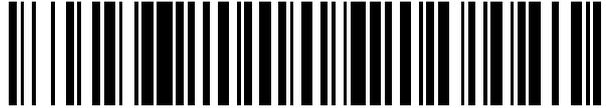


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 282**

51 Int. Cl.:

A61K 9/52 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)
A61K 38/22 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.01.2008 E 08712168 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.01.2015 EP 2134329**

54 Título: **Composición y microesfera para la liberación controlada de exendina, y método para su preparación**

30 Prioridad:

27.03.2007 KR 20070029586

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

06.02.2015

73 Titular/es:

**PEPTRON CO., LTD. (100.0%)
385-19 DORYONG-DONG, YUSEONG-GU
305-340 DAEJEON, KR**

72 Inventor/es:

**LEE, HEE-YONG;
SEOL, EUN-YOUNG;
KIM, JOON-SIK;
BAEK, MI-JIN;
KIM, JUNG-SOO;
LEE, JU-HAN;
CHAE, YEON-JIN;
LIM, CHAE-JIN;
BAEK, MI-YOUNG y
CHOI, HO-IL**

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 528 282 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 y microesfera para la liberación controlada de exendina, y método para su preparación

5 **Antecedentes de la invención****(a) Campo de la invención**

10 **[0001]** La presente invención se refiere a una composición de liberación controlada y a una microesfera de liberación controlada que contiene una exendina como principio activo, y a su método de preparación como se define en las reivindicaciones.

(b) Descripción de la técnica relacionada

15 **[0002]** Las exendinas son agonistas del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) que actúan como la hormona GLP-1 en el cuerpo, y la exendina-4 tiene una homología de secuencia del 53 % con la secuencia de aminoácidos de GLP-1(7-36)NH₂ (Goke, y col., J. Biol. Chem., 268: 19650-19655, 1993).

20 **[0003]** La GLP-1, una hormona incretina representativa, es un péptido segregado por las células L en el intestino, se segrega cuando se produce la entrada de alimentos en el tracto digestivo, y reduce el nivel de azúcar en sangre estimulando la secreción de insulina por las células beta del páncreas (Orskov, y col., Diabetes, 42:658-661, 1993). Además, la GLP-1 inhibe la liberación de glucagón por las células alfa del páncreas (D'Alessio, y col., J. Clin. Invest., 97:133-138, 1996), e incrementa el tiempo de vaciado gástrico-intestinal que produce una inhibición en la ingesta de alimentos (Schira, y col., J. Clin. Invest., 97:92-103, 1996). La GLP-1 tiene funciones no sólo para
25 estimular la secreción de insulina por las células beta del páncreas, sino también para incrementar la velocidad de proliferación y tasa de supervivencia de las células beta (Buteau, y col., Diabetologia, 42:856-864, 1999). No obstante, la GLP-1 pierde su función debido a la escisión de su región N-terminal por la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4), y tiene una semi-vida muy corta de 2 minutos aproximadamente (Pridal, y col., Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet., 21:51-59, 1996; Deacon, y col., Diabetes, 47:764-769, 1998).

30 **[0004]** Se sabe que las exendinas incrementan la secreción de insulina dependiendo del nivel de azúcar en sangre en el cuerpo, para inhibir la liberación posprandial de glucagón, y reducir la velocidad de vaciado gástrico intestinal que produce una inhibición de la ingesta de comida. Además, las exendinas tienen la ventaja de tener una semi-vida más prolongada que la GLP-1, puesto que la exendina, a diferencia de la GLP-1, no se escinde en la
35 región N terminal por la DPP-4, y así las exendinas pueden mantener su función en el cuerpo durante un período más prolongado que la GLP-1 (Thum, y col., Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes., 110:113-118, 2002). Las exendinas se encuentran en las secreciones salivales del monstruo de Gila y el lagarto moteado mexicano, con la exendina-3 que se encuentra en el lagarto moteado mexicano, *Heloderma horridum*, y la exendina-4 que se encuentra en el monstruo de Gila, *Heloderma suspectum* (Eng, J., y col., J. Biol. Chem., 265:20259-62, 1990; Eng, J., y col., J. Biol. Chem., 267:7402-05, 1992).

40 **[0005]** Mediante inyecciones intraperitoneales una vez al día de exendina-4 en ratones ob/ob diabéticos se ha confirmado que la exendina-4 tiene un efecto prolongado de reducción del nivel de azúcar en sangre (Greig y col., Diabetologia 42:45-50, 1999). Recientemente, la exendina-4 se ha formulado como agente para inyección que
45 se inyecta por vía subcutánea dos veces al día a una dosis de 5 µg o 10 µg. Aunque la exendina es estable contra la enzima DPP-4, se sabe que provoca efectos secundarios como vómitos, náuseas, dolores de cabeza, y similares, cuando se inyecta por vía subcutánea a un ser humano a una dosis de 0,2 µg/kg o superior (Drug Development Research, 53:260-267, 2001). Para la administración de exendinas, el límite de dosificación debido a los efectos secundarios por la descarga inicial y la alta concentración en sangre inicial es el mayor obstáculo para el desarrollo
50 de un agente de liberación controlada de exendina.

[0006] En general, un agente de liberación controlada de un fármaco acuoso presenta una liberación muy elevada en la fase inicial después de su administración, y se han realizado diversos estudios para reducir la
55 descarga inicial excesiva. En particular, en el desarrollo de un agente de liberación controlada de exendinas, es indispensable la reducción de la descarga inicial para evitar efectos secundarios tales como vómitos, náuseas, dolores de cabeza, y similares, provocados por la descarga inicial excesiva.

[0007] Para reducir la descarga inicial de microesferas de liberación controlada que contienen octreótido con efecto terapéutico en acromegalia y similares, existe un estudio para producir microesferas preparando una emulsión
60 primaria del fármaco junto con glucosa, y a continuación la realización de un método de emulsión doble. En este estudio, se ha revelado que se puede reducir la descarga inicial cargando el fármaco junto con glucosa. No obstante, en unas condiciones de preparación en las que la descarga inicial de las microesferas es del 5 % aproximadamente, la adición de glucosa no puede producir un incremento en la cantidad de carga, y más bien aumenta la descarga inicial (J. Wang y col., Biomaterials, 25:1919-1927, 2004).

65 **[0008]** Por tanto, la técnica desvelada en el documento anterior es difícil de aplicar a la preparación de una

formulación de liberación controlada de una exendina en la que la descarga inicial debe ser del 5 % o inferior para reducir los efectos secundarios provocados por la descarga inicial.

[0009] Las patentes de Estados Unidos nº 7.164.005 y US 2005/0271702 desvelan un método de preparación de microesferas que contienen exendina mediante un método de separación de fases usando un polímero de poli(láctido-co-glicólido) (PLGA) en el que la relación de láctido:glicólido es de 50:50. En los documentos anteriores, como polímero se usa el polímero 3A (VI = 0,38 dl/g), el polímero 4A (VI = 0,42 dl/g), y similares, en particular el polímero 4A, suministrado por Alkermes Inc. En los documentos anteriores, las microesferas se preparan mezclando un fármaco peptídico con componentes de precipitación salina tales como sulfato de amonio y azúcares tales como sacarosa y manitol para preparar una emulsión primaria, con el fin de mejorar la biodisponibilidad de las microesferas que constan de una exendina y del polímero 3A, o 4A, y la estabilidad del fármaco peptídico. Es decir, los documentos pretenden mejorar la biodisponibilidad añadiendo aditivos tales como azúcares, sulfato de amonio, y similares, permitiendo así una liberación suficiente de la exendina de una matriz polimérica. En consecuencia, la biodisponibilidad se puede mejorar en cierta medida, pero el valor de $C_{m\acute{a}x}$ es demasiado elevado, generando así el problema de los efectos secundarios provocados por una descarga inicial alta. Es decir, cuando se aumenta la biodisponibilidad, la descarga inicial se vuelve excesiva, mientras que cuando la descarga inicial se reduce, la biodisponibilidad es baja.

[0010] El documento US 2006/034923 desvela composiciones para la administración con liberación controlada de compuestos activos como, por ejemplo, exendinas que comprenden un polianión derivado de hexahidroxíciclohexano y un vehículo aceptable que comprende un polímero biodegradable (por ejemplo, poliláctidos) para la preparación de una composición con acción duradera y una descarga inicial baja. En una realización, se desvela una microesfera recubierta de polímero de doble pared que comprende dos cubiertas poliméricas, que sin embargo no comprende arginina, histidina o lisina como aminoácidos básicos o similares.

[0011] Como se ha descrito anteriormente, las técnicas existentes de preparación de una microesfera de liberación controlada presentan limitaciones en el sentido de que la microesfera preparada tiene una descarga inicial excesivamente alta y una biodisponibilidad insuficiente para su aplicación a la preparación de microesferas de liberación controlada que contienen exendina que requieran la minimización de los efectos secundarios provocados por la alta descarga inicial junto con una biodisponibilidad mejorada.

[0012] Por tanto, para resolver los problemas anteriores, es necesario desarrollar una formulación biodegradable que contiene exendina que presente una baja descarga inicial y una biodisponibilidad mejorada.

35 **Sumario de la invención**

[0013] Con el fin de cumplir los requerimientos anteriores, es un objeto de la presente invención proporcionar un agente de liberación controlada con una alta biodisponibilidad que contiene una exendina como principio activo y un polímero biodegradable como vehículo, en el que se reduce la descarga inicial excesiva que es uno de los problemas de los agentes de liberación controlada existentes, y un método de preparación del mismo como se define en las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

45 **[0014]**

La Figura 1 es una gráfica que muestra la variación en la concentración de fármaco en sangre en ratas dependiendo de la presencia de una capa de recubrimiento en una formulación de RG502H que contiene exendina.

50 La Figura 2 es una gráfica que muestra la variación en la concentración de fármaco en sangre en ratas dependiendo de la presencia de una capa de recubrimiento en una formulación de RG503H que contiene exendina.

La Figura 3 es una gráfica que muestra la variación en la concentración de fármaco en sangre en ratas dependiendo de la presencia de una capa de recubrimiento y del tipo de materiales de recubrimiento en una mezcla de formulación de RG502H:RG503H=1:1 que contiene exendina.

55 La Figura 4a es una imagen de microscopía electrónica de microesferas preparadas mediante un método de emulsión doble convencional.

La Figura 4b es una imagen de microscopía electrónica de microesferas recubiertas con materiales de recubrimiento específicos mediante un método de emulsión doble de acuerdo con la presente invención.

60 La Figura 4c es una imagen de microscopía electrónica de microesferas preparadas mediante un método de emulsión doble con materiales de recubrimiento en una fase acuosa primaria.

La Figura 4d es una imagen de microscopía electrónica de microesferas preparadas mediante un método de emulsión doble con materiales de recubrimiento disueltos con polímeros en fase oleosa.

65

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

- 5 **[0015]** Una apreciación más completa de la invención, y de sus muchas ventajas asociadas, será evidente a medida que se entienda mejor en referencia a la siguiente descripción detallada.
- [0016]** La presente invención se refiere a una composición de microesferas de liberación controlada que contienen exendina con una alta biodisponibilidad y una descarga inicial de fármaco reducida cuando se administra al cuerpo como se define en las reivindicaciones.
- 10 **[0017]** La patente de Corea número 140.209 desvela un método de preparación de una microesfera disolviendo un fármaco acuoso con materiales orgánicos básicos específicos para preparar una emulsión primaria, y a continuación la realización de un método de emulsión doble, con el fin de inhibir la descarga inicial del fármaco acuoso. El documento anterior desvela un incremento en la eficiencia de carga del fármaco y la inhibición de una descarga inicial alta innecesaria al formar una capa fuerte por interacción entre los restos ácidos de los polímeros biodegradables y los restos básicos del fármaco. Como se desvela en el documento anterior, ese método puede ser útil en la preparación de una composición de liberación controlada que contiene un polipéptido básico o neutro, tal como LHRH, TRH, y sus derivados. No obstante, el método puede no ser útil dependiendo de las características de los fármacos a cargar, en particular, en la preparación de una composición de liberación controlada que contiene un fármaco ácido con un peso molecular relativamente más alto en comparación con la LHRH y TRH, tal como una exendina y similares. Además, en el método anterior, la adición de materiales básicos provoca un incremento de la porosidad de la superficie de las microesferas preparadas, y así el método no es adecuado para la preparación de una formulación de liberación controlada que contiene una exendina que presenta diversos efectos secundarios provocados por la descarga inicial.
- 25 **[0018]** Los presentes inventores han confirmado que se pueden formar microesferas que tienen una alta biodisponibilidad y sin efectos secundarios derivados de una descarga inicial excesiva al recubrirlas con materiales de recubrimiento específicos como se define en las reivindicaciones durante o después de la preparación de microesferas que contienen exendina usando polímeros biodegradables como vehículos, para completar la presente invención.
- 30 **[0019]** En primer lugar, la presente divulgación proporciona una composición de liberación controlada que contiene una exendina como principio activo, un polímero biodegradable con una viscosidad específica, y materiales de recubrimiento, que tienen una alta biodisponibilidad y que presentan una liberación sostenida del principio activo a una concentración efectiva durante un cierto período sin una descarga inicial excesiva del principio activo.
- 35 **[0020]** En otro aspecto, la presente invención proporciona una microesfera de liberación controlada que contiene un núcleo que incluye exendina como principio activo y un polímero biodegradable; y una capa de recubrimiento como se define en las reivindicaciones.
- 40 **[0021]** La presente invención se describe a continuación con mayor detalle.
- [0022]** En la presente invención, la exendina puede ser una o más seleccionadas del grupo que consiste en exendina-3 (SEQ ID NO: 1), exendina-4 (SEQ ID NO: 2), y fragmentos, derivados, y sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 45 **[0023]** Los derivados de exendina pueden ser un compuesto representado mediante la siguiente Fórmula química I, o sus sales farmacéuticamente aceptables.
- Fórmula química I
- 50 Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 Xaa14 Xaa15 Xaa16 Xaa17 Ala Xaa19 Xaa20 Xaa21 Xaa22 Xaa23 Xaa24 Xaa25 Xaa26 Xaa27 Xaa28-Z1,
- en la que:
- 55 Xaa1 es His, Arg, Tyr, Ala, Norval, Val, Norleu, o 4-imidazopropionilo;
Xaa2 es Ser, Gly, Ala, o Thr;
Xaa3 es Ala, Asp, o Glu;
Xaa4 es Ala, Norval, Val, Norleu, o Gly;
- 60 Xaa5 es Ala o Thr;
Xaa6 es Ala, Phe, Tyr, o naftilalanina;
Xaa7 es Thr o Ser;
Xaa8 es Ala, Ser, o Thr;
Xaa9 es Ala, Norval, Val, Norleu, Asp, o Glu;
- 65 Xaa10 es Ala, Leu, Ile, Val, pentilglicina, o Met;
Xaa11 es Ala o Ser;

- Xaa12 es Ala o Lys;
 Xaa13 es Ala o Gln;
 Xaa14 es Ala, Leu, Ile, pentilglicina, Val, o Met;
 Xaa15 es Ala o Glu;
 5 Xaa16 es Ala o Glu;
 Xaa17 es Ala o Glu;
 Xaa19 es Ala o Val;
 Xaa20 es Ala, o Arg;
 Xaa21 es Ala, Leu, o Lys-NHε-R (en la que R es Lys, Arg, o un alcanilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada);
 10 Xaa22 es Ala, Phe, Tyr, o naftilalanina;
 Xaa23 es Ile, Val, Leu, pentilglicina, terc-butilglicina, o Met;
 Xaa24 es Ala, Glu, o Asp;
 Xaa25 es Ala, Trp, Phe, Tyr, o naftilalanina;
 Xaa26 es Ala o Leu;
 15 Xaa27 es Ala o Lys;
 Xaa28 es Ala o Asn; y
 Z1 es —OH,
 —NH₂,
 Gly-Z2,
 20 Gly Gly-Z2,
 Gly Gly Xaa31-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly-Z2,
 25 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38-Z2, o
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38 Xaa39-Z2,
 30
 (en la que Xaa31, Xaa36, Xaa37, y Xaa38 son independientemente Pro, homoprolina, 3Hyp, 4Hyp, tioprolina, N-aquilglicina, N-alquilpentilglicina, o N-alquilalanina, Xaa39 es Ser, o Tyr, y más preferentemente Ser, y Z2 es —OH, o —NH₂),
 a condición de que no más de tres de Xaa3, Xaa4, Xaa5, Xaa6, Xaa8, Xaa9, Xaa10, Xaa11, Xaa12, Xaa13, Xaa14,
 35 Xaa15, Xaa16, Xaa17, Xaa19, Xaa20, Xaa21, Xaa24, Xaa25, Xaa26, Xaa27, y Xaa28 sean Ala, y cuando Xaa1 es His, Arg, o Tyr, al menos uno de Xaa3, Xaa4, y Xaa9 es Ala.

[0024] Grupos N-alquilo preferidos para N-aquilglicina, N-alquilpentilglicina, y N-alquilalanina pueden incluir grupos alquilo inferiores preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono aproximadamente, más preferentemente de 1 a 4 átomos de carbono. El compuesto representado por la Fórmula química I puede incluir compuestos identificados en los Ejemplos 1 a 89 (Compuestos 1 a 89, respectivamente) y los compuestos correspondientes identificados en los Ejemplos 104 y 105 en la solicitud PCT número de serie PCT/US98/24273 presentada el 13 de noviembre de 1998, titulada "Novel Exendin Agonist Compounds".

45 **[0025]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden incluir aquellos en los que Xaa1 es His, Ala, Norval, o 4-imidazopropionilo, más preferentemente, Xaa1 es His, Ala, o 4-imidazopropionilo, e incluso más preferentemente, Xaa1 es His o 4-imidazopropionilo.

50 **[0026]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa2 es Gly.

[0027] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa3 es Ala.

55 **[0028]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa4 es Ala.

[0029] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa9 es Ala.

60 **[0030]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa14 es Leu, pentilglicina, o Met.

[0031] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa21 es Lys-NHε-R (en la que R es Lys, Arg, o un alcanilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada).

[0032] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa25 es Trp o Phe.

[0033] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa6 es Ala, Phe, o naftilalanina, Xaa22 es Phe o naftilalanina, y Xaa23 es Ile o Val. Además, los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa31, Xaa36, Xaa37, y Xaa38 se seleccionan independientemente del grupo constituido por Pro, homoprolina, tioprolina, y N-alquilalanina, y más preferentemente Z1 es —NH_2 y Z2 es —NH_2 .

10 **[0034]** En otro aspecto, los derivados de exendina preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa1 es Ala, His, o Tyr, y más preferentemente Ala o His; Xaa2 es Ala o Gly; Xaa6 es Phe o naftilalanina; Xaa14 es Ala, Leu, pentilglicina, o Met; Xaa22 es Phe o naftilalanina; Xaa23 es Ile o Val; Xaa31, Xaa36, Xaa37, y Xaa38 se seleccionan independientemente del grupo constituido por Pro, homoprolina, tioprolina, y N-alquilalanina; Xaa39 es Ser o Tyr, y más preferentemente Ser; y preferentemente Z1 es —NH_2 .

15 **[0035]** Según un aspecto preferido en particular, los derivados de exendina especialmente preferidos de Fórmula química I pueden ser aquellos en los que Xaa1 es His o Ala; Xaa2 es Gly o Ala; Xaa3 es Ala, Asp, o Glu; Xaa4 es Ala o Gly; Xaa5 es Ala o Thr; Xaa6 es Phe o naftilalanina; Xaa7 es Thr o Ser; Xaa8 es Ala, Ser, o Thr; Xaa9 es Ala, Asp, o Glu; Xaa10 es Ala, Leu, o pentilglicina; Xaa11 es Ala o Ser; Xaa12 es Ala o Lys; Xaa13 es Ala o Gln; Xaa14 es Ala, Leu, Met, o pentilglicina; Xaa15 es Ala o Glu; Xaa16 es Ala o Glu; Xaa17 es Ala o Glu; Xaa19 es Ala o Val; Xaa20 es Ala o Arg; Xaa21 es Ala o Leu; Xaa22 es Phe o naftilalanina; Xaa23 es Ile, Val, o terc-butilglicina; Xaa24 es Ala, Glu, o Asp; Xaa25 es Ala, Trp, o Phe; Xaa26 es Ala o Leu; Xaa27 es Ala o Lys; Xaa28 es Ala o Asn; Z1 es —OH , —NH_2 , Gly-Z2, Gly Gly-Z2, Gly Gly Xaa31-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38-Z2, o Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38 Xaa39-Z2; Xaa31, Xaa36, Xaa37, y Xaa38 son independientemente Pro, homoprolina, tioprolina, o N-metilalanina; Xaa39 es Ser o Tyr, y más preferentemente Ser; y Z2 es —OH o —NH_2 , a condición de que no más de tres de Xaa3, Xaa5, Xaa6, Xaa8, Xaa10, Xaa11, Xaa12, Xaa13, Xaa14, Xaa15, Xaa16, Xaa17, Xaa19, Xaa20, Xaa21, Xaa24, Xaa25, Xaa26, Xaa27, y Xaa28 sean Ala, y cuando Xaa1 es His, Arg, o Tyr, al menos uno de Xaa3, Xaa4, y Xaa9 puede ser Ala.

[0036] Compuestos de Fórmula química I preferidos en particular pueden incluir aquellos que tienen las secuencias de aminoácidos SEQ ID Nos: 5 a 93 expuestas en la solicitud PCT número de serie PCT/US98/25728, o aquellas expuestas en la solicitud provisional de Estados Unidos 60/066029.

35 **[0037]** Según un aspecto especialmente preferido, se proporcionan compuestos en los que Xaa14 es Leu, Ile, Val, o pentilglicina, y más preferentemente Leu o pentilglicina; y Xaa25 es Ala, Phe, Tyr, o naftilalanina, y más preferentemente Phe o naftilalanina. Estos compuestos serán menos susceptibles a la degradación oxidativa, tanto *in vitro* como *in vivo*, así como durante la síntesis del compuesto.

40 **[0038]** En otro aspecto, los derivados de exendina también pueden incluir los compuestos representados mediante la Fórmula química II o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Fórmula química II

45 Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 Xaa14 Xaa15 Xaa16 Xaa17 Ala Xaa19 Xaa20 Xaa21 Xaa22 Xaa23 Xaa24 Xaa25 Xaa26 X1-Z1,

en la que

50 Xaa1 es His, Arg, Tyr, Ala, Norval, Val, Norleu, o 4-imidazopropionilo;

Xaa2 es Ser, Gly, Ala, o Thr;

Xaa3 es Ala, Asp, o Glu;

Xaa4 es Ala, Norval, Val, Norleu, o Gly;

55 Xaa5 es Ala o Thr;

Xaa6 es Ala, Phe, Tyr, o naftilalanina;

Xaa7 es Thr o Ser;

Xaa8 es Ala, Ser, o Thr;

Xaa9 es Ala, Norval, Val, Norleu, Asp, o Glu;

60 Xaa10 es Ala, Leu, Ile, Val, pentilglicina, o Met;

Xaa11 es Ala o Ser;

Xaa12 es Ala o Lys;

Xaa13 es Ala o Gln;

Xaa14 es Ala, Leu, Ile, pentilglicina, Val, o Met;

65 Xaa15 es Ala o Glu;

Xaa16 es Ala o Glu;

- Xaa17 es Ala o Glu;
 Xaa19 es Ala o Val;
 Xaa20 es Ala o Arg;
 Xaa21 es Ala, Leu, o Lys-NHε-R (en la que, R es Lys, Arg, un alcanoilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada, o cicloaleil-alcanoilo);
 5 Xaa22 es Phe, Tyr, o naftilalanina;
 Xaa23 es Ile, Val, Leu, pentilglicina, terc-butilglicina, o Met;
 Xaa24 es Ala, Glu, o Asp;
 Xaa25 es Ala, Trp, Phe, Tyr, o naftilalanina;
 10 Xaa26 es Ala o Leu;
 X1 es Lys Asn, Asn Lys, Lys-NHε-R Asn, Asn Lys-NHε-R, Lys-NHε-R Ala, Ala Lys-NHε-R (en la que R es Lys, Arg, un alcanoilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada, o cicloalquilalcanoilo);
 Z1 es —OH,
 —NH₂,
 15 Gly-Z2,
 Gly Gly-Z2,
 Gly Gly Xaa31-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser-Z2,
 20 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37-Z2,
 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38-Z2, o
 25 Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38 Xaa39-Z2,

(en la que Xaa31, Xaa36, Xaa37, y Xaa38 se seleccionan independientemente del grupo constituido por Pro, homoprolina, 3Hyp, 4Hyp, tioprolina, N-aquilglicina, N-aquilpentilglicina, y N-aquilalanina, Xaa39 es Ser o Tyr, y Z2 es —OH o —NH₂),

- 30 a condición de que no más de tres de Xaa3, Xaa4, Xaa5, Xaa6, Xaa8, Xaa9, Xaa10, Xaa11, Xaa12, Xaa13, Xaa14, Xaa15, Xaa16, Xaa17, Xaa19, Xaa20, Xaa21, Xaa24, Xaa25, y Xaa26 sean Ala, y cuando Xaa1 es His, Arg, Tyr, o 4-imidazopropionilo, al menos uno de Xaa3, Xaa4, y Xaa9 es Ala.

- [0039]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden incluir aquellos en los que Xaa1 es His, Ala, Norval, o 4-imidazopropionilo, preferentemente His, 4-imidazopropionilo, o Ala, y más preferentemente His, o 4-imidazopropionilo.

- [0040]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa2 es Gly.

- 40 **[0041]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa4 es Ala.

- [0042]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa9 es Ala.

- [0043]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa14 es Leu, pentilglicina, o Met.

- 50 **[0044]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa25 es Trp o Phe.

- [0045]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa6 es Ala, Phe, o naftilalanina, Xaa22 es Phe o naftilalanina, y Xaa23 es Ile o Val.

- 55 **[0046]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Z1 es —NH₂.

- [0047]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa31, Xaa36, Xaa37, y Xaa38 se seleccionan independientemente del grupo constituido por Pro, homoprolina, tioprolina, y N-aquilalanina.

- [0048]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa39 es Ser o Tyr, y preferentemente Ser.

- 65 **[0049]** Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Z2 es —

NH₂.

[0050] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Z1 es — NH₂.

5

[0051] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que Xaa21 es Lys-NHε-R (en la que, R es Lys, Arg, o un alcanoilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada).

[0052] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden ser aquellos en los que X1 es Lys Asn, Lys-NHε-R Asn, o Lys-NHε-R Ala (en la que R es Lys, Arg, o a un alcanoilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada).

[0053] Los derivados de exendina preferidos de Fórmula química II pueden incluir compuestos que tienen las secuencias de aminoácidos identificadas como SEQ ID Nos: 95-110 expuestas en el documento WO99/025728. Los derivados de exendina de Fórmula química II pueden incluir compuestos que tienen las secuencias de aminoácidos identificadas como SEQ ID Nos: 5-93, como se describe en la solicitud PCT/US98/24210 presentada el 13 de noviembre de 1998, titulada "Novel Exendin Agonist Compounds". En otro aspecto, los derivados de exendina de Fórmula química II pueden incluir compuestos que tienen las secuencias de aminoácidos identificadas como SEQ ID Nos: 37-40 expuestas en el documento WO99/007404.

15

[0054] Las abreviaturas usadas en la Fórmula química I y II significan lo siguiente.

"ACN" y "CH3CN" hacen referencia a acetonitrilo.

"Boc", "tBoc", y "Tboc" hacen referencia a t-butoxi carbonilo.

25 "DCC" hace referencia a N,N'-diciclohexilcarbodiimida.

"Fmoc" hace referencia a fluorenilmetoxicarbonilo.

"HBTU" hace referencia a hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3,-tetrametiluronio.

"HOBt" hace referencia a monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol.

"homoP" y "hPro" hacen referencia a homoprolina.

30 "MeAla" y "Nme" hacen referencia a N-metilalanina.

"naph" hace referencia a naftilalanina.

"pG" y "pGly" hacen referencia a pentilglicina.

"tBuG" hace referencia a terc-butilglicina.

"ThioP" y "tPro" hacen referencia a tioprolina.

35 "3Hyp" hace referencia a 3-hidroxiprolina.

"4Hyp" hace referencia a 4-hidroxiprolina.

"NAG" hace referencia a N-aquilglicina.

"NAPG" hace referencia a N-alquilpentilglicina.

"Norval" hace referencia a norvalina.

40

[0055] En una realización preferida, los fragmentos o derivados de exendina pueden tener un C-término sustituido o no sustituido con un grupo amida, y se pueden seleccionar del grupo constituido por exendina-4(1-28) (SEQ ID NO: 3), exendina-4(1-28) amida, exendina-4(1-30) (SEQ ID NO: 4), exendina-4(1-30) amida, exendina-4(1-31) (SEQ ID NO: 5), exendina-4(1-31) amida, ¹⁴Leu²⁵Phe exendina-4 (SEQ ID NO: 6), ¹⁴Leu²⁵Phe exendina-4 amida, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

45

[0056] De acuerdo con una realización preferida, la composición o microesferas de liberación controlada pueden contener exendina como principio activo en una cantidad de 0,1 a 10 partes en peso, y más preferentemente de 0,8 a 6 partes en peso, en base a 100 partes en peso de la composición o microesferas que contienen exendina, polímeros biodegradables, y materiales de recubrimiento. Cuando la cantidad de exendina contenida en la composición o microesferas de acuerdo con la presente invención es inferior al intervalo anterior, no se puede obtener el efecto eficiente de la exendina, y cuando la cantidad de exendina es superior al intervalo anterior, se incrementa la descarga inicial de exendina, provocando así efectos secundarios debido a una descarga inicial excesiva, y por tanto es preferible que la cantidad de exendina esté dentro del intervalo anterior.

50

[0057] El polímero biodegradable se refiere a todos los polímeros que no sean perjudiciales para seres humanos, debido a que cuando se administra al cuerpo, se puede degradar y excretar lentamente. El polímero biodegradable puede incluir uno o más seleccionados del grupo constituido por poliláctido (PLA), poliglicólido (PGA), poli(láctido-co-glicólido) (PLGA), poliortoéster, polianhídrido, ácido polihidroxibutírico, policaprolactona, y polialquilcarbonato, y copolímeros de uno o más polímeros y polietilenglicol (PEG), en el que el uno o más polímeros pueden estar en la forma de copolímero o de mezcla simple.

60

[0058] Por ejemplo, el polímero biodegradable puede ser uno o más seleccionados del grupo constituido por poli(láctido-co-glicólido)s (PLGA) que consta de RG502H (VI = 0,16 a 0,24 dl/g), RG503H (VI = 0,32 a 0,44 dl/g), y RG504H (VI = 0,45 a 0,60 dl/g), que tiene una relación de láctido:glicólido de 1:1, y RG752H (VI = 0,14 a 0,22 dl/g) que tiene una relación de láctido:glicólido de 75:25, poliláctidos (PLA), R202H (VI = 0,16 a 0,24 dl/g) y R203H (VI =

65

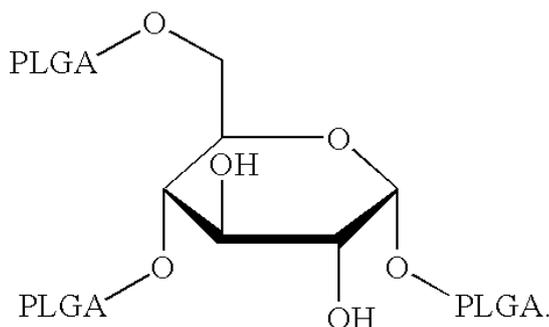
0,25 a 0,35 dl/g), suministrados por Boehringer-Ingelheim, Alemania; poli(láctido-co-glicólido)s, 5050DL 2A (VI = 0,15 a 0,25 dl/g), 5050DL 3A (VI = 0,25-0,43 dl/g), y 5050DL 4A (VI = 0,38 a 0,48 dl/g), que son copolímeros suministrados por Lakeshore Biomateriales Company (anteriormente Alkermes Company), EE.UU., que tienen una relación de láctido:glicólido de 1:1; y similares.

5
[0059] En otro aspecto, el polímero biodegradable puede ser un complejo de polímero-azúcar en el que un azúcar se acopla a un polímero seleccionado del grupo constituido por poliláctidos (PLA), poliglicólidos (PGA), poli(láctido-co-glicólido)s (PLGA), poliortoésteres, polianhídridos, ácidos polihidroxitútericos, policaprolactonas, y polialquilcarbonatos, un copolímero de al menos dos de los grupos poliméricos, o un copolímero de polietilenglicol
 10 (PEG) y uno de los grupos poliméricos.

[0060] En una realización de la presente invención, el complejo de polímero-azúcar se puede referir un complejo en el que el polímero está sustituido por un grupo hidroxilo del azúcar. El azúcar puede incluir monosacáridos y polisacáridos que incluyen de 1 a 8 unidades sacarídicas, en los que cada unidad sacarídica
 15 incluye de 3 a 6 grupos hidroxilo, y gluco-alcoholes de cadena lineal que incluyen de 3 a 6 grupos hidroxilo y que tienen un peso molecular de 20.000 o inferior. Los gluco-alcoholes pueden incluir manitol, pentaeritritol, sorbitol, ribitol, y xilitol. El polímero se acopla con el azúcar en tres o más de los grupos hidroxilo presentes en el azúcar.

[0061] El complejo polímero-azúcar de acuerdo con la realización anterior tiene unas propiedades *in vitro*
 20 similares al polímero que se acopla al azúcar, tiene diversas velocidades de degradación dependiendo del tipo de polímero usado, y se degrada en un polímero inocuo y azúcar en el cuerpo, y por tanto puede ser adecuado para el polímero biodegradable. En una realización preferida, el complejo de polímero-azúcar puede ser un complejo de PLA-glucosa, un complejo de PGA-glucosa, o un complejo de PLGA-glucosa, en el que el complejo de PLGA-glucosa puede ser uno que tiene la estructura siguiente:

25



[0062] En las microesferas de liberación controlada de acuerdo con la presente invención, la capa de recubrimiento formada sobre su superficie permite un control efectivo de la descarga inicial de exendina, previniendo
 30 así los efectos secundarios provocados por la descarga inicial excesiva. El polímero biodegradable se puede usar sin ninguna limitación de viscosidad.

[0063] En la composición de liberación controlada de acuerdo con la presente invención, el polímero biodegradable desempeña un papel como matriz para conservar el principio activo, la exendina, en donde una
 35 viscosidad insuficientemente baja del polímero no consigue preservar eficazmente el principio activo, incrementando así la descarga inicial, y una viscosidad excesivamente elevada del polímero provoca un descenso en la cantidad total liberada del principio activo, reduciendo así su biodisponibilidad. En la presente invención, no sólo el polímero biodegradable sino que también los materiales de recubrimiento contenidos en la composición desempeñan el papel de controlar la liberación del fármaco, y así se puede usar un polímero biodegradable que tiene una viscosidad
 40 relativamente baja. Por tanto, para controlar eficazmente la descarga inicial de fármaco y mejorar la biodisponibilidad, la viscosidad intrínseca (VI) del polímero biodegradable, que para un polímero biodegradable disuelto en cloroformo se mide a una concentración del 1 % (p/v) a 25 °C ± 0,1 °C usando un viscosímetro de Ubbelohde, preferentemente puede ser de 0,1 a 0,6 dl/g, más preferentemente de 0,15 a 0,31 dl/g, e incluso más preferentemente de 0,16 a 0,24 dl/g.

45

[0064] En la composición, o las microesferas de la presente invención, el polímero biodegradable desempeña un papel como matriz para conservar el principio activo durante la liberación y controlar la velocidad de liberación, en donde su contenido en la composición con las microesferas puede ser preferentemente de 85 a 99,89 partes en peso, y más preferentemente de 91 a 99 partes en peso, en base a 100 partes en peso de la composición o las
 50 microesferas que contienen la exendina, el polímero(s) biodegradable(s), y el material(es) de recubrimiento.

[0065] El material de recubrimiento se usa para prevenir una liberación excesiva e incrementar la biodisponibilidad del principio activo, y en las microesferas de la presente invención, puede estar en forma de capa de recubrimiento sobre su superficie. El material de recubrimiento puede ser uno o más seleccionados entre
 55 aminoácidos básicos, polipéptidos, y compuestos orgánicos de nitrógeno. Los aminoácidos básicos incluyen

arginina, lisina, histidina, y sus derivados. El polipéptido puede incluir de 2 a 10 aminoácidos, y más preferentemente de 2 a 5 aminoácidos, incluyendo uno o más seleccionados entre arginina, lisina e histidina. El polipéptido puede incluir más aminoácidos básicos que aminoácidos ácidos, presentando así unas propiedades básicas. Por ejemplo, el polipéptido puede ser L-Ala-L-His-L-Lys, L-Arg-L-Phe, Gly-L-His, Gly-L-His-Gly, Gly-L-His-L-Lys, L-His-Gly, L-His-Leu, L-Lys-L-Tyr-L-Lys, L-His-L-Val, L-Lys-L-Lys, L-Lys-L-Lys-L-Lys, L-Lys-L-Thr-L-Thr-L-Lys-L-Ser, y similar. Además, el compuesto orgánico de nitrógeno puede ser creatina, creatinina, urea, y similares.

5 **[0066]** El contenido del material de recubrimiento contenido en la composición de la presente invención, o recubierto sobre las microesferas, puede ser preferentemente de 0,01 a 5 partes en peso, y más preferentemente de 10 0,015 a 3 partes en peso, en base a 100 partes en peso de la composición o las microesferas que contienen exendina, polímero(s) biodegradable(s), y material(es) de recubrimiento. No se puede obtener un control eficaz de la liberación del fármaco si el contenido del material de recubrimiento es inferior que el objetivo anterior, al tiempo que no se incrementa adicionalmente el efecto de controlar la descarga inicial incluso si el contenido del material de recubrimiento se eleva por encima del objetivo anterior. Así, se puede preferir el objetivo anterior del contenido del 15 material de recubrimiento.

[0067] Cada microesfera de liberación controlada de acuerdo con la presente invención tiene una superficie lisa recubierta con el material de recubrimiento, y un tamaño promedio de 1 a 50 μm , y preferentemente de 5 a 30 μm (véase Figura 4b). Dicha superficie lisa de la microesfera permite conseguir un control eficaz de la descarga 20 inicial y una biodisponibilidad excelente.

[0068] A diferencia de la forma convencional, la microesfera de liberación controlada o microesfera preparada a partir de la composición de la presente invención está recubierta con el material de recubrimiento, permitiendo prevenir una descarga inicial excesiva y un incremento de la biodisponibilidad, que no se puede obtener en la 25 microesfera convencional que contiene exendina. En particular, una descarga inicial excesiva de exendina provoca diversos efectos secundarios, tales como vómitos, náuseas, dolores de cabeza, y similares, y así es muy importante reducir la cantidad de descarga inicial al 5 % o inferior. La microesfera de liberación controlada o microesfera preparada a partir de la composición de la presente invención permite reducir la cantidad liberada durante las 24 primeras horas al 5 % o inferior. Para reducir los efectos secundarios debido a la administración de microesferas de liberación controlada que contienen exendina, la cantidad de descarga inicial para la primera hora puede ser del 5 % 30 o inferior, y más preferentemente del 1 % o inferior, como se mide mediante un ensayo de liberación *in vitro* descrito en el presente documento.

[0069] Se han acometido diversos intentos para reducir los efectos secundarios debido a la descarga inicial 35 excesiva de microesferas que contienen exendina preparadas mediante los métodos convencionales. No obstante, la mayoría de dichos intentos que consiguen una prevención con éxito de la descarga inicial excesiva tienen diversos problemas en el sentido de que además de reducir la descarga inicial se reduce la liberación total, disminuyendo así de forma considerable la biodisponibilidad del fármaco. No obstante, las microesferas de la presente invención contienen una capa de recubrimiento del material de recubrimiento sobre su superficie, 40 permitiendo un control eficaz de la descarga inicial para eliminar los efectos secundarios debidos a la descarga inicial excesiva, y obtener una liberación duradera y suficiente del fármaco para conseguir una biodisponibilidad excelente.

[0070] En una realización de la presente invención, la composición o microesferas además pueden contener 45 excipientes tales como coloides protectores y/o estabilizantes.

[0071] La composición o las microesferas además pueden contener uno o más coloides protectores seleccionados entre alcoholes polivinílicos, albúminas, polivinilpirrolidonas, gelatinas, y similares. Aunque el coloide protector no tiene ningún efecto particular para prevenir la descarga inicial excesiva de la exendina contenida en las 50 microesferas, desempeña un papel para prevenir la agregación entre las microesferas y mejorar su dispersabilidad. Teniendo en cuenta dicho papel, el contenido del coloide protector preferentemente puede ser del 0,02 % (p/p) al 1,0 % (p/p), en base al peso de la composición o las microesferas que contienen la exendina, el polímero(s) biodegradable(s), y el material(es) de recubrimiento.

55 **[0072]** Además, para mejorar la estabilidad de las microesferas durante la criodesecación, la composición o las microesferas de la presente invención adicionalmente pueden contener excipientes seleccionados entre manitol, trehalosa, sacarosa, carboximetilcelulosa sódica, y similares, en una cantidad del 5 % (p/p) al 30 % (p/p), y más preferentemente del 10 % (p/p) al 20 % (p/p), en base al peso de la composición de las microesferas que contienen la exendina, el polímero(s) biodegradable(s), y el material(es) de recubrimiento. 60

[0073] Además, la composición o la microesfera de la presente invención adicionalmente pueden contener cualquier aditivo excipiente usado habitualmente en la formación de fármacos, cuyo tipo y contenido puede determinar fácilmente el experto en la materia pertinente.

65 **[0074]** En otro aspecto, la presente invención proporciona un método de preparación de las microesferas de liberación controlada que contienen exendina como se ha descrito anteriormente. Las microesferas de liberación

controlada que contienen exendina de acuerdo con la presente invención se pueden preparar mediante diversos procedimientos, por ejemplo, mediante el recubrimiento de la superficie de las microesferas suspendiendo las microesferas en la solución del material de recubrimiento durante o después de la preparación de las microesferas, para preparar las microesferas de liberación controlada. El método de preparación de las microesferas de acuerdo con la presente invención se puede realizar mediante un método de emulsión doble (método W/O/W), un método de emulsión simple (método O/W), un método de separación de fases, un método de secado por pulverización, y similares.

[0075] Específicamente, el método de preparación de las microesferas de liberación controlada que contienen exendina puede incluir las etapas de:

mezcla de exendina y polímero(s) biodegradable(s) para preparar una emulsión de tipo W/O o una mezcla homogénea; y
emulsificación añadiendo la emulsión o la mezcla homogénea a una solución acuosa de un material de recubrimiento para formar una capa de recubrimiento.

[0076] Más específicamente, en el caso de usar un método de emulsión doble, el método de la presente invención puede incluir las etapas de emulsificación mezclando una solución acuosa de exendina y un polímero biodegradable disuelto en un disolvente orgánico para formar una emulsión primaria (de tipo W/O); suspensión de la emulsión en una solución acuosa de un material de recubrimiento para formar una emulsión de tipo W/O/W; calentamiento de la emulsión de tipo W/O/W para retirar el disolvente y endurecer las microesferas obtenidas; recogida y lavado de las microesferas endurecidas; y criodesecación de las microesferas. El disolvente orgánico puede ser cualquier disolvente orgánico que sea capaz de formar una emulsión disolviendo el polímero biodegradable y a continuación su mezcla con una solución acuosa, y, por ejemplo, puede ser uno o más seleccionados del grupo constituido por cloroformo, acetato de etilo, cloruro de metileno, y metiletilcetona, y preferentemente es cloruro de metileno. En este caso, el material de recubrimiento está contenido en una fase acuosa secundaria (fase acuosa externa de la emulsión de tipo W/O/W), para formar una capa de recubrimiento sobre el exterior de las microesferas que contienen exendina y el polímero biodegradable, cuando se retira el disolvente orgánico.

[0077] De manera alternativa, si se emplea un método de emulsión simple, el método de la presente invención puede incluir las etapas de disolución de la exendina y un polímero biodegradable en un disolvente orgánico para formar una mezcla homogénea; la adición de una solución acuosa que contiene un material de recubrimiento a la mezcla obtenida para formar una emulsión; el calentamiento de la emulsión para retirar el disolvente y endurecer las microesferas obtenidas; la recolección y lavado de las microesferas endurecidas; y la criodesecación de las microesferas. El disolvente orgánico puede ser cualquier disolvente orgánico que sea capaz de mezclar completamente la exendina y el polímero biodegradable para formar una mezcla homogénea, y de mezclarse con una solución acuosa para formar una emulsión. Por ejemplo, el disolvente orgánico puede ser un disolvente mixto en el que se mezclan uno o más seleccionados del grupo constituido por alcoholes que tienen de 1 a 5 átomos de carbono, ácido acético glacial, ácido fórmico, dimetilsulfóxido, y n-metilpirrolidona, y uno o más seleccionados del grupo constituido por cloroformo, acetato de etilo, metiletilcetona, y cloruro de metileno, y preferentemente, en el que se mezclan metanol y cloruro de metileno. En este caso, la superficie de las microesferas finales tiene una capa de recubrimiento sobre ellas, mediante la emulsificación de la mezcla homogénea del polímero biodegradable y la exendina y la adición del material de recubrimiento a una solución acuosa para retirar el disolvente orgánico.

[0078] En otro aspecto, el método de preparación de las microesferas de liberación controlada que contienen exendina de acuerdo con la presente invención pueden incluir las etapas de:

mezcla de la exendina y de un polímero biodegradable para formar una emulsión o una mezcla homogénea;
solidificación de la emulsión o mezcla homogénea obtenida para preparar microesferas primarias; y
suspensión de las microesferas primarias obtenidas en una solución acuosa de un material de recubrimiento para formar una capa de recubrimiento sobre cada microesfera.

[0079] El método de solidificación no está limitado, y puede ser cualquier método de solidificación usado convencionalmente en la técnica pertinente, por ejemplo, un método de separación de fases o un método de secado por pulverización.

[0080] Más específicamente, si se emplea un método de separación de fases en la etapa de solidificación, el método de la presente invención puede incluir las etapas de:

mezcla de una solución acuosa de exendina y un polímero biodegradable disuelto en un disolvente orgánico para formar una emulsión, o la mezcla de la exendina y un polímero biodegradable en un disolvente mixto para formar una solución de mezcla homogénea;
adición de un aceite, tal como aceite de silicio, a la emulsión o solución obtenida para preparar

- microesferas primarias;
 adición de un no disolvente para el polímero biodegradable, tal como un disolvente mixto de un alcohol que tiene de 1 a 5 átomos de carbono y un alcano que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, preferentemente un disolvente mixto de etanol y heptano, para retirar el disolvente orgánico de las microesferas y endurecer las microesferas;
 suspensión de las microesferas obtenidas en una solución acuosa de un material de recubrimiento para formar una capa de recubrimiento sobre cada microesfera; y
 recogida, lavado, y criodesecación de las microesferas formadas con una capa de recubrimiento.
- 5
- 10 **[0081]** El disolvente orgánico puede ser uno o más seleccionados del grupo constituido por cloroformo, acetato de etilo, cloruro de metileno, y metiletilcetona, y preferentemente puede ser cloruro de metileno. El disolvente mixto puede ser uno en el que se mezclan uno o más seleccionados del grupo constituido por un alcohol que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, ácido acético glacial, ácido fórmico, dimetilsulfóxido, y n-metilpirrolidona, y uno o más seleccionados del grupo constituido por cloroformo, acetato de etilo, metiletilcetona, y cloruro de metileno,
- 15 y preferentemente puede ser un disolvente mixto de metanol y cloruro de metileno.
- [0082]** De manera alternativa, si se emplea un método de secado por pulverización, el método de la presente invención puede incluir las etapas de:
- 20 mezcla de una solución acuosa de exendina y un polímero biodegradable disuelto en un disolvente orgánico para formar una emulsión, o mezcla de exendina y un polímero biodegradable en un disolvente individual o un disolvente mixto para formar una solución de mezcla homogénea;
 secado por pulverización de la emulsión o solución obtenida para preparar microesferas primarias;
 suspensión de las microesferas primeras obtenidas en una solución acuosa de un material de recubrimiento para formar una capa de recubrimiento sobre cada microesfera; y
 lavado y criodesecación de las microesferas formadas con una capa de recubrimiento.
- 25
- [0083]** El disolvente orgánico puede ser uno o más seleccionados del grupo constituido por cloroformo, acetato de etilo, cloruro de metileno, y metiletilcetona, y preferentemente puede ser cloruro de metileno. El disolvente individual puede ser uno o más seleccionados del grupo constituido por ácido acético glacial y ácido fórmico, y el disolvente mixto puede ser uno en el que se mezclan uno o más seleccionados del grupo constituido por un alcohol que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, ácido acético glacial, ácido fórmico, dimetilsulfóxido, y n-metilpirrolidona, y uno o más seleccionados del grupo constituido por cloroformo, acetato de etilo, metiletilcetona, y cloruro de metileno, y preferentemente es un disolvente mixto de metanol y cloruro de metileno.
- 30
- 35 **[0084]** El método de la presente invención además puede incluir una etapa de adición de un material coloide protector mediante cualquier método convencional, y preferentemente, el material coloide protector se puede añadir durante la etapa de recubrimiento de las microesferas con el material de recubrimiento.
- 40 **[0085]** La concentración preferida del material de recubrimiento disuelto en la fase acuosa o en la solución acuosa puede estar entre 0,01 M y 1 M, y preferentemente entre 0,1 M y 0,5 M. Una concentración más baja del material que el objetivo anterior no consigue recubrir completamente la superficie de las microesferas con el material de recubrimiento, mientras que una concentración superior del material de recubrimiento que el objetivo anterior produce una solución de material de recubrimiento supersaturada, que no produce una mejora del efecto sobre el control de la descarga inicial, y así la concentración del material de recubrimiento preferentemente puede estar dentro del objetivo anterior.
- 45
- [0086]** En el método de la presente invención, los tipos y contenidos de exendina, polímeros biodegradables, y materiales de recubrimiento son como se ha descrito anteriormente.
- 50 **[0087]** La composición que contiene exendina de la presente invención se puede administrar por vía oral o parenteral, y preferentemente por vía parenteral, tal como vía intravenosa, vía subcutánea, vía intramuscular, vía intraperitoneal, y similar. Por tanto, en una realización preferida de la presente invención, la composición que contiene exendina se puede aplicar como solución para inyección en forma de solución dispersa. La cantidad efectiva de la composición se puede ajustar de forma conveniente según la edad del sujeto, el tipo y la gravedad de la enfermedad, y las condiciones del sujeto, y la dosificación del principio activo en la composición puede estar entre 0,01 y 100 µg/kg/día, y más preferentemente entre 0,1 y 10 µg/kg/día, que se puede administrar de una vez o dividida en diferentes momentos.
- 55
- 60 **[0088]** La presente invención se explica con mayor detalle a continuación con referencia a los siguientes ejemplos. No obstante, estos ejemplos no se deben interpretar en modo alguno como una limitación del alcance de la presente invención.

Ejemplo 1

Preparación de microesferas que contienen exendina-4 mediante un método de secado por pulverización

- 5 **[0089]** Se disolvió de forma homogénea 4,850 g de polímero biodegradable, RG502H (N° de lote 1009848, VI = 0,19 dl/g), y 0,150 g de exendina-4 (Polypeptide Laboratories, EE.UU.) en 97 ml de ácido acético glacial. La solución preparada se introdujo en una secadora por pulverización (SODEVA, Francia) equipada con una boquilla ultrasónica (Sono-tek, 120 kHz) a un caudal de 1,5 ml/min usando una bomba de pistón, mientras se suministra aire seco a 180 °C para preparar las microesferas. Las microesferas preparadas se suspendieron en una solución
- 10 acuosa de lisina 0,5 M (Formulación 1-1), una solución acuosa de lisina 0,01 M (Formulación 1-2), una solución acuosa de histidina 0,1 M (Formulación 1-3), y una solución acuosa de arginina 0,5 M (Formulación 1-4), respectivamente, en donde las soluciones contienen el 1 % (p/v) de alcohol polivinílico (alcohol polivinílico, Gohsenol, EG-50) como coloide protector, se agitó durante 3 horas, se recogió, se lavó con agua destilada, y a continuación se sometió a criodesecación. Para su comparación, se realizaron las mismas etapas de suspensión,
- 15 agitación, lavado, y criodesecación excepto por el uso de la solución acuosa de alcohol polivinílico al 1 % (p/v) sin materiales de recubrimiento (Formulación 1).

Ejemplo 2

20 Efectos de la composición dependiendo del polímero

- [0090]** Se prepararon microesferas que contienen exendina-4 mediante el mismo método que en el Ejemplo 1, excepto por el uso de RG503H (N° de lote 1006370, VI = 0,38 dl/g, Formulaciones 2, 2-1 y 2-2), una mezcla de la misma cantidad de RG502H y RG503H (N° de lote 1009848:N° de lote 1006370 = 1:1, VI = 0,29 dl/g, Formulaciones
- 25 3 y 3-1), RG504H (N° de lote 1016605, VI = 0,51 dl/g, Formulaciones 4 y 4-1), 5050DL 2A (N° de lote LP-207, VI = 0,18 dl/g, Formulaciones 5 y 5-1), y 5050DL 4A (N° de lote LP-206, VI = 0,46 dl/g, Formulaciones 6 y 6-1), como polímero biodegradable.

Ejemplo experimental 1-1

30 Ensayo de los efectos del recubrimiento de microesferas

- [0091]** Se cuantificó el contenido de exendina contenida en las microesferas preparadas en los Ejemplos 1 y 2 mediante el método siguiente. Se disolvió exendina-4 (Polypeptide Laboratories, EE.UU.) en DMSO
- 35 (dimetilsulfóxido), diluido con DMSO hasta una concentración de 2, 5, y 10 µg/ml, respectivamente, que se usaron como soluciones patrón, y se sometieron a medición de fluorescencia a una excitación de 280 nm y una emisión de 350 nm usando un espectrómetro de fluorescencia (Cary Eclipse, Varian, EE.UU.) para obtener una línea de medición. Las microesferas preparadas se disolvieron en DMSO hasta una concentración de 150 µg/ml, y a continuación la fluorescencia medida en ellas se extrapoló a la línea de medición, determinando así el contenido de
- 40 exendina en las microesferas.

- [0092]** Se usó un método de cuantificación de fluorescamina para determinar el contenido de los materiales de recubrimiento usados en la composición de la presente invención, y en particular, la lisina, arginina, histidina, y similares contenidas en la superficie de las microesferas. Una solución en la que se disolvieron las microesferas
- 45 obtenidas en DMSO hasta una concentración de 150 µg/ml se mezcló con una solución de acetona fluorescamina al 0,01 % (p/v) y una solución de borato sódico 0,5 M (pH 9,5), se incubó a temperatura ambiente durante 20 minutos, y se sometió a medición de fluorescencia a una excitación de 392 nm y una emisión de 480 nm usando un espectrómetro de fluorescencia (Cary Eclipse, Varian, EE.UU.). Usando el mismo método, los materiales de recubrimiento usados se disolvieron en DMSO y se diluyeron con DMSO hasta unas concentraciones de 2, 5 y 10
- 50 µg/ml, respectivamente, para preparar soluciones patrón. A continuación, se realizó la medición de la fluorescencia para obtener una línea de medición, cuantificando así los materiales de recubrimiento en la superficie de las microesferas.

- [0093]** Para confirmar el efecto inhibitorio de la descarga inicial por las microesferas, se midieron las
- 55 cantidades liberadas *in vitro* por las microesferas recubiertas con el material de recubrimiento y las microesferas sin recubrimiento. 10 mg de cada una de las microesferas se suspendieron en 1 ml de una solución de ensayo de liberación (HEPES 10 mM, pH 7,5, NaCl 100 mM), y se incubó a 37 °C mientras se agitaba a 5 rpm. Después de 1 y 24 horas, cada muestra se recogió y se centrifugó. Se determinó la cantidad de exendina liberada en el sobrenadante mediante medición por fluorescencia a una excitación de 280 nm y una emisión de 350 nm.

- 60 **[0094]** El contenido y la descarga inicial *in vitro* de las microesferas preparadas en este ejemplo se examinaron como se ha descrito anteriormente, y los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 1 siguiente. La Tabla 1 muestra la reducción de la descarga inicial *in vitro* dependiendo de los tipos de materiales de recubrimiento y los polímeros biodegradables.

65

Tabla 1

Formulación Nº	Polímero	Suspensión	TL (%)	DC (%)	Contenido superficial de materiales orgánicos básicos (%)	Liberación en 1 hora (%)	Liberación en 24 horas (%)
1	502H	PVA al 1 %	3	2,76	—	4,50	9,90
1-1	502H	PVA al 1 % + 0,5 M lys	3	2,73	0,249	0,79	3,84
1-2	502H	PVA al 1 % + 0,01 M lys	3	2,72	0,099	3,76	5,66
1-3	502H	PVA al 1 % + 0,01 M lys	3	2,71	0,015	1,53	3,51
1-4	502H	PVA al 1 % + 0,5 M arg	3	2,56	0,156	1,46	4,60
2	503H	PVA al 1 %	3	2,88	—	1,40	1,50
2-1	503H	PVA al 1 % + 0,5 M lys	3	2,96	0,057	0,00	0,29
2-2	503H	PVA al 1 % + 0,1 M his	3	2,85	0,132	0,00	0,58
3	502H:503H	PVA al 1 %	3	2,75	—	2,80	4,00
3-1	502H:503H	PVA al 1 % + 0,5 M lys	3	2,91	0,056	0,00	0,75
4	504H	PVA al 1 %	3	2,46	—	1,23	2,25
4-1	504H	PVA al 1 % + 0,5 M lys	3	2,47	0,018	0,81	0,84
5	5050DL 2A	PVA al 1 %	3	2,53	—	1,31	1,95
5-1	5050DL 2A	PVA al 1 % + 0,5 M lys	3	2,54	0,034	1,02	1,66
6	5050DL 4A	PVA al 1 %	3	2,40	—	1,21	2,03
6-1	5050DL 4A	PVA al 1 % + 0,5 M lys	3	2,51	0,018	0,79	0,82

* TL (%): % de carga objetivo

5 DC (%): % de contenido real del fármaco

[0095] Como se muestra en la Tabla 1, se revela que se reducen las cantidades liberadas de las formulaciones recubiertas con los materiales de recubrimiento de acuerdo con la presente invención durante la primera hora y a las 24 horas en comparación con las de las Formulaciones 1, 2, 3, 4, 5 y 6 que simplemente se suspenden en un coloide protector, una solución de alcohol polivinílico, después del secado por pulverización. Dichos efectos se obtienen independientemente del intervalo de viscosidades del polímero, y son importantes a la hora de prevenir los efectos secundarios provocados por un incremento súbito de la concentración inicial en sangre inmediatamente después de la administración de las microesferas de liberación controlada que contienen exendina.

15 Ejemplo experimental 1-2

Descenso en la concentración del fármaco en sangre durante la fase inicial después de la administración según la viscosidad de los polímeros y los materiales de recubrimiento

[0096] Puesto que los efectos secundarios de las exendinas están provocados por un incremento súbito en la concentración del fármaco en sangre en la fase inicial después de su administración, es muy importante prevenir el incremento de la concentración del fármaco en sangre debido a la liberación inicial del fármaco directamente después de su administración. Se ha revelado que las concentraciones de fármaco en sangre de las formulaciones de acuerdo con la presente invención alcanzan una concentración máxima durante la hora después de su administración y a continuación descienden. Para determinar la biodisponibilidad y el máximo de la concentración en sangre inicial (concentración 1 h) de las formulaciones preparadas mediante los Ejemplos 1 y 2 después de su administración, las formulaciones se administraron a ratas de S.D. macho (350 ± 20 g). Las microesferas que contienen exendina preparadas como anteriormente se suspendieron en un medio (carboximetilcelulosa sódica al 5 % (p/p), manitol al 5 % (p/p) y Tween 80 al 0,1 % (p/p)), y a continuación se inyectaron por vía subcutánea a una dosis de 0,6 mg (exendina)/kg después de anestesiarse con éter. Se recogió sangre de la vena de la cola a tiempo 0 y al final de la primera hora, y el día 1, 2, 4, 7, 14, 21, y 28 días después de su administración, y se centrifugó a 12.000 rpm a 4 °C durante 10 minutos. A continuación se recogió su suero y se almacenó a -20 °C. La exendina en el suero se cuantificó usando un kit de inmunoensayo enzimático (EK-070-94, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., EE.UU.), y la biodisponibilidad relativa se comparó mediante el área bajo una curva (AUC) de la curva obtenida de concentración

en sangre-tiempo.

[0097] Las gráficas obtenidas de la concentración en sangre se muestran en las Figuras 1 a 3, los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 2. La Tabla 2 muestra los resultados de la reducción en la concentración de fármaco en sangre en la fase inicial después de su administración y la comparación del AUC según los materiales de recubrimiento y la viscosidad del polímero.

Tabla 2

Formulación Nº	Polímero	Suspensión	DC (%)	Conc. 1 h	AUC
1	502H	PVA al 1 %	2,76	10969 (1 h)	24169
1-1	502H	PVA al 1 % + 0,5 M lys	2,73	900 (1 h)	26681
2	503H	PVA al 1 %	2,88	3561 (1 h)	5401
2-1	503H	PVA al 1 % + 0,5 M lys	2,96	159 (1 h)	5569
3	502H:503H	PVA al 1 %	2,75	6363 (1 h)	8030
3-1	502H:503H	PVA al 1 % + 0,5 M lys	2,91	320 (1 h)	10909

10

* DC (%): % en peso de contenido real del fármaco
AUC: Área bajo la curva (pg·día/ml)

[0098] Como se muestra en las Figuras 1 a 3 y en la Tabla 2, se revela que las formulaciones no recubiertas presentan una concentración máxima en sangre más elevada en la fase inicial después de su administración que las formulaciones recubiertas. Además, también se revela que el polímero RG502H que tiene la viscosidad más baja presentaba el valor de AUC más elevado, es decir, la biodisponibilidad más alta, y que el recubrimiento con los materiales de recubrimiento permite una mejora de la biodisponibilidad de las formulaciones con polímeros de alto peso molecular así como las formulaciones con polímeros de bajo peso molecular. En resumen, aunque la biodisponibilidad depende de la viscosidad del polímero usado, mediante el recubrimiento con los materiales de recubrimiento de acuerdo con la presente invención se puede conseguir la inhibición efectiva de la descarga inicial, que no se puede alcanzar con las formulaciones existentes preparadas mediante los métodos convencionales.

Ejemplo 3

25

Preparación de microesferas con diversas cargas de fármaco

[0099] El polímero biodegradable RG502H y la exendina-4 se mezclaron para así lograr un contenido de exendina-4 del 1 % (p/p) (Formulaciones 7 y 7-1) y del 7 % (p/p) (Formulaciones 8 y 8-1), respectivamente, y las mezclas se disolvieron en ácido acético glacial. Las soluciones obtenidas se secaron por pulverización con el mismo método que en el Ejemplo 1 para preparar microesferas. Las microesferas preparadas se suspendieron en una solución acuosa de alcohol polivinílico al 1 % (Formulaciones 7 y 8), y una solución acuosa de lisina 0,5 M y alcohol polivinílico al 1 % (Formulaciones 7-1 y 8-1), respectivamente, durante tres horas, y se recogieron, se lavaron con agua destilada, y se sometieron a criodesecación.

35

Ejemplo experimental 2

Reducción de la descarga inicial dependiendo de las diversas cargas de fármaco

[0100] La descarga inicial de las microesferas preparadas en el Ejemplo 3 se cuantificó mediante el mismo método que en el Ejemplo experimental 1-1, y los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3. La Tabla 3 muestra el efecto del recubrimiento con los materiales de recubrimiento dependiendo del contenido de fármaco.

Tabla 3

45

Formulación Nº	TL (%)	DC (%)	Contenido superficial de materiales orgánicos básicos (%)	Liberación en 1 hora (%)	Liberación en 24 horas (%)
7	1	0,85	—	3,06	3,87
7-1	1	0,81	0,295	2,63	3,68
1	3	2,76	—	4,50	9,90
1-1	3	2,73	0,249	0,79	3,84
8	7	5,79	—	8,00	11,34
8-1	7	5,85	1,636	2,04	5,47

[0101] Como se muestra en la Tabla 3, las Formulaciones 1, 7, y 8 que no están recubiertas con los materiales de recubrimiento presentan una mayor descarga inicial según el incremento de la cantidad de exendina cargada en el polímero biodegradable, mientras que las Formulaciones 1-1, 7-1, y 8-1 que están recubiertas con los

materiales de recubrimiento presentan una descarga inicial considerablemente menor independientemente de la cantidad de exendina cargada en el polímero biodegradable.

Ejemplo 4

5

Preparación de microesferas que contienen exendina-4 mediante un método de emulsión doble

[0102] 970 mg de RG502H se disolvieron en 3,23 ml de diclorometano (Junsei Chem.). Se añadieron 30 mg de exendina-4 disueltos en 0,3 ml de agua destilada a la solución de RG502H obtenida y se sometió a sonicación para preparar una emulsión de W/O primaria. La emulsión obtenida se inyectó a 270 ml de una solución acuosa de alcohol polivinílico al 0,5 % (p/v) mientras se agita a 5000 rpm para preparar una emulsión de W/O/W. La emulsión se suspendió a 4000 rpm a 40 °C durante una hora, retirando así el diclorometano y endureciendo el polímero, y a continuación se recogieron las microesferas obtenidas. Las microesferas recogidas se lavaron dos veces con agua destilada y se sometieron a criodesecación para preparar las microesferas. En la preparación de formulaciones por el mismo método que anteriormente, la suspensión para la inyección de la emulsión primaria se suspendió en PVA (Formulación 9), solución acuosa de lisina 0,5 M + PVA al 1 % (Formulación 9-1), solución acuosa de tris 0,5 M + PVA al 1 % (Formulación 9-2), solución acuosa de urea 0,5 M + PVA al 1 % (Formulación 9-3), solución acuosa de creatina 0,05 M + PVA al 1 % (Formulación 9-4), solución acuosa de creatina 0,5 M + PVA al 1 % (Formulación 9-5), respectivamente, durante una hora, y se recogió, se lavó con agua destilada, y se sometió a criodesecación.

20

[0103] Las imágenes de microscopía electrónica de las microesferas obtenidas como anteriormente se muestran en las Figuras 4a y 4b. La Figura 4a muestra la Formulación 9 que no está recubierta con el material de recubrimiento, y la Figura 4b muestra la Formulación 9-1 que está recubierta con el material de recubrimiento. Como se muestra en la Figura 4b, se revela que la formulación de acuerdo con la presente invención tiene una superficie lisa.

25

Ejemplo experimental 3

Reducción de la descarga inicial dependiendo del tipo de material de recubrimiento

30

[0104] El fármaco liberado de las microesferas obtenidas en el Ejemplo 4 durante las 24 horas iniciales después de su administración se cuantificaron mediante el mismo método que en el Ejemplo experimental 1-1, y los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4. La Tabla 4 muestra la reducción de la descarga inicial dependiendo del material de recubrimiento.

35

Tabla 4

Formulación N°	Suspensión	Liberación en 1 hora (%)	Liberación en 24 horas (%)
9	PVA al 1 %	7,45	13,88
9-1	PVA al 1 % + 0,5 M lys	0,87	1,87
9-2	PVA al 1 % + 0,5 M tris	5,79	9,91
9-3	PVA al 1 % + 0,5 M urea	2,23	5,04
9-4	PVA al 1 % + 0,05 M creatinina	2,20	3,06
9-5	PVA al 1 % + 0,5 M creatina	0,89	1,23

[0105] Como se muestra en la Tabla 4, a pesar de que la cantidad reducida de la descarga inicial varía ligeramente dependiendo del tipo de material de recubrimiento usado, las microesferas de las Formulaciones 9-1 a 9-5 recubiertas con los materiales de recubrimiento presentan una descarga inicial considerablemente menor en comparación con las microesferas de la Formulación 9 que no están recubiertas con los materiales de recubrimiento.

Ejemplo comparativo

45

Preparación de microesferas cargadas con exendina-4 y materiales de recubrimiento, y medición de la descarga inicial

[0106] 970 mg de RG502H se disolvieron en 3,23 ml de diclorometano (Junsei Chem.). Se disolvieron 30 mg de exendina-4 y 6,68 mg de lisina en 0,3 ml de agua destilada y se añadieron a la solución de RG502H obtenida para preparar una emulsión de W/O primaria. La emulsión obtenida se suspendió en una solución acuosa de PVA al 1 %, y las microesferas de la Formulación 10 se prepararon mediante el mismo método que en el Ejemplo 4. Además, 970 mg de RG502H se disolvieron en 3,23 ml de diclorometano (Junsei Chem.). A la solución obtenida, se le añadieron 30 mg de exendina-4 disueltos en 0,3 ml de agua destilada, para preparar una emulsión de W/O primaria. La emulsión se suspendió en una solución acuosa de PVA al 1 % para preparar las microesferas de la Formulación 11.

55

[0107] Las imágenes de microscopía electrónica de las Formulaciones 10 y 11 preparadas anteriormente se muestran en las Figuras 4c y 4d. Como se muestra en la Figura 4c, las microesferas preparadas en el Ejemplo comparativo tienen muchos poros sobre su superficie.

5 **[0108]** Las cantidades liberadas de las microesferas preparadas en el Ejemplo comparativo durante la primera hora y a las 24 horas se midieron respectivamente mediante el mismo método que en el Ejemplo experimental 1-1, y los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 5. La Tabla 5 muestra el cambio en la cantidad de descarga inicial dependiendo de los métodos mediante los que se añaden los materiales de recubrimiento
10 cuando se preparan las microesferas.

Tabla 5

Formulación N°	Emulsión primaria	Suspensión	Liberación en 1 hora (%)	Liberación en 24 horas (%)
9	502H, exendina-4	PVA al 1 %	7,45	13,88
9-1	502H, exendina-4	PVA al 1 % + 0,5 M lys	0,87	1,87
10	502H, exendina-4 + lisina (fase acuosa)	PVA al 1 %	65,63	71,64
11	502H + lisina (fase oleosa), exendina-4	PVA al 1 %	80,31	87,00

15 **[0109]** Como se muestra en la Tabla 5, cuando los materiales de recubrimiento se cargan simplemente junto con exendina sin formar una capa de recubrimiento, o se usan con polímeros simplemente mezclando, se produce una descarga inicial excesiva, que actúa como defecto crítico para impedir que la exendina se pueda formular como forma de liberación controlada.

20 **[0110]** Como se muestra en las Figuras 4c y 4d, la adición de los materiales de recubrimiento en la fase oleosa o la fase acuosa de la emulsión primaria provoca un incremento en la porosidad de la superficie de las microesferas. En resumen, la adición de los materiales de recubrimiento dentro de las microesferas incrementa la porosidad superficial, dando lugar en última instancia a una descarga inicial excesiva del fármaco contenido en ellas. Por el contrario, las microesferas recubiertas con los materiales de recubrimiento de acuerdo con la presente
25 invención no tienen ningún incremento de la porosidad superficial, y presentan una descarga inicial inferior que la Formulación 9 que tiene una superficie lisa pero no está recubierta con los materiales de recubrimiento.

[0111] En conclusión, las formulaciones que contienen exendina existentes preparadas mediante los métodos convencionales, por ejemplo, desvelados en la patente de Corea número 140209, no pueden alcanzar la reducción deseada de la descarga inicial, y así no se pueden usar de forma ventajosa como formulación eficiente que contiene exendina debido a los efectos secundarios por una descarga inicial excesiva. Por el contrario, la composición de acuerdo con la presente invención es muy útil en el desarrollo de microesferas de liberación controlada que contienen exendina que deben tener una liberación inicial extremadamente controlada. Además, la presente invención puede alcanzar una alta biodisponibilidad de la formulación que contiene exendina, que no se puede
30 conseguir mediante la técnica convencional para el control de la descarga inicial de una formulación que contiene exendina.
35

Ejemplo 5

40 Preparación de microesferas que contienen exendina-3 mediante un método de secado por pulverización

[0112] Se disolvió de forma homogénea 4,850 g de polímero biodegradable, RG502H (N° de lote 1009848, VI = 0,19 dl/g), y 0,150 g de exendina-3 (Peptron Inc., Corea del Sur) en 97 ml de ácido acético glacial. La solución obtenida se introdujo en una secadora por pulverización (SODEVA, Francia) equipada con una boquilla ultrasónica
45 (Sono-tek, 120 kHz) a un caudal de 1,5 ml/min usando una bomba de pistón, mientras se suministra aire seco a 180 °C para preparar las microesferas. Las microesferas preparadas se suspendieron en una solución acuosa de lisina 0,5 M suplementada con alcohol polivinílico al 1 % (p/v) (alcohol polivinílico, Gohsenol, EG-50) como coloide protector, se agitó durante 3 horas, se recogió, se lavó con agua destilada, y a continuación se sometió a criodesecación.
50

Ejemplo 6

Preparación de microesferas que contienen exendina-4(1-28)amida mediante un método de secado por pulverización
55

[0113] Se disolvió de forma homogénea 4,850 g de polímero biodegradable, RG502H (N° de lote 1009848, VI = 0,19 dl/g), y 0,150 g de exendina-4(1-28)amida (Peptron Inc., Corea del Sur) en 97 ml de ácido acético glacial. La

solución obtenida se introdujo en una secadora por pulverización (SODEVA, Francia) equipada con una boquilla ultrasónica (Sono-tek, 120 kHz) a un caudal de 1,5 ml/min usando una bomba de pistón, mientras se suministra aire seco a 180 °C para preparar las microesferas. Las microesferas preparadas se suspendieron en una solución acuosa de L-Lys-L-Thr-L-Thr-L-Lys-L-Ser 0,5 M suplementada con alcohol polivinílico al 1 % (p/v) (alcohol polivinílico, Gohsenol, EG-50) como coloide protector, se agitó durante 3 horas, se recogió, se lavó con agua destilada, se suspendió en 10 ml de una solución acuosa de D-manitol al 10 % (p/p), y a continuación se sometió a criodesecación.

Ejemplo 7

10

Preparación de microesferas que contienen exendina-4 mediante un método de separación de fases

[0114] Se disolvieron 0,1 g de exendina-4 (Polypeptide Laboratories, EE.UU.) en 1,86 ml de agua destilada, inyectando lentamente en una solución en la que se habían disuelto 1,86 g de RG502H (Nº de lote 1009848, VI = 0,19 dl/g) en 23,32 ml de diclorometano, y se sometió a sonicación para preparar una emulsión primaria. La emulsión obtenida se homogeneizó añadiéndole 58,8 g de aceite de silicona para formar microesferas embrionarias. A las microesferas embrionarias formadas se le añadió lentamente una mezcla de 400 g de heptano y 50 g de etanol mientras se agita a 500 rpm y se mantiene la temperatura a 3 °C, para endurecer las microesferas embrionarias. Después de agitar durante una hora aproximadamente, el disolvente se retiró por decantación. A continuación, se le añadieron 200 g de heptano adicionales, y se agitó durante una hora, para retirar el aceite de silicona y el diclorometano de las microesferas embrionarias. Las microesferas preparadas se suspendieron en alcohol polivinílico al 0,5 % (p/v) y una solución acuosa de lisina 0,5 M durante una hora, se recogió, se lavó con agua destilada, y se sometió a criodesecación, para preparar una formulación.

25 **[0115]** Como se muestra en los ejemplos anteriores, la presente invención proporciona una nueva formulación de liberación controlada que contiene exendina con menos efectos secundarios y una mejor biodisponibilidad, al recubrir la superficie de las microesferas con materiales de recubrimiento, reduciendo así una liberación excesiva del fármaco durante la fase inicial después de su administración.

30 Listado de secuencias

[0116]

35 <110> PEPTRON CO., LTD

<120> COMPOSICIÓN Y MICROESFERA PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE EXENDINA, Y MÉTODO PARA SU PREPARACIÓN

40 <130> OPP20080200KR

<150> KR 2007-0029586

<151> 2007-03-27

45 <160> 6

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

50

<211> 39

<212> PRT

55 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de Exendin-3

60

<400> 1

ES 2 528 282 T3

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 2

5 <211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de Exendin-4

15 <400> 2

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 3

20

<211> 28

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

30 <223> Secuencia de aminoácidos de la variante de Exendina-4 (1-28)

<400> 3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
20 25

35

<210> 4

<211> 30

40 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45

<223> Secuencia de aminoácidos de la variante de Exendina-4 (1-30)

ES 2 528 282 T3

<400> 4

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly
20 25 30

5

<210> 5

<211> 31

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15

<223> Secuencia de aminoácidos de la variante de Exendina-4

<400> 5

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro
20 25 30

20

<210> 6

<211> 39

25

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Secuencia de aminoácidos de la variante de Exendina-4 14Leu25Phe

<400> 6

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

35

REIVINDICACIONES

1. Una microesfera de liberación controlada con una capa de recubrimiento que comprende un núcleo que contiene una exendina como principio activo, y un polímero biodegradable, y
5 una capa de recubrimiento que recubre el núcleo con un material de recubrimiento, en el que el polímero biodegradable es un polímero seleccionado del grupo constituido por poliláctido (PLA), poliglicólido (PGA), poli(láctido-co-glicólido) (PLGA), polioritoéster, polianhídrido, ácido polihidroxitútrico, 10 policaprolactona, y polialquilcarbonato, un copolímero o una mezcla simple de dos o más seleccionados del grupo polimérico; un copolímero del polímero y polietilenglicol (PEG), o un complejo de polímero-azúcar en el que un azúcar se acopla al polímero o al copolímero,
- el material de recubrimiento es uno o más seleccionado del grupo constituido por aminoácidos básicos, polipéptidos, 15 y compuestos orgánicos de nitrógeno, en el que el aminoácido básico es uno o más seleccionado del grupo constituido por arginina, lisina, e histidina, el polipéptido comprende de 2 a 10 aminoácidos en el que están comprendidos uno o más aminoácidos básicos seleccionados del grupo constituido por arginina, lisina, e histidina, y el número de aminoácidos básicos es superior al de aminoácidos ácidos, y el compuesto orgánico de nitrógeno es uno o más seleccionado del grupo constituido por creatina, creatinina, y urea. 20
2. La microesfera de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el polímero biodegradable tiene una viscosidad intrínseca de 0,01 a 0,06 m³/kg (de 0,1 a 0,6 dl/g), que se mide para el polímero biodegradable disuelto en cloroformo a una concentración del 1 % (p/v) a 25 °C ± 0,1 °C usando un viscosímetro de Ubbelohde. 25
3. La microesfera de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el polímero biodegradable tiene una viscosidad intrínseca de 0,015 a 0,031 m³/kg (de 0,15 a 0,31 dl/g), que se mide para el polímero biodegradable disuelto en cloroformo a una concentración del 1 % (p/v) a 25 °C ± 0,1 °C usando un viscosímetro de Ubbelohde. 30
4. La microesfera de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el contenido de exendina es de 0,1 a 10 partes en peso en base a 100 partes en peso de la microesfera.
5. La microesfera de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el contenido de la capa de recubrimiento es de 0,01 a 5 partes en peso en base a 100 partes en peso de la microesfera. 35
6. La microesfera de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el polipéptido es uno o más seleccionado del grupo constituido por L-Ala-L-His-L-Lys, L-Arg-L-Phe, Gly-L-His, Gly-L-His-Gly, Gly-L-His-L-Lys, L-His-Gly, L-His-Leu, L-Lys-L-Tyr-L-Lys, L-His-L-Val, L-Lys-L-Lys, L-Lys-L-Lys-L-Lys, y L-Lys-L-Thr-L-Thr- 40 L-Lys-L-Ser.
7. La microesfera de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la exendina es una o más seleccionada del grupo constituido por exendina-3 (SEQ ID NO: 1), exendina-4 (SEQ ID NO: 2), una representada por la Fórmula química I o II, un derivado de exendina que tiene un C-término sustituido o no sustituido 45 con un grupo amida, y una de sus sales farmacéuticamente aceptables:

Fórmula química I

Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 Xaa14 Xaa15 Xaa16 Xaa17 Ala
50 Xaa19 Xaa20 Xaa21 Xaa22 Xaa23 Xaa24 Xaa25 Xaa26 Xaa27 Xaa28-Z1,

en la que:

- Xaa1 es His, Arg, Tyr, Ala, Norval, Val, Norleu, o 4-imidazopropionilo;
55 Xaa2 es Ser, Gly, Ala, o Thr;
Xaa3 es Ala, Asp, o Glu;
Xaa4 es Ala, Norval, Val, Norleu, o Gly;
Xaa5 es Ala o Thr;
Xaa6 es Ala, Phe, Tyr, o naftilalanina;
60 Xaa7 es Thr o Ser;
Xaa8 es Ala, Ser, o Thr;
Xaa9 es Ala, Norval, Val, Norleu, Asp, o Glu;
Xaa10 es Ala, Leu, Ile, Val, pentilglicina, o Met;
Xaa11 es Ala o Ser;
65 Xaa12 es Ala o Lys;
Xaa13 es Ala o Gln;

- Xaa14 es Ala, Leu, Ile, pentilglicina, Val, o Met;
 Xaa15 es Ala o Glu;
 Xaa16 es Ala o Glu;
 Xaa17 es Ala o Glu;
- 5 Xaa19 es Ala o Val;
 Xaa20 es Ala, o Arg;
 Xaa21 es Ala, Leu, o Lys-NH ϵ -R en la que R es Lys, Arg, o un alcanoilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada;
 Xaa22 es Ala, Phe, Tyr, o naftilalanina;
 Xaa23 es Ile, Val, Leu, pentilglicina, terc-butilglicina, o Met;
- 10 Xaa24 es Ala, Glu, o Asp;
 Xaa25 es Ala, Trp, Phe, Tyr, o naftilalanina;
 Xaa26 es Ala o Leu;
 Xaa27 es Ala o Lys;
 Xaa28 es Ala o Asn; y
- 15 Z1 es -OH, -NH₂, Gly-Z2, Gly Gly-Z2, Gly Gly Xaa31-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38-Z2, o Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38 Xaa39-Z2, en la que Xaa31, Xaa36, Xaa37, y Xaa38 se seleccionan independientemente del grupo constituido por Pro, homoprolina, 3Hyp, 4Hyp, tioprolina, N-aquilglicina, N-
- 20 alquilpentilglicina, o N-alquilalanina, Xaa39 es Ser, o Tyr, y Z2 es -OH, o -NH₂), a condición de que no más de tres de Xaa3, Xaa4, Xaa5, Xaa6, Xaa8, Xaa9, Xaa10, Xaa11, Xaa12, Xaa13, Xaa14, Xaa15, Xaa16, Xaa17, Xaa19, Xaa20, Xaa21, Xaa24, Xaa25, Xaa26, Xaa27, y Xaa28 sean Ala, y cuando Xaa1 es His, Arg, o Tyr, al menos uno de Xaa3, Xaa4, y Xaa9 es Ala.
- 25 Fórmula química II
- Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 Xaa13 Xaa14 Xaa15 Xaa16 Xaa17 Ala Xaa19 Xaa20 Xaa21 Xaa22 Xaa23 Xaa24 Xaa25 Xaa26 X1-Z1,
- 30 en la que
- Xaa1 es His, Arg, Tyr, Ala, Norval, Val, Norleu, o 4-imidazopropionilo;
 Xaa2 es Ser, Gly, Ala, o Thr;
 Xaa3 es Ala, Asp, o Glu;
- 35 Xaa4 es Ala, Norval, Val, Norleu, o Gly;
 Xaa5 es Ala o Thr;
 Xaa6 es Ala, Phe, Tyr, o naftilalanina;
 Xaa7 es Thr o Ser;
 Xaa8 es Ala, Ser, o Thr;
- 40 Xaa9 es Ala, Norval, Val, Norleu, Asp, o Glu;
 Xaa10 es Ala, Leu, Ile, Val, pentilglicina, o Met;
 Xaa11 es Ala o Ser;
 Xaa12 es Ala o Lys;
 Xaa13 es Ala o Gln;
- 45 Xaa14 es Ala, Leu, Ile, pentilglicina, Val, o Met;
 Xaa15 es Ala o Glu;
 Xaa16 es Ala o Glu;
 Xaa17 es Ala o Glu;
 Xaa19 es Ala o Val;
- 50 Xaa20 es Ala o Arg;
 Xaa21 es Ala, Leu, o Lys-NH ϵ -R en la que, R es Lys, Arg, un alcanoilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada, o cicloaleil-alcanoilo;
 Xaa22 es Phe, Tyr, o naftilalanina;
 Xaa23 es Ile, Val, Leu, pentilglicina, terc-butilglicina, o Met;
- 55 Xaa24 es Ala, Glu, o Asp;
 Xaa25 es Ala, Trp, Phe, Tyr, o naftilalanina;
 Xaa26 es Ala o Leu;
 X1 es Lys Asn, Asn Lys, Lys-NH ϵ -R Asn, Asn Lys-NH ϵ -R, Lys-NH ϵ -R Ala, Ala Lys-NH ϵ -R en la que R es Lys, Arg, un alcanoilo C₁-C₁₀ de cadena lineal o ramificada, o cicloalquilalcanoilo);
- 60 Z1 es -OH, -NH₂, Gly-Z2, Gly Gly-Z2, Gly Gly Xaa31-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37-Z2, Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38-Z2, o Gly Gly Xaa31 Ser Ser Gly Ala Xaa36 Xaa37 Xaa38 Xaa39-Z2, en la que Xaa31, Xaa36, Xaa37, y Xaa38 se seleccionan independientemente del grupo constituido por Pro, homoprolina, 3Hyp, 4Hyp, tioprolina, N-aquilglicina, N-
- 65 alquilpentilglicina, y N-alquilalanina, Xaa39 es Ser o Tyr, y Z2 es -OH o -NH₂, a condición de que no más de tres de Xaa3, Xaa4, Xaa5, Xaa6, Xaa8, Xaa9, Xaa10, Xaa11, Xaa12, Xaa13, Xaa14,

Xaa15, Xaa16, Xaa17, Xaa19, Xaa20, Xaa21, Xaa24, Xaa25, y Xaa26 sean Ala, y cuando Xaa1 es His, Arg, Tyr, o 4-imidazopropionilo, al menos uno de Xaa3, Xaa4, y Xaa9 es Ala.

8. La microesfera de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el derivado de exendina es un polipéptido con los SEQ ID Nos: 3, 4,5 o 6, que tiene un C-término sustituido o no sustituido con un grupo amida.

9. La microesfera de liberación controlada de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende uno o más seleccionados del grupo constituido por coloides protectores y excipientes farmacéuticamente aceptables.

10. Un método de preparación de una microesfera de liberación controlada que contiene exendina con una capa de recubrimiento que comprende las etapas de:

mezcla de una exendina y un polímero biodegradable para preparar una emulsión de tipo W/O o una mezcla homogénea; y emulsificación añadiendo la emulsión o la mezcla homogénea a una solución acuosa de un material de recubrimiento para formar una capa de recubrimiento, en la que el polímero biodegradable es un polímero seleccionado del grupo constituido por poliláctido (PLA), poliglicólido (PGA), poli(láctido-co-glicólido) (PLGA), poliortoéster, polianhídrido, ácido polihidroxibutírico, policaprolactona, y polialquilcarbonato, un copolímero o una mezcla simple de dos o más seleccionados del grupo polimérico; un copolímero del polímero y polietilenglicol (PEG), o un complejo de polímero-azúcar en el que un azúcar se acopla al polímero o al copolímero, el material de recubrimiento es uno o más seleccionado del grupo constituido por aminoácidos básicos, polipéptidos, y compuestos orgánicos de nitrógeno, en el que el aminoácido básico es uno o más seleccionado del grupo constituido por arginina, lisina, e histidina, el polipéptido comprende de 2 a 10 aminoácidos en el que están comprendidos uno o más aminoácidos básicos seleccionados del grupo constituido por arginina, lisina, e histidina, y el número de aminoácidos básicos es superior al de aminoácidos ácidos, y el compuesto orgánico de nitrógeno es uno o más seleccionado del grupo constituido por creatina, creatinina, y urea.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la concentración de la solución acuosa de un material de recubrimiento es del 0,01 M a 1 M.

12. Un método de preparación de microesferas de liberación controlada que contienen exendina con una capa de recubrimiento que comprende las etapas de:

mezcla de una exendina y un polímero biodegradable para preparar una emulsión de tipo W/O o una mezcla homogénea; solidificación de la emulsión o mezcla homogénea obtenida para preparar microesferas primarias; y suspensión de las microesferas primarias obtenidas en una solución acuosa de un material de recubrimiento para formar una capa de recubrimiento sobre cada microesfera, en el que el polímero biodegradable es un polímero seleccionado del grupo constituido por poliláctido (PLA), poliglicólido (PGA), poli(láctido-co-glicólido) (PLGA), poliortoéster, polianhídrido, ácido polihidroxibutírico, policaprolactona, y polialquilcarbonato, un copolímero o una mezcla simple de dos o más seleccionados del grupo polimérico; un copolímero del polímero y polietilenglicol (PEG), o un complejo de polímero-azúcar en el que un azúcar se acopla al polímero o al copolímero, y el material de recubrimiento es uno o más seleccionado del grupo constituido por aminoácidos básicos, polipéptidos, y compuestos orgánicos de nitrógeno, en el que el aminoácido básico es uno o más seleccionado del grupo constituido por arginina, lisina, e histidina, el polipéptido comprende de 2 a 10 aminoácidos en el que están comprendidos uno o más aminoácidos básicos seleccionados del grupo constituido por arginina, lisina, e histidina, y el número de aminoácidos básicos es superior al de aminoácidos ácidos, y el compuesto orgánico de nitrógeno es uno o más seleccionado del grupo constituido por creatina, creatinina, y urea.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la etapa de solidificación se lleva a cabo mediante un método por separación de fases, o un método de secado por pulverización.

14. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la concentración de la solución acuosa de un material de recubrimiento es de 0,01 M a 1 M.

FIG. 1

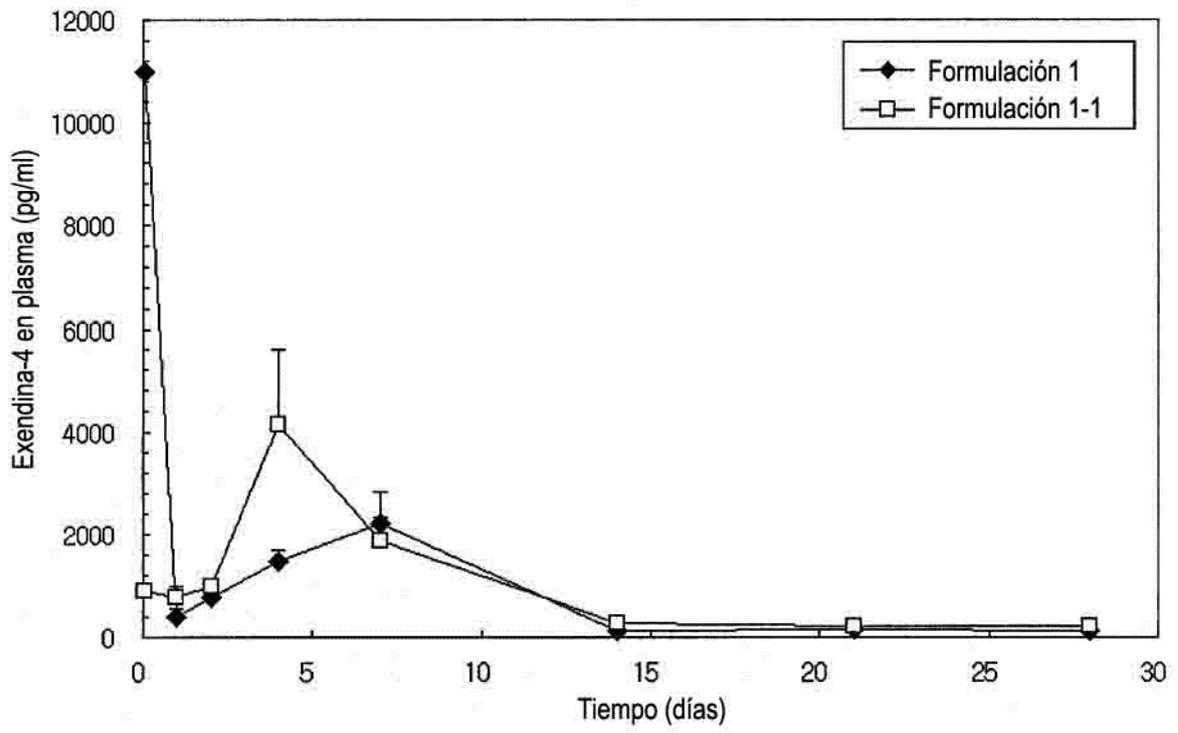


FIG. 2

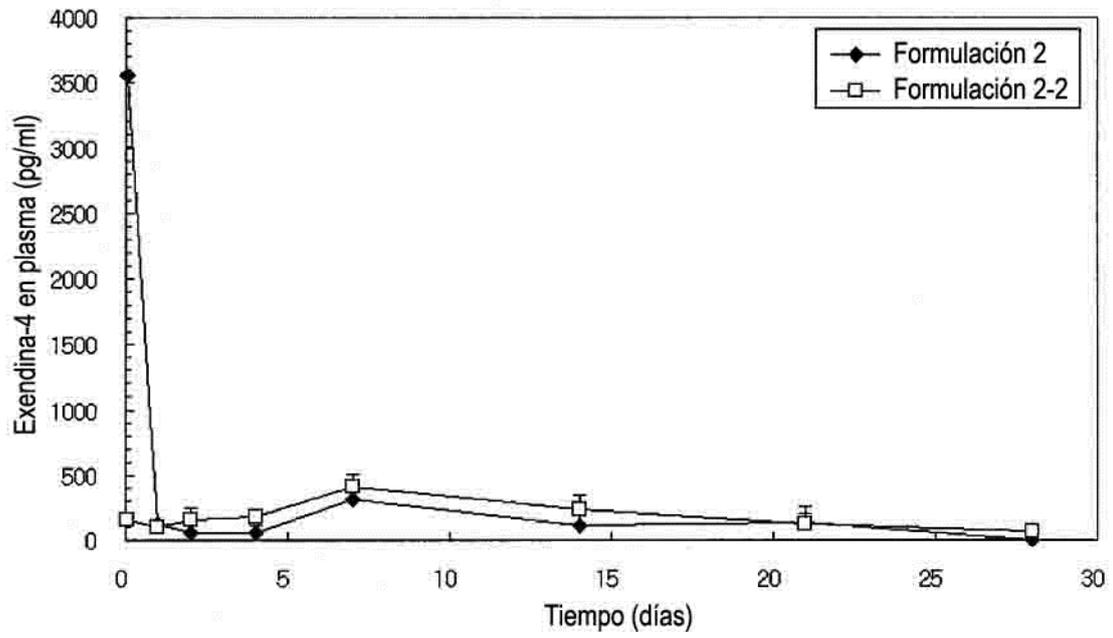


FIG. 3

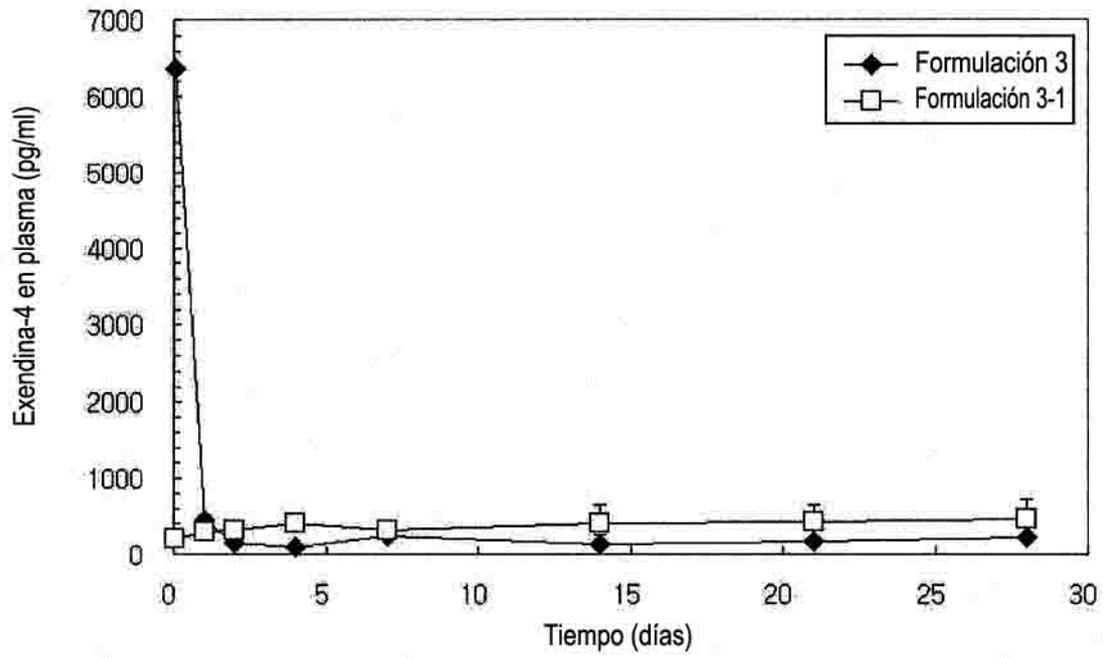


FIG. 4a

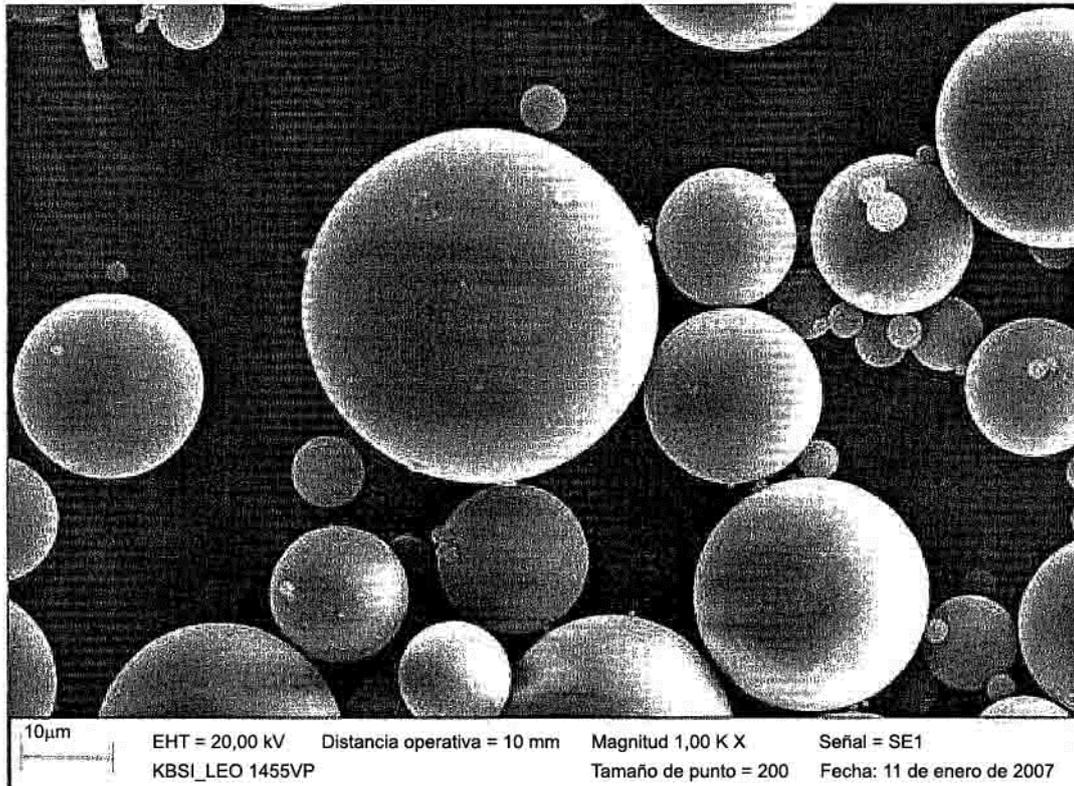


FIG. 4b

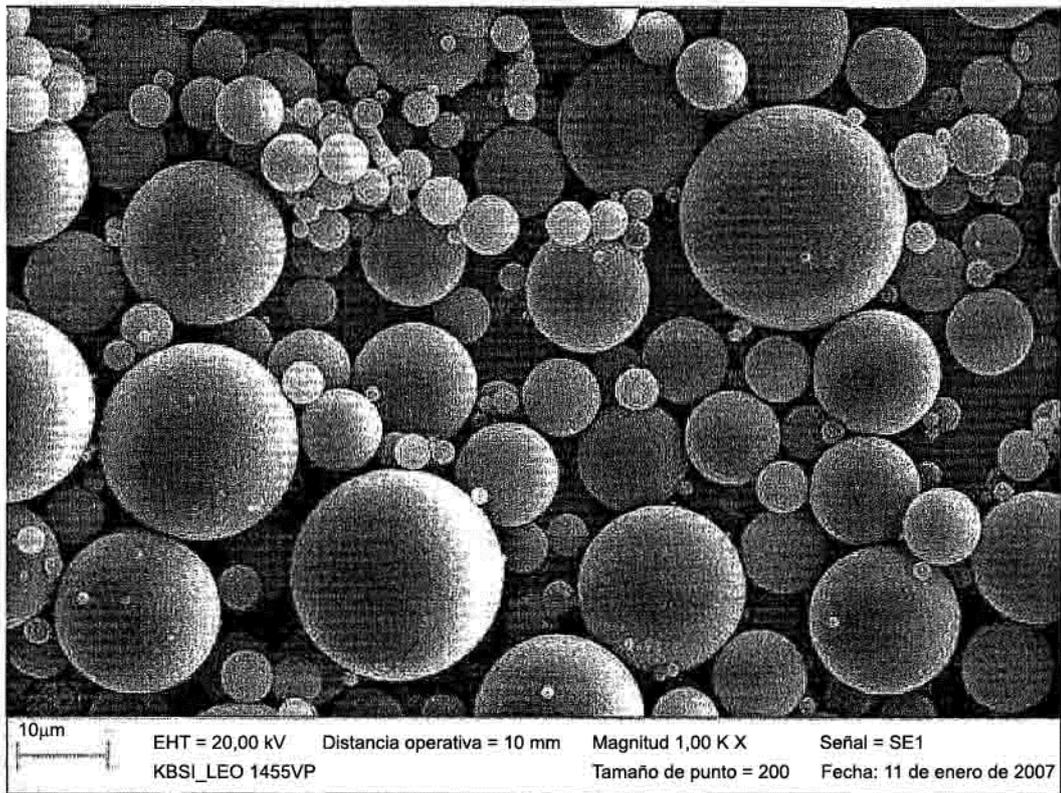


FIG. 4c

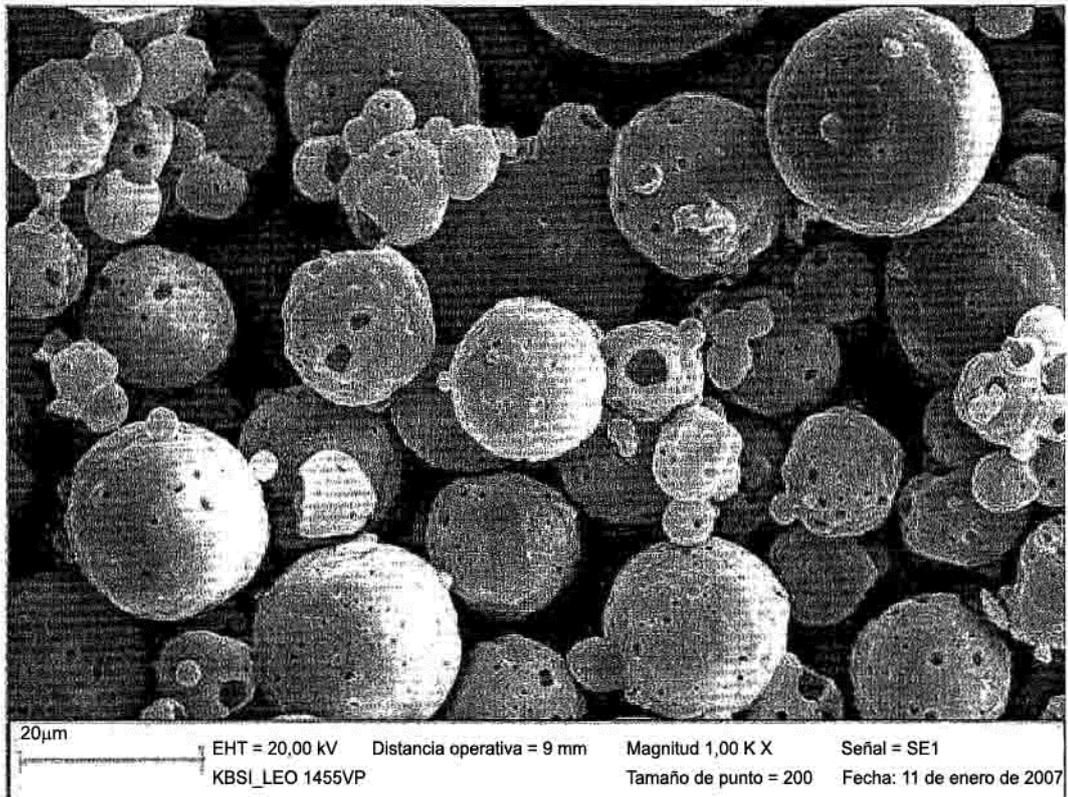


FIG. 4d

