

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 535 216**

51 Int. Cl.:

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 9/70 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2008 E 08832081 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.01.2015 EP 2170290**

54 Título: **Sistema de liberación controlada de un principio activo y procedimiento de preparación**

30 Prioridad:

18.07.2007 FR 0705187

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

06.05.2015

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (50.0%)
3, RUE MICHEL ANGE
75794 PARIS CEDEX 16, FR y
UNIVERSITÉ MONTPELLIER I (50.0%)**

72 Inventor/es:

**VERT, MICHEL;
LECLERCQ, LAURENT y
BOUSTTA, MAHFOUD**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 535 216 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

Sistema de liberación controlada de un principio activo y procedimiento de preparación.

5 La presente invención se refiere a un sistema de liberación controlada de un principio activo que comprende una matriz de polímero degradable, así como un complejo sólido entre este principio activo y un polielectrolito asociado sensible a ácidos, degradable a su vez bajo el efecto de los productos de la degradación del o de los polímeros que forman la matriz.

10 En el campo de la liberación controlada de principios activos, y en particular de principios activos que llevan unas cargas electrostáticas múltiples, o también de polielectrolitos, tales como péptidos, proteínas y polinucleótidos, se ha propuesto retener de manera temporal el principio activo dentro de una matriz, generalmente de polímero, en la cual las moléculas de principios activos se liberan según un perfil condicionado por su solubilidad en función de un reparto de fases, de su capacidad para difundirse dentro de esta matriz o de los defectos que presenta, y/o de la
15 velocidad de degradación de ésta [3].

Sin embargo, la incorporación de compuestos macromoleculares muy hidrosolubles, tales como los péptidos y las macromoléculas de tipo proteínas y oligo- o polinucleótidos, es frecuentemente difícil y poco eficaz debido a su hidrofilia. En paralelo y por las mismas razones, la liberación es con frecuencia demasiado rápida debido a su gran solubilidad en los fluidos biológicos cercanos o a un hinchamiento muy significativo de la matriz, como en el caso de las matrices de polímeros de tipo hidrogel.
20

Además, la captura de los principios activos muy hidrófilos, en particular de los principios activos cargados electrostáticamente (aniones o cationes) es difícil de realizar, ya que estos principios activos son difíciles de incorporar en una matriz hidrófoba sólida y su liberación es demasiado rápida o demasiado larga según la naturaleza del sistema principio activo-matriz.
25

Por último, los perfiles de liberación son, hasta ahora, generalmente insatisfactorios, y existe una necesidad de unos sistemas de liberación controlada cuyo perfil de liberación sea más adecuado. La solicitante ha satisfecho esta necesidad y alcanza este objetivo para unos principios activos que tienen por lo menos una carga electrostática, realizando unas matrices de polímeros, degradables por degradación hidrolítica con generación de compuestos ácidos. Al contrario que en el caso general en el que el principio activo es directamente incorporado en la matriz, según la invención, el principio activo es en primer lugar incorporado, con un polielectrolito asociado de carga opuesta, en un complejo polielectrolito sólido. La matriz se degrada al contacto con el agua o con líquidos fisiológicos generando unos ácidos que catalizan la degradación del polielectrolito complejante, y el principio activo se libera.
30
35

El documento 2006/099514 describe unos sistemas de liberación controlada en los que un principio activo, por un lado, y un complejo de polielectrolito (CPE) bioactivo, por el otro, se añaden de forma independiente el uno del otro a una solución de polímero. Son incorporados a la matriz de polímero en solución, por disolución o dispersión. Este documento no describe ni sugiere la utilización particular de complejante sensible a ácidos que interactuaría con los productos ácidos de degradación de la matriz. En el documento WO 2006/099514, los CPE, incorporados a las matrices de polímeros, modulan la liberación de un principio activo distinto de los CPE. Estos CPE son unos sólidos estables y no pueden ser considerados por lo tanto como bioactivos. Además, no se pueden difundir tal cual fuera de una matriz de polímero, sea cual sea. Para que esto sea posible, se necesita que el CPE esté desestabilizado y es sabido que eso es muy difícil. Según la invención, uno de los asociados del complejo se selecciona degradable para este fin.
40
45

La complejación puede ocultar en particular la hidrofilia cuando ésta es excesiva y favorecer la incorporación del principio activo en la matriz. La incorporación del complejo en una matriz permite proteger temporalmente el principio activo complejado, frenar o prolongar su liberación y evitar la liberación inicial brusca.
50

Según la invención, un polímero asociado de tipo polielectrolito, complejante, degradable por vía hidrolítica, fija temporalmente un principio activo, en forma sólida, dentro de una matriz de polímero. Al contacto con el agua o con un medio fisiológico, el principio activo se libera progresivamente, por degradación del complejante polielectrolito sensible a ácidos bajo la acción de los productos de degradación ácidos de la matriz.
55

Así, se reúnen las condiciones para proteger el principio fisiológicamente activo iónico o la sustancia bioactiva polielectrolítica por complejación con un polielectrolito sensible a ácidos de carga neta opuesta. Esta protección se realiza sin utilizar un acoplamiento químico, que crearía una nueva entidad, mientras que dicha entidad debería ser aprobada por los organismos reglamentarios.
60

El principio activo o compuesto bioactivo, puesto así en forma de partículas de complejo sólido, se vuelve insoluble en medio acuoso, lo cual minimiza la liberación inicial brusca. Así, preferentemente, el complejo es particular, sólido y estable en las condiciones de pH, de temperatura y de salinidad de los medios fisiológicos. Según la invención, los complejos son preferentemente precipitados o también obtenidos en el estado sólido por liofilización o por secado en
65

horno, por ejemplo.

Además, según la invención, el complejo es temporalmente retenido incorporándolo dentro de una matriz. Esta segunda protección del principio activo permite una liberación retardada condicionada en gran parte por la velocidad de degradación del polielectrolito y la de la matriz hidrolíticamente degradable, sin modificación química del compuesto bioactivo.

Según la invención, los fenómenos utilizados son de tipo cooperativo en el sentido en el que la complejación interviene en un campo muy limitado de características fisicoquímicas (pH, pK(s) de las funciones ionizables o ionizadas, temperatura, fuerza iónica, naturaleza de los contraiones y coiones presentes, densidad de cargas de los componentes iónicos, e incluso frecuentemente del orden de adición de los reactivos). Por lo tanto, un complejo polielectrolítico es generalmente estequiométrico en términos de cargas eléctricas opuestas y no en términos de peso.

Por el contrario, la mezcla en términos de peso, tal como se utiliza en la técnica anterior, conduce casi inevitablemente a unos excesos de uno u otro de los componentes de signos opuestos, estando el exceso entonces sometido a las mismas reglas que el compuesto no complejado y liberado según unas reglas de difusión (o de degradación de la matriz).

Además, la desestabilización de un complejo no obedece al concepto de masa, sino a una variación relativamente repentina de las condiciones exteriores (variación de pH y/o de fuerza iónica).

Así, se observa a partir de curvas divulgadas en el documento WO 92/11844 que no hay liberación prolongada después de 24 horas, lo que se traduce por una variación horizontal de la concentración de EPO en el tiempo. La única liberación observada es de tipo brusco ("burst"), y la liberación se detiene al 30% o al 70% según la composición. Y, aparte de las diferencias de liberación de tipo "burst", los perfiles de liberación BSA-sacarosa (neutro) y BSA-protamina (polibase) son similares, y se puede concluir que las mezclas se realizan en peso, y no en cargas, y que no se tienen en cuenta las cargas electroestáticas que controlan la complejación.

Además, en el documento WO 92/11844, los complejos descritos en los ejemplos no están precipitados, sino en solución, siendo las soluciones filtradas a través de las columnas de cromatografía.

El documento US 2005/118718 se refiere a la formación de un complejo entre un poliaminoácido y una proteína sin que esté descrita la generación de ácido o la sensibilidad al los ácidos de los polielectrolitos incorporados en la parte compleja.

Así, se propone según la invención un sistema de liberación controlada de un principio activo que comprende por lo menos (a) una matriz de polímero degradable generadora de compuestos ácidos y, (b) por lo menos un complejo entre un principio activo dotado de por lo menos una carga electroestática y un polielectrolito asociado que compleja el principio activo, de carga opuesta, siendo el complejante sensible a ácidos.

La presente invención se refiere también a la utilización de un polielectrolito sensible a ácidos como complejante, en un sistema de liberación controlada de un principio activo que comprende por lo menos una matriz de polímero degradable generadora de compuestos ácidos y por lo menos un complejo entre un principio activo dotado de por lo menos una carga electroestática y un polielectrolito asociado que compleja dicho principio activo, de carga opuesta.

Por otra parte, se propone según la invención un procedimiento de preparación de un sistema de liberación controlada que comprende por lo menos las etapas de formación de un complejo entre un principio activo dotado de por lo menos una carga electroestática y un polielectrolito asociado complejante de carga opuesta, estando el complejo preferentemente en forma sólida y siendo dicho complejante sensible a ácidos, y después la incorporación del complejo en una matriz de polímero bioreabsorbible que genera unos productos de degradación ácidos.

Así, se puede formar por emparejamiento iónico un complejo degradable, estable en las condiciones de pH, de salinidad y de temperatura de los medios fisiológicos neutros, por ejemplo en forma de un precipitado, que se puede aislar e incorporar en una matriz. Un emparejamiento iónico de este tipo supone una estequiometría de carga, por oposición a una estequiometría de masa.

Los sistemas de liberación controlada de la invención permiten modular las características de liberación del principio activo, sin modificación química del compuesto bioactivo, que es el principio activo. La modulación depende de la estabilidad del polielectrolito asociado de carga opuesta a la del principio activo, de la sensibilidad del complejo a la degradación al contacto con ácidos y de la naturaleza de la matriz, estando la liberación retardada del principio activo condicionada por la velocidad de degradación del polielectrolito degradable y por la naturaleza de la matriz de polímero.

Estos sistemas de liberación controlada pueden permitir, en particular, la liberación controlada de principios activos de tipo oligómeros o de polímeros cargados.

La formación del complejo es un elemento determinante de la preparación de los sistemas de liberación de la invención. El complejo es preferentemente lo bastante estable en las condiciones utilizadas para permitir aislarlo e incorporarlo en una matriz. Más precisamente, el complejo es preferentemente según la invención estable en unas condiciones de pH, de salinidad y de temperatura típicas del líquido biológico que está en contacto con el sistema de liberación. Se trata en particular, a pH 7,4 y aproximadamente 37°, de la sangre o de la linfa. Así, por medios fisiológicos y en los que el complejo es estable, se entiende los medios fisiológicos en los que el sistema de liberación controlada está destinado a ser aplicado.

Preferentemente, se forma un complejo sólido obtenido en forma de polvo, por ejemplo por precipitación según la invención. Según la invención, el complejo es así insoluble en medio acuoso de preparación. Se incorpora el complejo en una matriz de polímero degradable generadora de compuestos ácidos, de manera habitual para el experto en la materia. La granulometría debe ser compatible con la incorporación ulterior, por ejemplo por revestimiento en el material de la matriz.

El complejo sólido puede, en algunos casos, si no se obtiene por precipitación, ser obtenido por ejemplo en forma de liofilizado. La forma sólida del complejo depende de la pareja complejante-principio activo, y el experto en la materia sabrá seleccionar y adaptar las técnicas de formación del complejo para su incorporación en la matriz.

Como matriz de polímero degradable, se puede utilizar cualquier polímero biodegradable susceptible de formar unos compuestos ácidos durante su degradación hidrolítica.

De manera general, son convenientes las matrices de tipo poli(α -hidroxi ácido) o polianhídrido, y también se pueden considerar otros polímeros similares, fisiológicamente aceptables y susceptibles de formar unos compuestos ácidos durante su degradación, como algunos poliortoésteres. Dichos polímeros son descritos, por ejemplo, por M- Vert entre los biopolímeros artificiales [8].

A título de ejemplo, se pueden citar las matrices poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLAGA). Este copolímero proporciona ácido láctico y ácido glicólico en degradación. Se denomina "PLA" por poli(ácido láctico), y se denomina habitualmente PLA50 para el 50% de unidades L-láctico y el 50% de unidades D-láctico, PLA(37,5)GA(25) para el 37,5% de unidades L-láctico y el 37,5% de unidades D-láctico para las unidades ácido láctico y el 25% de unidades de ácido glicólico. Cuanto más significativo sea el porcentaje de ácido láctico, más marcado es el carácter hidrófobo de la matriz y más lenta es la degradación hidrolítica. Se pasa típicamente por ejemplo de una degradación en medio PBS en 18 días con PLA(37,5)GA(25) a 90 días con el homopolímero PLA50 [7].

La masa molar inicial de la matriz se selecciona para permitir formar el implante o las partículas o el hidrogel deseado según las técnicas habituales en el campo de la liberación controlada.

Así, se pueden citar también las matrices poli(caprolactona) (PCL), en particular las PCL modificadas para ser sensibles a ácidos, tales como las descritas en Gimenez *et al.*, [5]. Los polímeros PCL proporcionan el ácido caproico durante la degradación. Al ser PCL más hidrófoba que PLA, la degradación de este polímero es más lenta que la de PLA.

Se pueden citar también los derivados copolímeros de poli(β -ácido málico) convenientemente esterificados parcialmente tales como los citados por Mauduit *et al.*, [6].

Se pueden citar también los hidrogeles derivados de los polímeros anteriores, en particular PLA y PLAGA, por combinación con unos segmentos hidrófilos.

Como se ha indicado anteriormente, se puede considerar cualquier otra matriz capaz de proporcionar unos productos de degradación ácidos y fisiológicamente aceptables.

La matriz de polímero degradable se puede utilizar en cualquier forma habitual, como implantes, películas, micropartículas, hidrogeles y en particular unas matrices hidrófilas a base de copolímeros que comprenden unos segmentos hidrófilos tales como poli(vinilpirrolidona), dextrano o poli(óxido de etileno) y unos segmentos de polímeros que generan unos compuestos ácidos tales como los polianhídridos o los poli(α -hidroxi-ácidos), debiendo la forma seleccionada permitir la incorporación del complejo sensible a ácidos.

Por principio activo o compuesto bioactivo iónico susceptible de ser liberado según la presente invención, se entiende cualquier principio activo o, más ampliamente, cualquier compuesto bioactivo iónico dotado de por lo menos una carga electrostática, o también de cualquier sustancia de carácter polielectrolítico, es decir que posee como mínimo una carga electrostática.

El procedimiento de la invención es particularmente interesante para permitir la liberación controlada de proteínas, genes y fragmentos de ADN, oligonucleótidos, por ejemplo, incluyendo los pequeños péptidos.

El compuesto bioactivo iónico está asociado a un polielectrolito asociado que lo compleja, dotado de una carga opuesta. Preferentemente, el compuesto bioactivo iónico es el también un polielectrolito. Se puede utilizar cualquier principio activo iónico u oligómero cargado que puede formar una combinación sólida de tipo complejo iónico o poliiónico.

5 El polielectrolito asociado debe ser sensible a ácidos y llevar unas cargas opuestas con el fin de poder formar un complejo de tipo polisal o complejo polielectrolítico sólido y estable en las condiciones de realización.

10 Como polielectrolito asociado según la invención, se entiende cualquier polímero sensible a ácidos fisiológicamente aceptable capaz de complejar el principio activo.

15 Según la invención, un complejante está considerado que es sensible a ácidos cuando es estable a un pH de 7,4 y se degrada a un pH inferior a 7. Así, se considera sensible a ácidos según la invención un complejante degradable en medio ácido.

La degradación es tanto más rápida cuando el pH del medio cercano es ácido.

20 Por ejemplo, los complejantes PMLA, PLCA y PSA se degradan de manera significativa cuando están en contacto con un pH inferior a 6. Por ejemplo, un pH de este tipo se encuentra en las vacuolas lisosomales intracelulares.

25 Preferentemente, se utilizan unos polielectrolitos degradables y bioreabsorbibles, es decir que se eliminan por vía pulmonar y/o renal. Así, ventajosamente, el polielectrolito sensible a ácidos complejante pertenece a la familia de los polímeros denominados "biopolímeros artificiales" [8]. Dichos polímeros o copolímeros, degradables, bioreabsorbibles y biocompatibles están compuestos por unidades de repetición procedentes de monómeros normalmente presentes en los circuitos bioquímicos y regenerados durante la degradación hidrolítica, y encadenados los unos a los otros por unas funciones químicas intrínsecamente sensibles a ácidos, tales como las funciones éster, en particular éster alifático, las funciones anhídridas, las funciones ortoéster, o también unas funciones consideradas estables en medio acuoso, tales como las funciones amida u osida, cuando se vuelven sensibles a ácidos por la presencia de otras funciones promotoras en sus fórmulas.

30 El arquetipo de dichos biopolímeros artificiales de tipo poliéster es un polímero que comprende unos enlaces intracadena $[-COO-]_n$ y un resto de unidades de repetición que comprende por lo menos una función ionizable, tal como el ácido carboxílico (por ejemplo: PMLA) o básico (por ejemplo: PSA). El arquetipo de los polímeros que se vuelven sensibles a ácidos por la presencia de otra función es el PLCA, haciendo la función COOH al polímero hidrosoluble y sensibilizando las funciones amida $[-CONH-]_n$ intracadena a ácidos y por lo tanto a los medios ácidos, mientras que estas últimas son normalmente resistentes, ya sea en los polímeros de tipo poliamida alifática o aromática, así como en las proteínas, necesitando estas últimas la intervención de enzimas.

35 Por ejemplo, los polímeros de tipo PMLA y PLCA se pueden utilizar para complejar cualquier principio activo o sustancia bioactiva u oligómera de carga neta positiva. Los polímeros de tipo PSA se pueden utilizar para complejar cualquier principio activo o sustancia bioactiva u oligómero de carga neta negativa. Los polímeros PMLA, PLCA, PLCAI y PSA son unos polielectrolitos sensibles a ácidos capaces de complejar no solamente unos oligómeros o unos polímeros de carga opuesta, sino también unos compuestos de interés de tipo ácido o básico tales como unos péptidos o unos fragmentos de ADN. Más precisamente, los polímeros PSA, PMLA y PLCA están definidos por las unidades siguientes (1) a (4), procediendo las unidades PLCA por hidrólisis de las unidades de la imida PLCAI (3), representadas en la tabla I siguiente. Las unidades PLCA (4) son unas combinaciones de unidades lisina y de unidades de ácido cítrico. PMLA y PLCA son conocidos en particular por los documentos US nº 4.265.247 y EP 332 530, y PSA está descrito por Rossignol, H., *et al.*, [4]. Véase también [1], [2] y [8].

40 De manera preferida, se utilizan según la invención unos polímeros PMLA, PLCA, PLCAI y PSA representados en la tabla I siguiente. Se pueden utilizar otras contraiones diferentes de Na^+ y BR^- . Asimismo, se pueden considerar las formas $-COOH$ para los poliácidos y $-NH_2$ para las polibases.

45 Para los complejantes, como para las matrices de polímeros, se pueden considerar unas masas Mw del orden de 5000 a 500000 g/mol, preferentemente del orden de 10000 a 100000 g/mol.

50 Como ejemplos de compuesto bioactivo iónico según la invención, se pueden citar unos péptidos o unas proteínas: bursina, leuprolida, triptorelina, otros análogos de LH-RH, fragmentos de proteína, inhibidores de proteínas quinasas, etc. Entre los principios activos básicos, se pueden también citar los compuestos básicos de tipo multiamina diferentes de los péptidos o proteínas.

60

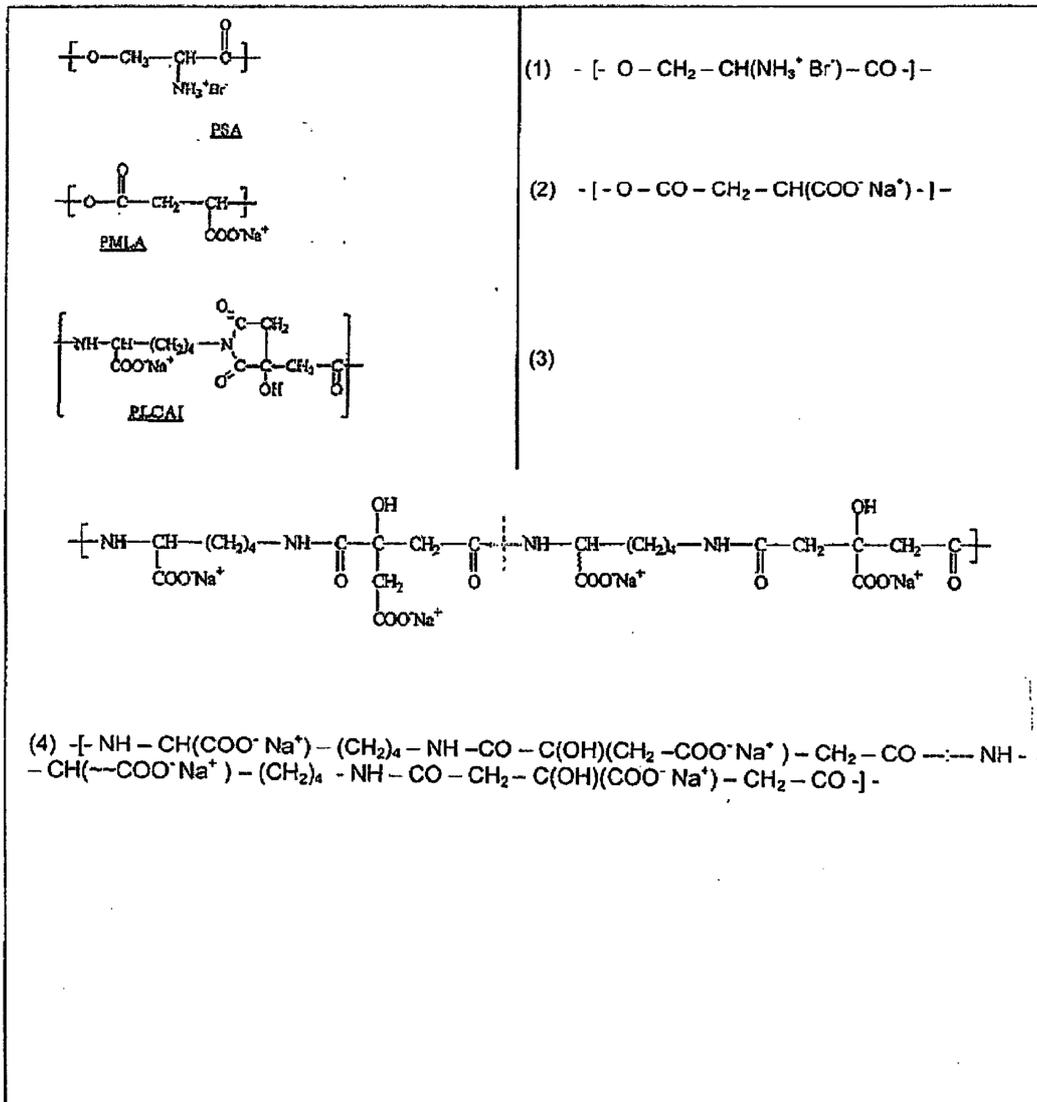


Tabla I

- 5 En lo referente al procedimiento de preparación de los sistemas de liberación de la invención, de manera general, los complejos están formados por la mezcla de una solución del polielectrolito con el compuesto principio activo a proteger y liberar progresivamente. Preferentemente, la complejación conduce a un precipitado estequiométrico pulverulento. Éste se puede triturar y tamizar ulteriormente con el fin de facilitar la incorporación en la matriz.
- 10 Se puede liofilizar el complejo, con el fin de obtener una forma seca; se puede también considerar secar en horno.
- 15 La incorporación del complejo en la matriz, que da lugar al sistema ternario matriz-complejante-principio activo, se realiza mediante cualquier medio compatible con la naturaleza de los complejos y de las matrices. Se puede utilizar una matriz en forma flexible y, para plegar la película, trabajar a una temperatura superior a Tg.
- 20 Típicamente, se utiliza una matriz en forma de una película, a veces denominada "placa" sobre la cual se deposita el complejo pulverulento, y después se repliega la película sobre sí misma y se prensa de nuevo la película replegada para obtener una nueva "placa" en la que se dispersa el principio activo. Para ello, se puede utilizar una prensa habitual capaz de trabajar a temperatura variable y producir unas películas de algunos centenares de micrones de grosor.
- 25 Después de la incorporación del polielectrolito a la matriz, la degradación del polielectrolito complejante degradable dentro de la matriz generadora de ácidos está condicionada por la presencia de agua o de líquido fisiológico.
- La presente invención se refiere a unas combinaciones entre complejos de compuestos de cargas opuestas en las condiciones fisiológicas y de retención en una matriz generadora de ácidos capaces de degradar el complejante polielectrolito del principio activo.

El complejo estable no se puede ser disociado a través de la ley de acción de masas, sino sólo por variación del pH local (obtenido por la degradación de la matriz) o también por aumento de la fuerza iónica (lo cual no se puede aprovechar en el interior de una matriz de polímero), aunque la liberación brusca ("burst") está atenuada, incluso suprimida según la invención.

Por último, según la invención, las liberaciones de los compuestos de interés son realmente prolongadas según unos perfiles originales, debido a la complejación con el polielectrolito sensible a ácidos, evolucionando la concentración en la fase de liberación con el tiempo durante periodos largos (varias docenas de días según los casos).

En lo referente a las relaciones ponderales, el complejo puede ser incorporado en una amplia gama de valores del porcentaje ponderal de complejo en el sistema ternario, que va del 0,1 al 60% en peso del peso total del sistema ternario. Es preferible utilizar un intervalo más restringido compatible con los resultados de farmacocinética, dicho intervalo preferido va del 1 al 40% en peso del complejo con respecto al peso total del sistema ternario complejo-matriz-polímero.

Una de las ventajas del sistema de liberación controlada es su estabilidad durante su almacenamiento. En efecto, la degradación del polímero, por ejemplo del polianión complejante degradable dentro de la matriz generadora de ácidos, está condicionada por la presencia de agua, por lo tanto el sistema se mantiene estable durante el almacenamiento en seco.

Alternativamente, se puede prever utilizar el sistema ternario matriz/complejo polielectrolito-principio activo no en forma de película, sino en forma de partículas. Estas partículas podrán ser asimismo recubiertas clásicamente por unos polímeros de tipo PLAGA o PLA, con el fin de aportar una modulación suplementaria en la velocidad de liberación del principio activo. La forma de la matriz (microesferas, micropartículas, placas, implantes, películas, etc.) influye sobre la velocidad de degradación de dicha matriz y, por lo tanto, de la velocidad de liberación del principio activo. La forma y las dimensiones de los sistemas de liberación controlada permiten adaptar la velocidad de degradación de la matriz y por lo tanto la formación de los productos ácidos que degradan el polielectrolito asociado.

La invención se entenderá mejor a la vista de las figuras adjuntas y de los ejemplos siguientes.

La figura 1 representa el perfil de liberación de un principio activo (7P) incorporado en un complejo de la invención (complejante PMLA) dentro de una matriz (PLAGA) (●), por comparación con el complejo solo (▲) o con el principio activo solo (■), incorporados en la misma matriz. En esta figura 1, la degradación en días se representa en las abscisas, y el porcentaje de liberación se representa en las ordenadas. Las figuras 2 y 3 se refieren a unos ejemplos similares con otro complejante (PLCA) y un modelo de principio activo polielectrolítico (PLL) respectivamente.

La solicitante ha puesto en evidencia, como aparece en los ejemplos, que se pueden obtener unos resultados similares con diferentes principios activos para un mismo par matriz-complejante de acuerdo con un control por la degradación de la matriz, y por lo tanto por la cinética de aparición de residuos ácidos.

A título comparativo, las figuras 4 y 5 ilustran los perfiles de liberación (porcentaje de liberación en las ordenadas, en función del tiempo en las abscisas, en días: 0 a 50 días) en el caso en el que un complejante sensible a ácidos se incorpora en una matriz estable y el caso en el que un complejante no sensible a ácidos se incorpora en una matriz degradable.

Los resultados obtenidos en los ejemplos comparativos en el caso de una matriz estable asociada a un complejante no sensible a ácidos y el de una matriz degradable asociada a un complejante sensible a ácidos muestran, respectivamente, la importancia de la selección de una matriz hidrolíticamente degradable generadora de productos de degradación ácidos, y la importancia de la selección de un complejante sensible a ácidos que se degrada bajo el efecto de la degradación de la matriz para permitir la liberación prolongada del principio activo.

Ejemplos 1 a 5: Preparación de sistemas de liberación controlada de Arg-Lys-Arg-Ser-Arg-Lys-Glu (7P) y de polisilina (PLL).

1) Reactivos utilizados:

Complejante:

- PMLA,Na (Mw = 30000 g/mol)
- PLCA,Na (Mw = 40000 g/mol, Mn = 20000 g/mol)

Matriz:

- PLA(37,5)GA(25) (Mw = 30000 g/mol, Mn=9000 g/mol) para los ejemplos 1 a 4
- PLA50 (Mw = 50000 g/mol) para el ejemplo 5

Principio activo o polielectrolito-modelo:

- el heptapéptido (7P) anterior, inhibidor de proteína quinasa, tiene una masa molecular de 959 g/mol y contiene 5 cargas positivas globales.
- la polisilina (PLL) tiene una masa molecular Mw de 12000 g/mol y contiene una carga positiva por unidad.

7P y PLL están disponibles particularmente en los proveedores Sigma-Aldrich, Bachem y American Peptide Company.

2) Preparación de cuatro complejos

Ejemplo 1: Típicamente, se añadieron 500 µl de solución acuosa que contiene 25 mg de PLL,HBr a 1 ml de solución que contiene 16,7 mg de PMLA,Na. Se recuperaron 26 mg de complejo sólido PMLA-PLL (rendimiento = 88%) después de la centrifugación de la mezcla y del secado del precipitado.

Ejemplo 2: De la misma manera, se obtuvieron 28 mg de PLCA-PLL (rendimiento = 84%) a partir de 20,7 mg de PLCA,Na y de 25 mg de PLL, HBr.

Ejemplo 3: Asimismo, se obtuvieron 22,3 mg de complejo sólido PLCA-7P (rendimiento = 63%) a partir de 19,1 mg de PLCA,Na y 25 mg de 7P.

Ejemplo 4: Asimismo, se obtuvieron 23,7 mg de complejo sólido PMLA-7P (rendimiento = 75%) a partir de 15,3 mg de PMLA,Na y 25 mg de 7P.

Los complejos sólidos se trituraron después en mortero y se obtuvo un polvo.

3) Incorporación de los complejos en la matriz

Típicamente, para los sistemas de los ejemplos 1 a 4, se prensó 1 g de PLA(37,5)GA(25) en una prensa (CARVER 4120 CE) a 50°C y se obtuvo una película de algunas centenas de micrones de grosor.

El polvo de complejo se depositó alrededor del centro de la película, que se replegó antes de prensar de nuevo la película en las mismas condiciones. Las etapas de plegado y prensado se repitieron tres veces. La totalidad del complejo se repartió así de manera homogénea dentro de la matriz.

Para el ejemplo comparativo en el que el principio activo se incorpora solo, en la matriz, la incorporación se realiza en las mismas condiciones que las del complejo.

Se ha realizado la incorporación a un porcentaje ponderal de incorporación del complejo en la matriz del 4% en peso, con un grosor final de la matriz de 0,5 mm, para los sistemas de los ejemplos 1 a 4.

Además, con el mismo procedimiento, cuando 1 g de PLA50 ha sustituido a 1 g de PLAGA, el prensado tiene lugar a 100°C y se ha obtenido una película de algunas centenas de micrones de grosor (ejemplo 5).

Ejemplos 6 a 8: Liberación del principio activo iónico

Para cada uno de los complejos de los ejemplos 1 a 4, se han estudiado los tres sistemas siguientes: el sistema binario complejo sólido polielectrolito/principio activo (▲ en las curvas), el sistema binario matriz/principio activo (■ en las curvas), y el sistema ternario matriz/complejo sólido polielectrolito-principio activo (● en las curvas).

Cada uno de los tres sistemas se introdujo en unos pastilleros que contienen 5 ml de PBS (condiciones fisiológicas modelos) y colocados bajo agitación a 37°C.

Regularmente, se extraen 20 µl de solución para análisis y se sustituyen por un mismo volumen de PBS. Los 20 µl de solución extraídos son añadidos a una solución que contiene 1,2 ml de tampón borato (concentración 0,1 M, pH = 9,3). Se añaden después 20 µl de TNBS (ácido trinitrobencensulfónico, de concentración 0,03 M) a la mezcla, dejada en reposo durante 2 horas. La cantidad de grupos aminas (y por lo tanto de principio activo) liberada se mide por espectroscopía UV-visible a 420 nm mediante unas curvas de calibrado.

Perfiles de liberación - resultados

La degradación de la matriz proporciona unos productos ácidos que catalizan la degradación del complejo polielectrolito-principio activo degradando de manera selectiva el polielectrolito asociado. La velocidad de degradación de la matriz condiciona directamente la velocidad de liberación de la sustancia iónica bioactiva.

En la figura 1, en el caso de los sistemas 7P/PLAGA (■) y PMLA/7P (▲), el péptido 7P se libera en menos de 2 días, incluso algunas horas, para el sistema binario PMLA/7P (▲).

5 Resultó que el sistema ternario PMLA/7P/PLA(37,5)GA(25) (●) de la figura 1, como los sistemas PMLA/PLL/PLA(37,5)GA(25) (●) de la figura 3, PLCA/7P/PLA(37,5)GA(25) (●) de la figura 2 y PLCA/PLL/PLA(37,5)GA(25) (no representado) permite una ganancia de liberación de PLL y 7P prolongada durante 18 días con respecto a los sistemas binarios matriz/principio activo o complejo polielectrolito-principio activo.

10 Resulta, por otro lado, que el sistema binario PLCA-PLL no permite la liberación de PLL en las condiciones fisiológicas modelos utilizadas: el sistema ternario tiene sin embargo la ventaja de hacer el PLL biodisponible.

Utilizando PLA50 en lugar de PLAGA como matriz degradable en el caso de PLL incorporado, según el ejemplo 5, la liberación del principio activo se retrasa considerablemente y se efectúa después de tres meses.

15

Ejemplo 9

Se ha estudiado también el sistema ternario PLA50/PMLA/7P preparado en las mismas condiciones que las del ejemplo 5. Muestra asimismo una liberación al cabo de 3 meses.

20

Ejemplos 10 a 12

Se obtuvieron unos perfiles de liberación similares con unos sistemas similares a los de los ejemplos 1, 3 y 4, siendo el porcentaje ponderal llevado del 4% a un porcentaje del 8% en la matriz. La matriz obtenida tiene finalmente un grosor 1,3 mm.

25

Ejemplos 13 - 14

Se han preparado unos complejos precipitados estables en PBS de manera similar a la de los ejemplos 1 y 2, con la leuprolida de la fase de PLL complejada por un lado con PMLA, y por otro lado con PLCA.

30

Ejemplos 15 - 16

Se han preparado asimismo unos complejos PMLA-bursina y PLCA-bursina, no precipitados como en los ejemplos 1 a 4, sino liofilizados, siendo los liofilizados incorporados en una placa de PLAGA.

35

Ejemplo 17 (comparativo)

Con el complejante PLCA,Na y el principio activo (polielectrolito-modelo) PLL, se ha preparado el complejo PLCA-PLL y se ha incorporado en la matriz poli(ε-caprolactona)(PCL), como anteriormente en el ejemplo 2. La incorporación se ha realizado a un porcentaje ponderal de incorporación del complejo en la matriz del 4% en peso, con un grosor final de la matriz de 0,5 mm después del prensado a 70°C.

40

Como aparece en la figura 4, aparece un ligero burst atribuible al lavado de superficie. Corresponde al 10% de la cantidad total de PLL. Incluso después de 50 días, se libera menos del 15% de la PLL total.

45

Ejemplo 18 (comparativo)

Con el complejante no sensible a ácidos poli(ácido metacrílico) (PMA,Na) y el principio activo (polielectrolito-modelo) PLL, se ha preparado el complejo PMA-PLL añadiendo 500 µl de solución acuosa que contiene 25 mg de PLL,HBr a 1 ml de solución acuosa que contiene 12,9 mg de PMA,Na. Se recuperaron 18 mg de complejo sólido PMA-PLL (rendimiento = 71%), después de la centrifugación de la mezcla y secado del precipitado. El complejo PMA-PLL se incorporó en la matriz PLA(37,5)GA(25), como anteriormente en los ejemplos 1 a 4. La incorporación se realizó a un porcentaje ponderal de incorporación del complejo de la matriz del 5% en peso, con un grosor final de la matriz de 0,15 mm después del prensado a 60°C.

50

55

Como aparece en la figura 5, incluso después de 50 días, se libera menos del 3% de la PLL total.

Ejemplo 19

60

Con el poli(α-aminoserinato) (PSA) y el principio activo (polielectrolito-modelo) poliácido acrílico (PAA, Na), se ha preparado el complejo PAA.PSA añadiendo 500 µl de solución acuosa que contiene 10,5 mg de PSA,HBr a 1 ml de solución acuosa que contiene 5,5 mg de PAA,Na. Se recuperaron 6,8 mg de complejo sólido PAA-PSA (rendimiento = 68%) después de la centrifugación de la mezcla y secado del precipitado. El complejo PAA-PSA obtenido se ha incorporado de la misma manera que en los ejemplos 1 a 4 en una matriz PLA (37,5)GA(25). La incorporación se ha realizado a un porcentaje ponderal de incorporación del complejo en la matriz del 4,5% en peso, con un grosor final

65

de la matriz de 0,22 mm después del prensado a 60°C.

Después de tres semanas, se ha constatado que el perfil de liberación del PAA (matriz degradable + complejante policationico sensible a ácidos) es análogo al de un complejante polianiónico sensible a ácidos y de un principio activo o polielectrolito-modelo de tipo policationico de los ejemplos 6 a 8.

Referencias

10 [1] Release of the polyanion from polyelectrolyte complexes by selective dégradation of the polycation T. Etrych, M. Boustta, L. Leclercq y M. Vert - J. Bioact. Comp. Polym., Vol. 21, p. 89-105 (2006).

15 [2] Degradable polymers as tools for polyelectrolyte complex analysis, L. Leclercq, M. Boustta y M. Vert - ACS Symposium Series 939 "Degradable polymers and materials" - Editeurs K.C. Khemani y C. Scholz, Chapter 17, p. 267-281 (2006).

[3] Influence of the poly(lactide-co-glycolide) type on the leuprolide release from in situ forming microparticle systems X. Luan y R. Bodmeier - J. Controlled Rel., Vol. 110, p. 266-272 (2006).

20 [4] Synthetic poly(β -hydroxyalkanoates) with carboxylic acid or primary amine pendent groups and their complexes, Rossignol, H., Boustta, M. & Vert, M., International Journal of Biological Macromolecules 25, 255-264 (1999).

25 [5] Synthesis, properties and in vitro degradation of carboxyl-bearing PCL, Gimenez, S., Ponsart, S., Coudane, J. & Vert, M., Journal of Bioactive and Compatible Polymers 16, 32-46 (2001).

[6] Hydrolytic Degradation of benzylated poly(beta-malic acid), Mauduit, J.; Boustta, M. y Vert, M., Journal Biomaterials Science, Polymer Edition 7, 207-220 (1995).

30 [7] Polylactic and polyglycolic acids as drug delivery carrier L. Brannon-Pepas & M. Vert (2000) Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Editeurs: D.L. Wise, A. Kilbanov, R. Langer, A. Mikos, L. Brannon-Pepas, N.A. Peppas, D.J. Trantalo, G.E. Wnek & M.J. Yaszemski, Marcel Dekker, New-York, p 99-130.

35 [8] Biopolymers and artificial biopolymers in biomedical applications, an overview. Vert, M., en Biorelated Polymers: Sustainable Polymer Science and Technology. Editeurs: Chiellini *et al.*, Kluwer Academic /Plenum Publishers, (2001).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Sistema de liberación controlada de un principio activo que comprende por lo menos (a) una matriz de polímero hidrolíticamente degradable generadora de compuestos ácidos y (b) por lo menos un complejo entre un principio activo dotado de por lo menos una carga electrostática y un polielectrolito asociado que compleja el principio activo, de carga opuesta, siendo dicho complejante sensible a ácidos estable a un pH de 7,4 y degradable a un pH inferior a 7, estando el complejo sólido formado por emparejamiento estequiométrico de cargas.
- 10 2. Sistema según la reivindicación 1, caracterizado por que la matriz de polímero es del tipo poli(α -hidroxi ácido) o polianhídrido o policaprolactona.
- 15 3. Sistema según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que la matriz de polímero es del tipo poli(lactida-co-glicólido).
- 20 4. Sistema según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la matriz de polímero degradable es a base de copolímeros que comprenden unos segmentos hidrófilos tales como poli(vinilpirrolidona), dextrano o poli(óxido de etileno) y unos segmentos de polímeros que generan unos compuestos ácidos tales como los polianhídridos o los poli(α -hidroxi-ácidos).
- 25 5. Sistema según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que el complejante se selecciona de entre los complejantes polielectrolitos del tipo poli(ácido málico) (PMLA), poli(lisina citramida) (PLCA o PLCAI) y poli(aminoserinato) (PSA).
- 30 6. Sistema según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que el complejo está constituido por emparejamiento iónico entre un principio activo básico y un complejante polianión del tipo poli(ácido málico) o poli(lisina citramida).
- 35 7. Sistema según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que el principio activo básico es del tipo multiamina.
- 40 8. Sistema según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que el complejo sensible a ácidos está constituido por emparejamiento iónico entre un principio activo ácido y un complejante policatió sensible a ácidos del tipo poli(aminoserinato) (PSA).
- 45 9. Sistema según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado por que el complejo es insoluble en medio acuoso.
- 50 10. Sistema según una de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado por que el principio activo es un polielectrolito.
- 55 11. Sistema según una de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por que el porcentaje de complejo en el sistema está en el intervalo que va del 0,1 al 60% en peso, preferentemente del 1 al 40% en peso.
- 60 12. Procedimiento de preparación de un sistema de liberación controlada según una de las reivindicaciones 1 a 11 que comprende por lo menos las etapas de formación de un complejo entre un principio activo dotado de por lo menos una carga electrostática y un polielectrolito asociado complejante de carga opuesta, sensible a ácidos estable a un pH de 7,4 y degradable a un pH inferior a 7, siendo estable dicho complejo en unas condiciones de pH, de salinidad y temperatura de los medios fisiológicos, y después la incorporación de dicho complejo en una matriz de polímero bioreabsorbible que genera unos productos de degradación hidrolítica ácidos.
13. Utilización de un polielectrolito sensible a ácidos como complejante, en un sistema de liberación controlada de un principio activo que comprende por lo menos una matriz de polímero degradable generadora de compuestos ácidos y por lo menos un complejo entre un principio activo dotado de por lo menos una carga electrostática y un polielectrolito asociado que compleja dicho principio activo, de carga opuesta, estando el complejo sólido formado por emparejamiento estequiométrico de cargas, siendo el polielectrolito estable a un pH de 7,4 y degradable a un pH inferior a 7.
14. Utilización según la reivindicación 13, caracterizada por que la matriz de polímero es del tipo poli(α -hidroxiácido) o polianhídrido o policaprolactona, preferentemente, PLA o PLAGA, o es a base de copolímeros que comprenden unos segmentos hidrófilos tales como poli(vinilpirrolidona), dextrano o poli(óxido de etileno) y unos segmentos de polímeros que generan unos compuestos ácidos tales como los polianhídridos o los poli(α -hidroxi-ácidos).
15. Utilización según la reivindicación 13 o 14, caracterizada por que el complejante se selecciona de entre PMLA, PLCA, PLCAI o PSA.

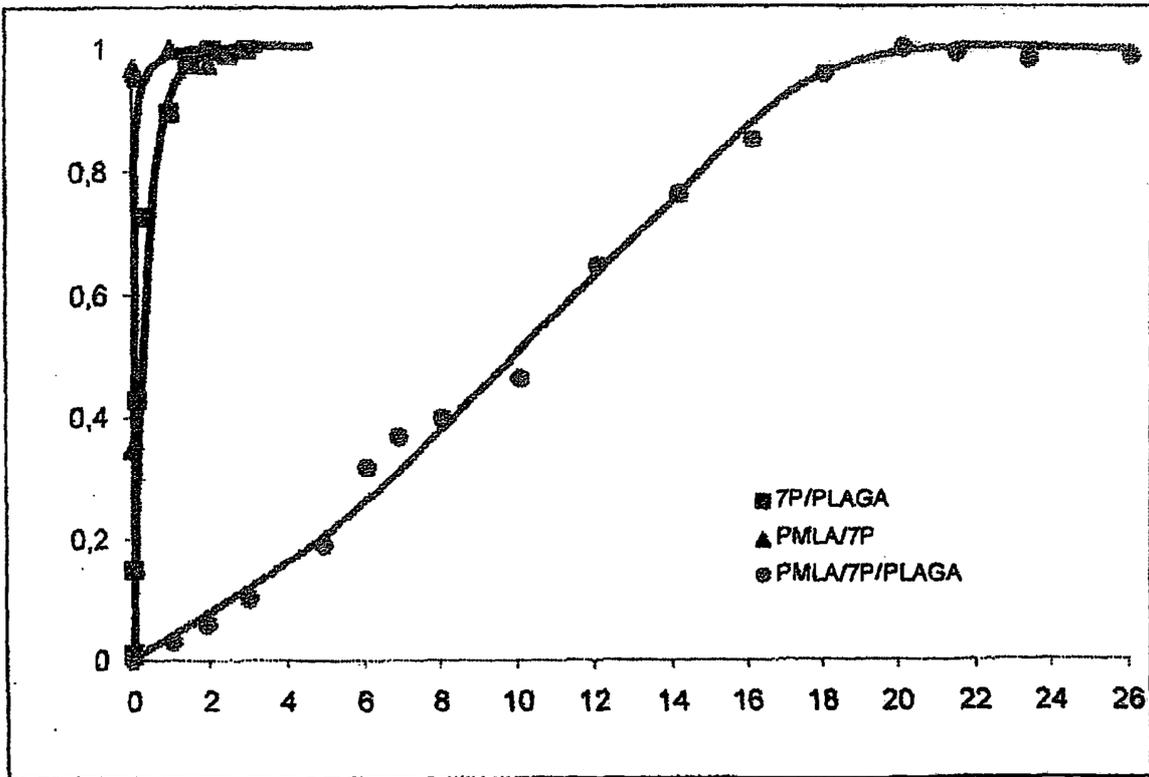


Figura 1

Figura 2

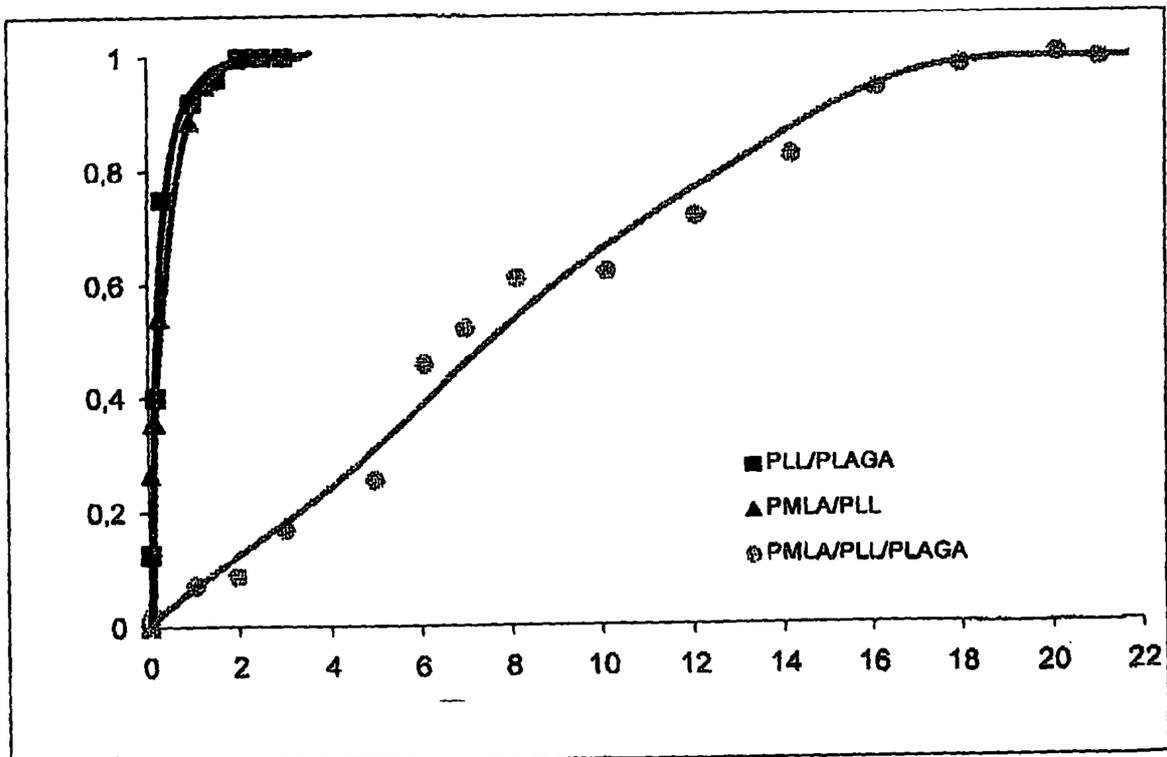
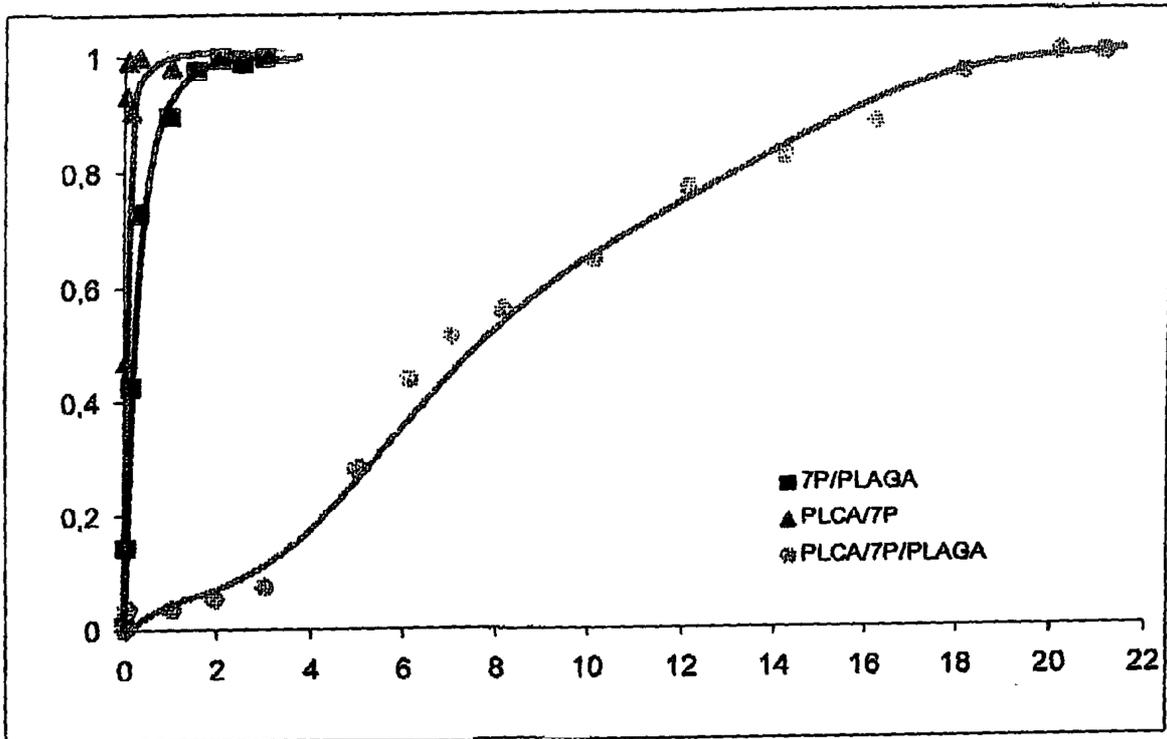


Figura 3

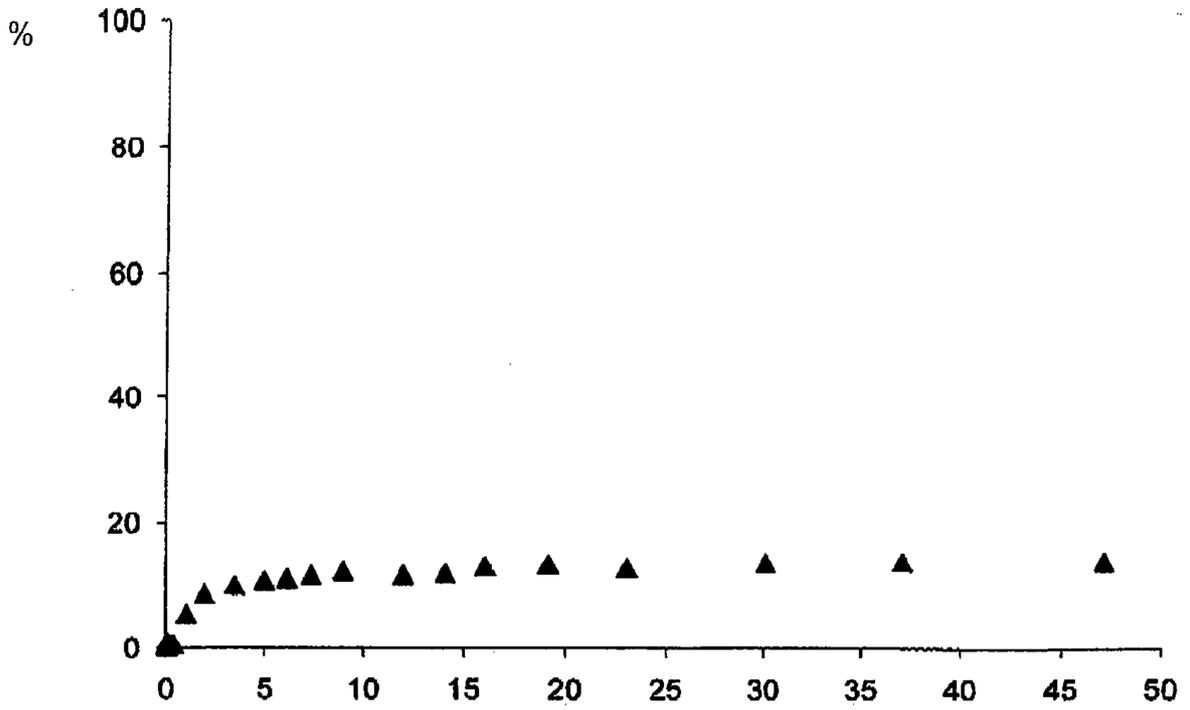


Figura 4

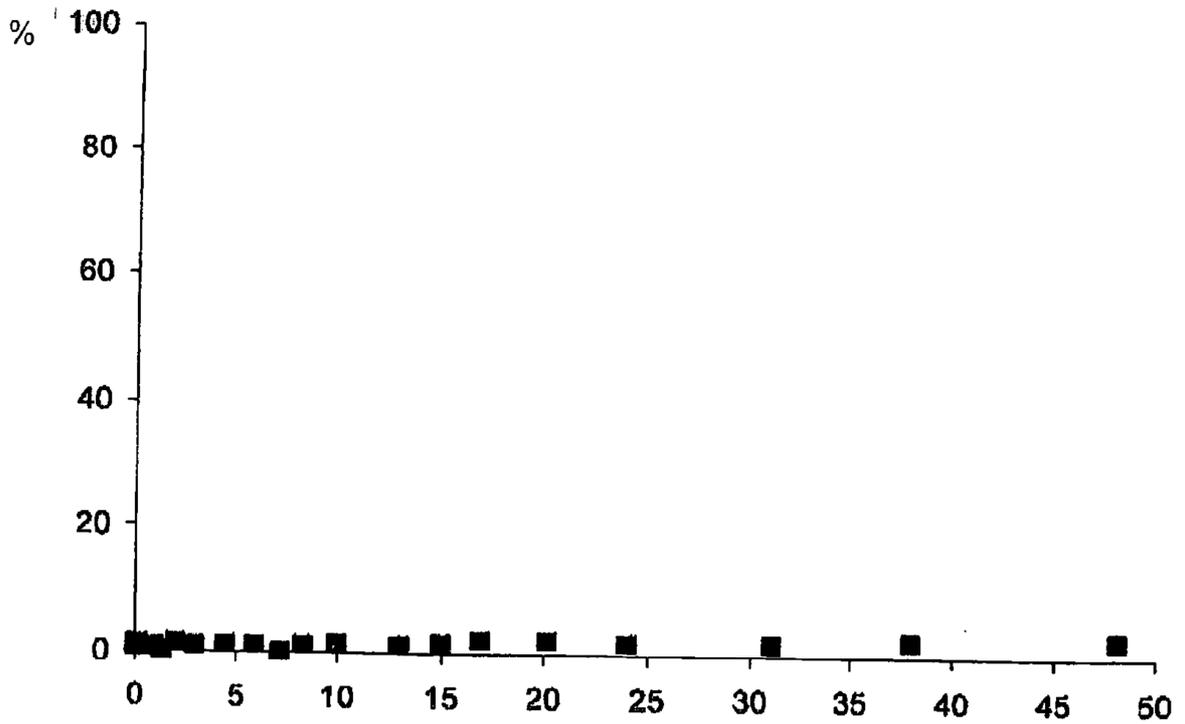


Figura 5