

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 354**

51 Int. Cl.:

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 31/7088 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2005 E 05807707 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.02.2016 EP 1824457**

54 Título: **Forma farmacéutica multiparticular, que contiene productos activos de ácido nucleico de formulación mucoadhesiva, así como un procedimiento para la obtención de la forma farmacéutica**

30 Prioridad:

10.12.2004 DE 102004059792

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

10.05.2016

73 Titular/es:

**EVONIK RÖHM GMBH (100.0%)
KIRSCHENALLEE
64293 DARMSTADT, DE**

72 Inventor/es:

**LIZIO, ROSARIO;
PETEREIT, HANS-ULRICH;
TRUPTI, DAVE y
GOTTSCHALK, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 569 354 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

Forma farmacéutica multiparticular, que contiene productos activos de ácido nucleico de formulación mucoadhesiva, así como un procedimiento para la obtención de la forma farmacéutica

5 La invención se refiere a una forma farmacéutica multiparticular, que contiene productos activos de ácido nucleico de formulación mucoadhesiva, así como a un procedimiento para la obtención de la forma farmacéutica.

Estado de la técnica

10 El documento WO 02/64148 describe formulaciones que contienen un mucopolisacárido y un procedimiento para su obtención. En este caso se formula un mucopolisacárido, por ejemplo heparina, junto con un intensificador de adsorción, por ejemplo un quitosano, y a continuación se dota de un revestimiento soluble en los jugos gástricos, de modo que el producto activo se puede liberar en los tramos medio o inferior del intestino delgado. Como revestimientos solubles en los jugos gástricos entran en consideración, por ejemplo, copolímeros acrílicos aniónicos de tipo EUDRAGIT® L, S, L100-55. Las formulaciones pueden comprender cápsulas, comprimidos y granulados.

15 La telomerasa es un enzima que participa en divisiones celulares para la duplicación de ADN, en especial en la zona de extremos cromosómicos. Por lo tanto, el enzima es importante para el mantenimiento de una estructura cromosómica intacta. La actividad de telomerasa está reprimida en la mayor parte de células corporales adultas, únicamente en células germinales, pero también en muchos tipos de células tumorales, se observa una actividad de telomerasa elevada. Se sospecha que la telomerasa juega un papel importante en el control molecular del ciclo vital normal de células, hasta su muerte celular programada previamente por vía genética. La alta actividad de telomerasa en células normales, diferente a la de células normales, indicará como síntoma que el control normal de la división celular se ha perdido. La telomerasa, o bien las estructuras génicas vinculadas a la misma, se consideran un punto de partida para la terapia genética de células tumorales.

25 El documento WO 99/38964 describe ácidos nucleicos para la terapia génica, que contienen en especial un promotor génico de telomerasa. Este ADN se puede acoplar con genes heterólogos, como por ejemplo genes que codifican citotoxina. El elemento de inserción de ácido nucleico se puede emplear como producto activo para la transfección de células tumorales con actividad de telomerasa elevada. De ello se espera una inhibición de la división de células tumorales hasta la eliminación selectiva de estas células. Se menciona la posibilidad de una administración oral de los tipos de producto activo descritos en el documento WO 99/38964, o bien formas farmacéuticas derivadas de los mismos.

30 Hejazi et al. (2003) describe en J. Contr. Rel., vol. 89, páginas 151-165, "Chitosan-based gastrointestinal delivery systems" una forma de administración oral para ADN complejo con quitosano. El documento US 6 465 626 da a conocer micropartículas de quitosano y gelatina, que pueden contener ácido nucleico.

35 Roy et al. (1999) describe en Nature Medicine, vol. 5, nº 4, páginas 387-391, "Oral gene delivery with chitosan-DNA nanoparticles generates immunologic protection in murine model of peanut allergy" una administración oral de un producto activo de ADN en ratones. El gen alérgico de cacahuete dominante presente en un ADN plásmido (pCMVArah2) se formuló junto con quitosano con un Mw de aproximadamente 390 000 por medio de acervación de complejo para dar nanopartículas de un tamaño en el intervalo de 100 a 200 nm. Estas nanopartículas se administraron oralmente a ratones AKR/J, pudiéndose identificar una expresión génica transducida en las células epiteliales intestinales. Los ratones tratados de este modo produjeron anticuerpos IgA y de suero IgG2a secretores, específicos para el alérgeno, y mostraron una anafilaxia reducida, inducida por alérgeno, en comparación con un grupo de control.

45 Leong et al. (1998) describe en Journal of Controlled Release 53, páginas 183-193 "DNA-polycation nanospheres as non-viral gene delivery vehicles" vehículos de transferencia génica que ocasionan una expresión de gen ajeno en ratones BALB/c in vivo. Las nanosferas se obtuvieron como complejos de ADN con gelatina o quitosano con un tamaño en el intervalo de 200 a 700 nm.

50 El documento WO 02/094983 describe formulaciones constituidas por ácidos nucleicos, anticuerpos con especificidad para ADN, y complejos macromoleculares catiónicos a este respecto. La formulación se efectúa en forma de nanopartículas, identificándose velocidades de transfección tanto in vitro, como también in vivo. Se mencionan formulaciones para la administración oral con liberación retardada de productos activos.

El documento WO 03/007913 describe formas farmacéuticas orales multiparticulares, que contienen el producto activo en forma de una pluralidad de los denominados "parches". Un "parche" es un objeto tipo disco constituido por material biocompatible, con un diámetro de 500 µm a 5 mm, y una altura de 100 a 1000 µm. El parche está

constituido por dos capas, o bien lados, uno apenas permeable para agua o líquidos corporales, por ejemplo de etilcelulosa, y un segundo lado, que contiene el producto activo, por ejemplo una proteína, un polisacárido o una molécula reducida, que se puede presentar en mezcla con polímeros mucoadhesivos, por ejemplo quitosano, CMC, ácido poliacrílico o pectina. Los parches se pueden prensar para dar un comprimido, o también cargar en una cápsula, que se dota adicionalmente de un revestimiento soluble en jugos gástricos. Las preparaciones de producto activo se pueden combinar también adicionalmente con los denominados potenciadores, como ácidos grasos, alcoholes grasos, ésteres, substancias tensioactivas e inhibidores de proteasa. En el lugar de acción, por ejemplo en un determinado tramo del intestino, la cápsula se disuelve y libera los "parches". Los "parches" liberados se pueden adherir a la mucosa intestinal con su lado mucoadhesivo, y liberar aquí el producto activo de manera retardada y orientada a la mucosa intestinal. El segundo lado del "parche", apenas permeable, debe ofrecer al producto activo cierta protección frente a inactivación química o enzimática del lado del lumen intestinal, e impedir también que el producto activo se descargue hacia este lado.

El documento WO 03/092732 describe polímeros sensibles a pH, basados en copolímeros de (met)acrilato aniónicos con peso molecular Mw relativamente reducido, de 1000 a 50000. Los polímeros sensibles a pH son apropiados, entre otras cosas, también para la complejación de ácidos nucleicos. En el intervalo de pH 7,0 o ligeramente superior, los polímeros sensibles a pH no presentan propiedades citotóxicas, o presentan las mismas sólo en concentraciones elevadas, pero presentan acción tóxica celular, o bien hemolítica, o bien membranólítica, por debajo de pH 6,5 ya a baja concentración in vivo.

Problema y solución

El documento WO 99/38964 describe ácidos nucleicos y vectores relativos al gen de telomerasa humano, o bien al promotor de este gen. Los ácidos nucleicos descritos en el mismo pueden ser válidos como producto activo potencial para la terapia génica de células tumorales. La administración oral de los tipos de producto activo descritos en el documento WO 99/38964 se estimula solo muy generalmente. Existe una demanda de propuestas de formulación, que llevan al especialista a transportar productos activos de este tipo al lugar de acción, de modo que se excluya una desactivación prematura, en especial debida a nucleasas, y una fracción suficiente de producto activo llegue a la transfección de células objetivo. También el documento WO 02/094983 mencionado inicialmente, que describe complejos de anticuerpo-conjugado de ADN en nanopartículas, da sólo indicaciones bastante generales para la formulación de formas farmacéuticas orales.

El documento WO 03/007913 describe una posibilidad de solución para la puesta a disposición de formas farmacéuticas orales, que se liberan en el lumen intestinal, y deben llegar a acción en el mismo. Un inconveniente de esta solución se puede ver, entre otras cosas, en la costosa síntesis y en la obtención de las estructuras de "parche" de doble capa. En especial parece desfavorable la puesta a disposición de la forma farmacéutica como cápsula con un revestimiento resistente a jugos gástricos, soluble en jugos intestinales. En el caso de un tamaño claramente superior a 2,5 mm, es de temer una reproducibilidad terapéutica insuficiente. El tiempo de paso de la cápsula a través del estómago puede variar en gran medida. En cualquier caso, se debe contar con un inicio de acción retardado. Además, la cápsula se puede disolver rápida o lentamente por su parte ya después de una disolución parcial del revestimiento. Ambos principios, revestimiento y cápsula, se superponen en este caso de modo desfavorable, de modo que se debe contar con una liberación de "parche" incontrolada en suma. La cápsula puede permanecer intacta en un estado en el que es ya accesible al menos parcialmente a los jugos intestinales, según contenido intestinal o peristáltica intestinal actual, o también destruirse sensiblemente por vía mecánica. Por una parte, se puede llegar a liberación brusca de grandes cantidades de "parche", o por otra parte también a una liberación indeseablemente retardada, según descomposición o carga mecánica de la cápsula revestida en primer lugar. Por lo tanto, sería deseable una liberación de producto activo más controlable en suma.

La presente invención se refiere a formas farmacéuticas para productos activos de ácido nucleico administrables por vía oral, en especial para los fines de terapia génica. En este caso, un problema general consiste en formular el producto activo en una forma que favorezca la transfección de células vivas en el lugar de acción, y asegurar simultáneamente que el producto activo, o al menos una cantidad suficiente, llegue al lugar de acción en forma apta para transfección. Se consideró una de las tareas de la invención poner a disposición una forma farmacéutica que sea apropiada para la liberación selectiva y efectiva de productos activos de ácido nucleico. La forma farmacéutica debe ofrecer una seguridad de dosificación elevada, y distribuirse convenientemente en el lumen intestinal tras rápido paso por el estómago. En este caso, el producto activo de ácido nucleico contenido debe estar protegido sensiblemente frente a inactivación física, química o nucleolítica, y poderse liberar en el lugar de acción definido de modo que se pueda absorber por el cuerpo una fracción elevada de producto activo. El lugar de liberación deberá ser variable y seguro según fin terapéutico. Además del producto activo de ADN, la forma farmacéutica debe presentar solo componentes inofensivos desde el punto de vista farmacológico, no tóxicos, de modo que en la primera carga no sean de esperar efectos secundarios no deseados, tampoco en el caso de ingestión frecuente o regular.

El problema se soluciona mediante una forma farmacéutica oral multiparticular, que contiene aglomerados en

bolas con un diámetro medio en el intervalo de 50 a 2500 μm , que están constituidos por

- 5
- a) una capa matriz interna que contiene nanopartículas que comprenden un producto activo de ácido nucleico, y están alojados una matriz constituida por un polímero con acción mucoadhesiva, pudiendo contener la matriz opcionalmente otras sustancias auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico,
 - b) un revestimiento externo pelliculado, constituido esencialmente por un polímero o copolímero aniónico, que puede ser formulado opcionalmente con sustancias auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial plastificantes,

caracterizada por que

- 10
- 15
- la forma farmacológica multiparticular es formulada de modo que los aglomerados en bolas contenidos se liberan en el intervalo de pH del estómago, el revestimiento externo, mediante la selección de polímero o copolímero aniónico, o bien su formulación con sustancias auxiliares y su grosor de capa, se ajusta de modo que se disuelve en intervalos de pH de 4,0 a 8,0 en el intestino en el intervalo de 15 a 60 min, de modo que la capa matriz que contiene producto activo, mucoadhesiva, se libera, se puede unir a la mucosa intestinal y liberar el producto activo en la misma, seleccionándose el polímero con acción mucoadhesiva de modo que, en un intervalo de $\pm 0,5$ unidades de pH, referido al valor de pH al que el revestimiento externo empieza a disolverse, presenta una acción mucoadhesiva de al menos $\eta_b = 150$ a 1000 mPa.s y una absorción de agua de un 10 a un 750 % en 15 minutos, y la fracción de producto activo de las nanopartículas en la capa matriz asciende como máximo a un 40 % en peso del contenido en el polímero con acción mucoadhesiva.

20 Ejecución de la invención

La invención se refiere a una forma farmacéutica oral multiparticular, en especial en forma de un comprimido, mini-comprimido, en cápsulas de aglomerados en bolas rellenos, bolsitas o jugos secos, que contienen aglomerados en bolas con un tamaño medio, o bien diámetro medio en el intervalo de 50 a 2500, preferentemente de 100 a 1000 μm , que están constituidos por

- 25
- 30
- a) una capa matriz interna que contiene nanopartículas que comprenden un producto activo de ácido nucleico, y están alojados una matriz constituida por un polímero con acción mucoadhesiva, pudiendo contener la matriz opcionalmente otras sustancias auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico,
 - b) un revestimiento externo pelliculado, constituido esencialmente por un polímero o copolímero aniónico, que puede ser formulado opcionalmente con sustancias auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial plastificantes.

La forma farmacéutica multiparticular es formulada de modo que los aglomerados en bolas contenidos se liberan en el intervalo de pH del estómago.

- 35
- El concepto aglomerados en bolas en el sentido de la invención comprende aglomerados en bolas redondos a esféricos, que se pueden denominar también micropartículas, perlas o minitabletas, en tanto presenten la estructura y el tamaño descritos en la invención.

- 40
- El revestimiento externo se ajusta mediante la selección de polímeros, o bien copolímeros aniónicos, o bien su formulación con sustancias auxiliares y su grosor de capa, de modo que el mismo se disuelve en intervalos de pH de 4,0 a 8,0, preferentemente de 5,5 a 7,8, de modo especialmente preferente de 5,8 a 7,5, en el intestino en el intervalo de 15 a 60, preferentemente de 20 a 40 min, de tal manera que la capa matriz que contiene productos activos, mucoadhesiva, se libera, se puede unir a la mucosa intestinal y liberar el producto activo en la misma.

- 45
- El polímero, o bien copolímero con acción mucoadhesiva se selecciona de modo que, en un intervalo $\pm 0,5$, preferentemente $\pm 0,3$ unidades de pH, referido al valor de pH en el que el revestimiento externo empieza a disolverse, presenta una acción mucoadhesiva de al menos $\eta_b = 150$ a 1000, preferentemente 150 a 600 mPa.s, y una absorción de agua de un 10 a un 750, preferentemente un 10 a un 250, de modo especialmente preferente un 10 a un 160 % en 15 minutos, y la fracción de producto activo de las nanopartículas de la capa matriz asciende como máximo a un 40, en especial un 0,001 a un 15, o un 0,05 a un 5 % en peso del contenido en el polímero con acción mucoadhesiva.

50 La capa matriz interna

La capa matriz interna actúa como soporte de producto activo. Además, la capa matriz interna tiene la función de unir el producto activo a la mucosa intestinal por medio del polímero mucoadhesivo contenido, de modo que

puede llegar de aquí al organismo. La matriz interna tiene además la función de proteger el producto activo ante inactivación física, química o enzimática.

La matriz interna puede contener adicionalmente productos activos farmacéuticos, en especial receptores y ligandos acoplados a proteína G (véase, por ejemplo, el documento WO 02/102407, páginas 74-76), en especial 8-OH-DPAT, aminoquetanserina, atropina, butaclamol, clorpromazina, clorprozhixeno, cinanserina, cianopindolol, ciproheptadina, domperidon, epideprida, epinefrina, fenoldopam, flupentixol, flufenacina, haloperidol, hexociclo, himbacina, yodomelatonina, quetanserina, derivados de ácido lisérgico, mesoridazina, mesulerigina, metocramina, metisergida, metoclopramida, mianserina, molindonem, muscarina, naloxon, N-metilspiperon, norepinefrina, pergolida, fentolamina, pirenzepina, PPHT-cumarina, PPHT-rodamina, PPHT-Texas red, prazosina, promazina, racloprida, serotonina, espeperona, espiroaxtrina, sulpirida, sumatriptán, tenilapina y trifluprimazina.

Por lo demás, la matriz puede contener potenciadores de penetración, por ejemplo plastificantes, como por ejemplo citrato de trietilo, citrato de acetiltriethyl, sebacato de dietilo, sebacato de dibutilo, polímeros, como carbómero, quitosano, quitosano-cisteína, carboximetilcelulosa sódica, quitosano N-trimetilado, policarbofil-cisteínas, ácidos grasos de cadena larga, sus ésteres (a modo de ejemplo mono- y diglicéridos) y sus sales, como ácido láurico, ácido laurinsulfónico, ácido palmítico, ácido caprílico, ácido caprílico, ácido oleico, acilcarnitinas, agentes quelatizantes, como EDTA, salicilatos, ciclodextrinas, ácidos poliácridílicos, ácidos galénicos, como ácido cólico, colilaurina, colilsarcosina, ácido quenodeoxicólico y sus sales, como colato de Na, glicocolato de Na, taurocolato de Na, taurodihidrofusidato de Na, glicodihidrofusidato de Na, agentes tensioactivos y emulsionantes, como especialmente Polyethylen-660-12-Hydroxy-Stearat (Solutol® HS15), (Solutol HS15), Polysorbat 80 (Tween 80), aceite de castor polioxietilado (Cremophor EL), polioxietileno-polioxipropilenglicol (Pluronic® F68), la toxina Zonula Occludens Toxin (ZOT), así como vitaminas, como vitamina E (tocoferol) o vitamina B12.

Preferentemente, los productos auxiliares farmacéuticos, potenciadores de penetración y/o receptores y ligandos acoplados con proteína G en la capa matriz interna, no están contenidos, o lo están solo en cantidades reducidas, por ejemplo un 0,01 a un 10, preferentemente un 0,05 a un 2, de modo especialmente preferente un 0,1 a un 1 % en peso.

Productos activos de ácido nucleico

La capa matriz contiene nanopartículas con un producto activo de ácido nucleico. El producto activo de ácido nucleico tiene el cometido de provocar en el lugar objetivo in vivo una interacción con el ADN de células de mamíferos, en especial células humanas, que conducen a una estructura de ADN modificada en la célula, o muy generalmente a propiedades celulares modificadas. En primer término, en este caso se debe citar la denominada terapia génica, cuyo objetivo es la reparación de estructuras génicas defectuosas en enfermedades de causa genética. En este caso se puede tratar, por ejemplo, de una inactivación o una detención de actividades génicas no deseadas, como por ejemplo la actividad de telomerasa en células tumorales. También se puede tratar de una reobtención de actividades génicas presentes habitualmente en células sanas, por ejemplo la actividad del gen p53, un gen supresor de tumores conocido desde hace tiempo, investigado de manera intensiva. Por consiguiente, la invención se refiere a formas farmacéuticas administrables por vía oral para productos activos de ácido nucleico, en especial para terapia génica.

El producto activo de ácido nucleico puede ser un ADN de hebra simple o doble (ácido desoxirribonucleico) o ARN (ácido ribonucleico), o un ADN-ARN quimérico, pudiendo estar contenidos nucleótidos que se presentan en la naturaleza y/o que no se presentan en la naturaleza, modificados por vía sintética. El producto activo de ácido nucleico se puede presentar en forma lineal o cíclica. Se puede tratar de unidades de oligonucleótido, por ejemplo con una longitud de 10 a 200 bases o pares de bases. También se puede tratar de unidades más largas, por ejemplo de más de 200 a 100 000, 500 a 10 000 o 1000 a 5000 bases o pares de bases. Además de la secuencia que actúa como verdadero producto activo, por ejemplo una secuencia de ácido nucleico que está presente en la célula objetivo o se debe completar, en el producto activo de ácido nucleico pueden estar contenidas, en caso dado, también secuencias vectoriales, que generalmente no están presentes en la célula objetivo y no deben interactuar con la misma.

Son conocidos, por ejemplo, sistemas vectoriales basados en ADN de hebra doble, que consisten en plásmidos o en vectores basados en sistemas virales. Son conocidos, por ejemplo, vectores virales adeno-asociados recombinantes (rAAV). Otros vectores de hebra doble pueden contener secuencias de promotor o regulación de citomegalovirus (CMV) o el virus SV40. Otros vectores se pueden basar en ADN de hebra simple, que se puede proteger frente a degradación con ayuda de elementos de ARN añadidos. También son conocidos las denominadas estructuras RDO I y RDO II, en las cuales se dota fragmentos de ADN cortos, por ejemplo 30 a 60 bases en los extremos, de fragmentos de ARN cortos de 1 a 4 bases. Para el aumento adicional de la vida media biológica, o bien de la resistencia a nucleasa, en el ARN o ADN se pueden insertar nucleótidos presentes

5 en la naturaleza. En este caso, por ejemplo átomos de oxígeno aislados pueden estar substituidos por átomos de azufre, de modo que se obtiene puentes fósforo-azufre (MSO). La pluralidad de formas de ácido nucleico apropiadas como reparadores génicos o vectores de substitución génicos, que se pueden emplear como productos activos en el sentido de la presente invención, se describe, por ejemplo, en Nature Reviews vol. 4, 2003, páginas 679-689, Li Liu et al. Son preferentes fragmentos de ácido nucleico que contienen esencialmente solo la secuencia de ácido nucleico que actúa como producto activo, y no contienen, o contienen solo fracciones reducidas de ADN vector.

10 El producto activo de ácido nucleico se puede presentar en un complejo o conjugado, por ejemplo con polímeros catiónicos o proteínas, como por ejemplo anticuerpos. La complejación, o bien el enlace a conjugado, se puede efectuar de manera reversible o irreversible mediante enlace covalente a través de puente químico, o en estado de semivalencia a través de fuerzas de Van der Waals, enlaces iónicos, enlace hidrófobo. No obstante, las moléculas contenidas en el complejo o conjugado además del producto activo de ácido nucleico no desarrollan en sí mismas una acción terapéutica, y por consiguiente no se pueden considerar agente auxiliar de formulación ni producto activo o parte del producto activo.

15 El producto activo de ácido nucleico se puede formular, en caso dado, con ayuda de proteínas o péptidos. No obstante, éstos no desarrollan en sí mismos una acción terapéutica, y por consiguiente no se pueden considerar agente auxiliar de formulación ni producto activo o parte del producto activo.

20 Por ejemplo según el documento WO 02/094983, el ácido nucleico se puede presentar en forma de un complejo con un anticuerpo, que se une específicamente al ácido nucleico, y una sustancia catiónica. Se pudo mostrar que esta medida puede contribuir a una velocidad de transfección elevada tanto in vitro, como también in vivo. En este caso se puede tratar preferentemente de anticuerpos IgG monoclonales o anticuerpos IgM, que pueden actuar en su totalidad o también como fragmentos, fragmentos de anticuerpo Fc, fragmentos de anticuerpo Fab', fragmentos de anticuerpo F(a,b)'2, o semifragmentos de anticuerpo, pero que deben contener en cada caso al menos un punto de enlace anti-ADN. La proporción molecular de ácido nucleico respecto a anticuerpo anti-ADN puede ascender a 1 a 20 hasta 1 a 5.

30 El producto activo de ácido nucleico puede tener por objetivo, por ejemplo, la terapia de hemofilia, y contener un factor de coagulación sanguíneo, por ejemplo el gen cADN del factor de coagulación sanguíneo humano IX (véase, por ejemplo, el documento WO 03/028657 o Palmer et al., Blood, 1989, 73(2), páginas 438-445, o Yao et al., Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89(8): páginas 3357-3361). Además de la fracción génica de acción terapéutica, el producto activo de ácido nucleico puede contener también un gen inductor de inmunotolerancia, como por ejemplo el ligando Fas. El ligando, o bien el tramo génico Fas coexpresado, puede inducir la apoptosis en células T, que se pueden activar específicamente tras la transferencia génica en las células objetivo. Vectores en relación con la inducción de apoptosis en células de leucemia se pueden derivar también de Walensky et al., 2004, "Activation of Apoptosis in Vivo by a Hydrocarbon-Stapled BH3 Helix", Science, 305, páginas 1466-1470. El producto activo de ácido nucleico puede contener también, por ejemplo, un tramo génico, en especial la región promotora del gen de telomerasa humano. Por ejemplo es apropiado el vector pGT62-codAupp de terapia génica descrito en el documento WO 99/38964, u otros vectores derivables del documento WO 99/38964 para un especialista. El producto activo de ácido nucleico puede contener un tramo génico supresor de tumores, por ejemplo el gen supresor de tumores p53 o fragmentos del mismo. El documento US6 40 451 593 B1 describe principios de construcción para vectores de expresión para la terapia génica, que son apropiados para la obtención de productos activos de ácido nucleico en el sentido de la invención.

Nanopartículas

45 La forma farmacéutica contiene nanopartículas, que pueden presentar preferentemente un tamaño en el intervalo de 20 a 1000, preferentemente de 50 a 250, de modo especialmente preferente 80 a 220, en especial de 100 a 200 nm.

El ácido nucleico contenido en las nanopartículas se puede presentar preferentemente en forma de un complejo con una sustancia catiónica.

La sustancia catiónica puede ser un lípido catiónico, un polipéptido catiónico y/o un polímero catiónico. También pueden ser apropiados polietilenimina o derivados.

50 Los lípidos catiónicos pueden ser, por ejemplo, mezclas comerciales de cloruro N-[1-(2,3-dioleiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamónico (DOTMA) y dioleilfosfatidiletanolamina (DOPE). Por ejemplo, también son apropiados metilsulfato N-[1-(2,3-dioleiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamónico (DOTAP), dioleilfosfatidilcolina (DOPC), dioctadecilaminoglicil-espermina (DOGS).

Los polipéptidos catiónicos son preferentemente homopolímeros de aminoácidos con grupos laterales

catiónicos, obtenidos por vía sintética. Se deben citar poli-lisina, poli-arginina, poli-ornitina y poli-histidina. Las longitudes de cadena pueden variar de pocas unidades a grandes unidades, por ejemplo 3 a 20, 10 a 50, 50 a 100, o hasta 500 o hasta 1000 aminoácidos. También se pueden emplear proteínas presentes en la naturaleza con propiedades predominantemente catiónicas, como por ejemplo proteínas de histona.

5 Frente a otras sustancias con experiencia farmacológica relativamente menor, son preferentes los copolímeros de (met)acrilato, debido a su empleo seguro desde hace décadas, en el caso de medicamentos administrados por vía oral. Por consiguiente, el polímero catiónico puede ser preferentemente un copolímero de (met)acrilato, en especial un copolímero de (met)acrilato, que presenta grupos amino terciarios o cuaternarios. La temperatura de transición vítrea (ISO 11357-2, punto 3.3.3) del copolímero de (met)acrilato catiónico se sitúa
10 preferentemente en el intervalo de 40 a 60°C, el peso molecular M_w (media ponderal) se sitúa en 100 000 a 200 000 (la determinación del peso molecular M_w se puede efectuar, a modo de ejemplo, por cromatografía de permeación en gel o por métodos de dispersión lumínica (véase, por ejemplo, H. F. Mark et al., Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, 2ª edición, vol. 10, páginas 1 y siguientes, J. Wiley, 1989). Para la mejora de la eliminación a través de los riñones o las vías biliares son preferentes copolímeros de (met)acrilatos catiónicos
15 con bajo peso molecular M_w , por ejemplo con un M_w de 50 000 o menor, 5000 a 40 000, 10 000 a 30 000, o 15 000 a 25 000.

El peso molecular M_w (media ponderal) se puede determinar, por ejemplo, mediante viscosimetría o cromatografía de exclusión de gel (GPC). Los valores viscosimétricos (índice de viscosidad límite) se pueden determinar en cloroformo o en DMF (dimetilformamida) a 23°C, y se deben situar preferentemente en el
20 intervalo de 10 a 20, preferentemente 11 a 15 $\eta_{\text{spec}/c}$ (cm³/g). Los índices de viscosidad se pueden medir, por ejemplo, según ISO 1628-6.

Es especialmente preferente un copolímero de (met)acrilato, que se compone de unidades polimerizadas por vía radicalaria a partir de un 20-30 % en peso de metacrilato de metilo, un 20-30 % en peso de metacrilato de butilo y un 60-40 % en peso de metacrilato de dimetilaminoetilo. El copolímero de (met)acrilato se puede
25 emplear en especial en forma micronizada con tamaños de partícula medios de 10 a 30 μm . Un copolímero de (met)acrilato con grupos amino terciarios comercial, apropiado en concreto, está constituido, por ejemplo, por un 25 % en peso de metacrilato de metilo, un 25 % en peso de metacrilato de butilo y un 50 % en peso de metacrilato de dimetilaminoetilo (EUDRAGIT® E100). Es especialmente preferente una forma micronizada
30 especialmente conveniente para dar nanopartículas que contienen ácido nucleico. En este caso, según parece se obtiene una formación de complejo con las moléculas de ácido nucleico especialmente conveniente, que puede contribuir a velocidades de transfección elevadas.

Nanopartículas, que contienen producto activo de ácido nucleico, así como copolímeros de (met)acrilato catiónicos y aniónicos

35 Las velocidades de transfección de los respectivos ácidos nucleicos para el tipo celular objetivo se pueden optimizar añadiéndose adicionalmente en la obtención de nanopartículas, que contienen producto activo de ácido nucleico y copolímero de (met)acrilato catiónico, un copolímero de (met)acrilato aniónico en fracciones de un 0,1 a un 40, en especial un 1 a un 30, de modo especialmente preferente un 2 a un 25 % en peso, referido al producto activo de ácido nucleico y al copolímero de (met)acrilato catiónico. Las nanopartículas se deben
40 analizar entonces en un ensayo in vitro con un cultivo celular del tipo de célula objetivo, en tanto se encuentre disponible, o un tipo celular al menos similar o de reactividad similar, para verificar su velocidad de transfección. De este modo se puede ajustar un equilibrio apropiado entre las fuerzas de unión de ácido nucleico en el complejo y su liberación del complejo en la célula viva. Si la acción enlazante es inicialmente demasiado fuerte debido al copolímero de (met)acrilato catiónico, de modo que la velocidad de transfección de ácido nucleico es
45 insuficiente, se puede debilitar la acción enlazante mediante adición de copolímero de (met)acrilato aniónico hasta que la velocidad de transfección alcance un óptimo, que es específico para el ácido nucleico empleado y el tipo de célula objetivo. Este tipo de formulación tiene la ventaja de que el copolímero de (met)acrilato, tanto catiónico, como también aniónico, es inofensivo desde el punto de vista farmacológico, de modo que no hay que contar, o hay que contar apenas con efectos secundarios.

50 Como copolímeros de (met)acrilato aniónicos entran en consideración preferentemente los mismos tipos que se pueden emplear también para el revestimiento externo, es decir, copolímeros de (met)acrilato con un contenido en monómeros con grupos aniónicos de un 5 a un 60 % (tipos de EUDRAGIT® L, S, L100-55, FS). En muchos casos se puede alcanzar un aumento sorprendente de las velocidades de transfección si se emplean copolímeros de (met)acrilato aniónicos constituidos por

55 un 20 a un 33 % en peso de ácido metacrilato y/o ácido acrílico,
un 5 a un 30 % de acrilato de metilo, y

un 20 a un 40 % en peso de acrilato de etilo, y

más de un 10 a un 30 % en peso de metacrilato de butilo, y

en caso dado

- 5 un 0 a un 10 % en peso de otros monómeros copolimerizables mediante enlace vinílico, sumándose las fracciones de monómeros para dar un 100 % en peso,

con la condición de que la temperatura de transición vítrea del copolímero (glass transition temperature) según ISO 11357-2, punto 3.3.3 (midpoint temperature T_{mg}), ascienda a 55 hasta 70°C.

El copolímero citado anteriormente se compone en especial de unidades polimerizadas por vía radicalaria de

- 10 un 20 a un 33, preferentemente un 25 a un 32, de modo especialmente preferente un 28 a un 31 % en peso de ácido metacrílico o ácido acrílico, es preferente ácido metacrílico,

un 5 a un 30, preferentemente un 10 a un 28, de modo especialmente preferente un 15 a un 25 % en peso de acrilato de metilo,

un 20 a un 40, preferentemente un 25 a un 35, de modo especialmente preferente un 18 a un 22 % en peso de acrilato de etilo, así como

- 15 más de un 10 a un 30, preferentemente un 15 a un 25, de modo especialmente preferente un 18 a un 22 % en peso de metacrilato de butilo,

seleccionándose la composición de monómeros de modo que la temperatura de transición vítrea del copolímero asciende a 55 hasta 70°C, preferentemente 59 a 66, de modo especialmente preferente 60 a 65°C.

- 20 Para la mejora de la eliminación a través de los riñones o las vías biliares son preferentes copolímeros de (met)acrilato con bajo peso molecular, por ejemplo con un M_w de 50 000 o menor, 5000 a 40 000, 10 000 a 30 000, o 15 000 a 25 000.

- 25 El peso molecular M_w (media ponderal) se puede determinar, por ejemplo, mediante viscosimetría o cromatografía de exclusión de gel (GPC). Los valores viscosimétricos (índice de viscosidad límite) se pueden determinar en cloroformo o en DMF (dimetilformamida) a 23°C, y se deben situar preferentemente en el intervalo de 10 a 20, preferentemente 11 a 15 $\eta_{sp/c}$ (cm³/g). Los índices de viscosidad se pueden medir, por ejemplo, según ISO 1628-6.

- 30 Los copolímeros de (met)acrilato aniónicos con bajo peso molecular son polímeros sensibles a pH, que no presentan, o presentan propiedades citotóxicas sólo en concentraciones elevadas, en el intervalo de pH de 7,0, o ligeramente superior, pero presentan acción hemolítica, o bien membranolítica in vivo por debajo de pH 6,5, ya en baja concentración. Los polímeros pueden servir como moduladores para la fuerza de enlace entre producto activo de ácido nucleico y copolímero de (met)acrilato catiónico en las nanopartículas, y al mismo tiempo influir convenientemente sobre las velocidades de transfección. La fracción de copolímeros de (met)acrilato con bajo peso molecular en las nanopartículas puede contribuir en especial a que el producto activo de ácido nucleico se libere intracelularmente tras absorción en endosomas, mediante su desestabilización o lisis subsiguiente.

- 35 Copolímeros de (met)acrilato aniónicos con bajo peso molecular para el nano-encapsulado

- 40 En una forma de ejecución preferente se aplican copolímeros de (met)acrilato aniónicos con peso molecular reducido, por ejemplo con un M_w de 50 000 o menor, 5000 a 40 000, 10 000 a 30 000, o 15 000 a 25 000, como mediante nano-encapsulado envoltura sobre nanopartículas, que contienen el producto activo de ácido nucleico y polímero catiónico, preferentemente un copolímero de (met)acrilato. La fracción de copolímeros de (met)acrilato aniónicos con bajo peso molecular en la superficie de las nanopartículas puede contribuir en especial a que el producto activo de ácido nucleico, tras absorción en endosomas, se libere intracelularmente mediante su desestabilización o lisis subsiguiente. Además, el producto activo de ácido nucleico en el interior se protege mejor ante degradación nucleolítica, de modo que puede llegar más producto activo a lugar objetivo.

Fraciones de producto activo

- 45 La fracción de nanopartículas en la capa matriz asciende preferentemente a un máximo de un 40, en especial un 0,001 a un 15, o un 0,05 a un 5 % en peso del contenido en el polímero con acción mucoadhesiva. En las

nanopartículas, la fracción de producto activo de ácido nucleico puede ascender, por ejemplo, a un 1 hasta un 50, preferentemente un 2 a un 25 % en peso.

Obtención de nanopartículas

5 La obtención de nanopartículas es conocida. Los métodos conocidos son coacervación, complejación, precipitación en emulsión, evaporación de la fracción de disolvente orgánica a partir de una emulsión de agua en aceite, mediante lo cual se producen nanopartículas en la fase acuosa. Evaporación de la fracción de disolvente orgánica a partir de una emulsión de aceite en agua, mediante lo cual se producen nanopartículas en la fase acuosa. Leong et al. (1998) describe la obtención de nanopartículas en Journal of Controlled Release 53, páginas 183-193 "DNA-polycation nanospheres as non-viral gene delivery vehicles". Roy et al. (1999) describe la obtención de nanopartículas en Nature Medicine, vol. 5, nº 4, páginas 387-391, "Oral gene delivery with chitosan-DNA nanoparticles generates immunologic protection in murine model of peanut allergy".

15 Se entiende por nanoencapsulado un método de polimerización en capa límite (véase, por ejemplo, Chouinard F. et al., Pharm Res., 1994, Jun 11(6): 869-874). Se pueden generar nanocápsulas dispersándose nanopartículas como complejos insolubles en medio acuoso, y emulsionándose la dispersión en un disolvente orgánico. La dispersión en un disolvente orgánico comprende, por ejemplo, un copolímero de (met)acrilato. En el caso de evaporación del disolvente orgánico, el copolímero de (met)acrilato precipita y forma una envoltura alrededor de las nanopartículas. El encapsulado de las nanopartículas es ventajoso, ya que se garantiza una protección adicional del producto activo de ácido nucleico complejado durante el proceso de resorción mediante los enterocitos y el hígado.

20 Polímeros con acción mucoadhesiva

La capa matriz contiene además polímeros con acción mucoadhesiva. Los polímeros con acción mucoadhesiva apropiados son especialmente un quitosano (quitosano y derivados, quitosanos), copolímeros de (met)acrilato, constituidos por un 20-45 % en peso de metacrilato de metilo y un 55 a un 80 % en peso de ácido metacrílico, celulosas, en especial metilcelulosas, como carboximetilcelulosa sódica (por ejemplo Blanose® o Methocel®).

25 Frente a otras sustancias con experiencia farmacológica relativamente menor son preferentes copolímeros de (met)acrilato debido a su empleo seguro en medicamentos administrados por vía oral desde hace décadas.

El polímero con acción mucoadhesiva se selecciona de modo que, en un intervalo +/- 0,5, preferentemente +/- 0,3 unidades de pH, referido al valor de pH en el que el revestimiento externo empieza a disolverse, presente una absorción de agua de un 10 a un 750, preferentemente un 10 a un 250, de modo especialmente preferente un 10 a un 160 % en 15 minutos.

Medida de las propiedades mucoadhesivas

Un método de medida apropiado para la caracterización de propiedades mucoadhesivas está incluido en Hassan und Gallo (1990) (véase Hassan E.E. y Gallo J.M. "A Simple Rheological Method for the in Vitro Assessment of Mucin-Polymer Bioadhesive Bond Strength" Pharma Res. 7 (5), 491 (1990)). El método se basa en la suposición de que la viscosidad (η , viscosidad dinámica, o bien coeficiente de viscosidad) de una mezcla de polímeros con mucina es diferente a la suma de viscosidades de los componentes aislados. Es válida la relación $\eta_{\text{mezcla de polímero con mucina}} = \eta_{\text{mucina}} + \eta_{\text{polímero}} + \eta_b$, representando η_b la diferencia. Cuanto más elevada es η_b , tanto más elevadas son las propiedades mucoadhesivas. Los componentes aislados se miden en primer lugar con un viscosímetro de rotación para verificar su viscosidad. Se emplea una disolución acuosa al 0,5 % (w/w) de polímero mucoadhesivo, y una disolución al 15 % de mucina de estómago de cerdo. Para la determinación de las propiedades mucoadhesivas η_b se miden mucina y polímero por separado, y en su mezcla en las concentraciones indicadas.

45 El polímero con acción mucoadhesiva se selecciona de modo que, en un intervalo +/- 0,5, preferentemente +/- 0,3 unidades de pH, referido al valor de pH en el que el revestimiento externo empieza a disolverse, presenta una acción mucoadhesiva, medida como viscosidad η_b , de 150 a 1000, preferentemente 150 a 600 mPa.s.

Hidratación y absorción de agua

La hidratación de polímeros se basa en la tendencia de polímeros a absorber agua. Los polímeros se hinchan mediante esta absorción de agua. Esto radica en un desequilibrio entre el potencial químico del agua en el polímero y el agua en el medio circundante. Debido a la presión osmótica del polímero, el agua se absorbe hasta que se ha ajustado un equilibrio entre fase interna y externa. El polímero está entonces hidratado en un 100 %. Para polímeros con bajo peso molecular medio se presenta entonces una disolución. Para polímeros con peso molecular elevado o polímeros reticulados se produce un gel. La absorción de agua hasta ajuste de equilibrio puede ascender, por ejemplo, hasta un décuplo del peso propio correspondientemente a un 1000 %

de peso de polímero.

Medida de la absorción de agua porcentual

5 La medida de la absorción de agua porcentual es común para el especialista. Se describe un método apropiado, por ejemplo, en Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie/Rudolf Voigt, Basel: editorial Chemie, 5ª edición completamente revisada, 1984, página 151, 7.7.6, bajo "poder de absorción". El método emplea el denominado aparato Enslin, en el que un embudo de filtración de vidrio está unido a una pipeta graduada a través de un tubo flexible. La pipeta está montada exactamente en sentido horizontal, de modo que se sitúa a la misma altura con la frita de vidrio. En el presente caso, una absorción de agua de un 100 % se define como una absorción de agua de 1 ml de agua por 1 g de polímero con acción mucoadhesiva en 15 min.

10 Mediante la absorción de agua, o bien hidratación, relativamente rápida, y el alto grado de hidratación, en el momento a partir del cual el revestimiento externo comienza a disolverse se garantiza una rápida protección del producto activo y una unión inmediata a la mucosa intestinal. La acción del producto activo en la matriz mucoadhesiva debe ser apenas reducida, de modo que ésta pueda pasar directamente de la mucosa intestinal al organismo.

15 Control del valor de pH de la matriz

La acción mucoadhesiva es dependiente del pH en muchos polímeros mucoadhesivos. El valor de pH en la matriz se puede controlar selectivamente mediante la adición de un ácido, una base o un sistema tampón. La matriz interna puede contener como polímero con acción mucoadhesiva, a modo de ejemplo, un quitosano que se emplea junto con un sistema tampón de acetato. El tampón acetato/acetato de Na, por ejemplo ajustado a pH 5,0 a 5,5, se puede encontrar en la matriz como aditivo, o aplicar sobre un núcleo sobre la matriz. De este modo se puede emplear quitosano también en combinación con revestimientos peliculados, que empiezan a disolverse a valores de pH más elevados, por ejemplo pH 6,0 a 8,0. A pesar del elevado valor de pH del entorno, se mantiene el valor de pH reducido en el microentorno de la matriz. De este modo se puede utilizar las propiedades mucoadhesivas del polímero en un intervalo de pH en el que, en caso contrario, no habría acción mucoadhesiva, o no en esta medida. Esto tiene la ventaja de que se puede conseguir una cierta protección frente a nucleasas, cuyo óptimo de pH se sitúa en intervalos de pH superiores. El mismo principio se puede aplicar también de modo inverso, aumentándose el valor de pH de la matriz por medio de la adición de una base, y combinándose con un revestimiento peliculado, que se disuelve a valores de pH más reducidos.

Ejemplos de selección de polímeros mucoadhesivos apropiados

30 La selección de polímeros mucoadhesivos apropiados se basa en sus propiedades mucoadhesivas y en su capacidad de absorción de agua. En el respectivo intervalo de pH, los polímeros deben presentar una acción mucoadhesiva de al menos $\eta_p = 150$ a 1000 mPa.s y una absorción de agua de un 10 a un 750 % en 15 min. La siguiente tabla proporciona una lista ejemplar.

35 Quitosano es apropiado, por ejemplo, para la aplicación en un intervalo de pH de entorno de pH 5,5 (duodeno) o en otro intervalo de pH de entorno (íleo o colon), en tanto el intervalo de pH de la matriz se ajustó al intervalo alrededor de pH 5,5, por ejemplo con ayuda de un sistema tampón.

El copolímero de (met)acrilato alistado en la tabla es más apropiado para un intervalo de pH de pH 7,2 que para un intervalo de pH alrededor de pH 5.5

Alginato de Na es apropiado para el intervalo de pH alrededor de 5,5, pero no para pH 7.2.

40 Carboximetilcelulosa de Na y ácido poliacrílico reticulado son apropiados a través de un amplio intervalo de pH de 5,5 a 7,2.

ES 2 569 354 T3

Polímero mucoadhesivo	Acción mucoadhesiva η_b [mPa·s] a pH 5,5	Acción mucoadhesiva η_b [mPa·s] a pH 7,2	Absorción de H ₂ O [% en 15 min] a pH 5,5	Absorción de H ₂ O [% en 15 min] a pH 6,0	Absorción de H ₂ O [% en 15 min] a pH 7,2
Quitosano	220	0	140	320	320
Copolímero de (met)acrilato *	150	480	170	50	125
Alginato de Na	580	0	40	50	50
Carboximetilcelulosa de Na	300	250	55	50	50
Ácido poliacrílico reticulado	350	340	50	25	25

*= copolímero de (met)acrilato constituido por un 30 % en peso de metacrilato de metilo y un 70 % en peso de ácido metacrílico

El revestimiento externo de copolímeros de (met)acrilato aniónicos

El revestimiento externo de polímeros o copolímeros aniónicos sirve como revestimiento resistente a los jugos gástricos para la protección de la matriz interna ante los jugos gástricos. El revestimiento externo actúa también para la protección del producto activo ante enzimas nucleolíticas hasta el momento en que el revestimiento alcanza un tramo del intestino (duodeno, yeyuno, íleo o colon) en el que empieza a disolverse. En este caso, el revestimiento externo sirve en especial para el denominado „reconocimiento gastrointestinal“, es decir, la liberación selectiva de la capa matriz interna en los tramos de intestino determinados mediante su valor de pH dominante. Para no llegar a un impedimento de la emisión de la capa matriz interna, el copolímero de (met)acrilato del revestimiento externo no debe presentar en lo posible, o presentar solo interacciones reducidas con el producto activo o el polímero mucoadhesivo de la capa matriz interna.

Polímeros, o bien copolímeros aniónicos apropiados son glicolato de celulosa (Duodcell®), acetatoftalato de celulosa (CAP, Cellulosi acetat, PhEur, acetatoftalatos de celulosa, NF, Aquateric®), acetatosuccinato de celulosa (CAS), acetatotrimelitato de celulosa (CAT), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP, HP50, HP55), acetatosuccinato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS-LF, -MF, -HF), acetatoftalato de polivinilo (PVAP, Sureteric®), copolímero de acetato de vinilo-vinilpirrolidona (PVAc, Kollidon® VA64), acetato de vinilo: copolímero de ácido crotonico 9 : 1 (VAC : CRA, Kollicoat® VAC) y/o gomalaca. Los citados polímeros, o bien copolímeros, se pueden formular frecuentemente de modo bastante satisfactorio, de manera que se alcance una disolución específica respecto a pH.

De modo especialmente preferente, el revestimiento pelliculado externo está constituido esencialmente por copolímeros de (met)acrilato con un contenido en monómeros con grupos aniónicos de un 5 a un 60 % en peso, que pueden estar formulados opcionalmente con productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial plastificantes. Frente a los polímeros citados inicialmente, los copolímeros de (met)acrilato aniónicos citados en el ámbito de la invención ofrecen la posibilidad de ajustar en muchos casos un control más exacto y reproducible, específico respecto al pH, del valor de pH de disolución. También el manejo y la aplicación se consideran generalmente menos costosos.

El copolímero de (met)acrilato para el revestimiento externo está constituido preferentemente en un 40 a un 95, preferentemente en un 45 a un 90, en especial hasta un 30 % en peso, por ésteres de C₁-C₄-alquilo de ácido acrílico o metacrílico polymerizados a través de radicales, y puede contener un 5 a un 60, preferentemente un 8 a un 40, en especial un 20 a un 35 % en peso de monómeros de (met)acrilato con un grupo aniónico.

Por regla general, las fracciones citadas se suman para dar un 100 % en peso. No obstante, adicionalmente, sin que esto conduzca a una reducción o modificación de las propiedades esenciales, pueden estar contenidas cantidades reducidas, en el intervalo de un 0 a un 10, por ejemplo un 1 a un 5 % en peso, de otros monómeros copolimerizables mediante enlace vinílico, como por ejemplo metacrilato de hidroxietilo o acrilato de hidroxietilo.

Los ésteres de C₁-C₄-alquilo de ácido acrílico o metacrílico son en especial metacrilato de metilo, metacrilato de etilo, metacrilato de butilo, acrilato de metilo, acrilato de etilo y acrilato de butilo.

Un monómero de (met)acrilato con un grupo aniónico puede ser, por ejemplo, ácido acrílico, pero preferentemente ácido metacrílico.

- 5 Además son apropiados copolímeros de (met)acrilato aniónicos constituidos por un 40 a un 60 % en peso de ácido metacrílico y un 60 a un 40 % en peso de metacrilato de metilo o un 60 a un 40 % en peso de acrilato de etilo (tipos EUDRAGIT® L o EUDRAGIT® L100-55). La temperatura de transición vítrea (ISO 11357-2, punto 3.3.3) de este tipo se sitúa en el intervalo de 105 a 160°C, el peso molecular M_w en 100 000 a 300 000 (la determinación del peso molecular M_w se puede efectuar, a modo de ejemplo, por cromatografía de permeación en gel o por métodos de dispersión lumínica, véase, por ejemplo, H. F. Mark et al., Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, 2ª edición, vol. 10, páginas 1 y siguientes, J. Wiley, 1989).

EUDRAGIT® L es un copolímero constituido por un 50 % en peso de metacrilato de metilo y un 50 % en peso de ácido metacrílico. Este copolímero de (met)acrilato es especialmente apropiado para la disolución en intervalo de pH alrededor de pH 6,0 a 6,5 (yeyuno).

- 15 EUDRAGIT® L100-55 es un copolímero constituido por un 50 % en peso de acrilato de etilo y un 50 % en peso de ácido metacrílico. EUDRAGIT® L30D-55 es una dispersión que contiene un 30 % en peso de EUDRAGIT® L100-55. Este copolímero de (met)acrilato es especialmente apropiado para la disolución en intervalo de pH alrededor de pH 5,5 a 6,0 (duodeno).

- 20 Del mismo modo son apropiados copolímeros de (met)acrilato constituidos por un 20 a un 40 % en peso de ácido metacrílico y un 80 a un 60 % en peso de metacrilato de metilo (tipo EUDRAGIT® S). Este copolímero de (met)acrilato es especialmente apropiado para la disolución en intervalos de pH alrededor de 6,5 a 7,0 (yeyuno, o bien íleo). La temperatura de transición vítrea de este tipo se sitúa en el intervalo de 140 a 180°C, el peso molecular M_w en 100 000 a 150 000.

- 25 Son especialmente apropiados copolímeros de (met)acrilato constituidos por un 10 a un 30 % en peso de metacrilato de metilo, un 50 a un 70 % en peso de acrilato de metilo y un 5 a un 15 % en peso de ácido metacrílico.

EUDRAGIT® tipo FS es un copolímero constituido por un 25 % en peso de metacrilato de metilo, un 65 % en peso de acrilato de metilo y un 10 % en peso de ácido metacrílico. EUDRAGIT® FS 30 D es una dispersión que contiene un 30 % en peso de copolímero tipo FS. Este copolímero de (met)acrilato es especialmente apropiado en intervalos de pH alrededor de pH 7,0 a 7,8 (íleo, o bien colon).

- 30 Además es apropiado un copolímero que se compone de

un 20 a un 34 % en peso de ácido metacrílico y/o ácido acrílico,

un 20 a un 69 % en peso de acrilato de metilo, y

un 0 a un 40 % en peso de acrilato de etilo y/o en caso dado

un 0 a un 10 % en peso de otros monómeros copolimerizables mediante enlace vinílico,

- 35 con la condición de que la temperatura de transición vítrea del copolímero según ISO 11357-2, punto 3.3.3, ascienda como máximo a 60°C. Este copolímero de (met)acrilato, debido a su buenas propiedades de alargamiento de rotura, es apropiado en especial para el prensado de aglomerados en bolas para dar comprimidos.

Además son apropiados copolímeros constituidos por

un 20 a un 33 % en peso de ácido metacrílico y/o ácido acrílico,

- 40 un 5 a un 30 % en peso de acrilato de metilo, y

un 20 a un 40 % en peso de acrilato de etilo, y

más de un 10 a un 30 % en peso de metacrilato de butilo, y

en caso dado

ES 2 569 354 T3

un 0 a un 10 % en peso de otros monómeros copolimerizables mediante enlace vinílico, sumándose las fracciones de monómeros para dar un 100 % en peso,

5 con la condición de que la temperatura de transición vítrea del copolímero (glass transition temperature) según ISO 11357-2, punto 3.3.3 (midpoint temperature T_{mg}), ascienda a 55 hasta 70°C. Los copolímeros de este tipo, debido a sus buenas propiedades mecánicas, son apropiados en especial para el prensado de aglomerados en bolas para dar comprimidos.

El copolímero citado anteriormente se compone especialmente de unidades polimerizadas a través de radicales de

10 un 20 a un 33, preferentemente un 25 a un 32, de modo especialmente preferente un 28 a un 31 % en peso de ácido metacrílico o ácido acrílico, es preferente ácido metacrílico,

un 5 a un 30, preferentemente un 10 a un 28, de modo especialmente preferente un 15 a un 25 % en peso de acrilato de metilo,

un 20 a un 40, preferentemente un 25 a un 35, de modo especialmente preferente un 18 a un 22 % en peso de acrilato de etilo, así como

15 más de un 10 a un 30, preferentemente un 15 a un 25, de modo especialmente preferente un 18 a un 22 % en peso de metacrilato de butilo,

seleccionándose la composición de monómeros de modo que la temperatura de transición vítrea del copolímero ascienda a 55 hasta 70°C, preferentemente 59 a 66, de modo especialmente preferente 60 a 65°C.

20 Para el ajuste de perfiles de liberación, o bien lugares de liberación especiales, se pueden emplear también mezclas de los citados copolímeros.

En este caso se entiende por temperatura de transición vítrea en especial la midpoint temperatura T_{mg} según ISO 11357-2, punto 3.3.3. La medida se efectúa sin adición de plastificante, en el caso de contenidos en monómero residuales (REMO) de menos de 100 ppm a una velocidad de calefacción de 10°C/min y bajo atmósfera de nitrógeno.

25 De modo preferente, el copolímero está constituido esencial a exclusivamente en un 90, un 95 o un 99 a un 100 % en peso por los monómeros ácido acrílico, acrilato de metilo, acrilato de etilo y metacrilato de butilo en los intervalos cuantitativos citados anteriormente.

30 No obstante, sin que esto deba conducir a una merma de las propiedades esenciales, adicionalmente pueden estar contenidas cantidades reducidas, en el intervalo de un 0 a un 10, por ejemplo un 1 a un 5 % en peso de otros monómeros copolimerizables mediante enlace vinílico, como por ejemplo metacrilato de metilo, acrilato de butilo, metacrilato de hidroxietilo, vinilpirrolidona, ácido vinilmalónico, estireno, alcohol vinílico, acetato de vinilo y/o sus derivados.

35 Los copolímeros se obtienen de modo conocido en sí mediante polimerización en substancia, disolución, perlas o emulsión a través de radicales. Antes de la elaboración se deben llevar al intervalo de tamaños de partícula según la invención mediante procesos de molturación, secado o pulverización apropiados. Esto se puede efectuar mediante triturado simple de barras de granulado extrusionadas y refrigeradas, o corte en caliente.

40 En especial en el caso de mezcla con otros polvos o líquidos puede ser ventajoso el empleo de polvos. Los aparatos apropiados para la obtención de polvos son de uso común para el especialista, por ejemplo molinos de chorro de aire, molinos de clavijas, molinos de abanico. En caso dado se pueden incluir los correspondientes pasos de tamizado. Un molino apropiado para cantidades industriales es, por ejemplo, un molino de chorro inverso (Multi n° 4200), que se acciona a aproximadamente 6 bar de sobrepresión.

Obtención de copolímeros

45 Todos los citados copolímeros de (met)acrilato son obtenibles mediante polimerización a través de radicales de monómeros en presencia de iniciadores de polimerización y reguladores de peso molecular por medio de polimerización en bloques, perlas o emulsión, y descarga del polímero (véase los documentos EP 0 704 207 A2, EP 0 704 208 A2 o WO 03/092732). Los copolímeros de (met)acrilato son obtenibles de modo conocido en sí mediante polimerización en emulsión a través de radicales en fase acuosa en presencia de emulsionantes, preferentemente aniónicos, a modo de ejemplo según el procedimiento descrito en el documento DE-C 2 135

073. Como otros procedimientos de obtención, en principio son apropiados también “Group Transfer Polymerization” (GTP) o “Atom Transfer Radical Polymerization” (ATRP) (véase, por ejemplo, Matyjaszewski, K. et al., Chem. Rev. 2001, 101, 2921-2990). Las estructuras polímeras resultantes son copolímeros estadísticos o copolímeros en bloques.

5 Es preferente la polimerización en emulsión en presencia de un 2 a un 15 % en peso de reguladores de peso molecular, una fracción de emulsionante en el intervalo de un 0,1 a un 2 % en peso, una cantidad de iniciador de polimerización en el intervalo de un 0,02 a un 0,4 % en peso, y a temperaturas de 65 a 90°C. Es preferente una mezcla de emulsionantes, preferentemente constituida por laurilsulfato sódico, por ejemplo un 0,1 a un 0,5 % en peso, y monooleato de polioxietilen-20-sorbitano, por ejemplo un 0,4 a un 1,5 % en peso. Como
10 iniciadores son apropiados en especial peroxodisulfato sódico o peroxodisulfato amónico. De este modo se puede obtener, por ejemplo, una dispersión con un 20 a un 40 % en peso de contenido en producto sólido, y el copolímero mediante secado por pulverizado o mediante coagulación y extracción de agua en una extrusora. A continuación se disuelve el polímero preferentemente en un disolvente orgánico, se purifica mediante diálisis múltiple frente a agua, y preferentemente se liofiliza.

15 Para iniciadores de polimerización citense a modo de ejemplo: azocompuestos, como 2,2'-azobis-(isobutironitrilo) o 2,2'-azobis-(2,4-dimetilvaleronitrilo), sistemas redox, como por ejemplo la combinación de aminas terciarias con peróxidos, o preferentemente peróxidos (véase a tal efecto, a modo de ejemplo, H. Rauch Puntigam, Th. Völker, “Acryl- und Methacrylverbindungen”, Springer, Heidelberg, 1967, o Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, vol. 1, páginas 386 y siguientes, J. Wiley, New York, 1978). Son
20 ejemplos de iniciadores de polimerización de peróxido apropiados peróxido de dilaurilo, peroctoato de terc-butilo, perisononanoato de terc-butilo, peroxidicarbonato de dicitlohexilo, peróxido de dibenzoilo o 2,2-bis-(terc-butilperoxi)-butano.

Preferentemente, la polimerización se puede llevar a cabo también con una mezcla de diversos iniciadores de polimerización de diferente vida media biológica, a modo de ejemplo peróxido de dilauroilo y 2,2-bis-(terc-butilperoxi)-butano, para mantener constante la corriente de radicales en el transcurso de la polimerización, así
25 como a diferentes temperaturas de polimerización. Las cantidades de iniciadores de polimerización empleadas se sitúan en general en un 0,01 a un máximo de un 1 % en peso, referido a la mezcla de monómeros.

El ajuste de pesos moleculares M_w se puede efectuar mediante polimerización de la mezcla de monómeros en presencia de reguladores de peso molecular. Reguladores de peso molecular apropiados son en especial
30 mercaptanos como, a modo de ejemplo, n-butilmercaptano, n-dodecilmercaptano, 2-mercaptoetanol o tioglicolato de 2-etilhexilo, empleándose los reguladores de peso molecular en general en cantidades de un 0,05 a un 15 % en peso, referido a la mezcla de monómeros, preferentemente en cantidades de un 0,1 a un 10 % en peso, y de modo especialmente preferente en cantidades de un 2 a un 12 % en peso, referido a la mezcla de monómeros (véase, a modo de ejemplo, H. Rauch-Puntigam, Th. Völker, “Acryl- und Methacrylverbindungen”, Springer, Heidelberg, 1967; Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, tomo XIV/1, página 66, Georg
35 Thieme, Heidelberg, 1961, o Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, vol. 1, páginas 296 y siguientes, J. Wiley, New York, 1978). Como regulador de peso molecular se emplea preferentemente n-dodecilmercaptano o tioglicolato de 2-etilhexilo. Tioglicolato de etilhexilo ofrece la ventaja de poder influir sobre la hidrofobicidad del copolímero de (met)acrilato, ya que el regulador entra en la molécula en posición terminal.
40 Cantidades de empleo preferentes son un 5 a un 15 % en peso de dodecilmercaptano, o un 2 a un 10 % en peso de tioglicolato de 2-etilhexilo.

Disolución orgánica

Los citados copolímeros de (met)acrilato se pueden poner a disposición en forma de una disolución orgánica, por ejemplo en una concentración de un 10 a un 30 % en peso. Como disolvente se pueden emplear, por
45 ejemplo, acetona, isopropanol o etanol, o una mezcla de los mismos, que puede contener, en caso dado, fracciones de agua hasta aproximadamente un 10 % en peso. No obstante, son preferentes dispersiones acuosas.

Dispersiones

Los citados copolímeros de (met)acrilato se pueden emplear y aplicar como polímeros en emulsión, preferentemente en forma de una dispersión acuosa al 10 hasta al 50 por ciento, en especial al 20 hasta a al 40
50 por ciento. Como forma comercial es preferente un contenido en producto sólido de un 30 % en peso. Para la elaboración se puede prescindir de una neutralización parcial de unidades ácido metacrílico; pero ésta se posible, a modo de ejemplo en un alcance hasta un 5 o un 10 % en moles, si se desea una estabilización o una concentración de la dispersión de agente de revestimiento. El valor en media ponderal de tamaños de partícula de látex asciende generalmente a 40 hasta 100 nm, preferentemente 50 a 70 nm, lo que garantiza una
55 viscosidad conveniente desde el punto de vista técnico de elaboración, por debajo de 1000 mPa.s.

En el caso de grados de neutralización más elevados, por ejemplo un 10 a un 50 % en moles, o neutralización completa, es posible transformar el copolímero en un estado disuelto.

5 Para obtener una disolución de copolímero aniónico, por regla general es necesaria una neutralización parcial o completa de grupos ácidos. El copolímero aniónico se puede introducir con agitación en agua, por ejemplo paulatinamente en una concentración final de un 1 a un 40 % en peso de agua, y neutralizar en este caso parcial o completamente mediante adición de una sustancia básica, como por ejemplo NaOH, KOH, hidróxido amónico, o bases orgánicas, como por ejemplo trietanolamina. También es posible emplear un polvo de copolímero, al que se añadió ya en su obtención una base, por ejemplo NaOH, con el fin de neutralización (parcial), de modo que el polvo es un polímero ya (parcialmente) neutralizado. El valor de pH de la disolución se sitúa generalmente por encima de 4, por ejemplo en el intervalo de 4 a aproximadamente 7.

La dispersión se puede secar por pulverización o liofilizar, por ejemplo también de modo conocido en sí, y poner a disposición en forma de un polvo redispersable (véase, por ejemplo, el documento EP-A 0 262 326). Procedimientos alternativos son la liofilización o coagulación, y extracción de agua en una extrusora con subsiguiente granulación (véase, por ejemplo, el documento EP-A 0 683 028).

15 Sorprendentemente se descubrió que las dispersiones de copolímero, constituidas por polvos secados por pulverización o liofilizados y redispersados, presentan una estabilidad al cizallamiento elevada. Esto es ventajoso en especial en el caso de aplicación por pulverización. Esta ventaja se pone de relieve de manera especialmente intensificada si el copolímero contenido en la dispersión se presenta en forma parcialmente neutralizada en un 2 a un 10 % en moles (referido a los grupos ácidos contenidos en el copolímero). Con este fin es preferente la neutralización parcial por medio de adición de NaOH. Un emulsionante aniónico está contenido preferentemente en una cantidad de un 0,1 a un 2 % en peso. Como emulsionante es especialmente preferente laurilsulfato sódico.

Grosos de capa

25 El grosor de capa del revestimiento externo se sitúa preferentemente en el intervalo de 20 a 200, preferentemente de 50 a 120 μm .

Obtención de una forma farmacéutica multiparticular

La invención se refiere además a un procedimiento para la obtención de una forma farmacéutica multiparticular,

- 30 a) al formularse un producto activo de ácido nucleico con productos auxiliares de modo conocido en sí para dar nanopartículas,
- b) al obtenerse una capa matriz interna, que contiene el producto activo de ácido nucleico en forma de nanopartículas y un polímero con acción mucoadhesiva, y en caso dado otros productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, por medio de aplicación por pulverización sobre un núcleo o mediante aglomeración por rotación, precipitación o procedimiento de pulverizado sin un núcleo, y a continuación
- 35 c) al aplicarse un revestimiento pelliculado externo, constituido esencialmente por un polímero aniónico, que puede ser formulado opcionalmente con productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial plastificantes, por medio de aplicación por pulverización, de modo que se obtienen aglomerados en bolas revestidos que contienen productos activos, y
- 40 d) al elaborarse los aglomerados en bolas obtenidos, por medio de productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico y de modo conocido en sí, para dar una forma farmacéutica multiparticular, en especial para dar comprimidos, minicompriados, cápsulas, bolsitas o jugos secos que contienen aglomerados en bolas, que son formulados de modo que los aglomerados en bolas contenidos se liberan en el intervalo de pH del estómago.

Obtención de pre-aglomerados en bolas y aglomerados en bolas

45 La pelletización se puede efectuar sobre bolas exentas de producto activo (Nonpareilles), o se pueden generar aglomerados en bolas exentas de núcleo.

En primer lugar se generan nanopartículas que contienen productos activos.

A continuación se genera la matriz interna con o sin núcleo. Esta capa no revestida, redondeada, se puede denominar pre-aglomerado en bolas (núcleo de aglomerado en bolas).

50 Por medio de un procedimiento en lecho fluidizado se puede aplicar una disolución o suspensión de polímero

mucoadhesivo, que contiene las nanopartículas con el producto activo de ácido nucleico, sobre aglomerados en bolas placebo u otros materiales soporte apropiados, evaporándose el disolvente o agente de suspensión. Tras el procedimiento de obtención puede seguir un paso de secado.

5 El producto activo de ácido nucleico se introduce y se mezcla en un disolvente orgánico o agua en forma de nanopartículas con los polímeros con acción mucoadhesiva. Para garantizar una aptitud para pulverización de la mezcla satisfactoria, en la mayor parte de los casos es necesario formular una mezcla con baja viscosidad. Con este fin puede ser conveniente emplear el polímero con acción mucoadhesiva en concentraciones relativamente reducidas, por ejemplo de un 1 a un máximo de un 10, preferentemente un 2 a un 5 % en peso. Además puede ser ventajosa la adición de un detergente, por ejemplo Tween, en concentraciones de un 0,1 a un 20, preferentemente un 0,5 a un 10 % en peso, para la reducción de la tensión superficial.

Además del producto activo, pueden estar contenidos otros productos auxiliares farmacéuticos: agentes aglutinantes, como celulosa y sus derivados, polivinilpirrolidona (PVP), agentes humectantes, potenciadores de descomposición, agentes lubricantes, agentes explosivos, (met)acrilatos, almidón y sus derivados, azúcares, solubilizadores u otros.

15 Los procedimientos de aplicación correspondientes son conocidos, por ejemplo, por Bauer, Lehmann, Osterwald, Rothgang, "Überzogene Arzneiformen" Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, cap. 7, páginas 165-196.

Además, los detalles son conocidos por el especialista a través de manuales. Véase, por ejemplo:

- 20 - Voigt, R. (1984): Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie; editorial Chemie Weinheim-Beerfeld Beach/Florida – Basel.
- Sucker, H., Fuchs, P., Speiser, P.: Pharmazeutische Technologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1991), en especial capítulos 15 y 16, páginas 626-642.
- Gennaro, A., R. (Editor), Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton Pennsylvania (1985), capítulo 88, páginas 1567-1573.
- 25 - List, P.H. (1982): Arzneiformenlehre, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.

30 La matriz interna se puede generar también sin ayuda de un núcleo interno (Nonpareilles). Las sustancias de contenido de la matriz interna se pueden redondear en este caso mediante procedimientos como aglomeración por rotación, precipitación o procedimientos de pulverización, en especial procedimientos por pulverización ultrasónica en lecho fluidizado, para dar aglomerados en bolas aún no revestidos (preaglomerados en bolas) de tamaño definido, por ejemplo 50 a 1000 µm. Esto tiene la ventaja de que el volumen de núcleo total se encuentra a disposición para la carga de producto activo. La carga de producto activo se puede aumentar varias veces de este modo frente a la forma de ejecución con núcleo interno.

35 Tras obtención de los núcleos matriz internos (o bien de los pre-aglomerados en bolas), éstos se dotan a su vez del revestimiento interno, preferentemente en procedimiento de pulverización, de modo que se obtiene aglomerados en bolas acabados. La obtención de los aglomerados en bolas se efectúa por medio de aplicación por pulverización a partir de disolución orgánica, o preferentemente a partir de dispersiones acuosas. Para la ejecución, en este caso es decisivo que se produzcan revestimientos uniformes, exentos de poros.

Revestimiento superior

40 Los aglomerados en bolas se pueden dotar adicionalmente de revestimientos pigmentados, que, no obstante, no de ben influir en el valor de pH de disolución. Por ejemplo son apropiados revestimientos de hidroxipropilmetilcelulosa pigmentada u otros polímeros hidrosolubles, o bien que se descomponen en agua rápidamente.

Productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico

45 A las formulaciones según la invención se pueden añadir sustancias auxiliares, o bien aditivos habituales en la obtención. En principio, naturalmente, todas las sustancias empleadas deben ser inofensivas desde el punto de vista toxicológico, y se deben poder emplear en especial en medicamentos sin riesgo para pacientes.

50 Cantidades de empleo y aplicación de los aditivos habituales en revestimientos de productos farmacéuticos o recubrimientos son de uso común para el especialista. Aditivos habituales pueden ser, por ejemplo, plastificantes, agentes separadores, pigmentos, estabilizadores, antioxidantes, agentes porógenos, potenciadores de penetración, agentes de brillo, sustancias aromatizantes, detergentes, sustancias lubricantes o saborizantes. Estos sirven como agentes auxiliares de elaboración, y deben garantizar un procedimiento de obtención seguro y reproducible, así como una buena estabilidad al almacenaje a largo plazo,

o alcanzan propiedades ventajosas adicionales en la forma farmacéutica. Estos se añaden a los preparados polímeros antes de elaboración, y pueden influir sobre la permeabilidad de los revestimientos, lo que se puede utilizar, en caso dado, como parámetro de control adicional.

Agentes separadores

5 Los agentes separadores poseen generalmente propiedades lipófilas, y se añaden generalmente a las suspensiones de pulverización. Estos impiden una aglomeración de los núcleos durante el pelculado. Preferentemente se emplean talco, estearato de Mg o Ca, ácido silícico molturado, caolín o emulsionantes no iónicos con un valor HLB entre 3 y 8. Las cantidades de empleo habituales para agentes separadores en los agentes de revestimiento y aglutinantes según la invención se sitúan entre un 0,5 y un 100 % en peso, referido al copolímero.

Pigmentos

15 Pigmentos incompatibles con el agente de revestimiento son en especial aquellos pigmentos que, si se añaden directamente a la dispersión de copolímero de (met)acrilato, por ejemplo mediante introducción con agitación, en cantidades de aplicación habituales, por ejemplo de un 20 % a un 400 % en peso, referido al peso seco del copolímero de (met)acrilato, pueden conducir a la desestabilización de la dispersión, a coagulación, a fenómenos de disgregación, o a efectos análogamente indeseables. Además, los pigmentos a emplear son naturalmente no tóxicos y apropiados para fines farmacéuticos. Véase también a tal efecto, por ejemplo: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Farbstoffe für Lebensmittel, editorial Harald Boldt KG, Boppard (1978); Deutsche Lebensmittelrundschaу 74, nº 4, páginas 156 (1978); Arzneimittelfarbstoffverordnung AmFarbV del 25-08-1980.

20 Pigmentos compatibles con el agente de revestimiento pueden ser, por ejemplo, pigmentos de óxido de aluminio. Pigmentos incompatibles son, por ejemplo, naranja amarillento, esmalte rojo cochinilla, pigmentos de color a base de óxido de aluminio, o bien colorantes azoicos, colorantes de ácido sulfónico, naranja amarillento S (E110, C.I. 15985, FD&C Yellow 6), Indigocarmin (E132, C.I. 73015, FD&C Blue 2), tartrazina (E 102, C.I. 19140, FD&C Yellow 5), Ponceau 4R (E 125, C.I. 16255, FD&C Cochineal Red A), amarillo quinolina (E 104, C.I. 47005, FD&C Yellow 10), eritrosina (E127, C.I. 45430, FD&C Red 3), azorrubina (E 122, C.I. 14720, FD&C Carmoisine), amaranto (E 123, C. I. 16185, FD&C Red 2), verde ácido brillante (E 142, C.I. 44090, FD&C Green S).

30 Los números E de los pigmentos indicados se refieren a una numeración de la Unión Europea. Véase a tal efecto también „Deutsche Forschungsgemeinschaft, Farbstoffe für Lebensmittel, Harald Boldt Verlag KG, Boppard (1978); Deutsche Lebensmittelrundschaу 74, nº 4, página 156 (1978); Arzneimittelfarbstoffverordnung AmFarbV del 25-08-1980. Los números FD&C se refieren a la admisión en Food, Drugs and Cosmetics por parte de U.S. Food and Drug Administration (FDA), descrita en: U.S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition; Office of Cosmetics and Colors: Code of Federal Regulations – Title 21 Color Additive Regulations Part 82, Listing of Certified Provisionally Listed Colors and Specifications (CFR 21 parte 82).

35 Plastificantes

Otros aditivos pueden ser también plastificantes. Las cantidades habituales se sitúan entre un 0 y un 50, preferentemente un 2 a un 20, en especial un 5 a un 10 % en peso.

40 Los plastificantes, según tipo (lipófilo o hidrófilo) y cantidad añadida, pueden influir sobre la funcionalidad de la capa de polímero. Mediante interacción física con los polímeros, los plastificantes consiguen una reducción de la temperatura de transición vítrea y fomentan la formación de película en dependencia de la cantidad añadida. Las sustancias apropiadas tienen generalmente un peso molecular entre 100 y 20 000, y contienen uno o varios grupos hidrófilos en la molécula, por ejemplo grupos hidróxilo, éster o amino.

45 Son ejemplos de plastificantes apropiados citratos de alquilo, ésteres de glicerina, ftalatos de alquilo, sebacatos de alquilo, ésteres de sucrosa, ésteres de sorbitano, sebacato de dietilo, sebacato de dibutilo y polietilenglicoles 200 a 12 000. Plastificantes preferentes son citrato de trietilo (TEC) y trietilcitrato de acetilo (ATEC). Además se deben citar generalmente ésteres líquidos a temperatura ambiente, como citratos, ftalatos, sebacatos o aceite de ricino. Preferentemente se emplean citratos y sebacatos.

La adición de plastificantes a la formulación se puede efectuar de modo conocido, directamente, en disolución acuosa o tras tratamiento térmico previo de la mezcla. También se pueden emplear mezclas de plastificantes.

50 Obtención de formas farmacéuticas multiparticulares

Los aglomerados en bolas que contienen productos activos, revestidos, se pueden elaborar por medio de productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico y conocidos en sí, para dar formas farmacéuticas multiparticulares, en especial para dar comprimidos que contienen aglomerados en bolas, minicomprimidos, bolsitas o jugos secos, que se formulan de modo que las bolsitas contenidas se liberan en el intervalo de pH del estómago.

- 5 La síntesis como forma farmacéutica multiparticular constituye una alta seguridad de dosificación y ofrece la ventaja de una buena distribución de los aglomerados en bolas en el lumen intestinal. La forma farmacéutica multiparticular según la invención puede contener además diversos tipos de aglomerados en bolas con diferentes productos activos y/o diferente estructura de aglomerado en bolas.

Comprimidos prensados

- 10 La obtención de formas farmacéuticas multiparticulares mediante prensado de un agente aglutinante habitual desde el punto de vista farmacéutico con partículas que contienen producto activo se describe, por ejemplo, en Beckert et al. (1996), „Compression of enteric-coated pellets to disintegrating tablets“, International Journal of Pharmaceutics 143, páginas 13-23, y en el documento WO 96/01624.

- 15 Los revestimientos peliculados sobre aglomerados en bolas que contienen producto activo se aplican habitualmente en aparatos de lecho fluidizado. Los agentes filmógenos se mezclan habitualmente con plastificantes y agentes separadores según un procedimiento apropiado. En este caso, los agentes filmógenos se pueden presentar como disolución o suspensión. Los productos auxiliares para la formación de película pueden estar igualmente disueltos o suspendidos. Se pueden emplear disolventes o dispersantes orgánicos o acuosos. Para la estabilización de la dispersión se pueden emplear adicionalmente estabilizadores (ejemplo: Tween 80 u otros emulsionantes, o bien estabilizadores apropiados).

- 20 Son ejemplos de agentes separadores monoestearato de glicerol u otros derivados de ácido graso, derivados de ácido silícico apropiados o talco. Son ejemplos de plastificantes propilenglicol, ftalatos, polietilenglicoles, sebacatos o citratos, así como otras sustancias mencionadas en la literatura.

- 25 Entre capa de copolímero que contiene producto activo y soluble en el intestino se puede aplicar una capa separadora, que sirve para la separación de producto activo y material de revestimiento con el fin de impedir interacciones. Esta capa puede estar constituida por agentes filmógenos inertes (por ejemplo HPMC, HPC o copolímeros de ácido (met)acrílico), o por ejemplo talco, u otras sustancias farmacéuticas apropiadas. Del mismo modo se pueden emplear combinaciones de filmógenos y talco, o sustancias similares. También es posible aplicar una capa separadora constituida por dispersiones de copolímero de (met)acrilato parcial, o bien completamente neutralizadas.

- 30 La capa separadora puede estar constituida por el mismo o un polímero mucoadhesivo diferente al de la capa matriz situada por debajo. De este modo se pueden contrarrestar eventuales interacciones o incompatibilidades del producto activo o del polímero mucoadhesivo con la capa de copolímero de (met)acrilato filmógena.

- 35 Las mezclas para la obtención de comprimidos constituidas por partículas revestidas se elaboran mediante mezclado de los aglomerados en bolas con agentes aglutinantes apropiados para el tableteado, en caso necesario la adición de sustancias potenciadoras de descomposición, y en caso necesario la adición de agentes lubricantes. El mezclado puede tener lugar en máquinas apropiadas. Son inapropiados mezcladores que conducen a deterioros en las partículas revestidas, por ejemplo mezcladores de reja. Para la consecución de tiempos de descomposición cortos apropiados puede ser necesario un orden especial en la adición de productos auxiliares a las partículas revestidas. Mediante mezclado previo de las partículas revestidas con el agente lubricante o desmoldeante, se puede hidrofobizar su superficie, y por consiguiente evitar la adherencia.

- 40 Las mezclas apropiadas para el tableteado contienen habitualmente un 3 a un 15 % en peso de un agente auxiliar de descomposición, por ejemplo Kollidon CL, y por ejemplo un 0,1 a un 1 % en peso de un agente lubricante y desmoldeante, como estearato de magnesio. La fracción de agente aglutinante se determina según la fracción de partículas revestidas requerida. Agentes aglutinantes típicos son, por ejemplo Cellactose®, celulosa microcristalina, fosfatos de calcio, Ludipress®, lactosa u otros azúcares apropiados, sulfatos de calcio o derivados de almidón. Son preferentes sustancias con baja densidad aparente.

- 45 Agentes auxiliares de descomposición típicos (agentes explosivos) son derivados de almidón o celulosa reticulados transversalmente, así como polivinilpirrolidona reticulada transversalmente. Del mismo modo son apropiados los derivados de celulosa. Mediante selección de un agente aglutinante apropiado se puede suprimir el empleo de agentes auxiliares de descomposición.

- 50 Agentes lubricantes y desmoldeantes típicos son estearatos de magnesio u otras sales apropiadas de ácidos grasos, o sustancias indicadas en la bibliografía con este fin (por ejemplo ácido láurico, estearato de calcio, talco, etc). En el caso de empleo de máquinas apropiadas (por ejemplo prensa de tableteado con lubricación externa) o

formulaciones apropiadas se puede suprimir el empleo de un agente lubricante y desmoldeante en la mezcla.

A la mezcla se puede añadir, en caso dado, un agente auxiliar para la mejora de la fluidez (por ejemplo derivados de ácido silícico altamente dispersos, talco, etc).

- 5 El tableteado se puede efectuar en prensas de tableteado, prensas de tableteado excéntricas o concéntricas, a presiones de prensado en el intervalo de 5 a 40 kN, preferentemente 10-20 kN. Las prensas de tableteado pueden estar equipadas con sistemas para la lubricación externa. En caso dado, se emplean sistemas especiales para el relleno de la matriz, que evitan el relleno de la matriz por medio de paletas agitadoras.

Otras formas farmacéuticas multiparticulares

- 10 Alternativamente a comprimidos, o bien minicomprimidos prensados, los aglomerados en bolas que contienen producto activo, revestidos, se pueden elaborar también para dar otras formas farmacéuticas administrables por vía oral, multiparticulares. Los aglomerados en bolas revestidos se pueden envasar, por ejemplo, en cápsulas, por ejemplo cápsulas de gelatina, o formular para dar bolsitas o jugos secos.

Efectos ventajosos de la invención

- 15 La forma farmacéutica según la invención es apropiada para la liberación selectiva y efectiva de productos activos de ácido nucleico. La forma farmacéutica presenta una alta seguridad de dosificación, y se distribuye convenientemente en el estómago y en el lumen intestinal. En este caso, el producto activo de ácido nucleico contenido se protege sensiblemente frente a inactivación física o nucleolítica, y se puede liberar en el lugar de acción definido, de modo que una fracción elevada de producto activo se puede absorber por el cuerpo. Por lo tanto, la forma farmacéutica requiere poco producto activo, ya que apenas se pierde producto activo. El peligro de efectos secundarios se reduce en suma mediante la emisión selectiva. El lugar de acción se puede ajustar de manera variable según objetivo terapéutico. Por consiguiente, se puede controlar mejor el momento de la absorción de producto activo. Ya que se trata de una forma farmacéutica oral, ésta tiene en suma una mayor aceptación de los pacientes („patient compliance“) en comparación con otras formas de aplicación. Una pluralidad de productos activos de ácido nucleico se puede hacer accesible a la aplicación peroral de este modo. Los riesgos de aplicación son frecuentemente más reducidos que especialmente en aplicaciones parenterales. También los costes de la aplicación se pueden mantener reducidos, ya que no es necesario un personal especializado para la aplicación.
- 20
- 25

Matriz lipófila

- 30 Un aspecto especial de la invención se produce si el producto activo está alojado en forma de nanopartículas en una matriz lipófila, que presenta un punto de fusión por encima de 37°C, preferentemente por encima de 45°C, de modo especialmente preferente por encima de 55°C, y la matriz lipófila que contiene producto activo está alojada en la matriz constituida por los polímeros con acción mucoadhesiva. La formulación en la matriz lipófila tiene por objetivo mejorar la solubilidad, o bien la biodisponibilidad del producto activo, preferentemente de productos activos poco solubles o insolubles (en el sentido de DAB 10, 2003).

- 35 En el sentido de la invención, se entiende por matriz lipófila una sustancia o una mezcla de sustancias en la que se puede disolver, suspender o emulsionar el producto activo. La sustancia o las sustancias de la matriz lipófila son diferentes a los productos auxiliares farmacéuticos habituales y el polímero con acción mucoadhesiva. La sustancia o las sustancias de la matriz lipófila tienen preferentemente un carácter hidrófobo o también anfífilo. La matriz lipófila se podría denominar también matriz anfífila o matriz lipóide.

- 40 La matriz lipófila puede estar constituida por una sustancia aislada, por ejemplo un lípido, o una mezcla de sustancias, por ejemplo una mezcla de lípidos. En el caso de mezcla, las propiedades de solubilidades en agua descritas a continuación se calculan según DAB 10, coeficientes de partición y/o valores HLB respectivamente a partir de la media aritmética de las partes en peso y los valores de sustancias de la mezcla. Las sustancias empleadas no deben ser tóxicas.

Matriz lipófila/polímeros con acción mucoadhesiva

- 45 En una forma de ejecución preferente se consideran posibles interacciones de la matriz lipófila con el polímero con acción mucoadhesiva. Para evitar interacciones incontrolables, la sustancia o las sustancias que forman la matriz lipófila, y el polímero con acción mucoadhesiva, deben presentar preferentemente las mismas propiedades iónicas, es decir, ambos deben tener carácter predominantemente catiónico de manera coincidente, o bien carácter predominantemente aniónico de manera coincidente. En el caso de que se deban seleccionar las sustancias con propiedades iónicas opuestas, el polímero con acción mucoadhesiva se debe presentar preferentemente en al menos un 50, de modo especialmente preferente en un 100 % en forma neutralizada. La neutralización se puede efectuar mediante adición de ácido o base de modo conocido.
- 50

Substancia o sustancias para la síntesis de la matriz lipófila

La matriz lipófila está constituida preferentemente en un 80 a un 100, de modo preferente en un 90 a un 100, de modo especialmente preferente en un 100 % en peso por una substancia o una mezcla de sustancias con un valor HLB (promediado) de 0 a 15, preferentemente 2 a 10. La matriz lipófila puede contener un 0 a un 20, preferentemente un 0 a un 10 % en peso de productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial estabilizadores, agentes espesantes o adsorbentes. De modo especialmente preferente no están contenidos productos auxiliares farmacéuticos habituales.

La substancia o las sustancias que forman la matriz lipófila pueden pertenecer, por ejemplo, al grupo de aceites, grasas, mono-, di- o triglicéridos, ácidos grasos, alcoholes grasos, en especial ácidos grasos C_6 a C_{20} , y/o un alcohol C_6 a C_{20} , incluyendo sus sales, derivados de éter, éster o amida, fosfolípidos, lecitinas, emulsionantes, lipoides, vitaminas liposolubles o agentes tensioactivos.

La matriz lipófila puede contener, por ejemplo, una de las siguientes preparaciones lipídicas: (Imwitor 308) glicerilmonocaprilatos con una fracción de monoéster > 80 %, (Imwitor 312) glicerilmonolauratos con una fracción de monoéster > 90 %, (Imwitor 491) glicerolmonoestearatos ($C_{16} + C_{18}$) con una fracción de monoéster > 90 %, (Imwitor 900 P) glicerolmonoestearato con una fracción de monoéster de un 40-55 % y un contenido en C_{18} de un 40-60 %, (Imwitor 900 K) glicerolmonoestearato, con una fracción de monoéster de un 40-55 % y un contenido en C_{18} de un 60-80 %, (Imwitor 742) glicéridos de cadena media C_8 y C_{10} con una fracción de monoéster de un 45-55%, (Imwitor 928) glicéridos parciales de ácidos grasos C_{10} - C_{18} saturados vegetales con una fracción principal de C_{12} , y con una fracción de monoéster de un 34-36 %, glicéridos C_8 y C_{10} , caprilato de Na o caprato de Na.

La matriz lipófila puede contener, por ejemplo, una de las siguientes preparaciones lipídicas: grasas, como mono-, di-, triglicéridos de ácidos grasos saturados e insaturados, y sus mezclas. En especial estearatos de glicerina, palmitatos de glicerina, miristatos de glicerina, palmitatos-estearatos de glicerina, lauratos de glicerina, caprilatos de glicerina, oleatos de glicerina, son ejemplos de éstos ésteres Imwitor® - 308, - 312, - 491, 742, - 900, - 928, - 988, así como Gelucire® 44/14, - 50/13, Geleol, Compritol E ATO, Dynasan 114, Softisan, Witepsol, Dynacet 212, grasa de coco, aceites, como por ejemplo aceite de ricino, aceite de sésamo, aceite de girasol, aceite de semillas de algodón, aceite de maíz, aceite de almendra, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de coco, aceite de zanahoria, aceite de germen de trigo, aceite de nuez, aceites neutros, como miristato, palmitato, estearato de isopropilo, triglicéridos de cadena media (Miglyol®).

Carboxilatos alifáticos y aromáticos de cadena corta, como por ejemplo ftalato de dibutilo, sebacato de dietilo, sebacato de dibutilo, citrato de tributilo, citrato de acetiltributilo, triacetato de glicerina,

ceras, como por ejemplo cera Carnauba, cera de abeja, lanolina,

behenato de glicerina,

amidas de ácido graso, como por ejemplo amida de ácido esteárico, amida de ácido palmítico, amida de ácido láurico,

ácidos carboxílicos alifáticos de cadena larga, como por ejemplo ácido esteárico, ácido palmítico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido oleico, ácido caprílico, ácido linoleico, ácido linolénico. Así como, a modo de ejemplo, sus sales de Na, Al y Mg, alcoholes grasos, como por ejemplo alcohol esteárico, alcohol láurico, alcohol cetílico, alcohol mirístico, glicerinformal,

emulsionantes W/O, como por ejemplo colesterol, monoestearato de glicerina, monoestearato de etilenglicol, monooleato de sorbitano (Span® 80), palmitato de sorbitano (Span® 40), laurato de sorbitano (Span® 20), estearato de sorbitano (Span® 60), trioleato de sorbitano (Span® 85), triestearato de sorbitano (Span®65), sesquioleatos de sorbitano (Arlacel® 83), estearato de Ca, Al, Mg, triestearato de polioxietilensorbitano (Tween® 65), trioleato de polioxietilensorbitano (Tween® 85),

emulsionantes O/W no iónicos, como por ejemplo Macrogolstearat 400 (Chremophor® A), macrogollauriléter, monolaurato, estearato, palmitato, oleato de polietilenglicol-20-sorbitano, Macrogol-1500-trirricinoleato de glicerina, Macrogol-hidroxiestearato de glicerina (Cremophor® RH), Macrogol-1000-monolaurato, estearato, oleato de glicerina, monoestearato de sacarosa, Polysorbat 60 (Tween® 60), monoestearato de polioxietileno (Myrj 49), Polysorbat 80 (Tween® 80), Polysorbat 40 (Tween® 40), Polysorbat 20 (Tween® 20), Poloxamer 407 (Lutrol® F 127), Poloxamer 188 (Lutrol® F 68), ricinoleato de polioxietileno (Cremophor® EL), 5-estearilestearato de polioxietileno,

emulsionantes O/W iónicos, como por ejemplo cetilestearilsulfato (Lanette® E), laurilsulfato de Na (Texapon® Z),

glicocolato de Na, hederagenina, emulsionantes anfífilos, como por ejemplo fosfatidilcolina de huevo (lecitina de huevo), fosfatidilcolina de soja (lecitina de soja), betaína, sulfobetainas, ceramidas (esfingomielina),

vitaminas, como por ejemplo retinol (vitamina A), colecalciferol (vitamina D), alfa-tocoferol y acetato de alfa-tocoferol (vitamina E), filoquinona (vitamina K),

5 otros productos auxiliares son galactolípidos, como por ejemplo monogalactosil-dialilglicerina, digalactosil-diacilglicerina, trigalactosil-diacilglicerina, así como aceites aromáticos, como por ejemplo anisol, citronelol, aceite de eucalipto, aceite de hinojo, aceite de manzanilla, aceite de cardamomo, aceite de pinocha, aceite de comino, aceite de pino carrasco, aceite de lavanda, aceite de menta, aceite de nuez moscada, aceite de clavel, aceite de menta, aceite de romero, aceite de salvia,

10 y terpenos, como por ejemplo mentol, linalool, 1,4-cineol, piretrina, borneol, eudesmol, fitol, manool, azadiractina, nimbina.

El contenido de la matriz lipídica que contiene producto activo en la capa matriz interna a) puede ascender a un 1 hasta un 50, preferentemente un 10 a un 20 % en peso.

15 La matriz lipófila contiene preferentemente monocaprilato de glicerina en al menos un 50 % en peso, colato de Na hasta un 10 % en peso, succinato de tocoferol hasta un 10 % en peso, un 1 un 5 % en peso de un inhibidor de bomba de flujo en el caso de que el producto activo sea un substrato de la bomba de flujo PgP, por ejemplo Solutol HS 15, un triglicérido, en especial triestearato, sumándose los componentes para dar un 100 %. Esta matriz lipófila se puede incorporar directamente en el polímero mucoadhesivo, o incorporar en el polímero mucoadhesivo emulsionada en agua. En el último caso, la fase acuosa puede contener un ácido débil, como por ejemplo ácido cítrico.

20

Procedimiento

La invención se refiere también a un procedimiento para la obtención de una forma farmacéutica multiparticular con los pasos

- 25 a) generación de la matriz lipófila que contiene producto activo mediante suspensión de las nanopartículas que contienen el producto activo de ácido nucleico, con la sustancia o las sustancias que forman la matriz lipófila, y en caso dado otros productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, mediante mezclado intensivo o fusión de las sustancias de contenido,
- 30 b) generación de pre-aglomerados en bolas (núcleos de aglomerados en bolas) por medio de aplicación por pulverización del polímero mucoadhesivo en mezcla con la matriz lipófila que contiene producto activo en un núcleo, o mediante aglomeración por rotación, precipitación o procedimientos de pulverización sin un núcleo,
- 35 c) generación de aglomerados en bolas mediante aplicación por pulverizado de un revestimiento de polímero o copolímero aniónico, que puede contener opcionalmente adiciones de productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial plastificantes y agentes separadores, a partir de una dispersión o disolución orgánica sobre los pre-aglomerados en bolas del paso b),
- d) obtención de una forma farmacéutica multiparticular mediante carga o incorporación de los comprimidos del paso c) de modo conocido en sí, en caso dado bajo empleo de productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial mediante elaboración de comprimidos, minicomprimidos, cápsulas, bolsitas o jugos secos que contienen aglomerados en bolas.

40 Procedimiento preferente

Los pasos de procedimiento a) y b) se ejecutan preferentemente como sigue:

- 45 a) generación de la capa matriz interna mediante obtención de una emulsión o suspensión de nanopartículas, que contienen el producto activo de ácido nucleico, con la sustancia o las sustancias para la matriz lipófila, y en caso dado otros productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, mediante mezclado intensivo de sustancias de contenido en agua y generación de una preparación de aceite en agua con un tamaño de partícula medio de no más de 60, preferentemente no más de 20 μm ,
- 50 b) generación de pre-aglomerados en bolas por medio de aplicación por pulverización de la preparación de aceite en agua del paso a) sobre el polímero mucoadhesivo, que puede contener, en caso dado, adiciones de otros productos auxiliares desde el punto de vista farmacéutico, presentándose las sustancias de contenido en forma de un polvo micronizado, por ejemplo con un tamaño de grano medio de 10 a 100 μm , mediante aglomeración por rotación, extrusión o granulación.

Ejemplos

Los ejemplos explican modos de proceder típicos para la invención

Ejemplo 1

Preparación de nanopartículas, que contienen un copolímero de (met)acrilato catiónico

- 5 Se disuelven 2 mg de ADN (producto activo de ácido nucleico), por ejemplo un vector de terapia génica constituido por ADN plásmido de hebra doble, por ejemplo con 3000 a 10 000 pares de bases, que contienen un gen a expresar en células humanas con acción terapéutica deseada, en 4 ml de tampón fosfato pH 7,4, y se mezclan con 2 ml de una disolución de ADN IgM de ratón monoclonal-anti-humano (1 mg/ml), y se incuban durante una hora a 37°C. Después se mezcla 1 ml de Lipofectina™, o preferentemente 3 ml (1 mg/ml) de EUDRAGIT® E modificado
- 10 (copolímero de (met)acrilato constituido por un 25 % en peso de metacrilato de metilo, un 25 % en peso de metacrilato de butilo y un 50 % en peso de metacrilato de dimetilaminoetilo, de bajo peso molecular, normal en riñón $M_w = 21\ 000$), y se mantiene aproximadamente 30 minutos a 37°C bajo agitación lenta. El valor de pH se mide después de este tiempo, y se ajusta a 7,4 con HCl 0,001 N. Tras mezclado intensivo, por ejemplo en un vortex, se producen nanopartículas de aproximadamente 250 nm de diámetro medio en el caso de empleo de Lipofectina®, y
- 15 de aproximadamente 150 nm en el caso de empleo de EUDRAGIT® E modificado. La suspensión de nanopartículas se purifica mediante diálisis. La suspensión se puede elaborar adicionalmente de manera directa, o las nanopartículas se pueden separar mediante liofilización.

Ejemplo 2

Nanopartículas, que contienen copolímero de (met)acrilato catiónico y aniónico

- 20 En ensayos previos con cultivos celulares humanos apropiados se determina que se puede alcanzar una velocidad de transfección óptima para el producto activo de ácido nucleico si se añade al EUDRAGIT® E catiónico (modificado) una fracción, por ejemplo, de un 10 % de copolímero de (met)acrilato aniónico EUDRAGIT® L (modificado).
- 25 Se disuelven 2 mg de ADN (producto activo de ácido nucleico), por ejemplo un vector de terapia génica constituido por ADN plásmido de hebra doble, por ejemplo con 3000 a 10 000 pares de bases, que contienen un gen a expresar en células humanas con acción terapéutica deseada, en 4 ml de tampón fosfato pH 7,4, y se mezclan con 2 ml de una disolución de ADN IgM de ratón monoclonal-anti-humano (1 mg/ml), y se incuban durante una hora a 37°C. Después se mezcla 1,1 ml, 4 ml (1 mg/ml) de EUDRAGIT® E modificado (copolímero de (met)acrilato constituido por un 25 % en peso de metacrilato de metilo, un 25 % en peso de metacrilato de butilo y un 50 % en peso de metacrilato
- 30 de dimetilaminoetilo, de bajo peso molecular, normal en riñón $M_w = 21\ 000$) y 0,4 ml (1 mg/ml) de EUDRAGIT® L modificado (copolímero constituido por un 50 % en peso de metacrilato de metilo y un 50 % en peso de ácido metacrílico, de bajo peso molecular, normal en riñón $M_w = 21\ 000$), y se mantiene aproximadamente 30 minutos a 37°C bajo agitación lenta. Tras mezclado intensivo, por ejemplo en un vortex, se producen nanopartículas de aproximadamente 250 nm de diámetro medio. La suspensión de nanopartículas se purifica mediante diálisis. La
- 35 suspensión se puede elaborar adicionalmente de manera directa, o las nanopartículas se pueden separar mediante liofilización.

Ejemplo 3

Nanopartículas modificadas superficialmente (nanopartículas que contienen copolímero de (met)acrilato catiónico con una envoltura de copolímero de (met)acrilato aniónico

- 40 Se disuelven 2 mg de ADN (producto activo de ácido nucleico), por ejemplo un vector de terapia génica constituido por ADN plásmido de hebra doble, por ejemplo con 3000 a 10 000 pares de bases, que contienen un gen a expresar en células humanas con acción terapéutica deseada, en 4 ml de tampón fosfato Dulbecco pH 7,4, y se mezclan con 2 ml de una disolución de ADN IgM de ratón monoclonal-anti-humano (1 mg/ml), y se incuban durante una hora a 37°C. Después se mezcla 4 ml (1 mg/ml) de EUDRAGIT® E modificado (copolímero de (met)acrilato constituido por un 25 % en peso de metacrilato de metilo, un 25 % en peso de metacrilato de butilo y un 50 % en peso de metacrilato
- 45 de dimetilaminoetilo, de bajo peso molecular, normal en riñón $M_w = 21\ 000$) y se mantiene aproximadamente 30 minutos a 37°C bajo agitación lenta. El valor de pH se mide tras este tiempo y se ajusta a 7,4 con HCl 0,001 N.
- 50 Se añade 1 ml de una disolución (1 mg/ml) de EUDRAGIT® L modificado (copolímero constituido por un 50 % en peso de metacrilato de metilo y un 50 % en peso de ácido metacrílico, de bajo peso molecular, normal en riñón $M_w = 21\ 000$) en tampón fosfato (pH 7,4, 0,5 mg/ml), y la dispersión tampón resultante, similar a látex, se consigue bajo adición de un ácido cítrico 0,001 M hasta pH 5,0. La suspensión de nanopartículas se purifica mediante diálisis. La suspensión se puede elaborar adicionalmente de manera directa, o las nanopartículas se pueden separar mediante

liofilización.

Ejemplo 4

5 Obtención de aglomerados en bolas mucoadhesivos aún no revestidos (pre-aglomerados en bolas) mediante alojamiento de las nanopartículas de los ejemplos 1, 2 o 3 en una capa matriz interna, que contiene quitosano, y se ajusta a pH 5,0 hasta 5,5 por medio de un ácido

Obtención de una disolución mucoadhesiva

Se disuelven 4 g de quitosano en 20 g de agua. Bajo agitación rápida se añaden entonces 2 g de ácido cítrico monohidrato. Se ajusta un pH de 5,2. En la disolución clara amarillenta viscosa obtenida se añaden a continuación 0,4 g de dodecanato de Na. A esta disolución se mezclan las suspensiones del ejemplo 1, 2 o 3 bajo agitación lenta.

10 Obtención de pre-aglomerados en bolas

La suspensión mezclada se pulveriza con un aparato de lecho fluidizado (Micro-Lab von Hüttling) con una velocidad de pulverización de 5-8 g/min/kg sobre 40 g de aglomerados en bolas neutros con un diámetro de aproximadamente 400-600 µm, a una temperatura de aire de alimentación de 30°C. El aire de alimentación se ajusta en este caso a 35-45 m³/h. El rendimiento se sitúa en este caso en un 85-90 %.

15 **Ejemplo 5**

Obtención de aglomerados en bolas (revestidos)

20 Se revisten pre-aglomerados en bolas obtenidos según el ejemplo 4, en procedimiento de lecho fluidizado, con EUDRAGIT® L12.5 (copolímero de (met)acrilato constituido por un 50 % en peso de metacrilato de metilo y un 50 % en peso de ácido metacrílico, M_w = aproximadamente 200 000, disolución orgánica al 12,5 % en isopropanol/acetona 3 : 2). La aplicación de polímero asciende a un 40 % en peso, referido al peso de núcleo. La suspensión para revestimiento está constituida por:

EUDRAGIT® L12.5 53,3 %

Citrato de trietilo 1,33 %

Isopropanol 38,3 %

25 Talco 2,0 %

Agua 5,0 %

Se obtiene aglomerados en bolas revestidos uniformemente, resistentes a los jugos gástricos, cuya envoltura se disuelve por encima de pH 6,0 en el duodeno o yeyuno, y libera los pre-aglomerados en bolas mucoadhesivos.

Ejemplo 6

30 Obtención de una forma farmacéutica multiparticular en forma de cápsulas

Se envasan aglomerados en bolas obtenidos según el ejemplo 5, por medio de un dispositivo de llenado de cápsulas, en cápsulas de gelatina dura, cápsulas de tamaño 0, directamente para dar unidades con 550 mg de peso de llenado. Tras aplicación oral, la cápsula se disuelve rápidamente en el intervalo de pH del estómago, libera los aglomerados en bolas, que se distribuyen uniformemente ya en el estómago.

35 **Ejemplo 7**

Obtención de una forma farmacéutica multiparticular en forma de comprimidos

40 Se formulan aglomerados en bolas obtenidos según el ejemplo 5 con agentes auxiliares de tableteado, agentes aglutinantes, potenciadores de descomposición y agentes deslizantes. Se mezclan 550 g de aglomerados en bolas con 390 g de celulosa microcristalina, 150 g de almidón de carboximetilo sódico y 10 g de estearato de Mg. La mezcla se comprime en una prensa para comprimidos para dar piezas prensadas con un peso total de 1100 mg. Tras aplicación oral, el comprimido se descompone en el intervalo de pH del estómago y libera los aglomerados en

bolas, que se distribuyen uniformemente ya en el estómago.

REIVINDICACIONES

1.- Forma farmacéutica oral multiparticular, que contiene aglomerados en bolas con un diámetro medio en el intervalo de 50 a 2500 μm , que está constituida esencialmente por

- 5 a) una capa matriz interna que contiene nanopartículas que comprenden un producto activo de ácido nucleico, y están alojados una matriz constituida por un polímero con acción mucoadhesiva, pudiendo contener la matriz opcionalmente otras sustancias auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico,
- 10 b) un revestimiento externo pelliculado, constituido esencialmente por un polímero o copolímero aniónico, que puede ser formulado opcionalmente con sustancias auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial plastificantes,

caracterizada por que

15 la forma farmacológica multiparticular es formulada de modo que los aglomerados en bolas contenidos se liberan en el intervalo de pH del estómago, el revestimiento externo, mediante la selección de polímero o copolímero aniónico, o bien su formulación con sustancias auxiliares y su grosor de capa, se ajusta de modo que se disuelve en intervalos de pH de 4,0 a 8,0 en el intestino en el intervalo de 15 a 60 min, de modo que la capa matriz que contiene producto activo, mucoadhesiva, se libera, se puede unir a la mucosa intestinal y liberar el producto activo en la misma, seleccionándose el polímero con acción mucoadhesiva de modo que, en un intervalo de $\pm 0,5$ unidades de pH, referido al valor de pH al que el revestimiento externo empieza a disolverse, presenta una acción mucoadhesiva de al menos $\eta_b = 150$ a 1000 mPa.s y una absorción de agua de un 10 a un 750 % en 15 minutos, y la fracción de producto activo de las nanopartículas en la capa matriz asciende como máximo a un 40 % en peso del contenido en el polímero con acción mucoadhesiva.

2.- Forma farmacéutica según la reivindicación 1, caracterizada por que las nanopartículas presentan un tamaño en el intervalo de 20 a 1000 nm.

25 3.- Forma farmacéutica según la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que el ácido nucleico contenido en las nanopartículas se presenta en forma de un complejo con una sustancia catiónica.

4.- Forma farmacéutica según la reivindicación 3, caracterizada por que la sustancia catiónica es un lípido catiónico, un polipéptido catiónico y/o un polímero catiónico.

5.- Forma farmacéutica según la reivindicación 4, caracterizada por que el polímero catiónico es un copolímero de (met)acrilato, que presenta grupos amino terciarios o cuaternarios.

30 6.- Forma farmacéutica según la reivindicación 5, caracterizada por que el copolímero de (met)acrilato se compone de unidades polimerizadas a través de radicales constituidas por un 20-30 % en peso de metacrilato de metilo, un 20-30 % en peso de metacrilato de butilo, y un 60-40 % en peso de metacrilato de dimetilaminoetilo.

35 7.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 3 a 6, caracterizada por que el producto activo de ácido nucleico contenido en las nanopartículas se presenta en forma de un complejo con un copolímero de (met)acrilato catiónico y uno aniónico.

8.- Forma farmacéutica según la reivindicación 7, caracterizada por que el copolímero de (met)acrilato aniónico presenta un contenido en monómeros con grupos aniónicos de un 5 a un 60 % en peso.

40 9.- forma farmacéutica según la reivindicación 7 u 8, caracterizada por que está contenido un copolímero de (met)acrilato aniónico que se compone de

un 20 a un 33 % en peso de ácido metacrílico y/o ácido acrílico,

un 5 a un 30 % en peso de acrilato de metilo, y

un 20 a un 40 % en peso de acrilato de etilo, y

más de un 10 a un 30 % en peso de metacrilato de butilo, y en caso dado

45 un 0 a un 10 % en peso de otros monómeros copolimerizables mediante enlace vinílico, sumándose las fracciones de monómeros para dar un 100 % en peso, con la condición de que la temperatura de transición

vítrea del copolímero (glass transition temperature) según ISO 11357-2, punto 3.3.3 (midpoint temperature T_{mg}), ascienda a 55 hasta 70°C.

- 5 10.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 3 a 9, caracterizada por que las nanopartículas contienen copolímeros de (met)acrilato catiónicos o aniónicos con un peso molecular medio M_w de 50 000 o menor.
- 11.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizada por que las nanopartículas presentan un encapsulado con un copolímero de (met)acrilato aniónico con un peso molecular medio M_w de 50 000 o menor.
- 10 12.- Forma farmacéutica según una de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada por que el producto activo de ácido nucleico es un ADN o ARN de hebra simple o doble, o un ADN-ARN quimérico, pudiendo estar contenidos nucleótidos que se presentan en la naturaleza y/o que no se presentan en la naturaleza, modificados por vía sintética.
- 15 13.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizada por que el ácido nucleico se presenta en forma de un complejo con un anticuerpo, que se une específicamente al ácido nucleico, y una sustancia catiónica.
- 20 14.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada por que el revestimiento externo pelliculado es glicolato de celulosa (Duodcell®), acetatoftalato de celulosa (CAP, Cellulosi acetas, PhEur, acetato-ftalatos de celulosa, NF, Aquateric®), acetatosuccinato de celulosa (CAS), acetatotrimelitato de celulosa (CAT), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP, HP50, HP55), acetatosuccinato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS-LF, -MF, -HF), acetatoftalato de polivinilo (PVAP, Sureteric®), copolímero de acetato de vinilo-vinilpirrolidona (PVAc, Kollidon® VA64), acetato de vinilo: copolímero de ácido crotonico 9 : 1 (VAC : CRA, Kollicoat® VAC) y/o gomalaca.
- 25 15.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada por que el revestimiento externo pelliculado está constituido por un copolímero de (met)acrilato con un contenido en monómeros con grupos aniónicos de un 5 a un 60 % en peso.
- 30 16.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 1 a 15, caracterizada por que el grosor de capa del revestimiento externo se sitúa en el intervalo de 20 a 200 μm .
- 30 17.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 1 a 16, caracterizada por que la matriz interna contiene un ácido graso C_{10} a C_{20} , y/o un alcohol C_{10} a C_{20} , incluyendo sus sales, derivados de éter, éster o amida, y/o un lípido y/o un fosfolípido y/o una vitamina soluble en lípidos y/o un potenciador de penetración.
- 35 18.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 1 a 17, caracterizada por que el polímero con acción mucoadhesiva es un quitosano, un copolímero de (met)acrilato constituido por un 20-40 % en peso de metacrilato de metilo y un 60 a un 80 % en peso de ácido metacrílico y/o una celulosa, en especial carboximetilcelulosa de Na, un ácido poliacrílico reticulado y/o no reticulado, una lectina, un alginato de Na y/o una pectina.
- 40 19.- Forma farmacéutica según la reivindicación 18, caracterizada por que la matriz interna contiene como polímero con acción mucoadhesiva un quitosano, que se emplea junto con un ácido o un sistema tampón, que se encuentra en la matriz o en o sobre un núcleo sobre el cual se aplica la matriz.
- 40 20.- Forma farmacéutica según la reivindicación 19, caracterizada por que la capa matriz interna contiene quitosano y se ajusta a pH 5,0 hasta 5,5 por medio de un ácido o un sistema tampón, y se combina con un revestimiento externo pelliculado que comienza a disolverse en el intervalo de pH 6,0 a 8,0.
- 21.- Forma farmacéutica según una o varias de las reivindicaciones 1 a 20, caracterizada por que entre la capa matriz que contiene producto activo y la capa de revestimiento externa pelliculada se aplica una capa de separación.
- 45 22.- Procedimiento para la obtención de una forma farmacéutica multiparticular según una o varias de las reivindicaciones 1 a 21, a través de los pasos
- a) formulación de un producto activo de ácido nucleico con productos auxiliares de modo conocido en sí para dar nanopartículas,
 - b) formulación de una capa matriz interna, que contiene el producto activo de ácido nucleico en forma de nanopartículas y un polímero con acción mucoadhesiva, y en caso dado otros productos auxiliares

habituales desde el punto de vista farmacéutico, por medio de aplicación por pulverización sobre un núcleo o mediante aglomeración por rotación, precipitación o procedimiento de pulverizado sin un núcleo, y a continuación

- 5 c) aplicación de un revestimiento pelliculado externo por medio de aplicación por pulverización sobre los pre-aglomerados en bolas, estando constituido el revestimiento esencialmente por un polímero aniónico, que puede ser formulado opcionalmente con productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico, en especial plastificantes, de modo que se obtienen aglomerados en bolas revestidos que contienen productos activos, y
- 10 d) elaboración de los aglomerados en bolas obtenidos por medio de productos auxiliares habituales desde el punto de vista farmacéutico y de modo conocido en sí, para dar una forma farmacéutica multiparticular, en especial para dar comprimidos, minicomprimidos, cápsulas, bolsitas o jugos secos que contienen aglomerados en bolas, que son formulados de modo que los aglomerados en bolas contenidos se liberan en el intervalo de pH del estómago.