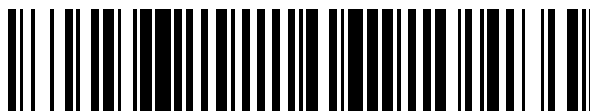


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 402 468**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61K 47/44 (2006.01)

A61K 9/18 (2006.01)

A61K 31/27 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2009 E 09705063 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2013 EP 2254550**

54 Título: **Composición farmacéutica con propiedades gelificantes que contiene un derivado de tirosina**

30 Prioridad:

31.01.2008 FR 0850617

31.01.2008 US 25107 P

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

06.05.2013

73 Titular/es:

ETHYPHARM (50.0%)
194 Bureaux de la Colline Bâtiment D
92210 Saint-Cloud, FR y
UNIVERSITE DE MONTREAL (50.0%)

72 Inventor/es:

LEROUX, JEAN-CHRISTOPHE y
BASTIAT, GUILLAUME

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 402 468 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

Composición farmacéutica con propiedades gelificantes que contiene un derivado de tirosina

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica con propiedades gelificantes que comprende un líquido orgánico hidrófobo, una sustancia organogelificante que comprende un derivado de la L-tirosina y un principio activo. Dicha composición farmacéutica puede inyectarse en un organismo vivo y forma un gel utilizable como vector para la administración sostenida de dicho principio activo. La presente invención se refiere además a un procedimiento para preparar dicha composición farmacéutica.

Antecedentes de la invención

15 Los geles corresponden a un estado intermedio de la materia que contiene componentes tanto sólidos como líquidos. Los elementos sólidos forman una estructura o matriz tridimensional, organizada en forma de una red de moléculas mutuamente interconectadas. Esta red inmoviliza los elementos presentes en forma líquida.

20 En los hidrogeles, el medio líquido es acuoso, mientras que en los organogeles, el medio líquido es un solvente orgánico.

Los geles también pueden clasificarse según la naturaleza de los enlaces que unen entre sí las moléculas de los elementos sólidos. Los geles químicos aparecen cuando fuertes enlaces covalentes sostienen la red, y geles físicos cuando enlaces de van der Waals o interacciones electrostáticas mantienen la red del gel.

25 En el caso de los geles sensibles al calor, la temperatura a la que se observa el cambio de estado se conoce como temperatura de transición. En el caso particular de los sistemas que muestran comportamiento histerético, la temperatura de transición gel/líquido es diferente de la temperatura de transición líquido/gel.

30 Los geles pueden utilizarse en la industria farmacéutica por su capacidad de retención con respecto a las moléculas bioactivas, especialmente en el contexto de una administración transcutánea de sustancias activas. Además, los geles implantables ya han sido utilizados para la administración *in situ* de principio activo. Sin embargo, este tipo de utilización requiere la implantación quirúrgica de un gel preformado, una operación que sigue siendo tanto cara como una limitación para el paciente.

35 Los organogeles son sistemas compuestos de un solvente orgánico con una red tridimensional de compuestos autoensamblados. Los compuestos, comúnmente denominados "organogelificantes" o "sustancias organogelificantes", esencialmente son moléculas de bajo peso molecular. La asociación física entre las moléculas organogelificantes forma una red sólida que es capaz de inmovilizar el solvente orgánico. La investigación sobre estas matrices es reciente y ha crecido rápidamente con el desarrollo continuo de moléculas organogelificantes.

40 Desafortunadamente, sólo existen unos pocos estudios que describan la utilización de organogeles en la administración de fármacos. Esto puede explicarse en parte por el hecho de que la mayor parte de las matrices investigadas podría ser potencialmente tóxica. En el campo farmacéutico, los organogeles han sido estudiados principalmente para la administración transdérmica de fármacos (Upadhyay K.K. *et al.*, 2007, y Lim P.F.C. *et al.*, 2006).

45 El documento WO 99/56725 describe una composición que contiene fosfolípidos como organogelificantes, destinados a la inyección en un cuerpo, y que forman espontáneamente un gel al encontrarse con líquidos fisiológicos. Dicha composición puede utilizarse fácilmente como vector para un principio activo. Antes de la inyección es un líquido. Tras la inyección, gelifica mediante absorción de la fase acuosa circundante.

Otro trabajo también informa de organogeles que pueden inyectarse y actuar como portadores de principios activos, basados en metil-éster de alanina, que se modifican con una cadena estearoilo (C₁₈): S-AlaOCH₃ (documento WO 03/075885). Este tipo de organogelificante presenta las ventajas de una síntesis sencilla y la biocompatibilidad. Este organogel actúa como soporte para la liberación prolongada de principios activos mediante difusión y/o erosión y/o la biodegradación gradual del organogel en el cuerpo. En este caso, los organogeles se forman mediante difusión de un solvente hidrófilo añadido a la composición, o mediante enfriamiento del sitio de inyección durante varios minutos.

55 La presente invención se basa en el inesperado descubrimiento realizado por los presentes inventores de que los derivados de tirosina tales como el metil-éster de N-behenoil-L-tirosina (B-TyrOCH₃) o el metil-éster de N-estearoil-L-tirosina (S-TyrOCH₃) son capaces de formar organogeles con propiedades físicas mejoradas, por ejemplo una mejor dureza del gel, especialmente en comparación con los obtenidos de los derivados de alanina. Esta propiedad podría permitir reducir la concentración de organogelificante en el organogel y, por lo tanto, incrementar la concentración de principio activo en el organogel. También podría permitir obtener implantes que resistan *in vivo* durante más tiempo

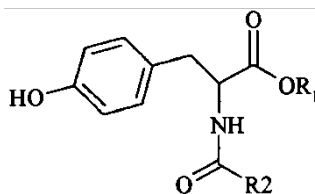
que los organogeles basados en alanina, liberando por lo tanto el fármaco durante más tiempo que las formulaciones de S-AlaOCH₃.

5 El organogel según la presente invención, al obtenerse con una concentración baja de sustancia organogelificante, ya se encuentra en estado de gel antes de la inyección. Al contrario que las composiciones de la técnica anterior, no existe necesidad de enfriar, difundir ni absorber líquidos para formar el gel in situ en un cuerpo.

10 Además, la composición según la presente invención presenta la ventaja de ser extremadamente económico, tanto en términos de fabricación, tal como se indicada posteriormente, como en términos de empaquetamiento y administración.

Descripción detallada de la invención

15 El primer objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica inyectable con propiedades gelificantes que contiene un principio activo, un líquido orgánico hidrófobo y biocompatible y una sustancia organogelificante, las moléculas del cual presentan la capacidad de unirse entre sí mediante enlaces de baja energía, en el que dicha sustancia organogelificante se selecciona de entre derivados de L-tirosina que presentan a la fórmula (I) siguiente:



(I)

20 en la que:

- R¹ es un grupo alquilo que contiene 1 a 3 átomos de carbono, lineal o ramificado, y
- R² es un grupo hidrófobo seleccionado de entre cadenas grasas alifáticas saturadas o insaturadas o grupos arilo o arilalquilo.

Organogelificante

30 Tal como se ha expuesto anteriormente, los organogeles son sistemas compuestos de un solvente líquido orgánico incluido dentro de una red sólida tridimensional de compuestos autoensamblados. Los compuestos, denominados comúnmente "organogelificantes" o "sustancias organogelificantes" son esencialmente moléculas de bajo peso molecular. Según la presente invención, el compuesto se caracteriza porque es un derivado del aminoácido L-tirosina que presenta la fórmula (I), definida anteriormente.

R¹ es un grupo alquilo que contiene 1 a 3 átomos de carbono, lineal o ramificado. R¹ puede ser un grupo metilo (-CH₃), etilo (-C₂H₅), isopropilo (-C₃H₇) o n-propilo (-C₃H₇). Más preferentemente, R¹ es un metilo (-CH₃).

40 R² es un grupo hidrófobo seleccionado para proporcionar suficiente hidrofobicidad a las moléculas de fórmula (I), favoreciendo de esta manera la estabilidad del gel en el cuerpo. R² preferentemente se selecciona de entre cadenas grasas alifáticas saturadas o insaturadas o grupos arilo o arilalquilo. Según la presente invención, una cadena grasa alifática es una cadena hidrocarburada abierta, lineal o ramificada, derivada de un ácido graso. Los ácidos grasos naturales contienen entre 4 y 28 átomos de carbono. Cuanto mayor es el número de carbono que forman la cadena, más hidrófoba es la cadena grasa.

Las cadenas grasas alifáticas comprenden cadenas saturadas (sin ningún doble enlace) y cadenas insaturadas (con por lo menos un doble enlace). Las cadenas insaturadas pueden ser monoinsaturadas (un solo doble enlace) o poliinsaturadas (varios dobles enlaces).

50 Preferentemente, R² es una cadena grasa que comprende entre 11 y 24 átomos de carbono, preferentemente entre 17 y 21, más preferentemente comprende 17 ó 21 átomos de carbono.

55 Alternativamente, R² puede ser un grupo arilo, es decir, un sistema que comprende uno o más anillos de carbonos aromáticos que comprenden 5 ó 6 átomos de carbono, por ejemplo fenilo, bifenilo o naftilo.

Alternativamente, R^2 puede ser un grupo arilalquilo, es decir, un grupo arilo unido al resto de las moléculas por un grupo alquilo C_1-C_6 , por ejemplo bencilo o feniletilo.

Todavía más preferentemente, R^2 presenta la fórmula $-(CH_2)_n-CH_3$, en la que n es un número entero comprendido entre 10 y 23, preferentemente entre 16 y 20, más preferentemente es 16 ó 20.

Preferentemente, la sustancia organogelificante se selecciona de entre metil-éster de N-behenoil-L-tirosina (B-TyrOCH₃) (figura 1a), metil-éster de N-estearoil-L-tirosina (S-TyrOCH₃) (figura 1b) y metil-éster de N-lauroil-L-tirosina (L-TyrOCH₃) (figura 1c).

Las moléculas de la sustancia organogelificante según la presente invención son capaces de unirse mediante enlaces de baja energía, por ejemplo fuerzas de van der Waals o enlaces de hidrógeno. Se cree que dos enlaces de hidrógeno de las funciones NH y OH de las moléculas de fórmula (I) participan en la red del organogelificante. En contraste, únicamente un enlace de hidrógeno participa en el sistema basado en alaninas de la técnica anterior, lo que podría explicar las propiedades gelificantes mejoradas del sistema basado en tirosinas de la presente invención.

Como sustancia organogelificante según la presente invención es un mejor organogelificante que el sistema basado en alaninas de la técnica anterior; el experto en la materia podrá utilizar una concentración más baja de organogelificante en la composición. Por lo tanto, la concentración del organogelificante representa entre 0,5% y 10% en peso respecto al peso total de la composición según la presente invención, aunque preferentemente es de entre 1% y 5%, y más preferentemente de entre 1% y 3%.

Además, la sustancia organogelificante según la presente invención preferentemente es biocompatible y no produce cantidades tóxicas de metabolitos durante su degradación por parte del cuerpo.

Líquido orgánico hidrófobo y biocompatible

La composición según la presente invención contiene un líquido orgánico hidrófobo y biocompatible. La expresión "líquido orgánico hidrófobo" se refiere a un solvente orgánico o mezcla de solventes orgánicos cuyas moléculas o partes de moléculas presentan un nivel elevado de repulsión de las moléculas de agua. El líquido orgánico hidrófobo es esencialmente inmisible en agua. Es biocompatible, es decir, tolerado por el organismo huésped, e induce una reacción inmunológica pequeña o nula, por ejemplo de tipo inflamatorio o alérgico.

Preferentemente se utilizan los solventes orgánicos que pueden ser biodegradados lentamente, es decir, que no son rápidamente metabolizados por los enzimas presentes en el sitio de inyección, y especialmente por las lipasas.

Resulta preferente utilizar solventes orgánicos hidrófobos que son líquidos a temperatura ambiente (entre 18°C y 25°C), lo que simplifica el procedimiento de fabricación y administración de la composición según la invención.

El líquido orgánico hidrófobo según la presente invención puede seleccionarse de entre aceites vegetales, aceites sintéticos o semisintéticos y mezclas de los mismos. Las mezclas de diferentes solventes orgánicos hidrófobos pueden presentar la ventaja de modificar el perfil de gelificación de la composición o facilitar la disolución de determinado principio activo en la composición.

Entre los solventes sintéticos o semisintéticos que pueden utilizarse como el líquido orgánico hidrófobo según la presente invención puede hacerse mención especialmente de aceite de silicona, escualeno, benzoato de bencilo, cloruro de bencilo y mezclas de benzoato de bencilo/alcohol bencilico o Cromadol[®] GTCC-PN, así como las mezclas de los mismos.

Según la presente invención, el aceite vegetal puede seleccionarse de entre aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de oliva, aceite de ricino, aceite de maíz, aceite de sésamo o aceite de almendra y las mezclas de los mismos.

El líquido orgánico hidrófobo según la invención preferentemente contiene monoglicéridos, diglicéridos y/o triglicéridos. Las cadenas hidrocarburadas de dichos triglicéridos pueden comprender entre 11 y 24 átomos de carbono, preferentemente entre 17 y 21 átomos de carbono. El aceite de cártamo, que presenta un comportamiento de gelificación adecuado, baja biodegradabilidad y excelente biocompatibilidad, se utiliza preferentemente como el líquido orgánico hidrófobo.

Principio activo

La composición según la presente invención presenta por lo menos un principio activo. La expresión "principio activo" se refiere a cualquier sustancia que presenta la capacidad de actuar en un organismo vivo (bioactivo) o sobre su funcionamiento de manera que evite, cure, alivie o mejore la condición de dicho organismo.

Los principios activos que pueden ser liberados en el cuerpo a partir del organogel según la presente invención son ventajosamente sustancias que resultan difíciles de empaquetar para una liberación prolongada, tales como moléculas de bajo peso molecular de naturaleza hidrófila o muy hidrófila.

- 5 El principio activo puede incorporarse en la composición según la presente invención mediante dispersión o disolución. Puede ser hidrófilo o hidrófobo o anfifílico.

10 La composición según la reivindicación 11, en la que el principio activo se selecciona de entre fármacos tales como morfina, heparina, anticolinesterasas, tales como rivastigmina, galantamina, donepezilo o antagonistas de receptor de N-metil-D-aspartato, tales como memantina; proteínas, tales como α -interferón o β -interferón; anticuerpos o interleucinas; hormonas, tales como la hormona del crecimiento humana, somatostatina, eritropoyetina, hormona tirotrópica o leuprólido; péptidos, aminoácidos, vitaminas, ácidos nucleicos, derivados de ácidos nucleicos y oligonucleótidos.

15 Estos ejemplos no son en modo alguno limitativos, y otros tipos de molécula, en particular otras proteínas, pueden contemplarse completamente para dicha liberación prolongada a partir de un organogel según la invención. De esta manera, la presente invención puede utilizarse para un gran número de sustancias de interés terapéutico o médico para los que se desea una liberación prolongada en el cuerpo.

20 Ventajosamente, dicho principio activo se utiliza en proporciones de entre 0,5% y 5% en peso de la composición según la invención.

Solvente orgánico hidrófilo

25 La composición según la presente invención puede comprender además un solvente orgánico hidrófilo que ayude a licuar la composición. En este caso, la composición según la presente invención se ablanda o resulta líquida, y su gelificación o endurecimiento se induce mediante difusión de dicho solvente orgánico hidrófilo a los líquidos fisiológicos *in vivo*. Según la invención, la expresión "solvente orgánico hidrófilo" se refiere a un solvente que presenta una elevada afinidad para los medios acuosos, es decir que es miscible en agua.

30 El solvente orgánico hidrófilo, introducido en la composición según la invención, compite con las moléculas de la sustancia organogelificante, creando con dichas moléculas enlaces débiles (por ejemplo puentes de hidrógeno) que evitan que dichas moléculas se autoensamblen para formar una red densa y unificada. La composición según la invención permanece, de esta manera, en forma líquida o en estado semisólido durante todo el tiempo durante el cual las moléculas de dicho solvente orgánico hidrófilo siguen unidas a las moléculas organogelificantes. Tras inyectarlas en un cuerpo animal, especialmente humano, la composición se encuentra en contacto con líquidos fisiológicos. La difusión de dicho solvente orgánico hidrófilo en los líquidos fisiológicos permite que las moléculas de dicha sustancia organogelificante se autoensamble o complete el proceso de autoensamblaje. Mediante la creación de una red estructurada, este autoensamblaje permite que se retenga el líquido orgánico hidrófobo, provocando que
40 dicha composición cambie de estado líquido o semisólido al estado gelificado.

45 El solvente orgánico hidrófilo según la presente invención puede seleccionarse de entre etanol, glicerol, alcohol bencílico, propilenglicol, N-metilpirrolidona (NMP) y dimetilsulfóxido (DMSO), polietilenglicol de bajo peso molecular, clorobutanol, furfural, N,N-dimetilacetamida, glicerol-formal, isopropilidén-glicerol, lactato de etilo, ácido acético y ácido láctico. Estos ejemplos no son limitativos, y puede encontrarse totalmente contemplado llevar a cabo la invención utilizando otros solventes orgánicos hidrófilos con propiedades desestabilizantes del gel, es decir, la capacidad de crear enlaces débiles con la sustancia organogelificante según la invención.

50 La cantidad de dicho solvente hidrófilo en la composición preferentemente es inferior a 60%, más preferentemente inferior a 20%, todavía más preferentemente inferior a 10% en peso de la composición.

Propiedades físicas de la composición

55 La composición inyectable farmacéutica según la presente invención forma un implante tras la inyección en un cuerpo, permitiendo la liberación de sustancias activas en dicho cuerpo durante periodos prolongados de tiempo.

El término "inyectable" se refiere a que la composición puede inyectarse con una aguja (18 ó 20G).

60 Al prepararse extemporáneamente, la composición según la invención se encuentra en estado de gel blando que es compatible con la inyección. En caso necesario, puede añadirse un solvente orgánico hidrófilo a la composición para facilitar la inyección, tal como se ha expuesto anteriormente. Tras la inyección *in vivo*, el organogel permanece estable a la temperatura corporal.

65 Preferentemente, la composición según la presente invención se encuentra en un estado de gel blando a la temperatura ambiente (25°C). La composición según la presente invención es sensible al calor, y preferentemente

presenta una temperatura de transición del estado de gel al estado líquido superior a 37°C, más preferentemente superior a 45°C.

5 Además, la presente invención presenta propiedades histeréticas. El término "histéresis" se refiere al fenómeno físico observado especialmente para las composiciones gelificables, representando la diferencia existente entre la temperatura de transición gel/líquido y la temperatura de transición líquido/gel.

10 La composición según la presente invención puede caracterizarse adicionalmente en términos de dureza mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB) con el fin de obtener temperaturas de transición gel-líquido o gel-solución (T_{GS}) y valores de entalpía de la transición (ΔH). Además, el análisis reológico de los geles puede llevarse a cabo para determinar la dureza del gel, mediante la medición del módulo complejo G^* (ver el Ejemplo 5). G^* caracteriza la resistencia global a la deformación de un material, con independencia de si dicha deformación es recuperable (elástico) o no recuperable (viscoso).

15 La composición según la presente invención preferentemente presenta un módulo complejo G^* superior a 15 kPa y/o una entalpía de transición superior a 40 kJ/mol.

Utilización como sistema de administración

20 Un objeto adicional de la presente invención es la composición farmacéutica definida anteriormente, para su utilización a modo de medicamento.

25 Mediante la administración de una sustancia terapéutica durante varios días en un organismo, puede utilizarse la composición según la invención como medicamento, especialmente como vector para la liberación prolongada de principios activos en el cuerpo.

Dicho vector es capaz de liberar dichos principios activos en el cuerpo durante un periodo de tiempo de por lo menos 50 horas, preferentemente durante por lo menos 100 horas y durante por lo menos 150 horas.

30 Las sustancias activas incluidas dentro de la composición, especialmente las sustancias hidrófilas, pueden permanecer retenidas en el interior del organogel con la condición de que el organogel se encuentre presente en el interior del cuerpo. Dicho organogel presenta la capacidad de ser eliminado lentamente mediante erosión gradual y/o biodegradación, sin toxicidad para el cuerpo en el que se implanta, liberando de esta manera la sustancia activa. La ventaja de utilizar dicho organogel hidrófobo para administrar una sustancia terapéutica hidrófila es evitar su liberación explosiva inicial y los efectos secundarios debido a la rápida difusión de dicha sustancia hacia líquidos fisiológicos. El principio bioactivo se difundirá hacia el interior del cuerpo a partir del organogel de manera continua.

35 El organogel formado a partir de la composición según la invención es capaz de retener las moléculas bioactivas y más particularmente las moléculas de menos de 100.000 daltons en peso, de naturaleza hidrófila o hidrófoba.

40 La composición según la presente invención puede administrarse utilizando una jeringa convencional con aguja 20G, e inyectarse en el cuerpo por vía parenteral, especialmente subcutánea, intradérmica, intraperitoneal, intramuscular, intraocular o vaginal, en una herida abierta o durante la cirugía. La expresión "vía parenteral" se refiere a cualquier vía de penetración en el cuerpo aparte de la vía digestiva. Puede contemplarse la inyección por vía vascular en el caso de que se generen organogeles muy pequeños.

La invención cubre además el procedimiento de preparación de la composición anteriormente indicada, comprendiendo las tres etapas siguientes:

- 50 (a) mezclar el principio activo, la sustancia organogelificante y el líquido orgánico hidrófobo entre sí,
 (b) calentar la mezcla obtenida en la etapa (a) a una temperatura superior a la temperatura de transición del estado de gel al estado líquido de dicha composición, hasta la disolución completa de la sustancia organogelificante,
 55 (c) enfriar la mezcla obtenida en la etapa (b) a temperatura ambiente.

Alternativamente, también puede añadirse un solvente orgánico hidrófilo tal como se ha indicado anteriormente a la mezcla obtenida en la etapa (b), inmediatamente antes del enfriamiento.

60 Dicha composición es inyectable y forma *in vivo* un implante que libera continuamente el principio activo incluido (ver el Ejemplo 6).

Figuras

La figura 1 muestra la fórmula estructura de tres organogelificantes según la presente invención: (a) metil-éster de N-behenoil-L-tirosina (B-TyrOCH₃), (b) metil-éster de N-estearoil-L-tirosina (S-TyrOCH₃) y (c) metil-éster de N-lauroil-L-tirosina (L-TyrOCH₃).

La figura 2 muestra la temperatura de transición gel-solución (T_{GS}) (en °C) de geles en aceite de cártamo preparados a partir de diferentes organogelificantes y diferentes concentraciones de organogelificantes. (♦) S-AIOCH₃ (6) (■) S-TyrOCH₃, (●) S-PheOCH₃, (▲) S-TrpOCH₃, (□) B-TyrOCH₃ y (○) B-PheOCH₃ (Ala es alanina, Tyr es tirosina, Trp es triptófano y Phe es fenilalanina).

La figura 3 muestra la variación de la entalpía (en kJ/mol) de geles en aceite de cártamo preparados a partir de diferentes organogelificantes y diferentes concentraciones de organogelificantes.

(■) S-TyrOCH₃, (●) S-PheOCH₃, (▲) S-TrpOCH₃, (□) B-TyrOCH₃ y (○) B-PheOCH₃. La variación de la entalpía se ha medido mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB).

La figura 4 representa la liberación de rivastigmina a partir del organogel tras la inyección en ratas. (a) y (b) muestran los mismos datos, pero la escala de (b) es menor.

El gráfico muestra la concentración plasmática de rivastigmina tras la administración subcutánea de una dosis de 5 mg/kg de hidrogenotratrato de rivastigmina dispersado en aceite (■) (formulación de aceite) y dosis de 15 mg/kg de hidrogenotratrato de rivastigmina dispersado en gel de B-TyrOCH₃ al 5% (p/p) (□) (formulación de gel) (medias ± SD, n=8).

Ejemplos

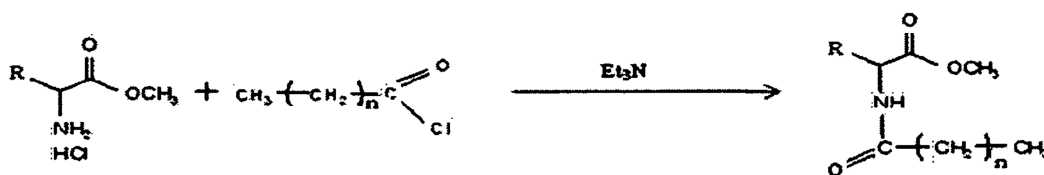
Ejemplo 1: síntesis de organogelificantes según la presente invención

Se preparó metil-éster de N-estearoil-L-tirosina (S-TyrOCH₃) mediante reacción de hidrocloreto de metil-éster de L-tirosina (HCl-TyrOCH₃) con cloruro de N-estearoil (S-COCl), tal como se indica a continuación.

Se suspendió HCl-TyrOCH₃ (1,5 g, 1,1 eq.) en 50 ml de cloroformo en un baño de hielo. Se añadió gota a gota trietilamina (1,80 ml, 2,2 eq.) a la solución fría. La solución resultó límpida. Tras 15 minutos bajo agitación, se añadió lentamente (gota a gota) S-COCl (1,78 g, 1 eq. mol.) a la mezcla de reacción fría, con el fin de controlar la reacción exotérmica. Tras 2 horas a 0°C, la mezcla se calentó a 45°C durante la noche. La mezcla permaneció transparente.

La mezcla se lavó sucesivamente con agua, una solución acuosa saturada de NaHCO₃, solución hipersalina, una solución de KHSO₄ (1 M), una solución de HCl (al 5-10%) y nuevamente agua. La fase orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. Los polvos incoloros resultantes se purificaron mediante cristalización a partir de acetato de etilo/hexano frío (proporción 4/1 v/v) y se obtuvieron unos polvos blancos de S-TyrOCH₃.

Reacción:



Se preparó metil-éster de N-behenoil-L-tirosina (B-TyrOCH₃) de la misma manera, mediante reacción de metil-éster de L-tirosina y cloruro de N-behenoil (B-COCl).

Se preparó metil-éster de N-lauroil-L-tirosina (L-TyrOCH₃) de la misma manera mediante reacción de metil-éster de L-tirosina y cloruro de N-lauroil (L-COCl).

Ejemplo 2: caracterización de los organogelificantes preparados en el Ejemplo 1

1/ Metil-éster de N-estearoil-L-tirosina (S-TyrOCH₃)

Fórmula molecular: C₂₈H₄₇O₄N.

Espectrometría de masas: peso molecular teórico: 461,68 g·mol⁻¹.

peso molecular experimental: 461,2 g·mol⁻¹.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,88 (t, 3H), 1,25 (m, 28H), 1,6 (m, 2H), 2,17 (t, 2H), 3,05 (d-quad, 2H), 3,74 (s, 3H), 4,88 (quad, 1H), 5,89 (d, 1H) et 6,7-7,0 (m, 4H).

Análisis elemental: teórico: C 72,84%, H 10,26%, N 3,03%.

5

experimental: C 72,86%, H 11,25%, N 3,06%.

Rendimiento: 77%.

10 Punto de fusión: 103,7°C.

2/ Metil-éster de N-behenoil-L-tirosina (B-TyrOCH₃)

Fórmula molecular: C₃₂H₅₅O₄N.

15

Espectrometría de masas: peso molecular teórico: 517,78 g·mol⁻¹.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,88 (t, 3H), 1,25 (m, 36H), 1,57 (quint, 2H), 2,17 (t, 2H), 3,05 (d-quad, 2H), 3,74 (s, 3H), 4,87 (quad, 1H), 5,85 (d, 1H), 6,7-7,0 (m, 4H).

20

Análisis elemental: teórico: C 74,23%, H 10,71%, N 2,71%.

experimental: C 74,06%, H 11,50%, N 2,86%.

25 Rendimiento: 80%.

3/ Metil-éster de N-lauroil-L-tirosina (L-TyrOCH₃)

Fórmula molecular: C₂₂H₃₅O₄N.

30

Espectrometría de masas: peso molecular teórico: 377,52 g·mol⁻¹.

peso molecular experimental: 377,1 g·mol⁻¹.

35 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,88 (t, 3H), 1,25 (m, 28H), 1,58 (quint, 2H), 2,18 (t, 2H), 3,04 (d-quad, 2H), 3,74 (m, 3H), 4,89 (m, 1H), 5,94 (d, 1H), 6,7-6,95 (m, 4H).

Análisis elemental: teórico: C 69,99%, H 9,34%, N 3,71%.

40

experimental: C 68,31%, H 9,30%, N 3,92%.

Rendimiento: 41%.

Punto de fusión: 86,7°C.

45

Ejemplo 3: formación de organogel basado en tirosinas.

Se utiliza el aceite de cártamo como solvente orgánico hidrófobo según la invención. La sustancia organogelificante es el metil-éster de N-estearoil-L-tirosina (S-TyrOCH₃).

50

La Tabla a continuación resume las proporciones utilizadas.

Producto	Función	Proporción
S-TyrOCH ₃	Organogelificante	al 5% p/p
Aceite de cártamo	Solvente orgánico hidrófobo	c.s. para 5 ml

55 Se mezclaron el organogelificante y aceite de cártamo en proporciones adecuadas y se calentaron a una temperatura superior a la T_{GS}, hasta la disolución del organogelificante. La solución se enfrió hasta la temperatura ambiente, obteniendo el gel.

Ejemplo 4: inyección *in vivo* de organogel basado en tirosinas.

60 Se utilizó aceite de cártamo como solvente orgánico hidrófobo según la invención.

La sustancia organogelificante seleccionada fue metil-éster de N-behenoil-L-tirosina (B-TyrOCH₃).

Proporciones de la composición:

Producto	Función	Proporción
B-TyrOCH ₃	Organogelificante	al 5% p/p
Aceite de cártamo	Solvente orgánico hidrófobo	c.s. para 5 ml

5 La composición obtenida se inyectó a continuación subcutáneamente en ratas. La inyección se llevó a cabo en el área dorsal, utilizando una jeringa convencional (aguja 20G) para la inyección subcutánea. Tras 2 horas, se sacrificó el animal y se extrajo un gel del sitio de la inyección, demostrando la presencia del organogel *in vivo*.

Ejemplo 5: características termodinámicas de la composición

10 Se solubilizaron organogelificantes a una concentración del 5% (p/p) en aceite de cártamo a temperatura elevada (>80°C) y se obtuvieron geles mediante enfriamiento de la mezcla.

15 Los geles se caracterizaron mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB) para obtener las temperaturas de transición gel-solución (TGS) y los valores de entalpía de la transición (ΔH).

15 Brevemente, se registraron los termogramas de los geles en un sistema de CDB modelo 2910 de TA Instruments (New Castle, DE). El instrumento se calibró con indio. Se añadieron cantidades previamente pesadas de los geles a platos de aluminio, que se sellaron a continuación. Se barrió la temperatura de 5°C a 90°C a 10°C/minuto. Las temperaturas de transición gel-sol (TGS) y las entalpías (ΔH) obtenidas correspondían a los máximos y a las áreas, respectivamente, de los picos endotérmicos.

20 Se llevó a cabo el análisis reológico de los geles con el fin de determinar la dureza de los mismos, mediante la medición del módulo complejo G^* . Se midieron las propiedades reológicas de los organogeles con un AR2000 (reómetro avanzado 2000, TA Instruments, New Castle, DE) con geometría de platos paralelos (diámetro: 40 mm). Los organogeles se calentaron hasta alcanzar la TGS y se situaron entre los platos paralelos. El grosor final de la capa de material entre los platos era de 650 a 750 μm . La película se enfrió a 4°C para formar el gel. En el régimen lineal del gel, se midió el módulo complejo G^* como función de la frecuencia angular (0,1 a 10 Hz) a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. $G^*=(G'^2 + G''^2)^{0,5}$, siendo G' el módulo de almacenamiento y G'' el módulo de pérdida.

30

Tabla 1

nº	TGS (°C)	H (kJ·mol ⁻¹)	G^* (kPa)
S-Ala-OCH ₃	60	55	5
S-Trp-OCH ₃	56	23	<0,1
S-Phe-OCH ₃	43	38	6,1
S-Tyr-OCH ₃	65	50	15,2
B-Phe-OCH ₃	53	61	6
B-Tyr-OCH ₃	74	71	37,6
S-Trp-OH	122	16	<0,1
S-Tyr-OH	127	18	5

35 La Tabla 1 compara TGS, ΔH y G^* para los geles obtenidos de diferentes organogelificantes. Se describe S-Ala-OCH₃ en el documento WO 03/075885. S-TrpOCH₃ se refiere a metil-éster de N-estearoil-L-triptófano; SPheOCH₃ se refiere a metil-éster de N-estearoil-L-fenilalanina; S-TrpOH se refiere a N-estearoil-L-triptófano; STyrOH se refiere a N-estearoil-L-tirosina. Dados los elevados valores de TGS, ΔH y G^* , los organogelificantes basados en Tyr aparentemente son los más resistentes y, por lo tanto, los más apropiados para la preparación de la formulación de implantación subcutánea. Además, los geles basados en derivados de tirosina se conservan sin alteraciones durante varias semanas al mezclarse con un tampón acuoso y agitarse suavemente.

40 La figura 2 muestra los termogramas de los geles en aceite de cártamo. Los geles preparados con S-TyrOCH₃ y B-TyrOCH₃ mostraban una TGS elevada. Incluso a concentraciones de tan sólo 1% (p/p), sus TGS eran superiores a la temperatura fisiológica (37°C). Los demás derivados mostraban TGS más bajas, pero todas las formulaciones podían formar geles a 37°C en el caso de que la concentración de organogelificante fuese superior a 4% (p/p).

45 La figura 3 muestra las variaciones de la entalpía de los geles en aceite de cártamo.

Ejemplo 6: farmacocinética de la liberación *in vivo* de un principio activo (rivastigmina) a partir del organogel

50 Todos los procedimientos experimentales con animales se llevaron a cabo siguiendo un protocolo aprobado por el Animal Care Committee de la University of Montreal según las directrices de cuidados de los animales del Canadian Council Animal. Se alojaron ratas Long Evans macho (300 a 325 g) (Charles River Inc., St-Constant, QC, Canadá) durante 1 semana bajo condiciones controladas (ciclo luz/oscuridad de 12:12 horas, 24°C) previamente al inicio de los experimentos. Se proporcionó alimento y agua corriente a las ratas *ad libitum*.

5 Todos los componentes de la formulación fueron esterilizados individualmente. Se esterilizaron B-TyrOCH₃ e hidrogenotartrato de rivastigmina (Riv) sobre hielo seco mediante radiación y a razón de 25 kGy utilizando una fuente de ⁶⁰Co (Nordion Inc., Laval, QC, Canadá). Se confirmó la estabilidad del organogelificante y del fármaco tras la esterilización mediante RMN-¹H. El aceite de cártamo y el NMP se filtraron a través de filtros de politetrafluoroetileno de 0,2 µm. Se mezclaron el aceite de cártamo, B-TyrOCH₃ (al 5% p/p) y la rivastigmina a 85°C hasta la solubilización del organogelificante. Se añadió N-metilpirrolidona (NMP) (al 3% p/p) a temperatura elevada, se mezcló y se prepararon jeringas con formulación de gel (aguja 20G) bajo condiciones asépticas y se dejaron sobre hielo durante 15 minutos y a temperatura ambiente antes de la inyección. Se preparó una formulación de control sin el organogelificante bajo las mismas condiciones (formulación de aceite).

10 Composición de la formulación de gel:

Producto	Función	Proporción
Rivastigmina	Principio activo	al 1,5% p/p
B-TyrOCH ₃	Organogelificante	al 5% p/p
NMP	Solvente orgánico hidrófilo	al 3% p/p
Aceite de cártamo	Solvente orgánico hidrófobo	c.s. para 300 µl

15 Composición de la formulación de aceite:

Producto	Función	Proporción
Rivastigmina	Principio activo	al 0,5% p/p
NMP	Solvente orgánico hidrófilo	al 3% p/p
Aceite de cártamo	Solvente orgánico hidrófobo	c.s. para 300 µl

20 Las ratas se clasificaron en dos grupos (n=8) y se les proporcionó una única inyección s.c. de aproximadamente 300 µl de la formulación apropiada en el área dorsal superior utilizando una jeringa 20G. Las ratas recibieron inyecciones con las dosis aproximadas de rivastigmina siguientes: 5 mg/kg para la formulación de aceite y 15 mg/kg para la formulación de gel. La cantidad exacta de la formulación inyectada se obtuvo como la diferencia de peso de las jeringas antes y después de la inyección.

25 Se recogieron periódicamente muestras de sangre (400 µl) de la vena subclavia bajo anestesia con isoflurano y posteriormente se centrifugaron para recoger el plasma. Se añadieron 2 volúmenes de metanol, se centrifugaron y las muestras se analizaron mediante CL/EM/EM utilizando un estándar interno: 7(β-hidroxi-etil-teofilina), con el fin de obtener valores de la concentración de fármaco en el plasma (ng/ml de plasma).

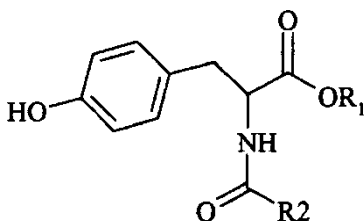
30 La liberación de la rivastigmina en el animal se sostuvo durante 100 horas (en comparación con 48 horas sin organogelificante) y no se produjo ninguna liberación explosiva, subrayando la ventaja de utilizar organogeles y no una formulación de aceite. Ver también la figura 4.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica inyectable con propiedades gelificantes, que contiene:

- 5
- un principio activo;
 - un líquido orgánico hidrófobo y biocompatible; y
- 10
- una sustancia organogelificante, cuyas moléculas presentan la capacidad de unirse entre sí mediante enlaces de baja energía,

en la que dicha sustancia organogelificante se selecciona de entre derivados de L-tirosina que responden a la fórmula (I) siguiente:



(I)

- 15
- en la que:
- R¹ es un grupo alquilo que contiene 1 a 3 átomos de carbono, lineal o ramificado; y
 - R² es un grupo hidrófobo seleccionado de entre cadenas grasas alifáticas saturadas o insaturadas o grupos arilo o arilalquilo.
- 20
2. Composición según la reivindicación 1, en la que R² es -(CH₂)_n-CH₃ y n es un número entero comprendido entre 10 y 23, preferentemente entre 16 y 20, más preferentemente es 16 o 20.
- 25
3. Composición según la reivindicación 1, en la que R² es una cadena grasa insaturada que comprende entre 11 y 24 átomos de carbono, preferentemente entre 17 y 21, que comprende más preferentemente 17 o 21 átomos de carbono.
- 30
4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que R¹ es un grupo metilo o etilo.
- 35
5. Composición según la reivindicación 3 o 4, en la que la sustancia organogelificante se selecciona de entre metil-éster de N-behenoil-L-tirosina (B-TyrOCH₃), metil-éster de N-estearoil-L-tirosina (S-TyrOCH₃) y metil-éster de N-lauroil-L-tirosina (L-TyrOCH₃).
- 40
6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la sustancia organogelificante representa entre 0,5% y 10% en peso respecto al peso total de dicha composición, preferentemente entre 1% y 5%, más preferentemente entre 1% y 3%.
- 45
7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el líquido orgánico hidrófobo y biocompatible se selecciona de entre aceites vegetales, aceites sintéticos o semisintéticos, y mezclas de los mismos.
- 50
8. Composición según la reivindicación 7, en la que el líquido orgánico hidrófobo y biocompatible contiene monoglicéridos, diglicéridos y/o triglicéridos.
9. Composición según la reivindicación 8, en la que las cadenas de hidrocarburo de dichos triglicéridos comprenden entre 11 y 24 átomos de carbono, preferentemente entre 17 y 21 átomos de carbono.
10. Composición según la reivindicación 7, en la que el aceite vegetal se selecciona de entre aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de oliva, aceite de maíz, aceite de ricino, aceite de sésamo o aceite de almendra y sus mezclas.

11. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el principio activo se disuelve o se dispersa en dicha composición.
- 5 12. Composición según la reivindicación 11, en la que el principio activo se selecciona de entre fármacos tales como morfina, heparina, anticolinesterasa, tal como rivastigmina, galantamina, donepezilo, o antagonistas de receptor de N-metil-D-aspartato, tales como memantina, proteínas, tales como interferón α o interferón β ; anticuerpos o interleucinas; hormonas, tales como somatostatina o eritropoyetina, péptidos, aminoácidos, vitaminas, ácidos nucleicos y oligonucleótidos.
- 10 13. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que el principio activo representa entre 0,5% y 5% en peso respecto al peso total de la composición.
- 15 14. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, que comprende además un solvente orgánico hidrófilo.
- 20 15. Composición según la reivindicación 14, en la que dicho solvente orgánico hidrófilo se selecciona de entre etanol, glicerol, alcohol bencílico, propilenglicol, N-metilpirrolidona y dimetilsulfóxido, poli(etilen)glicol de bajo peso molecular, clorobutanol, furfural, N,N-dimetilacetamida, glicerol-formal, isopropilidén-glicerol, lactato de etilo, ácido acético y ácido láctico.
- 25 16. Composición según la reivindicación 14 o 15, en la que la cantidad de dicho solvente hidrófilo en la composición es inferior a 60%, preferentemente inferior a 20%, más preferentemente inferior a 10% en peso de la composición.
- 30 17. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en la que dicha composición presenta una temperatura de transición de estado de gel a estado líquido superior a 37°C, preferentemente superior a 45°C.
- 35 18. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, que presenta un módulo complejo G^* superior a 15 kPa y/o una entalpía de transición superior a 40 kJ/mol.
- 40 19. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, para su utilización como un medicamento.
- 45 20. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, que puede inyectarse en el cuerpo por vía parenteral, especialmente subcutánea, intradérmica, intraperitoneal, intramuscular, intraocular o vaginal, en una herida abierta o durante la cirugía.
- 50 21. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, como vector para la liberación prolongada de principios activos en el cuerpo.
22. Composición según la reivindicación 21, en la que dicho vector puede liberar dichos principios activos en el cuerpo durante un periodo de tiempo de por lo menos entre 100 y 150 horas.
23. Procedimiento para preparar la composición según la reivindicación 1, que comprende las tres etapas siguientes:
- (a) mezclar el principio activo, la sustancia organogelificante y el líquido orgánico hidrófobo conjuntamente,
- (b) calentar la mezcla obtenida en la etapa (a) a una temperatura superior a la temperatura de transición del estado de gel al estado de líquido de dicha composición, hasta la disolución completa de la sustancia organogelificante,
- (c) enfriar la mezcla obtenida en la etapa (b) a temperatura ambiente.
24. Procedimiento según la reivindicación 23, en el que se añade un solvente orgánico hidrófilo a la mezcla obtenida en la etapa (b) antes del enfriamiento.

Figura 1

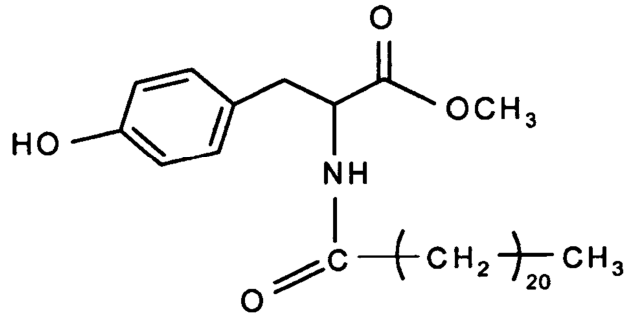
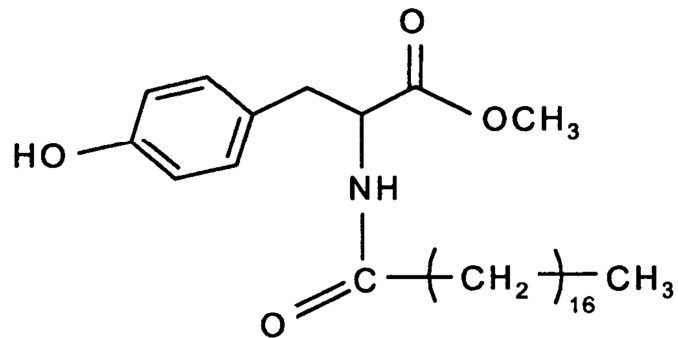
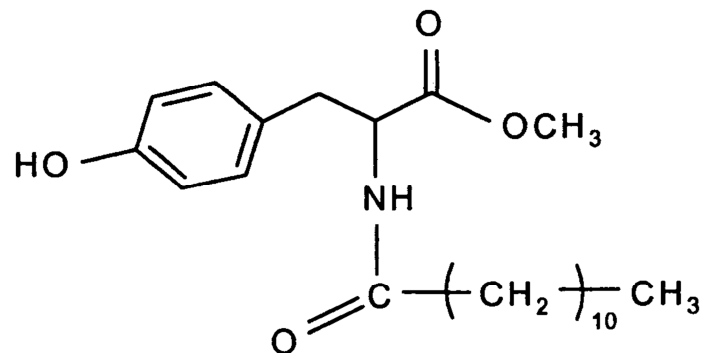
(a) **B-TyrOCH₃**(b) **S-TyrOCH₃**(c) **L-TyrOCH₃**

Figura 2

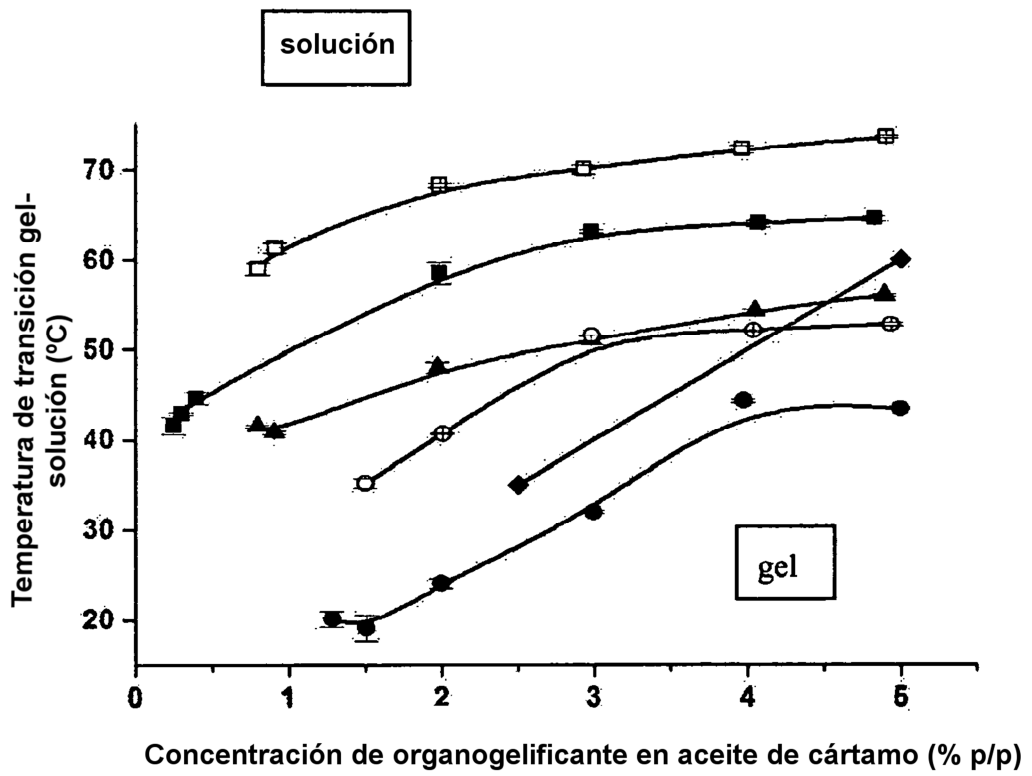


Figura 3

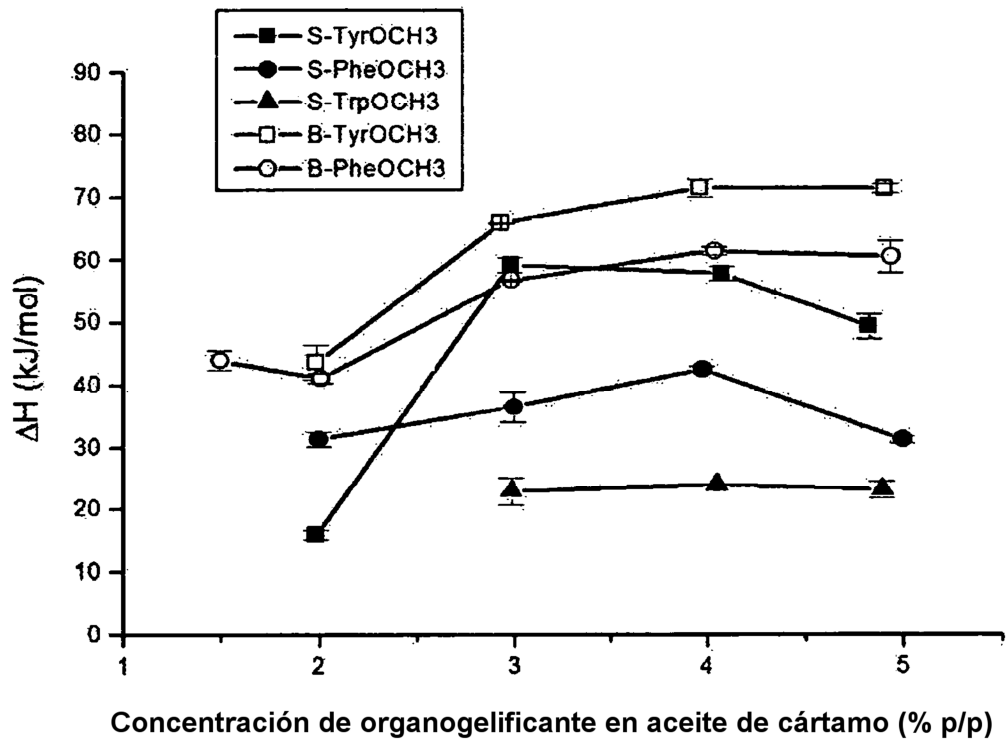


Figura 4

