respecto a los números (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, la temperatura está en °C y la presión está en o cerca de la atmosférica.

Abreviaturas

35	API	Ingrediente farmacéutico activo,
	HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
	MSA	Matriz de microestructuras
	SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio
40	SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño
	SPE	Eficiencia de penetración cutánea
	TDS	Sistema de administración transdérmica
	DSL	Dispersión dinámica de luz
	IM	Intramuscular

45 Ejemplo 1

Formulaciones líquidas que contienen agente activo

50 Las soluciones madre o formulaciones de agente activo de vacuna se preparan disolviendo un adyuvante antigénico y polímero en una solución acuosa. También se añaden al disolvente excipientes que incluyen azúcares, surfactantes y/o antioxidantes. Las formulaciones líquidas de vaciado (mostradas aquí excluyendo el antígeno de vacuna) se preparan al añadir Dextrano 70 (calidad farmacéutica, PM 70.000), sorbitol y una sal de aluminio ("alumbre") a un amortiguador acuoso y mezclando suavemente la solución resultante colocando el recipiente en un mezclador de rodillos (MediMix^{MR}) con una 55 velocidad de laminación <60 RPM durante aproximadamente 3 horas a temperatura ambiente. Dos de las formulaciones incluyen además la adición de un disolvente adicional tal como alcohol isopropílico al amortiguador acuoso. Estas dos formulaciones (formulaciones 2 y 4) son de acuerdo con las reivindicaciones. Las formulaciones 1 y 3, sin al menos uno de los co-disolventes reivindicados, no son de acuerdo con las reivindicaciones. Las formulaciones se preparan como se resume en la Tabla 1 más adelante. Las mediciones del ángulo de contacto se realizan dispensando una gota de 60 aproximadamente 5 µl de la formulación respectiva sobre la porción plana de un molde de silicona. Las imágenes de la gota se capturan y el ángulo de contacto del líquido entre la gota de líquido y la superficie del molde de silicona se midió usando la Imagen J.

Tabla 1: Formulaciones líquidas

Designación de formulación	Dextrano 70 (% en peso)	Sorbitol (% en peso)	Alumbre (% en peso)	alcohol isopropílico (% en peso)	Ángulo de contacto (grados)
1	14	5	1,1	0	110
2	14	5	1,1	10	79
3	14	5	3,3	0	nm
4	14	3	3,3	10	nm
nm no se mide					

Ejemplo 2

5 Matrices de microestructuras de vaciado

Las formulaciones líquidas de vaciado se preparan de acuerdo con el Ejemplo 1. El dióxido de carbono se purga dentro del molde de silicona antes de llenar la formulación líquida dentro de las cavidades de molde. Después de la purga de CO₂, la formulación líquida se dispensa sobre el molde. El exceso de formulación se elimina de la superficie superior de molde. El molde se transfiere a una placa de Petri y se coloca inmediatamente en una cámara de presurización. La presión (aire seco comprimido) se incrementa gradualmente a 206,84 kPa (30 lb/pulg²) y se mantiene a 206,84 kPa (30 lb/pulg²) durante 90 segundos, seguido de una disminución gradual a cero kPa (cero lb/pulg²). Se cree que la presurización después de la eliminación del exceso de formulación ayuda a empujar la formulación líquida hacia abajo en las cavidades antes de que comience el proceso de secado. Ejemplos de matrices de microestructuras formadas con y sin presurización después del paso de secado inicial se muestran en las figuras 1A y 1B, respectivamente. Después de que se completa la presurización, el DIT líquido en el molde se coloca en un horno de incubación a 32 °C durante aproximadamente 30 min para el secado primario. Las matrices de microestructuras formadas usando la presurización posterior a la limpieza llenaron las cavidades en las puntas. Sin presurización posterior, la formulación no se llenó en el extremo de la cavidad dejando huecos de aire, lo que resulta en agujas truncadas como se muestra en la figura 1B. La figura 2A es una imagen de la formulación seca en el molde preparado con presurización después de que la formulación se limpia del molde. La figura 2B es una imagen de la formulación seca en el molde donde la formulación no se presurizó después de que se limpiara el exceso de formulación. Las microestructuras formadas con presurización son más bajas y más profundas en el molde, lo que indica que la formulación se llenó hasta el extremo (punta) de la cavidad de molde. Como se ve en la figura 2B, las microestructuras formadas sin presurización son mayores en el molde, lo que indica que la formulación no llenó la cavidad de molde.

Ejemplo 3

Formulaciones líquidas para capa de refuerzo

30 Se pueden utilizar diferentes soluciones poliméricas para vaciar una capa base o de refuerzo para las matrices de microestructuras. Las formulaciones líquidas para una capa de refuerzo se preparan mediante la disolución de uno o más polímeros en un disolvente o mezcla de disolventes a o aproximadamente a temperatura ambiente con una concentración de polímero de aproximadamente 10-40% en peso. Formulaciones líquidas de ejemplo para vaciar una capa de refuerzo incluye 30% en peso de PLGA (75/25) disuelto en 70% en peso de acetonitrilo.

Ejemplo 4

Matrices de microestructuras de vaciado con capa de refuerzo

40 Las microestructura se preparan de acuerdo con el Ejemplo 2. Se dispensa en el molde una formulación de capa de refuerzo líquida preparada de acuerdo con el Ejemplo 3. Se moldea una película delgada al limpiar la formulación de la capa de refuerzo. El molde se seca en una caja de aire seco comprimido (CDA) durante aproximadamente 30 minutos con flujo de aire controlado. El molde se seca luego en un horno de convección a 45 °C durante aproximadamente 90 minutos para formar la matriz de microestructuras (MSA) con una capa de refuerzo.

Ejemplo 5

Matrices de microestructuras de vaciado con sustrato de refuerzo

50 Se puede usar un sustrato de refuerzo para conectar la capa de refuerzo con un dispositivo aplicador. Sustratos de refuerzo de ejemplo incluyen (i) un adhesivo sensible a la presión no tejido transpirable que se coloca en la parte superior de la capa de refuerzo y (ii) un adhesivo curable por UV fundido en la capa de refuerzo y curado por UV, entre otros.

Se prepara una matriz de microestructuras con una capa de refuerzo de acuerdo con el Ejemplo 4. Un sustrato de refuerzo que consiste en una capa no tejida transpirable y un adhesivo sensible a la presión se coloca sobre la capa de refuerzo. La MSA se retira del molde y se troquela en matrices de 1 o 2 cm². Se realiza un paso de secado final en la MSA cortada con troquel para eliminar completamente cualquier humedad remanente de las formulaciones de vaciado de API en las 5 puntas de microestructuras y el disolvente residual de la capa de refuerzo. Este secado final se lleva a cabo al vacío (~6,66 Pa (~0,05 Torr)) a 35°C durante la noche. Las MSA se sellan individualmente en una bolsa de Polyfoil.

Ejemplo 6

10 Preparación de herramienta de matriz

Se puede usar una herramienta de matriz de microestructuras con diferentes geometrías para fabricar el molde negativo (generalmente usando polidimetilsilicona). Este molde se utiliza luego para fabricar una matriz de microestructuras (MSA) que replica la geometría de la herramienta original. Una herramienta de ejemplo utilizada en estos ejemplos posee una forma de diamante con una altura de microsaliente de 200 µm, un ancho de base de 70 µm y una separación de saliente a saliente de 200 µm. Las figuras 2A-2B muestran un molde de ejemplo que tiene cavidades en forma de diamante en uso.

Ejemplo 7

20 Eficiencia de penetración cutánea *in vitro*

Se extirpa piel de cerdo de espesor completo del abdomen y luego se corta y se afeita para eliminar las cerdas de cabello. Las MSA preparadas como se ha descrito anteriormente se aplican a sitios de piel afeitados usando un aplicador para 25 aplicar una fuerza adecuada para insertar al menos una porción de cada microsaliente en la piel y se mantienen con la mano *in situ* durante un período de tiempo que varía de aproximadamente 5-15 minutos. Los sitios de aplicación se tiñen con tinte y se fotograffan para visualizar las penetraciones de la matriz de microestructuras. Las penetraciones se cuantifican utilizando un programa de análisis de imágenes basado en computadora. La eficiencia de penetración en la piel (SPE) entonces se calcula con base en el número teórico de microestructuras esperadas para la MSA como sigue:

$$30 \quad \% \text{ de SPE} = 100 \times \# \text{ de Penetraciones} / \# \text{ de Microestructuras}.$$

Ejemplo 8

35 Tolerabilidad cutánea *in vivo* del alumbré mediante administración transdérmica

En tanto que la administración intramuscular y subcutánea de vacunas que contienen alumbré es generalmente bien tolerada, se ha informado en la literatura que la inyección intradérmica de soluciones que contienen alumbré puede dar como resultado la formación de granulomas dentro de la piel (Vogelbruch et al., Allergy, 2000, 55:883-887). Se realizó un 40 estudio de tolerabilidad de la piel *in vivo* en minicerdos para evaluar la reacción local de la piel al alumbré después de la administración intradérmica por MSA. Los sitios de aplicación se monitorearon durante un período de 7 días para evaluar la irritación de la piel (eritema/edema) y la formación de nódulos, si la hay. Los sitios tratados con MSA de alumbré se compararon con inyecciones de jeringa intradérmica de formulaciones líquidas de alumbré. La cantidad de alumbré administrada fue la misma para ambos métodos. También se probaron dos tipos de MSA placebo (con microestructuras solubles y no solubles que no contienen alumbré) para evaluar si los excipientes de formulación y/o el acto mecánico de penetración en la piel contribuyeron a cualquier irritación observada. Las evaluaciones de irritación de la piel visual y las evaluaciones de histopatología no mostraron diferencias aparentes entre los sitios tratados con MSA de alumbré y los sitios tratados con MSA placebo durante el período de 7 días después de las aplicaciones. Para todos los sitios de 45 inyección de jeringa intradérmica, se pudo sentir una pequeña protuberancia o nódulo justo debajo de la piel a partir de 4 a 7 días después de la inyección. Las evaluaciones histopatológicas para los sitios de inyección ID confirmaron la presencia de una reacción de cuerpo extraño. No se observaron nódulos o reacciones de cuerpos extraños para los sitios tratados con MSA de alumbré o para cualquiera de los sitios tratados con MSA placebo.

REIVINDICACIONES

1. Un método para fabricar una matriz de microestructuras, que comprende:
 - 5 (i) proporcionar una formulación líquida acuosa que comprende un agente activo de vacuna, un adyuvante de sal de aluminio en partículas insoluble, un polímero hidrófilo seleccionado del grupo que consiste en polisacáridos, polivinilpirrolidonas, alcohol polivinílico, polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, y copolímeros de bloque de polí(ácido láctico-co-glicólico) y polietilenglicol, y al menos un co-disolvente seleccionado del grupo que consiste en alcohol isopropílico, etanol, metanol y butanol en un amortiguador acuoso;
 - 10 (ii) dispensar la formulación líquida del paso (i) sobre un molde que tiene una matriz de cavidades de microestructura y llenar las cavidades de microestructura para formar un molde lleno de formulación;
 - (iii) eliminar el exceso de formulación líquida de una superficie superior del molde;
 - (iv) secar el molde lleno de formulación;
 - 15 (v) colocar una capa de refuerzo sobre el molde seco de (iv), por lo que la capa de refuerzo forma una base que tiene un punto de unión a la formulación seca en cada una de las cavidades de microestructura para proporcionar una matriz de microestructuras moldeada, y
 - (vi) eliminar la matriz de microestructuras de (v) del molde.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, donde el co-disolvente se selecciona de alcohol isopropílico y etanol.
- 20 3. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde la formulación comprende 5-20% del co-disolvente.
- 25 4. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además purgar el molde con un gas soluble antes del paso de dispensación, preferentemente donde el gas soluble se selecciona de CO₂ y CH₄.
5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además:
 - 30 aplicar presión al molde lleno de formulación después del paso (iii) o
 - aplicar presión al molde lleno de formulación después del paso (ii),

preferiblemente donde la aplicación de presión comprende aplicar presión de al menos 68,95 kPa (10 lb/pulg²) por encima de la atmosférica o aplicar presión de al menos 206,84 kPa (30 lb/pulg²) por encima de la atmosférica, más preferiblemente donde la aplicación de presión comprende aplicar presión durante al menos 5 segundos a 2 minutos.
- 35 6. El método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el secado del molde lleno de formulación comprende secar el molde lleno de formulación a 5-50°C durante al menos 30-60 minutos.
7. El método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende además:
 - 40 secar la formulación de la capa de refuerzo, preferentemente donde el secado de la formulación de la capa de refuerzo comprende secar en un horno a 5-50°C.
8. El método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende además fijar un sustrato de refuerzo a la capa de refuerzo, preferiblemente donde el sustrato de refuerzo se selecciona de un adhesivo sensible a la presión y un adhesivo curado con UV.
- 45 9. El método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende además:
 - secar la matriz de microestructuras a 5-50°C durante al menos 12 horas, preferiblemente donde el secado es a 35°C.
- 50 10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, donde el secado se realiza al vacío, preferiblemente donde el secado se realiza en una cámara que tiene una presión parcial de agua de 6,66 Pa (0,05 Torr).
11. El método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde la formulación líquida comprende además al menos uno de:
 - 55 un azúcar seleccionado de sorbitol, sacarosa, trehalosa, fructosa o dextrosa,
 - un surfactante seleccionado de Polisorbato 20 o Polisorbato 80, o
 - un antioxidante seleccionado de metionina, cisteína, acetato de D-alfa tocoferol, EDTA o vitamina E.
- 60 12. El método de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde la formulación líquida es una suspensión.
13. Una matriz de microestructuras obtenida mediante el método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:
 - una base aproximadamente plana que tiene una primera superficie y una segunda superficie opuesta a la misma;
 - 65 una pluralidad de microestructuras biodegradables que se extienden hacia afuera desde la base, cada microestructura que tiene un punto de unión a la base y una porción distal para penetrar en la piel de un sujeto, donde

- (i) toda la porción distal de cada microestructura en la pluralidad de microestructuras comprende
- 5 al menos un agente activo antigénico de vacuna, y un adyuvante de sal de aluminio particulado insoluble en una matriz polimérica biocompatible y soluble en agua,
- la matriz polimérica biocompatible y soluble en agua que comprende al menos un polímero formador de estructura, donde el polímero formador de estructura es un polímero hidrófilo seleccionado de polisacáridos, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol y copolímeros de bloque de polí(ácido láctico-co-glicólico) y polietilenglicol; y
- 10 (ii) la base comprende una matriz polimérica biocompatible no soluble en agua, donde las microestructuras, al penetrar en la piel del sujeto, se disuelven para administrar de este modo el agente activo antigénico y el adyuvante de sal de aluminio particulado.
- 15 14. La matriz de microestructuras de acuerdo con la reivindicación 13, donde el agente activo antigénico de vacuna se dirige contra al menos uno de adenovirus, ántrax, difteria, hepatitis, *Haemophilus influenzae* a y/o b, virus del papiloma humano, influenza, encefalitis japonesa, enfermedad de Lyme, sarampión, infección por meningococo y neumococo, paperas, tos ferina, poliomielitis, rabia, rotavirus, rubéola, culebrilla, viruela, tétanos, tuberculosis, fiebre tifoidea, varicela o fiebre amarilla.
- 20 15. La matriz de microestructuras de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14, donde el adyuvante de sal de aluminio en partículas se selecciona de hidróxido de aluminio, sulfato de aluminio y potasio y fosfato de aluminio.
- 25 16. La matriz de microestructuras de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, donde la pluralidad de microestructuras comprende además al menos uno de:
- un azúcar seleccionado de sorbitol, sacarosa, trehalosa, fructosa y dextrosa,
un surfactante seleccionado de Polisorbato 20 o Polisorbato 80, o
un antioxidante seleccionado de metionina, cisteína, acetato de D-alfa tocoferol, EDTA o vitamina E.
- 30 17. La matriz de microestructuras de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, que comprende además un sustrato de refuerzo fijado a la base plana en un lado opuesto de la pluralidad de microestructuras.
- 35 18. La matriz de microestructuras de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17, donde las microestructuras tienen una sección transversal de diamante.
19. La matriz de microestructuras de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, donde las microestructuras tienen una altura desde la punta hasta la capa de refuerzo de al menos 50-500 µm, o una altura de 100-300 µm, o una altura de al menos 200 µm.

ES 2 944 885 T3

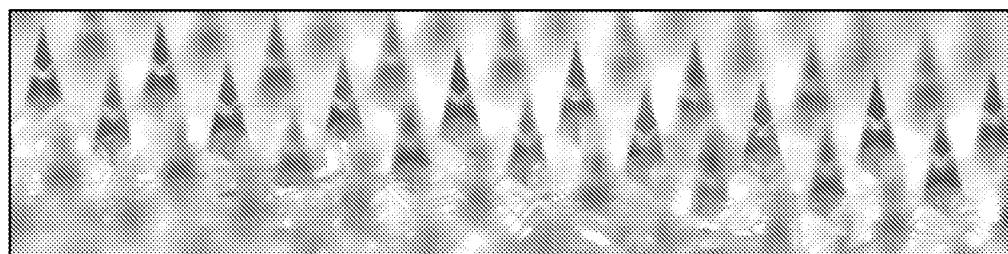


FIGURA 1A

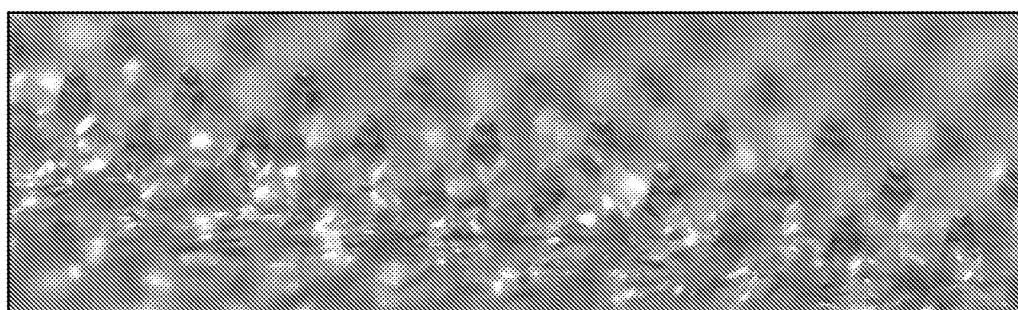


FIGURA 1B

ES 2 944 885 T3

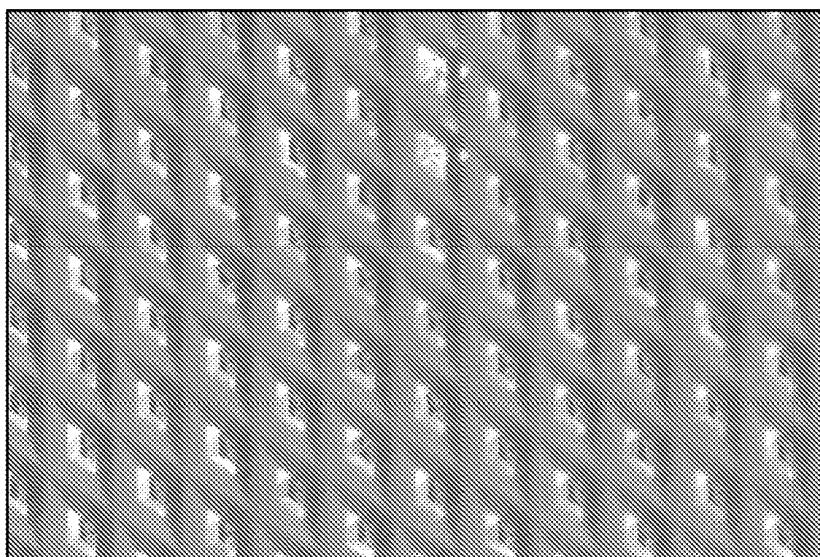


FIGURA 2A

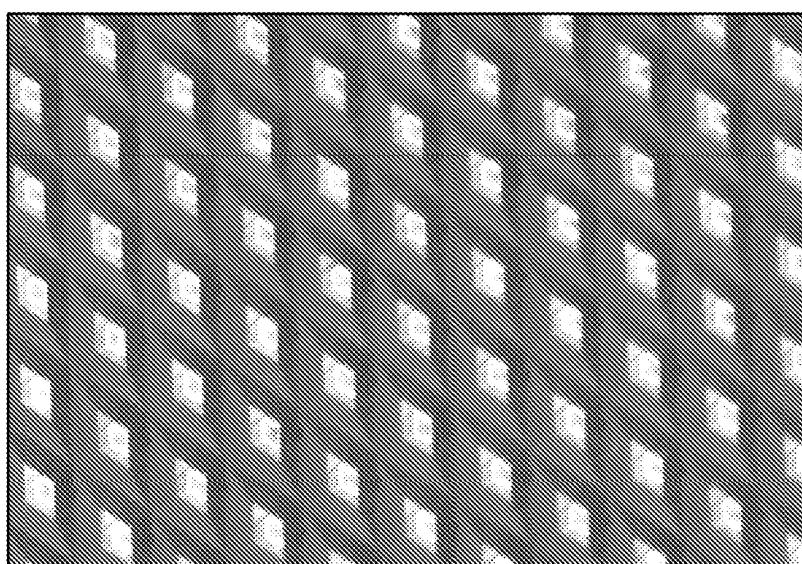


FIGURA 2B

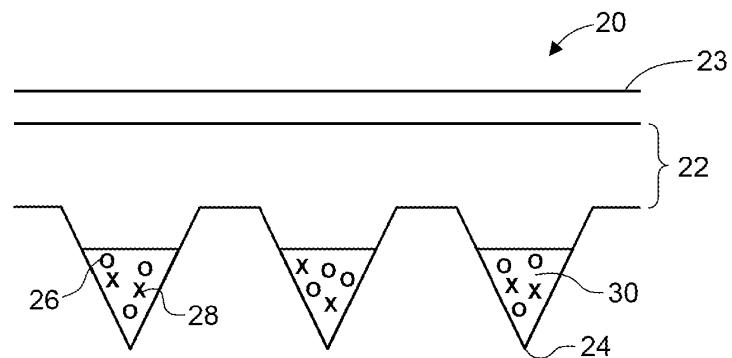


FIGURA 3

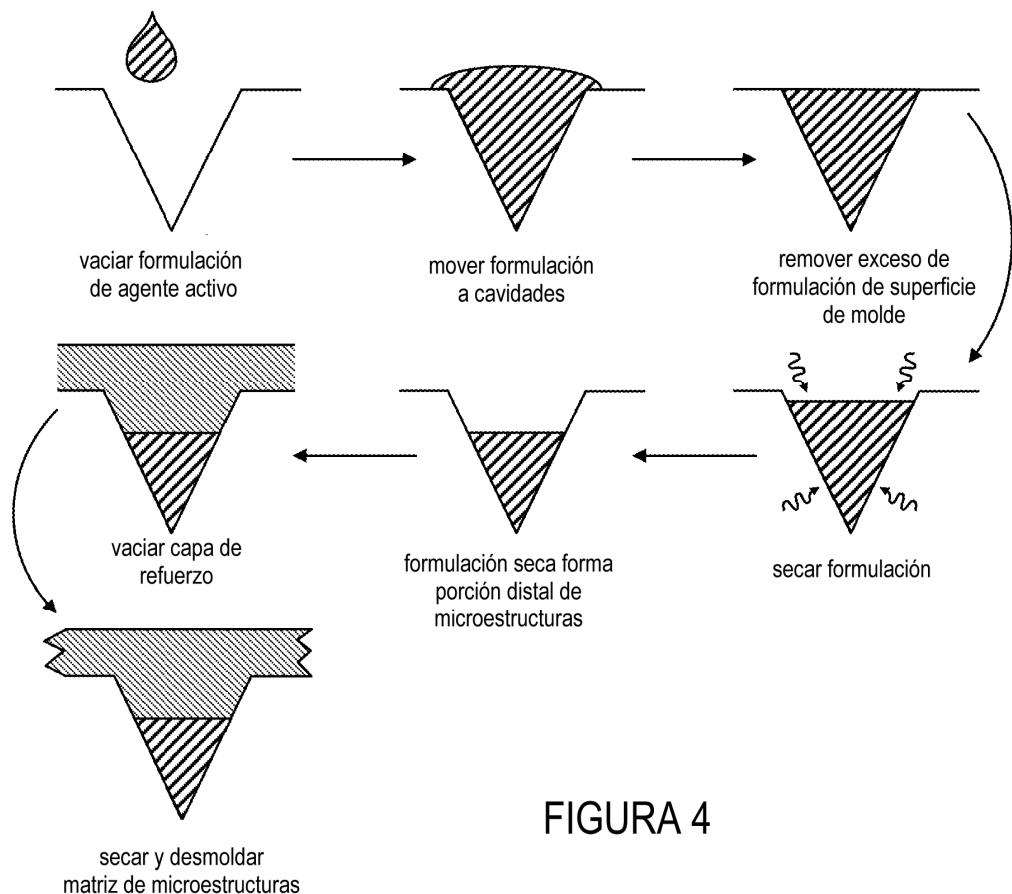


FIGURA 4

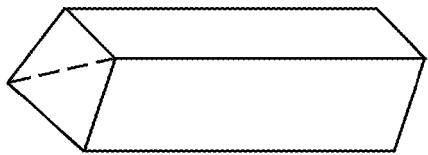


FIGURA 5C

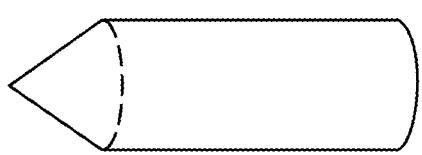


FIGURA 5B

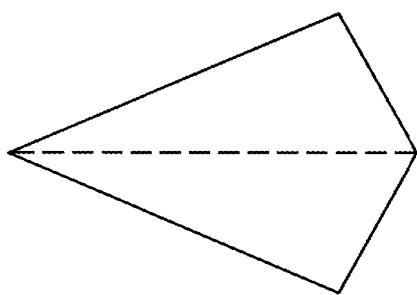


FIGURA 5A

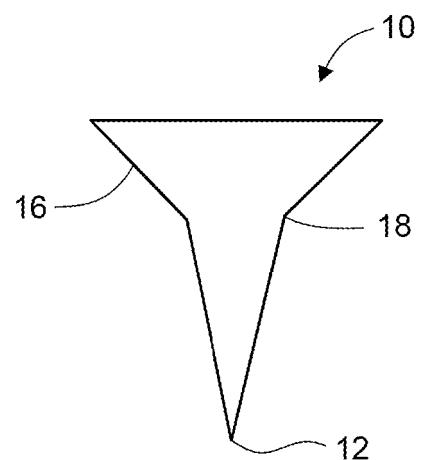


FIGURA 5D

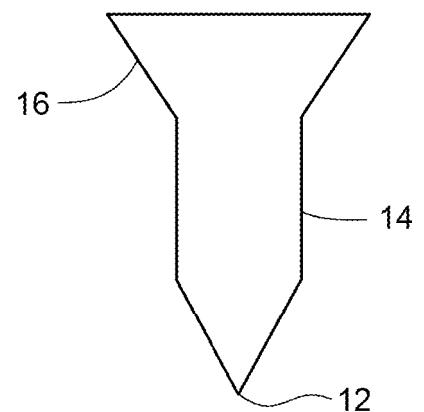


FIGURA 5E