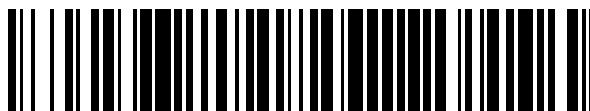


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 137**

51 Int. Cl.:

A61K 47/34 (2007.01)

C08G 63/06 (2006.01)

C08G 63/08 (2006.01)

C08G 63/91 (2006.01)

C08J 3/215 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.12.2010 PCT/KR2010/009421**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.07.2011 WO11081406**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2010 E 10841238 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.03.2017 EP 2520600**

54 Título: **Macromolécula para la administración de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos y método para producirla, y composición para la liberación lenta de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos y método para producirla**

30 Prioridad:

29.12.2009 KR 20090132861

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

01.08.2017

73 Titular/es:

**SAMYANG BIOPHARMACEUTICALS
CORPORATION (100.0%)
263, Yeonji-dong, Jongno-gu
Seoul 110-725, KR**

72 Inventor/es:

**YI, YIL WOONG;
SEO, MIN HYO;
KIM, BONG OH;
CHOI, IN JA;
YOON, HYE JEONG;
KIM, SE YOON;
LEE, SANG JUN y
CHO, JOONG WOONG**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 628 137 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).

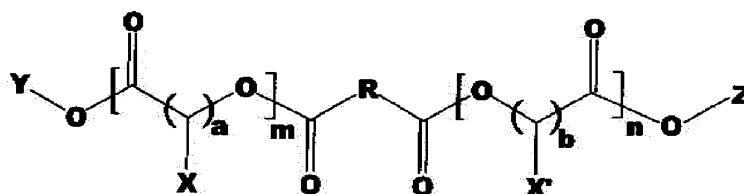
DESCRIPCIÓN

Macromolécula para la administración de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos y método para producirla, y composición para la liberación lenta de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos y método para producirla.

[Ámbito técnico]

La presente invención se refiere a un polímero iónico para la administración de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos, a un método para preparar el polímero, a una composición que contiene el polímero para la liberación continua del fármaco proteico, polipeptídico o peptídico y a un método para preparar la composición. La presente invención está basada en un compuesto derivado de ácido poliláctico que tiene la siguiente fórmula química 1, cuyo peso molecular medio numérico no es superior a 7.000 daltons, y en su método de preparación, en una composición que contiene el polímero para la liberación continua del fármaco proteico, polipeptídico o peptídico y en un método para prepararla usando el polímero:

[Fórmula química 1]



En la anterior fórmula química 1, X, X', Y, Z, R, m, n, a y b son tal como se definen aquí.

[Estado técnico anterior]

Como la tecnología en el campo de la ingeniería genética ha progresado con rapidez, las funciones y acciones de las proteínas y péptidos han sido identificadas y ello ha permitido su producción en masa. Como consecuencia hay muchos fármacos proteicos o peptídicos disponibles en el comercio y el esfuerzo por desarrollar nuevos fármacos con el uso de dichas proteínas y péptidos ha sido continuo.

Cuando las proteínas o péptidos se administran por vía oral es difícil que atraviesen la pared intestinal, por lo cual son fácilmente degradados o descompuestos por los enzimas en el canal digestivo y entonces su biodisponibilidad es muy baja. Por consiguiente se desarrollan en forma de formulaciones inyectables.

En el caso de una formulación inyectable, para solucionar la molestia que la administración frecuente causa a los pacientes se han intentado varios métodos con el fin de desarrollar formulaciones de liberación continua que puedan proporcionar ininterrumpidamente el efecto farmacológico durante un extenso periodo de tiempo mediante una sola administración. Dichos intentos están revelados en muchas referencias (Khaled Al-Tahami y otros, "Smart Polímero Based Delivery Systems for Peptides and Proteins" [*Sistemas de liberación de péptidos y proteínas basados en polímeros inteligentes*], Recent Patents on Drug Delivery & Formulation 2007, vol. 1, n° 1, p. 65-71, 2007; Fei Wu y otros, "Polímero-Based Sustained-Release Dosage Forms for Protein Drugs, Challenges, and Recent Advances" [*Formas de dosificación de fármacos proteicos para su liberación continua basadas en polímeros, retos y avances recientes*], AAPS PharmSciTech, vol. 9, n° 4, p. 1 1218-1229, 2008).

Los preparados proteicos de liberación continua comercialmente disponibles llevan productos obtenidos mediante la aplicación de la tecnología de pegilación – que conjuga polietilenglicol (PEG) con proteínas – a los interferones (PEGasys®, PEGintron®), GCSF (Neulasta®), asparaginasa (Oncaspar®), adenosina desaminasa (Adagen®), etc. Sin embargo, como conjugados de PEG cuyo peso molecular está comprendido entre 5.000 y 50.000 daltons son compuestos nuevos y por lo tanto es necesario verificar su seguridad y efectividad biológica de cara a la aplicación a otras proteínas. Además su producción tiene un coste elevado.

Asimismo, los preparados de liberación continua de fármacos peptídicos tales como acetato de leuprolida (Lupron® Depot), octreotida (Sandostatin®), acetato de goserelina (Zoladex®), pamoato de triptorelina (Trelatar® Depot), etc. se han comercializado con el empleo de polímeros de poli(ácido láctico) o de poli(ácido láctico-ácido glicólico) – que son biodegradables – como vehículo de liberación de micropartículas. Sin embargo su efecto de liberación continua aún es insatisfactorio.

Para los fármacos proteicos solo ha obtenido la aprobación de la USFDA la formulación de liberación continua de la hormona del crecimiento humano (Nutropin® Depot). No obstante se retiró totalmente del mercado en 2004 a causa de su insuficiente efecto en comparación con las formulaciones de administración diaria.

Tal como se han desarrollado hasta la fecha, las formulaciones basadas en el uso de micropartículas de poli(ácido láctico) o de poli(ácido láctico-ácido glicólico) para fármacos proteicos o peptídicos todavía tienen por resolver los problemas de rotura inicial y un efecto insuficiente de liberación continua. Por otra parte estas formulaciones también tienen problemas inherentes de índole económica como el incremento de costes a causa de la desnaturalización y la gran pérdida de fármaco durante el proceso de producción.

[Descripción detallada]

[Finalidad técnica]

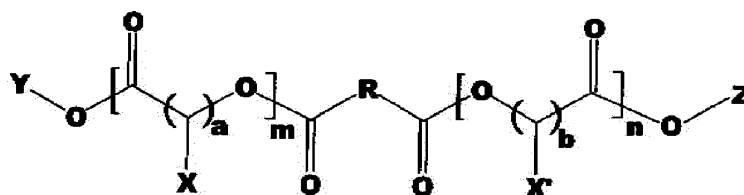
La presente invención tiene por objeto resolver los problemas inherentes al estado técnico anterior, tal como se han expuesto arriba. La finalidad técnica de la presente invención es proporcionar un polímero que tenga un buen efecto de liberación continua de fármacos, sin problemas de rotura inicial y toxicidad, y que por tanto sea particularmente apto para la administración de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos por liberación continua, y preparar una composición que contenga fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos y sirva de vehículo de liberación continua de los mismos.

En otro aspecto, la finalidad técnica de la presente invención es facilitar un método para preparar eficientemente la composición de liberación continua según la presente invención, sin usar disolventes orgánicos.

[Solución técnica]

Para lograr los fines técnicos arriba citados, la presente invención aporta las instrucciones según las reivindicaciones independientes y el contenido de presente invención está definido en las reivindicaciones 1-12 adjuntas. Las formas de ejecución aquí descritas que no están cubiertas por las reivindicaciones solamente sirven para ilustrar el contexto técnico de la presente invención. La presente invención está basada en un compuesto derivado de ácido poliláctico que tiene la siguiente fórmula química 1, cuyo peso molecular medio numérico no es superior a 7.000 daltons:

[Fórmula química 1]



En la anterior fórmula química 1,

X y X' son independientemente hidrógeno, alquilo o arilo,

Y y Z, independientemente, faltan o son un metal alcalino,

m y n son independientemente un número entero de 0 hasta 95, con la condición de que $5 < m + n < 100$,

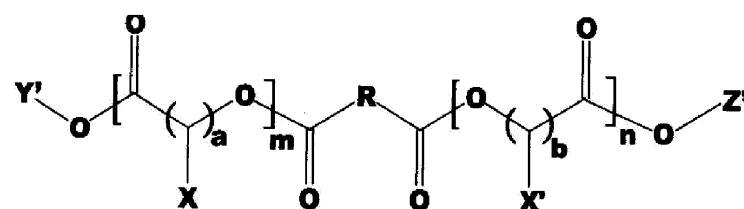
a y b son independientemente un número entero de 1 a 6,

R es $-(CH_2)_k-$ sustituido o no, donde k es un número entero de 0 a 10, un radical alqueno divalente de 2 hasta 10 átomos de carbono, un radical arilo divalente de 6 hasta 20 átomos de carbono, o una combinación de ellos.

La expresión "Y y Z faltan independientemente" aquí utilizada significa que el oxígeno unido independientemente a Y y Z está en forma de una carga negativa, es decir en forma de $-O^-$.

En otro aspecto, la presente invención revela un método para preparar un compuesto derivado de ácido poliláctico que tiene la siguiente fórmula química 2, el cual comprende las etapas de: 1) polimerizar ácido láctico o su derivado, en forma de un ácido libre o de una lactona, con un ácido dicarboxílico para obtener un derivado de ácido poliláctico que lleve ácidos carboxílicos en ambos extremos; y 2) disolver el derivado de ácido poliláctico resultante de la anterior etapa 1) en un disolvente orgánico y añadir una solución acuosa de sal de metal alcalino a la disolución resultante, para obtener una sal del derivado de ácido poliláctico:

[Fórmula química 2]



En la anterior fórmula química 2, X, X', R, m, n, a y b son los mismos que se han definido aquí, e Y' y Z' son independientemente un metal alcalino.

5 Según otro aspecto, la presente invención está basada en un complejo del compuesto derivado de ácido poliláctico que tiene la fórmula química 1 y un peso molecular medio numérico no superior a 7.000 daltons, con un ion metálico multivalente, y en una composición de liberación continua que contiene dicho compuesto.

10 En otro aspecto, la presente invención está basada en una composición de liberación continua de fármaco proteico, polipeptídico o peptídico, que comprende: i) una proteína, un polipéptido o un péptido como ingrediente activo, ii) el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 como vehículo de liberación del fármaco, y iii) un ion metálico multivalente.

15 En otro aspecto, la presente invención está basada en una composición de liberación continua de fármaco proteico, polipeptídico o peptídico, que comprende: i) una proteína, un polipéptido o un péptido como ingrediente activo y ii) un complejo del compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 con un ion metálico multivalente, como vehículo de liberación del fármaco. Esta composición de liberación continua contiene micropartículas en las cuales el ingrediente activo - tal como una proteína, un polipéptido o péptido - está atrapado en el complejo formado a partir del compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 y del ion metálico multivalente.

20 En otro aspecto, la presente invención está basada en un método de preparación de una composición de liberación continua de fármaco proteico, polipeptídico o peptídico, que incluye las etapas de: a) preparar una solución acuosa que contenga i) una proteína, un polipéptido o un péptido como ingrediente activo y ii) el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1; y b) incorporar la solución acuosa de la etapa anterior a) gota a gota a una solución acuosa que contenga un ion metálico multivalente, para obtener un precipitado.

25 [Efectos ventajosos]

30 La composición de liberación continua de fármaco en la cual se utiliza el complejo de un polímero iónico conforme a la presente invención facilita la liberación continua de un ingrediente activo tal como una proteína, un polipéptido o un péptido. Además, como en el método de preparación de dicha composición no se usa ningún disolvente orgánico puede evitarse la desnaturalización de los fármacos durante el proceso de producción y por consiguiente maximizar el efecto farmacológico del fármaco. Tampoco se requiere un procedimiento separado para eliminar un disolvente orgánico. Además, como puede lograrse un 90% o más de eficiencia de inclusión del fármaco proteico, polipeptídico o peptídico, la pérdida de fármaco durante el proceso de producción se puede minimizar.

35 [Explicación breve de las figuras]

40 La figura 1 es un espectro RNM-H¹ del compuesto derivado de ácido poliláctico obtenido según el ejemplo de preparación, disuelto en CDCl₃.

La figura 2 es un espectro RNM-H¹ de la sal sódica del derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 preparado en el ejemplo 1, disuelta en CDCl₃.

La figura 3 es una gráfica obtenida del ensayo 1 que muestra los resultados de la prueba farmacocinética de la formulación con hormona del crecimiento humano en ratas.

45 La figura 4 es una gráfica obtenida del ensayo 2 que muestra los resultados de la medición de la concentración de IGF-1 en sangre, generada después de inyectar por vía subcutánea la formulación que contiene hormona del crecimiento humano en ratas a las que se había extirpado la glándula pituitaria.

La figura 5 es una gráfica obtenida del ensayo 2 que muestra los resultados de la medición de la ganancia de peso después de inyectar por vía subcutánea la formulación que contiene hormona del crecimiento humano en ratas a las que se había extirpado la glándula pituitaria.

50 La figura 6 es una gráfica obtenida del ensayo 3 que muestra los resultados de la prueba farmacocinética de la formulación con eritropoyetina en ratas.

La figura 7 es una gráfica obtenida del ensayo 4 que muestra los resultados de la prueba farmacocinética de la formulación con exenatida en ratas.

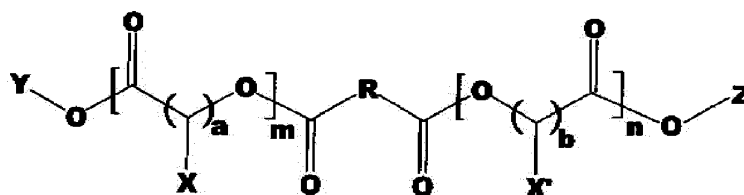
55 [Modo de llevar a cabo la presente invención]

De aquí en adelante la presente invención se describe de manera más concreta.

60 1. Compuesto derivado de ácido poliláctico y método para prepararlo

El compuesto derivado de ácido poliláctico para la liberación prolongada de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos, tal como se describe de acuerdo con la presente invención, tiene grupos carboxilo a ambos extremos y está representado por la siguiente fórmula química 1:

[Fórmula química 1]



- 5 En la anterior fórmula química 1,
 X y X' son independientemente hidrógeno, alquilo o arilo,
 Y y Z, independientemente, faltan o son un metal alcalino,
 m y n son independientemente un número entero de 0 hasta 95, con la condición de que $5 < m + n < 100$,
 a y b son independientemente un número entero de 1 a 6,
- 10 R es $-(CH_2)_k-$ sustituido o no, donde k es un número entero de 0 a 10, un radical alquenoilo divalente de 2 hasta 10 átomos de carbono, un radical arilo divalente de 6 hasta 20 átomos de carbono, o una combinación de ellos.

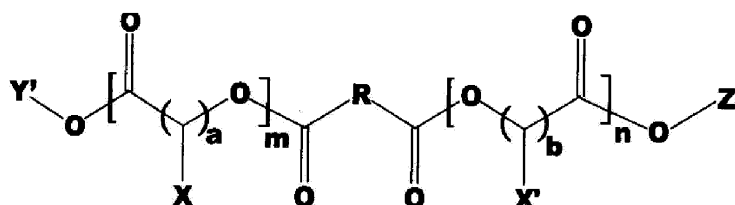
La anterior expresión "Y y Z faltan independientemente" significa que el oxígeno unido independientemente a Y y Z está en forma de una carga negativa, es decir en forma de $-O^-$.

- 15 En la anterior fórmula química 1, X y X' pueden ser independientemente hidrógeno, alquilo de 1 hasta 4 átomos de carbono o arilo de 6 átomos de carbono y pueden estar sustituidos o no con alquilo de 1 hasta 4 átomos de carbono. Más en concreto, X y X' son independientemente hidrógeno, metilo o fenilo y sobre todo metilo.

- 20 Según una forma de ejecución de la presente invención, en la anterior fórmula química 1 Y y Z, independientemente, faltan o son un metal alcalino. En el caso de que Y y Z sean un metal alcalino, el compuesto se pueden representar en concreto por la fórmula química 2. Cuando Y y Z faltan significa que ambos extremos del compuesto polimérico de la fórmula química 1 tienen forma aniónica y el compuesto se pueden representar concretamente por la fórmula química 3. En particular el metal alcalino puede ser independientemente sodio, potasio o litio.

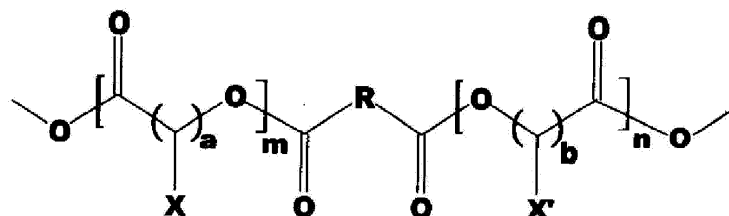
- 25

[Fórmula química 2]



- 30 En la anterior fórmula química 2, X, X', R, m, n, a y b son los mismos que se han definido aquí, e Y' y Z' son independientemente un metal alcalino.

[Fórmula química 3]



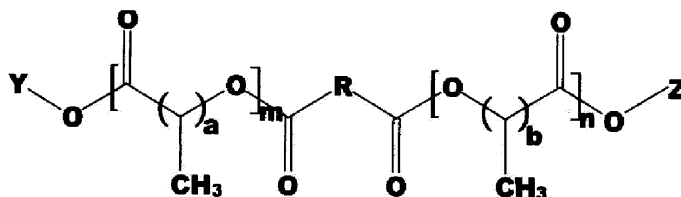
- 35 En la anterior fórmula química 3, X, X', R, m, n, a y b son los mismos que se han definido aquí, y R puede ser $-(CH_2)_k-$, donde k es un número entero de 0 a 10.

- 40 En la anterior fórmula química 1, cuando R es un radical alquenoilo divalente de 2 hasta 10 átomos de carbono o un radical arilo divalente de 6 hasta 20 átomos de carbono también puede estar sustituido independientemente con un grupo hidroxilo o alquilo C1-C5.

- 45 En la anterior fórmula química 1, m y n satisfacen preferiblemente la condición de $10 < m + n < 70$.

El compuesto derivado de ácido poliláctico se puede representar por la siguiente fórmula química 4:

[Fórmula química 4]



5

En la anterior fórmula química 4, Y, Z, R, m, n, a y b son los mismos que se han definido aquí.

10 El compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 es soluble en agua y tiene un peso molecular medio numérico no superior a los 7.000 daltons, comprendido preferiblemente entre 500 y 7.000 daltons, con mayor preferencia entre 700 y 5.000 daltons, sobre todo entre 1.000 y 4.000 daltons. Si el peso molecular medio numérico es superior a 7.000 daltons, el compuesto derivado de ácido poliláctico no se disuelve en agua y por lo tanto no sirve como vehículo de liberación de fármacos. Por otro lado un peso molecular medio numérico inferior a 500 daltons es pequeño y el compuesto puede descomponerse con demasiada rapidez en el cuerpo, y así difícilmente cabe esperar que se produzca la liberación continua del fármaco.

15

20 El compuesto derivado de ácido poliláctico comprende dos bloques escogidos, por ejemplo, del grupo formado por ácido poliláctico, polilactida, poliglicolida, ácido polimandélico, policaprolactona y un copolímero de los mismos, con un centro de ácido dicarboxílico. De acuerdo con un ejemplo de la presente invención, el compuesto derivado de ácido poliláctico comprende dos bloques seleccionados del grupo constituido por ácido poliláctico, un copolímero de ácido láctico y ácido mandélico, un copolímero de ácido láctico y ácido glicólico, y un copolímero de ácido láctico y caprolactona. Más concretamente, el compuesto derivado de ácido poliláctico comprende dos bloques de ácido poliláctico.

20

25 Como ácido dicarboxílico se puede usar preferiblemente uno de 3 a 10 átomos de carbono, como los ácidos oxálico, malónico, málico, succínico, glutárico, adípico, pimélico, subérico, azelaico, sebáico, dodecanodioico o una mezcla de ellos. También se pueden utilizar ácidos dicarboxílicos insaturados C4-C12 tales como el fumárico o el maleico, y ácidos aril-dicarboxílicos como el ftálico o el tereftálico.

25

30 En el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 ambos extremos son iónicos y por lo tanto pueden formar o no un enlace iónico con iones de metal alcalino, tal como representan de manera específica las fórmulas químicas 2 y 3 respectivamente. Los aniones de dichos extremos pueden actuar formando el complejo de enlace iónico, ya sea directamente por unión a un ion metálico multivalente o, en caso de un ion de metal alcalino, por sustitución con el ion metálico multivalente.

30

35 En otro aspecto la presente invención revela un método para preparar un compuesto derivado de ácido poliláctico que tiene la siguiente fórmula química 2, el cual comprende las etapas de: 1) polimerizar ácido láctico o su derivado, en forma de un ácido libre o de una lactona, con un ácido dicarboxílico para obtener un derivado de ácido poliláctico que tenga ácidos carboxílicos en ambos extremos; y 2) disolver el derivado de ácido poliláctico resultante de la anterior etapa 1) en un disolvente orgánico y añadir una solución acuosa de sal de metal alcalino a la disolución resultante, para obtener una sal del derivado de ácido poliláctico

35

40

45 Por ejemplo, en la etapa 1) del método de preparación del compuesto derivado de ácido poliláctico, dicho ácido láctico o su derivado en forma de un ácido libre o de una lactona, utilizable como monómero, se puede seleccionar del grupo formado por ácido láctico, lactida, glicolida, ácido mandélico, caprolactona o mezclas de los mismos.

45

50 La relación entre las cantidades utilizadas de ácido láctico, o de su derivado en forma de ácido libre o de lactona, y de ácido dicarboxílico no está especialmente limitada y se puede elegir libremente dentro del intervalo que permita obtener el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1. Se pueden emplear 1 hasta 20 partes en peso de ácido dicarboxílico respecto a 100 partes en peso de ácido láctico o de su derivado en forma de un ácido libre o de una lactona.

50

55 Más en concreto, en la etapa 1) del método de preparación del compuesto derivado de ácido poliláctico, el derivado de ácido poliláctico que tiene ácidos carboxílicos en ambos extremos se puede preparar calentando una mezcla de monómeros de ácido láctico, o de su derivado en forma de un ácido libre o de una lactona, y un ácido dicarboxílico de 3 hasta 10 átomos de carbono entre 80°C y 180°C, eliminando agua durante 0,5 hasta 4 horas, y polimerizando luego la mezcla a una temperatura 150 a 250°C durante 10 a 48 horas. En esta etapa del proceso de producción, si la temperatura de reacción es inferior a 150°C o el tiempo de reacción es inferior a 10 horas, después de eliminar agua durante la polimerización puede ser difícil obtener polímero con el peso molecular deseado. Si la temperatura

55

de reacción es superior a 250°C o el tiempo de reacción supera las 48 horas, puede presentarse el problema de la descomposición térmica del polímero.

5 En la etapa 2) del método para preparar el compuesto derivado de ácido poliláctico, el derivado de ácido poliláctico que tiene ácidos carboxílicos en ambos extremos, obtenido en la etapa 1), se disuelve en un disolvente orgánico y después se añade una solución acuosa de sal de metal alcalino a la disolución resultante para obtener el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2.

10 Por ejemplo, el metal alcalino se puede seleccionar entre el grupo constituido por bicarbonato sódico, carbonato sódico, bicarbonato potásico, carbonato potásico, carbonato de litio y mezclas de ellos. En concreto se puede usar bicarbonato sódico o bicarbonato potásico. Como disolvente orgánico se pueden emplear los disolventes orgánicos miscibles con agua. En concreto se puede usar acetonitrilo o acetona. En la etapa 2) la relación entre las cantidades del derivado de ácido poliláctico que tiene ácidos carboxílicos en ambos extremos y la sal de metal alcalino no está particularmente limitada y se puede elegir libremente dentro del intervalo que permita obtener el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2. Se pueden usar 2 hasta 10 moles de la sal de metal alcalino respecto a 1 mol del derivado de ácido poliláctico que tiene ácidos carboxílicos en ambos extremos.

15 El método para preparar el compuesto derivado de ácido poliláctico puede incluir adicionalmente tras la etapa 2) la etapa de adición de, por ejemplo, cloruro sódico a la solución polimérica resultante y la separación y recuperación de la capa orgánica, seguida del secado al vacío de la capa orgánica recuperada para eliminar el disolvente orgánico, con lo cual se obtiene el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2.

2. Complejo, composición de liberación continua y método para prepararlos

25 En otro aspecto, la presente invención proporciona un complejo del compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1, de peso molecular medio numérico no superior a 7.000 daltons, con un ion metálico multivalente. Dicho complejo es útil como vehículo de liberación continua de fármacos.

30 El compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 está explicado arriba y tiene extremos aniónicos. Por consiguiente el complejo se puede formar por enlace iónico entre el ion metálico multivalente y 2 o más moles del compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1. En el complejo de la presente invención el ion metálico multivalente puede ser un ion metálico di- o trivalente, por ejemplo un ion metálico multivalente elegido del grupo integrado por cinc, calcio, magnesio y hierro. Por ejemplo, el ion metálico multivalente se puede aportar en forma de un compuesto salino tal como las sales de cloruro de estos metales, aunque sin limitarse específicamente a ellas.

35 De acuerdo con una revelación del complejo, el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 es el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 3 arriba descrito.

40 En otro aspecto, la presente invención revela una composición para la liberación continua de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos que comprende: i) una proteína, un polipéptido o un péptido como ingrediente activo, ii) el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 como vehículo de liberación del fármaco, y iii) un ion metálico multivalente.

45 En otro aspecto, la presente invención está basada en una composición para la liberación continua de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos que comprende: i) una proteína, un polipéptido o un péptido como ingrediente activo, y ii) un complejo del compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 con un ion metálico multivalente, como vehículo de liberación del fármaco.

50 El complejo se puede formar por enlace iónico del ion metálico multivalente y 2 o más moles del compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1, y el complejo puede funcionar como vehículo de liberación del fármaco. El ingrediente activo es atrapado en el complejo para formar micropartículas.

55 El compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 puede ser el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 3, tal como se ha descrito anteriormente.

60 En la composición de liberación continua conforme a la presente invención el ingrediente activo es una proteína, un polipéptido o un péptido. Cuando aquí se usa solo uno cualquiera de estos términos, debe entenderse que designa todos estos ingredientes, a no ser que se mencione específicamente.

65 Las expresiones "liberación continua", "administración por liberación continua" o "administración de fármacos por liberación continua", tal como se emplean aquí, significan que una única administración del fármaco mantiene su concentración efectiva en la sangre durante un largo periodo de tiempo, como por ejemplo durante 72 horas o más. En concreto los polipéptidos suelen administrarse por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa, etc., pero la desventaja es que se necesitan frecuentes inyecciones para que el tratamiento sea efectivo. Por tanto la presente

invención busca desarrollar y ofrecer un sistema de administración por liberación continua para resolver cualquier inconveniencia debida a dicha administración frecuente.

5 En la composición de liberación continua según la presente invención los ejemplos de ingredientes activos pueden comprender: hormona del crecimiento, eritropoyetina, anticuerpos monoclonales, factores estimulante de colonias de granulocitos, factores estimulantes de colonias de macrófagos, factores estimulantes de colonias de granulocitos y macrófagos, trombopoyetina, factores de crecimiento similares a insulina, factores de crecimiento epitelial, factores de crecimiento derivados de plaquetas, factores de crecimiento fibroblásticos, factores de crecimiento transformante, interferones, interleucinas, factores de necrosis tumoral, estreptocinasa, urocinasa, estafilocinasa, ADNasas, gluco-
10 cerebrosidasa, alfa galactosidasa, exenatida, octreotida, insulina, glucagón, hormona liberadora de la hormona luteinizante, goserelina, leuprorelina, factor estimulante de folículos, hormona estimulante de la tiroides, fertirelina, calcitonina, factor liberador de corticotropina, péptido natriurético cerebral, timopentina, corticotropina, elcatonina, beta amiloide, triptorelina, buserelina, timosinas, somatostatina, alarelina, angiotensina, argipresina, atosibán, bivalirudina, cetorelix, deslorelina, desmopresina, elcatonina, enfuvirtida, eptifibatida, GLP-1, gonadorelina, lipresina,
15 nafarelina, nesiritida, oxitocina, pramlintida, secretina, teriparatida, terlipresina, tetracosactida, vapreotida y mezclas de ellos.

20 En la composición de liberación continua según la presente invención el ingrediente activo se puede emplear en una proporción del 0,01 al 60% en peso (% en peso), más concretamente del 0,05 al 50% en peso respecto al peso seco de la composición de liberación continua de la presente invención. Si el contenido de ingrediente activo es inferior al 0,01% en peso respecto al peso seco de la composición de liberación continua, puede resultar difícil lograr el efecto farmacológico pretendido, mientras que si el contenido es superior al 60% en peso, puede haber un problema debido a la rotura inicial del fármaco.

25 En la composición de liberación continua el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 puede incluirse en una proporción del 39,9 al 99,9% en peso, más concretamente del 50 al 99% en peso, respecto al peso seco de la composición de liberación continua de la presente invención. Si el contenido del compuesto derivado de ácido poliláctico es inferior al 39,9% en peso respecto al peso seco de la composición de liberación continua, no se puede obtener el efecto de liberación continua, mientras que si el contenido es superior al 99,9% en peso, puede ser
30 que la dosificación exceda la máxima dosis posible para el cuerpo humano de manera convencional.

35 En la composición de liberación continua según la presente invención el ion metálico multivalente se puede incluir preferiblemente en una proporción del 0,01 al 20% en peso, con mayor preferencia del 0,05 al 15% en peso respecto al peso seco de la composición de liberación continua según la presente invención. Si el contenido del ion metálico multivalente es inferior al 0,01% en peso respecto al peso seco de la composición de liberación continua, no puede obtenerse el efecto de liberación continua, mientras que si el contenido es superior al 20% en peso puede haber un problema de toxicidad debida al ion metálico.

40 Una vez formado, el complejo polimérico que lleva el ingrediente activo se precipita en forma de partículas en una solución acuosa.

45 La composición particulada de liberación continua que contiene polipéptidos o análogos, de acuerdo con la presente invención, está en forma de partículas de tamaño uniforme comprendido entre 5 y 250 μm , más concretamente entre 50 y 150 μm .

50 Además de los componentes arriba citados, la composición de liberación continua de la presente invención puede incluir adyuvantes farmacéuticos tales como conservantes, agentes estabilizantes, agentes humectantes o sales y/o agentes tampón para controlar la presión osmótica, y otras sustancias terapéuticamente útiles. La composición de liberación continua que contiene fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos conforme a la presente invención se puede dispersar en un medio de dispersión farmacéuticamente aceptable y luego administrarse al cuerpo humano. Como ejemplos de medio de dispersión pueden mencionarse el agua destilada para inyectables, la glucosa al 5%, el suero fisiológico, el aceite mineral, los mono-, di- y triglicéridos, etc.

55 En otro aspecto la presente invención revela un método de preparación de una composición de liberación continua de fármaco proteico, polipeptídico o peptídico, que comprende las etapas de: a) preparar una solución acuosa que contenga i) una proteína, un polipéptido o un péptido como ingrediente activo y ii) el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1; y b) incorporar la solución acuosa de la etapa anterior a) gota a gota a una solución acuosa que contenga un ion metálico multivalente, para obtener un precipitado.

60 Concretamente, en la etapa a) del método de preparación de la composición de liberación continua el ingrediente activo y el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2 se pueden añadir simultáneamente o en serie, incorporando primero un componente y luego los demás. Por ejemplo, la solución acuosa se puede preparar (a-1) disolviendo el ingrediente activo y el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2 en agua, o (a-2) disolviendo primero un derivado de ácido poliláctico con ácidos carboxílicos a ambos extremos y una solución
65 acuosa de sal de metal alcalino en agua, para preparar el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2 y después añadiéndole el ingrediente activo, o (a-3) disolviendo primero un compuesto derivado de ácido

poliláctico con ácidos carboxílicos a ambos extremos y el ingrediente activo en agua, y después añadiéndole una solución acuosa de sal de metal alcalino en agua, para preparar la disolución acuosa que contiene el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2 y el ingrediente activo.

5 Es decir, la composición de liberación continua de la presente invención se puede preparar usando el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2 como material de partida (a-1) o, como alternativa, partiendo del compuesto derivado de ácido poliláctico que lleva grupos ácido carboxílico a ambos extremos y convirtiéndolo en el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2 mediante la sal de metal alcalino, y utilizando luego el compuesto resultante en las etapas subsiguientes (a-2 y a-3).

10 Según una forma de ejecución del método de preparación de la composición de liberación continua de la presente invención, el medio acuoso que constituye dicha solución acuosa puede ser agua destilada o una o más soluciones tampón elegidas del grupo formado por las soluciones tampón basadas en sales de acetato, citrato, glicina, fosfato y carbonato. Los fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos pueden responder sensiblemente a la composición de formulación, sobre todo a su nivel de pH y debido a ello pueden resultar alteradas sus estructuras o puede disminuir su actividad.

15 En la etapa b) del método de preparación de la composición de liberación continua según la presente invención, la solución acuosa obtenida en la etapa a) se incorpora lentamente gota a gota a la solución acuosa que lleva el ion metálico multivalente, para formar el precipitado. En este punto el ingrediente activo se puede dispersar y precipitar en el interior del complejo formado a partir de compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 y del ion metálico multivalente. En esta etapa el ion metálico multivalente puede ser, por ejemplo, un ion multivalente de un metal seleccionado del grupo constituido por cinc, calcio, magnesio y hierro. El ion metálico multivalente se puede aportar en forma de un compuesto salino como, por ejemplo, las sales de cloruro de estos metales, aunque no está limitado concretamente a ellas. La concentración de ion multivalente en la solución acuosa puede ser de 1 hasta 300 mg/ml, más concretamente de 1 hasta 100 mg/ml. En caso de formación del complejo polimérico, el ion metálico multivalente forma el complejo por enlace iónico directo o por sustitución del anión del compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 por el ion de metal alcalino, seguida de enlace iónico. Luego el ingrediente activo, por ejemplo un polipéptido, es atrapado dentro del complejo y, una vez formado, el complejo polimérico que contiene el ingrediente activo precipita como tal en la solución acuosa en forma de micropartículas. La solución acuosa de la etapa a) que comprende el ingrediente activo y el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 1 se puede precipitar en la etapa b) incorporándola a la disolución acuosa del ion metálico multivalente en una relación volumétrica 1-30.

20 El método para preparar la composición de liberación continua de la presente invención puede comprender además, tras la etapa b), la etapa c) de centrifugar el precipitado obtenido en la etapa b) y lavar luego el precipitado con agua. La etapa c) se puede realizar de modo que el precipitado obtenido en la etapa b) sea centrifugado en una centrifuga mantenida a baja temperatura, por ejemplo a 4°C, a fin de separar el sobrenadante y el precipitado. A continuación el precipitado separado se lava con agua.

25 El método para preparar la composición de liberación continua de la presente invención puede comprender además, tras la etapa c), la etapa d) de liofilizar el precipitado separado en la etapa c). En esta etapa d) se puede agregar un adyuvante de liofilización durante dicho proceso. El adyuvante de liofilización puede incluir azúcares, alcoholes de azúcar o una mezcla de ellos. Dicho azúcar puede ser uno o más del grupo formado por lactosa, maltosa, sacarosa y trehalosa, y dicho alcohol de azúcar puede ser uno o más del grupo formado por manitol, sorbitol, maltitol, xilitol y lactitol. Según una forma de ejecución de la presente invención, el contenido de adyuvante de liofilización es del 1 al 50% en peso respecto al peso seco total de la composición liofilizada.

30 La composición microparticulada de liberación continua según la presente invención se puede preparar en forma de micropartículas de tamaño uniforme comprendido entre 5 y 250 μm , preferiblemente entre 50 y 150 μm , mediante molienda y tamizado eléctrico o sonicación, opcionalmente tras la etapa b), c) o d).

35 Como en el método de preparación de la composición de liberación continua según la presente invención se utiliza una solución acuosa sin disolventes orgánicos, no se requiere ningún procedimiento de separación para eliminar el disolvente orgánico y puede evitarse la desnaturalización del fármaco durante el proceso de producción, lo cual permite maximizar su efecto farmacológico. Además la eficiencia de la inclusión del fármaco proteico, polipeptídico o peptídico es del 90% o más, lo cual permite minimizar la pérdida de fármaco durante el proceso de producción.

40 Cuando la composición de liberación continua según la presente invención se administra al cuerpo, el polímero que constituye el complejo se descompone en el cuerpo y por lo tanto el fármaco atrapado en aquél es liberado poco a poco. Antes de la presente invención, para la liberación continua, es decir, para retrasar el tiempo de liberación del fármaco, había que usar polímeros de peso molecular tan alto como de decenas de miles de daltons. Sin embargo, como los polímeros de peso molecular tan alto no se disuelven en agua, era necesario usar un disolvente orgánico que podía desnaturalizar la proteína o el péptido durante el proceso de preparación de un vehículo de liberación en forma de micropartículas. En cambio, como en la composición microparticulada de liberación continua de la presente invención se utiliza un polímero de peso molecular tan bajo que permite disolverlo en agua, no hace falta emplear un

disolvente orgánico al preparar la composición de liberación continua. Asimismo, como el polímero puede formar el complejo con iones metálicos multivalentes, se puede conseguir un excelente efecto de liberación continua cuando la composición de liberación continua según la presente invención se administra al cuerpo.

- 5 De aquí en adelante la presente invención se ilustra más específicamente mediante ejemplos preparativos, ejemplos y ensayos. No obstante se facilitan solamente para explicar la presente invención y el alcance de la misma no está limitado por ellos.

10 **Ejemplo preparativo 1:** preparación del compuesto derivado de ácido poliláctico

Se introdujeron 500 g (5,56 moles) de ácido D,L-láctico y 18,9 g (0,16 moles) de ácido succínico en un matraz de 1 l, de fondo redondo y dos bocas, montado de modo que la mezcla reactiva se pudiera agitar con una barra magnética bajo purga de nitrógeno. Se calentó un baño de aceite a 160°C y la mezcla reactiva se purgó con nitrógeno a un flujo de 2000 ml/min. El agua producida durante la reacción se descargó del reactor junto con la corriente de nitrógeno. Se eliminó agua durante 1 hora y el baño de aceite se calentó hasta 200°C. La reacción se llevó a cabo durante 24 horas y después se terminó. Al final se obtuvieron 368 g del derivado de ácido D,L-poliláctico crudo con grupos de ácido carboxílico a ambos extremos. El espectro RMN del derivado de ácido poliláctico preparado está representado en la figura 1. El resultado de la medición mediante el análisis siguiente por RMN demostró que el peso molecular medio numérico del derivado de ácido poliláctico preparado era de 2.315 daltons.

20 <Cálculo del peso molecular medio numérico a partir de las áreas de los picos del espectro RMN-H¹>

[Ecuación 1]

25
$$\text{Peso molecular medio numérico (daltons)} = \{(A + B)/(C + N)\} \times 72,1$$

En la anterior ecuación 1,

A denota el área del pico del protón metilénico del derivado de ácido D,L-poliláctico,

B denota el área del pico del protón metilénico del derivado de ácido D,L-láctico terminal del polímero,

30 C denota el área del pico del protón metilénico del ácido dicarboxílico, y

N denota el número protones metilénicos en el ácido dicarboxílico.

Ejemplo preparativo 2: preparación del derivado de ácido poliláctico

- 35 El derivado de ácido poliláctico se polimerizó siguiendo el mismo método descrito en el ejemplo preparativo 1, pero usando 39,3 g (0,33 moles) de ácido succínico. Al final se obtuvieron 348 g del derivado de ácido D,L-poliláctico crudo con grupos de ácido carboxílico a ambos extremos. Su peso molecular medio numérico medido por el análisis de RMN arriba citado dio como resultado 1.155 daltons.

40 **Ejemplo preparativo 3:** purificación del derivado de ácido poliláctico

En un vaso de precipitados de 2 l se introdujeron 100 g del derivado de ácido poliláctico obtenido en el ejemplo preparativo 1 y 20 g de bicarbonato sódico (NaHCO₃) y se añadió 1 l de agua destilada. La mezcla se calentó a 60°C y el polímero se disolvió durante 1 hora, agitando. Después de disolver el polímero se añadió gota a gota solución acuosa 1 N de cloruro de hidrógeno (HCl) a la solución acuosa del polímero para precipitarlo. El precipitado se filtró y se lavó con agua destilada. La operación de lavado y filtrado se repitió 3 veces para eliminar el cloruro de hidrógeno. El polímero resultante se liofilizó durante 48 horas. Finalmente se obtuvieron 72,4 g del derivado de ácido poliláctico purificado, con grupos de ácido carboxílico a ambos extremos, y su peso molecular medio numérico medido por el análisis de RMN arriba citado dio como resultado 2.703 daltons.

50 **Ejemplo preparativo 4:** preparación del derivado de ácido poliláctico

Se obtuvieron 381 g del derivado de ácido poliláctico con grupos de ácido carboxílico a ambos extremos siguiendo el mismo método descrito en el ejemplo preparativo 1, pero usando 21,1 g (0,16 moles) de ácido glutárico en lugar de ácido succínico. El peso molecular medio numérico del producto medido por el análisis de RMN arriba mencionado dio como resultado 2,360 daltons.

Ejemplo preparativo 5: preparación del derivado de ácido poliláctico

- 60 Se introdujeron 500 g (5,56 moles) de ácido D,L-láctico en un matraz de 1 l, de fondo redondo y dos bocas, montado de modo que la mezcla reactiva se pudiera agitar con una barra magnética bajo purga de nitrógeno. Se calentó un baño de aceite a 160°C y la mezcla reactiva se purgó con nitrógeno a un flujo de 2000 ml/min. El agua producida durante la reacción se descargó del reactor junto con la corriente de nitrógeno. Se eliminó agua durante 1 hora y el baño de aceite se calentó hasta 200°C. La reacción se llevó a cabo durante 24 horas y después se terminó. Al final se obtuvo un ácido D,L-poliláctico crudo con grupos hidroxilo y ácido carboxílico a ambos extremos respectivamente. Al producto resultante se le añadieron 35 g (0,35 moles) de anhídrido succínico y la mezcla se calentó durante 6

horas a 120°C, a fin de permitir la reacción con el grupo hidroxilo de un extremo del ácido poliláctico. El derivado de ácido poliláctico dio un peso molecular medio numérico de 2.240 daltons medido mediante el análisis de RMN arriba mencionado.

5 **Ejemplo 1:** preparación de sal sódica del derivado de ácido poliláctico

10 100 g del derivado de ácido poliláctico obtenido en el ejemplo preparativo 1 se añadieron a 150 ml de acetonitrilo y se disolvieron en él. Se le agregaron lentamente gota a gota 150 ml de una solución acuosa de bicarbonato sódico (0,1 g/ml). La mezcla reactiva se agitó 2 horas a la temperatura ambiente para neutralizar el polímero y preparar a la vez la sal sódica del derivado de ácido poliláctico.

15 Después de ello el polímero preparado se purificó por el método de precipitación salina. Esto es, se añadieron 15 g de cloruro sódico (NaCl) a la solución reactiva resultante en agitación y se disolvieron en ella; luego se separaron las fases durante 2 horas en un embudo de decantación y se eliminó la fase acuosa.

20 Se añadieron 100 ml de agua destilada y otra vez cloruro sódico (10 g), disolviéndolo en la solución polimérica obtenida como fase orgánica; las fases se separaron de nuevo con el embudo de decantación y se eliminó la fase acuosa. La solución de la capa orgánica que llevaba el polímero obtenido se sometió a una destilación fraccionada rotatoria a 50°C para eliminar totalmente el disolvente orgánico y una pequeña cantidad de agua destilada.

Después de eliminar el disolvente orgánico y agua destilada el polímero obtenido se disolvió añadiéndole 500 ml de acetona anhidra y el precipitado restante se separó por filtración y se eliminó utilizando un papel de filtro. El polímero filtrado se sometió a la destilación fraccionada rotatoria durante 2 horas a 50°C para eliminar totalmente la acetona.

25 Después de eliminar la acetona, el polímero obtenido se secó al vacío en un horno a 50°C durante 3 días. Al final se obtuvieron 91 g de sal sódica purificada del derivado de ácido poliláctico con carboxilato de sodio a ambos extremos. El espectro RMN de la sal preparada del derivado de ácido poliláctico está representado en la figura 2. Su peso molecular medio numérico medido por el análisis de RMN arriba citado dio como resultado 2.178 daltons.

30 **Ejemplo 2:** preparación de sal sódica del derivado de ácido poliláctico

35 Se obtuvieron 93 g de sal sódica purificada del derivado de ácido poliláctico con grupo carboxilato de sodio a ambos extremos, utilizando 100 g del derivado de ácido poliláctico obtenido en el ejemplo preparativo 2 según el mismo método descrito en el ejemplo 1. Su peso molecular medio numérico medido por el análisis de RMN arriba citado dio como resultado 1.125 daltons.

Ejemplo 3: preparación de sal sódica del derivado de ácido poliláctico

40 Se obtuvieron 91 g de sal sódica purificada del derivado de ácido poliláctico con grupo carboxilato de sodio a ambos extremos, utilizando 100 g del derivado de ácido poliláctico obtenido en el ejemplo preparativo 4 según el mismo método descrito en el ejemplo 1. Su peso molecular medio numérico medido por el análisis de RMN arriba citado dio como resultado 2.250 daltons.

45 **Ejemplo 4:** preparación de sal sódica del derivado de ácido poliláctico

Se obtuvieron 90 g de sal sódica purificada del derivado de ácido poliláctico con grupo carboxilato de sodio a ambos extremos, utilizando 100 g del derivado de ácido poliláctico obtenido en el ejemplo preparativo 5 según el mismo método descrito en el ejemplo 1. Su peso molecular medio numérico medido por el análisis de RMN arriba citado dio como resultado 2.080 daltons.

50 **Ejemplo 5:** preparación de una composición de liberación continua que contiene hormona del crecimiento humano (hGH)

55 Se disolvieron 4,5 g de sal sódica del derivado de ácido poliláctico preparada en el ejemplo 1 y 500 mg de hormona del crecimiento humano (3,0 UI/mg) en 20 ml de agua para preparar una solución acuosa de hGH-polímero.

60 Se prepararon 250 ml de una solución acuosa de cloruro de cinc (ZnCl₂) como sal de metal multivalente (50 mg/ml). A esta solución se le incorporó gota a gota la solución acuosa de hGH-polímero para formar el precipitado de la composición que contenía la hormona del crecimiento humano. La mezcla resultante se centrifugó a 3.500 rpm durante 10 minutos, usando una centrífuga mantenida a 4°C para separar el sobrenadante y el precipitado.

El precipitado se filtró y se lavó dos veces con 500 ml de agua destilada y luego se liofilizó. La composición liofilizada se cribó con tamices de 100 hasta 400 mallas, para obtener la composición de micropartículas de 50 hasta 150 µm.

La hormona del crecimiento humano en la composición liofilizada de micropartículas resultante se cuantificó usando el siguiente ensayo BCA (kit de ensayo de proteínas Micro BCA, de Thermo Scientific). El contenido de hGH y la eficiencia de la inclusión resultante del análisis cuantitativo fueron respectivamente del 9,54% en peso y del 92,6%.

5 <Medición del contenido de proteína y de la eficiencia de la inclusión mediante el ensayo BCA (kit de ensayo de proteínas Micro BCA, de Thermo Scientific)>

(1) Medición del contenido de proteína

10 [Ecuación 2]

$$\text{Contenido (\%)} = \frac{\text{Cantidad de péptido o proteína atrapada en micropartículas (g)}}{\text{Cantidad total de composición de micropartículas (g)}} \times 100$$

15 (2) Medición de la eficiencia de la inclusión de proteína

[Ecuación 3]

$$\text{Eficiencia de inclusión (\%)} = \frac{\text{Cantidad de péptido o proteína atrapada en micropartículas (g)}}{\text{Cantidad usada al preparar la composición de micropartículas (g)}} \times 100$$

Ejemplo 6: preparación de una composición de liberación continua que contiene hormona del crecimiento humano

25 La composición de micropartículas que contiene hormona del crecimiento humano se preparó siguiendo el mismo método descrito en el ejemplo 5, pero usando 4,75 g de la sal sódica del derivado de ácido poliláctico preparada en el ejemplo 1 y 250 mg de hormona del crecimiento humano (3,0 UI/mg). La hormona del crecimiento humano en la composición preparada se cuantificó mediante el ensayo BCA arriba citado y el contenido de hGH y la eficiencia de la inclusión fueron respectivamente del 4,72% en peso y 91,7%.

Ejemplo 7: preparación de una composición de liberación continua que contiene hormona del crecimiento humano

35 La composición de micropartículas que contiene hormona del crecimiento humano se preparó siguiendo el mismo método descrito en el ejemplo 5, pero usando 4,75 g de la sal sódica del derivado de ácido poliláctico preparada en el ejemplo 1 y 100 mg de hormona del crecimiento humano (3,0 UI/mg). La hormona del crecimiento humano en la composición preparada se cuantificó mediante el ensayo BCA arriba citado y el contenido de hGH y la eficiencia de la inclusión fueron respectivamente del 1,93% en peso y 93,7%.

40 **Ejemplo 8:** preparación de una composición de liberación continua que contiene hormona del crecimiento humano

45 La composición de micropartículas que contiene hormona del crecimiento humano se preparó por el mismo método descrito en el ejemplo 6, pero utilizando la sal sódica del derivado de ácido poliláctico preparada en el ejemplo 2. La hormona del crecimiento humano en la composición preparada se cuantificó mediante el ensayo BCA arriba citado y el contenido de hGH y la eficiencia de la inclusión fueron respectivamente del 4,72% en peso y 91,7%.

Ejemplo 9: preparación de una composición de liberación continua que contiene hormona del crecimiento humano

50 Se disolvieron 4,9 g de la sal sódica del derivado de ácido poliláctico purificada en el ejemplo preparativo 3 y 100 mg de hormona del crecimiento humano (3,0 UI/mg) en 20 ml de agua y después se le añadieron 0,3 g de bicarbonato sódico (NaHCO₃) para preparar una solución acuosa de hGH-polímero.

55 Se prepararon 250 ml de una solución acuosa de cloruro de cinc (ZnCl₂) como sal de metal multivalente (50 mg/ml). A esta solución se le incorporó gota a gota la solución acuosa de hGH-polímero para formar el precipitado de la composición que contenía la hormona del crecimiento humano. La mezcla resultante se centrifugó a 3.500 rpm durante 10 minutos, usando una centrifuga mantenida a 4°C para separar el sobrenadante y el precipitado.

60 El precipitado se filtró y se lavó dos veces con 500 ml de agua destilada y luego se liofilizó. La composición liofilizada se cribó con tamices de 100 hasta 400 mallas, para obtener la composición de micropartículas de 50 hasta 150 µm.

La hormona del crecimiento humano en la composición liofilizada de micropartículas resultante se cuantificó usando el ensayo BCA arriba citado (kit de ensayo de proteínas Micro BCA, de Thermo Scientific). El contenido de hGH y la eficiencia de la inclusión fueron respectivamente del 4,86% en peso y del 94,4%.

Ejemplo 10: preparación de una composición de liberación continua que contiene eritropoyetina (EPO)

Se disolvió 1 g de la sal sódica del derivado de ácido poliláctico preparada en el ejemplo 1 y 0,4 mg de eritropoyetina (EPO) (41 UI/mg) en 5 ml de agua para preparar una solución acuosa de EPO-polímero.

Se prepararon 5,5 ml de una solución acuosa de cloruro de cinc ($ZnCl_2$) como sal de metal multivalente (12,5 mg/ml). A esta solución se le incorporó con agitación la solución acuosa de EPO-polímero para formar el precipitado de la composición que contenía eritropoyetina. La mezcla resultante se centrifugó a 3.500 rpm durante 10 minutos con una centrifuga mantenida a 4°C para separar el sobrenadante y el precipitado.

El sobrenadante se eliminó totalmente y el precipitado obtenido se liofilizó. La composición liofilizada se cribó con tamices de 100 hasta 400 mallas, para obtener la composición de micropartículas de 50 hasta 150 μm .

La eritropoyetina en la composición liofilizada de micropartículas resultante se cuantificó empleando el ensayo BCA arriba citado y el contenido de eritropoyetina y la eficiencia de la inclusión fueron respectivamente del 0,038% en peso y del 92,2%.

Ejemplo 11: preparación de una composición de liberación continua que contiene exenatida

En 45 ml de agua se disolvieron 4,9 g de la sal sódica del derivado de ácido poliláctico preparada en el ejemplo 1 y 100 mg de exenatida para preparar una solución acuosa, la cual se filtró con un filtro de 0,45 μm a fin de eliminar impurezas.

Se prepararon 500 ml de una solución acuosa de cloruro de cinc ($ZnCl_2$) como sal de metal multivalente (25 mg/ml). A esta solución se le añadió gota a gota la solución acuosa de exenatida-polímero a un caudal de 3 ml/min, agitando a 120 rpm, para formar el precipitado de la composición que contenía exenatida.

El precipitado se filtró y se lavó dos veces con 500 ml de agua destilada, y luego se secó al vacío durante 1 día a la temperatura ambiente. La composición seca se molió y se cribó con un tamiz de 100 a 400 mallas para obtener la composición de micropartículas de 50 hasta 150 μm .

La exenatida en la composición seca de micropartículas resultante se cuantificó usando el ensayo BCA arriba citado y el contenido de exenatida y la eficiencia de la inclusión fueron respectivamente del 1,97% en peso y del 95,6 %.

Ejemplo 12: preparación de una composición de liberación continua que contiene exenatida

La composición de micropartículas con contenido de exenatida se preparó siguiendo el mismo método descrito en el ejemplo 11, pero utilizando cloruro cálcico ($CaCl_2$) en vez de cloruro de cinc ($ZnCl_2$) como sal de metal multivalente. La exenatida en la composición seca de micropartículas resultante se cuantificó usando el ensayo BCA arriba citado y el contenido de exenatida y la eficiencia de la inclusión fueron respectivamente del 1,92% en peso y del 93,2%.

Ejemplo 13: preparación de una composición de liberación continua que contiene exenatida

La composición de micropartículas con contenido de exenatida se preparó siguiendo el mismo método descrito en el ejemplo 11, pero empleando 4,9 g de la sal sódica del derivado de ácido poliláctico preparada en el ejemplo 3. La exenatida en la composición seca de micropartículas resultante se cuantificó usando el ensayo BCA arriba citado y el contenido de exenatida y la eficiencia de la inclusión fueron respectivamente del 1,94% en peso y del 94,2%.

Ejemplo comparativo 1: preparación de una composición de solución acuosa de hormona del crecimiento humano (hGH)

Se preparó una solución acuosa de hormona del crecimiento humano disolviendo en 10 ml de agua para inyectables los componentes relacionados en la siguiente tabla 1.

[Tabla 1]

hGH	0,1 g
Glicina	1,0 g
Manitol	0,1 g
Lactosa	0,1 g
Bicarbonato sódico	0,1 g

Ejemplo comparativo 2: preparación de una composición de solución acuosa de eritropoyetina (EPO)

Se preparó una solución acuosa de eritropoyetina disolviendo en 1,0 ml de agua para inyectables los componentes relacionados en la siguiente tabla 2.

[Tabla 2]

EPO	4.100 UI (0,1 g)
Albúmina de suero humano	5 mg
Cloruro sódico	10 mg
Fosfato sódico monobásico dihidrato	5 mg
Fosfato sódico dibásico dihidrato	2 mg

Ensayo 1: prueba farmacocinética de una composición que contiene hormona del crecimiento humano (hGH)

Se comprobaron las propiedades farmacocinéticas de las composiciones que contenían hormona del crecimiento humano (hGH), preparadas en los ejemplos 5 hasta 9 y en el ejemplo comparativo 1.

Unas ratas S.D. (de 190 ± 20 g y 5 a 6 semanas de edad) suministradas por los laboratorios Charles River (Orient, Corea) se alojaron durante una semana o más en una sala de crianza mantenida a una temperatura constante y a una humedad constante. Después de observar su estado general, se seleccionaron animales de aspecto global sano y se usaron en el ensayo. Los animales de ensayo se criaron en unas condiciones que incluían iluminación artificial a un intervalo de 12 horas, una iluminancia de 300 a 500 Lux, una temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ y una humedad relativa del $65 \pm 10\%$, y tuvieron acceso libre a comida sólida esterilizada y agua corriente.

Cada una de las composiciones se inyectó por vía subcutánea a las ratas ($n = 5$) con una dosis de 5 mg/kg y luego se recogió sangre a intervalos regulares durante 10 días y se cuantificó su nivel de hGH mediante el kit de ensayo inmunológico Quantikine hGH (R&D Systems). Los resultados de la cuantificación se representan en la figura 3. Tal como muestra la figura 3, la composición que contiene hormona del crecimiento humano de acuerdo con la presente invención mantuvo durante 10 días o más un nivel de hormona del crecimiento humano en la sangre igual a 1 ng/ml o mayor. Además el resultado de la observación de la autopsia no reveló ninguna toxicidad debida a la composición de la presente invención.

Ensayo 2: prueba de eficacia de la composición que contiene hormona del crecimiento humano

Las composiciones que contenían hormona del crecimiento humano (hGH) preparadas en los ejemplos 5 a 6 y en el ejemplo comparativo 1 se administraron a ratas (ratas hipofisectomizadas), a las cuales se había extraído la glándula pituitaria para causar una deficiencia de hormona del crecimiento humano, a fin de realizar la prueba de eficacia.

Como modelo animal patológico, las ratas S.D. hipofisectomizadas (de 90 ± 10 g y 4 semanas de edad, Japan SLC, Inc.) se alojaron durante una semana o más en una sala de crianza mantenida a una temperatura constante y a una humedad constante. Después de observar su estado general, se seleccionaron animales de aspecto global sano que no hubieran tenido ningún cambio de peso y se usaron en el ensayo. Los animales de ensayo se criaron en unas condiciones que incluían iluminación artificial a un intervalo de 12 horas, una iluminancia de 300 a 500 Lux, una temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ y una humedad relativa del $65 \pm 10\%$, y tuvieron acceso libre a comida sólida esterilizada y agua corriente.

Las composiciones de los ejemplos 5 y 6 se inyectaron una vez por vía subcutánea con una dosis de 5 mg/kg, y la composición del ejemplo comparativo 1 se inyectó por vía subcutánea una vez al día, con una dosis de 0,71 mg/kg, durante 7 días ($n = 6$). Se recogió sangre a intervalos regulares, a fin de cuantificar su nivel de IGF-1 (factor 1 de crecimiento insulínico) con el kit de ensayo inmunológico Quantikine IGF-1 (R&D Systems). Además se midió el peso de los animales de ensayo para registrar los cambios de peso. Los resultados de la cuantificación y de la medición de peso están representados respectivamente en las figuras 4 y 5.

Tal como muestra la figura 4 respecto al nivel de IGF-1 en sangre generado por la hormona del crecimiento, una sola administración de la composición de la presente invención da mejor resultado en comparación con la administración de la formulación existente, comercialmente disponible, una vez al día durante 7 días.

Además, como muestra la figura 5, cuando la composición de la presente invención se administró una vez, el peso aumentó aproximadamente un 20% tras 2 semanas; por lo tanto la composición de la presente invención da mejor resultado en comparación con la administración de la formulación existente, comercialmente disponible, una vez al día durante 7 días. El grupo de control negativo (sin tratamiento) al cual no se le administró la hormona no aumentó de peso. El resultado de la observación de la autopsia no reveló ninguna toxicidad causada por la composición de la presente invención.

Ensayo 3: prueba farmacocinética de la composición que contiene eritropoyetina (EPO)

Se comprobaron las propiedades farmacocinéticas de las composiciones que contenían eritropoyetina, preparadas en el ejemplo 10 y en el ejemplo comparativo 2.

Se adquirieron ratas S.D. (de 190 ± 20 g y 5 a 6 semanas de edad) de los laboratorios Charles River (Orient, Corea) y se trataron en las mismas condiciones que en el ensayo 1.

5 Cada una de las composiciones se inyectó por vía subcutánea a las ratas ($n = 6$) a una dosis de 2000 UI/kg, y luego se recogió sangre a intervalos regulares y se cuantificó su nivel de eritropoyetina mediante un kit de inmunoensayo enzimático (DEP00, R&D Systems). Los resultados de la cuantificación están representados en la figura 6. Tal como muestra la figura 6, la composición que contiene eritropoyetina de acuerdo con la presente invención prolongó el tiempo de mantenimiento de su nivel en la sangre y mostró el efecto de liberación continua durante una semana, en comparación con la composición comercialmente disponible para la administración diaria. Además el resultado de la observación de la autopsia no reveló ninguna toxicidad debida a la composición de la presente invención.

Ensayo 4: prueba farmacocinética de la composición que contiene exenatida

15 Se comprobaron las propiedades farmacocinéticas de las composiciones que contenían exenatida, preparadas en los ejemplos 11 a 13.

Se adquirieron ratas S.D. (de 190 ± 20 g y 5 a 6 semanas de edad) de los laboratorios Charles River (Orient, Corea) y se trataron en las mismas condiciones que en el ensayo 1.

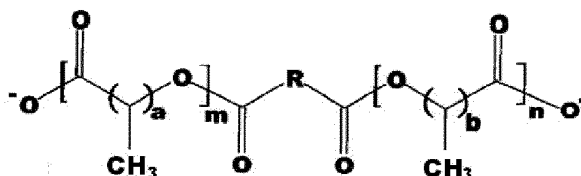
20 La composición del ejemplo 11 (400 mg/rata, 800 mg/rata) y las composiciones de los ejemplos 12 y 13 (400 mg/rata) se inyectaron por vía subcutánea a las ratas ($n = 6$) y después se recogió sangre a intervalos regulares y se cuantificó su nivel de exenatida mediante un kit de inmunoensayo enzimático (EK-070-94, Phoenix Pharmaceuticals, Inc.). Los resultados de la cuantificación se representan en la figura 7. Tal como muestra la figura 7, la composición que contiene exenatida de acuerdo con la presente invención mantuvo durante una semana un nivel en la sangre igual a 0,1 ng/ml o mayor, con una sola administración. Además el resultado de la observación de la autopsia no reveló ninguna toxicidad debida a la composición de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un complejo de un polímero iónico de la siguiente fórmula química 5, el cual tiene un peso molecular medio numérico no superior a 7.000 daltons, con un ion metálico multivalente:

5

[Fórmula química 5]



10 donde

m y n son independientemente un número entero de 0 hasta 95, con la condición de que $5 < m + n < 100$,
a y b son independientemente 1,

15 R es $-(CH_2)_k-$ sustituido o no, donde k es un número entero de 0 a 10, un radical alquenoilo divalente de 2 hasta 10 átomos de carbono, un radical arilo divalente de 6 hasta 20 átomos de carbono, o una combinación de ellos.

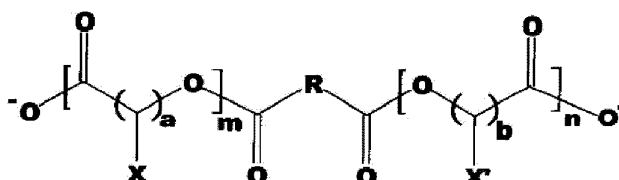
2. El complejo según la reivindicación 1, en el cual dicho ion metálico multivalente es un ion multivalente de un metal elegido del grupo formado por cinc, calcio, magnesio y hierro.

20 3. Una composición de liberación continua de micropartículas de fármaco proteico, polipeptídico o peptídico que comprende:

i) una proteína, un polipéptido o un péptido como ingrediente activo, y

25 ii) un complejo de un polímero iónico de la siguiente fórmula química 6, el cual tiene un peso molecular medio numérico no superior a 7.000 daltons, con un ion metálico multivalente, como vehículo de liberación del fármaco:

[Fórmula química 6]



30

donde

X y X' son independientemente hidrogeno, alquilo o arilo,

35 m y n son independientemente un número entero de 0 hasta 95, con la condición de que $5 < m + n < 100$,

a y b son independientemente 1,

R es $-(CH_2)_k-$ sustituido o no, donde k es un número entero de 0 a 10, un radical alquenoilo divalente de 2 hasta 10 átomos de carbono, un radical arilo divalente de 6 hasta 20 átomos de carbono, o una combinación de ellos;

donde dicho ingrediente activo está atrapado en el complejo.

40

4. La composición de liberación continua de micropartículas según la reivindicación 3, la cual contiene dicho ingrediente activo en una proporción del 0,01 hasta el 60% en peso respecto al peso seco de la composición.

45 5. La composición de liberación continua de micropartículas según la reivindicación 3, la cual contiene dicho vehículo de liberación del fármaco en una proporción del 39,9 hasta el 99,9% en peso respecto al peso seco de la composición.

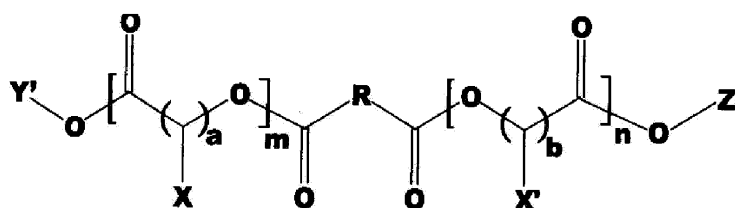
50 6. La composición de liberación continua de micropartículas según la reivindicación 3, donde dicho ingrediente activo es hormona del crecimiento, eritropoyetina, anticuerpos monoclonales, factores estimulante de colonias de granulocitos, factores estimulantes de colonias de macrófagos, factores estimulantes de colonias de granulocitos y macrófagos, trombopoyetina, factores de crecimiento similares a insulina, factores de crecimiento epitelial, factores de crecimiento derivados de plaquetas, factores de crecimiento fibroblásticos, factores de crecimiento transformante, interferones, interleucinas, factores de necrosis tumoral, estreptocinasa, urocinasa, estafilocinasa, ADNasas, glucocerebrosidasa, alfa galactosidasa, exenatida, octreotida, insulina, glucagón, hormona liberadora de la hormona

luteinizante, goserelina, leuprorelina, factor estimulante de folículos, hormona estimulante de la tiroides, fertirelina, calcitonina, factor liberador de corticotropina, péptido natriurético cerebral, timopentina, corticotropina, elcatonina, beta amiloide, triptorelina, buserelina, timosinas, somatostatina, alarelina, angiotensina, argipresina, atosibán, bivalirudina, cetorelix, deslorelina, desmopresina, elcatonina, enfuvirtida, eptifibatida, GLP-1, gonadorelina, lipresina, nafarelina, nesiritida, oxitocina, pramlintida, secretina, teriparatida, terlipresina, tetracosactida, vapreotida y mezclas de ellos.

7. Un método de preparación de una composición de liberación continua de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos, que comprende las etapas de:

a) preparar una solución acuosa que contenga i) una proteína, un polipéptido o un péptido como ingrediente activo y ii) el compuesto derivado de ácido poliláctico de la siguiente fórmula química 2, cuyo peso molecular medio numérico no es superior a 7.000 daltons:

[Fórmula química 2]



donde

X y X' son independientemente hidrógeno, alquilo o arilo,

Y y Z' son independientemente un metal alcalino,

m y n son independientemente un número entero de 0 hasta 95, con la condición de que $5 < m + n < 100$,

a y b son independientemente 1,

R es $-(CH_2)_k-$ sustituido o no, donde k es un número entero de 0 a 10, un radical alqueno divalente de 2 hasta 10 átomos de carbono, un radical arilo divalente de 6 hasta 20 átomos de carbono, o una combinación de ellos; y

b) incorporar gota a gota la solución acuosa de la anterior etapa a) a una solución acuosa que contenga un ion metálico multivalente para obtener un precipitado.

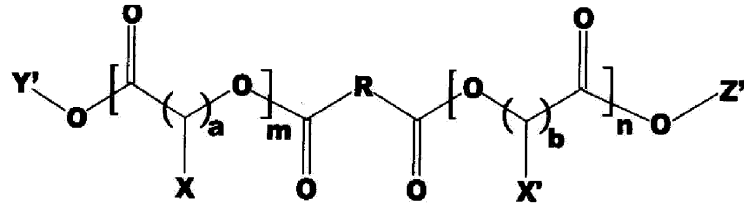
8. El método de preparación de una composición de liberación continua de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos según la reivindicación 7, donde dicho ingrediente activo es hormona del crecimiento, eritropoyetina, anticuerpos monoclonales, factores estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, factores estimulantes de colonias de macrófagos, factores de crecimiento similares a insulina, factores de crecimiento epitelial, factores de crecimiento derivados de plaquetas, factores de crecimiento fibroblásticos, factores de crecimiento transformante, interferones, interleucinas, factores de necrosis tumoral, estreptocinasa, urocinasa, estafilocinasa, ADNasas, glucocerebrosidasa, alfa galactosidasa, exenatida, octreotida, insulina, glucagón, hormona liberadora de la hormona luteinizante, goserelina, leuprorelina, factor estimulante de folículos, hormona estimulante de la tiroides, fertirelina, calcitonina, factor liberador de corticotropina, péptido natriurético cerebral, timopentina, corticotropina, elcatonina, beta amiloide, triptorelina, buserelina, timosinas, somatostatina, alarelina, angiotensina, argipresina, atosibán, bivalirudina, cetorelix, deslorelina, desmopresina, elcatonina, enfuvirtida, eptifibatida, GLP-1, gonadorelina, lipresina, nafarelina, nesiritida, oxitocina, pramlintida, secretina, teriparatida, terlipresina, tetracosactida, vapreotida y mezclas de ellos.

9. El método de preparación de una composición de liberación continua de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos según la reivindicación 7, en la cual dicho ion metálico multivalente es un ion multivalente de un metal elegido del grupo formado por cinc, calcio, magnesio y hierro.

10. El método de preparación de una composición de liberación continua de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos según la reivindicación 7, en cuya dicha etapa a) la solución acuosa se prepara:

disolviendo el ingrediente activo y un compuesto derivado de ácido poliláctico de la siguiente fórmula química 2 en agua:

[Fórmula química 2]



5 donde en la anterior fórmula química 2

X y X' son independientemente hidrógeno, alquilo o arilo,

Y y Z' son independientemente un metal alcalino,

m y n son independientemente un número entero de 0 hasta 95, con la condición de que $5 < m + n < 100$,

10 a y b son independientemente 1,

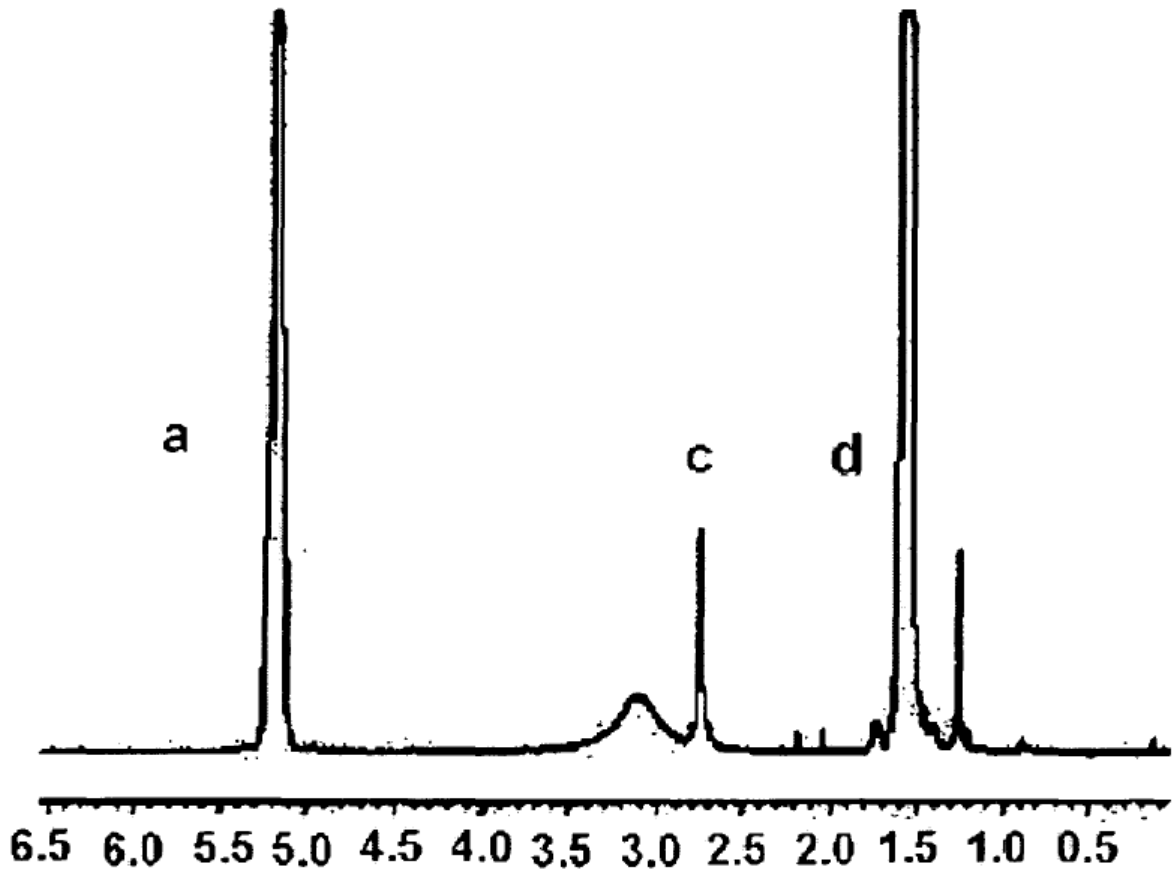
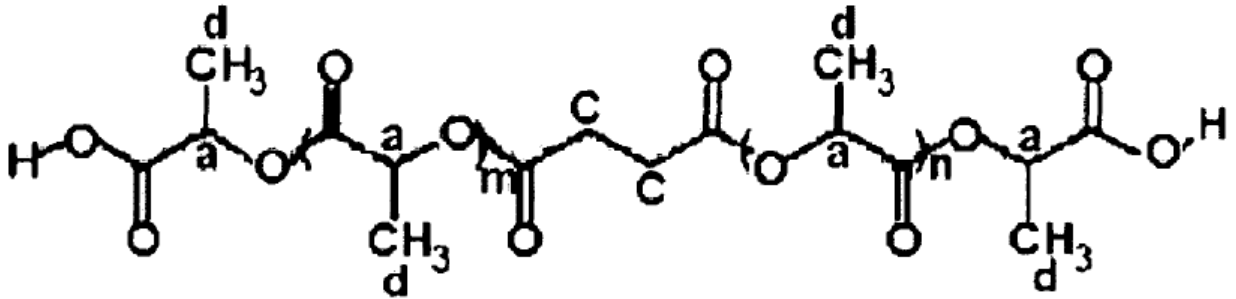
R es $-(CH_2)_k-$ sustituido o no, donde k es un número entero de 0 a 10, un radical alquenilo divalente de 2 hasta 10 átomos de carbono, un radical arilo divalente de 6 hasta 20 átomos de carbono, o una combinación de ellos; o disolviendo un derivado de ácido poliláctico dotado de grupos ácido carboxílico a ambos extremos y una solución acuosa de sal de metal alcalino en agua, para preparar el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2, y añadiéndole después el ingrediente activo; o

15 disolviendo un compuesto derivado de ácido poliláctico dotado de grupos ácido carboxílico a ambos extremos y el ingrediente activo en agua y añadiéndole después una solución acuosa de sal de metal alcalino, para preparar la solución acuosa que lleva el compuesto derivado de ácido poliláctico de la fórmula química 2 y el ingrediente activo.

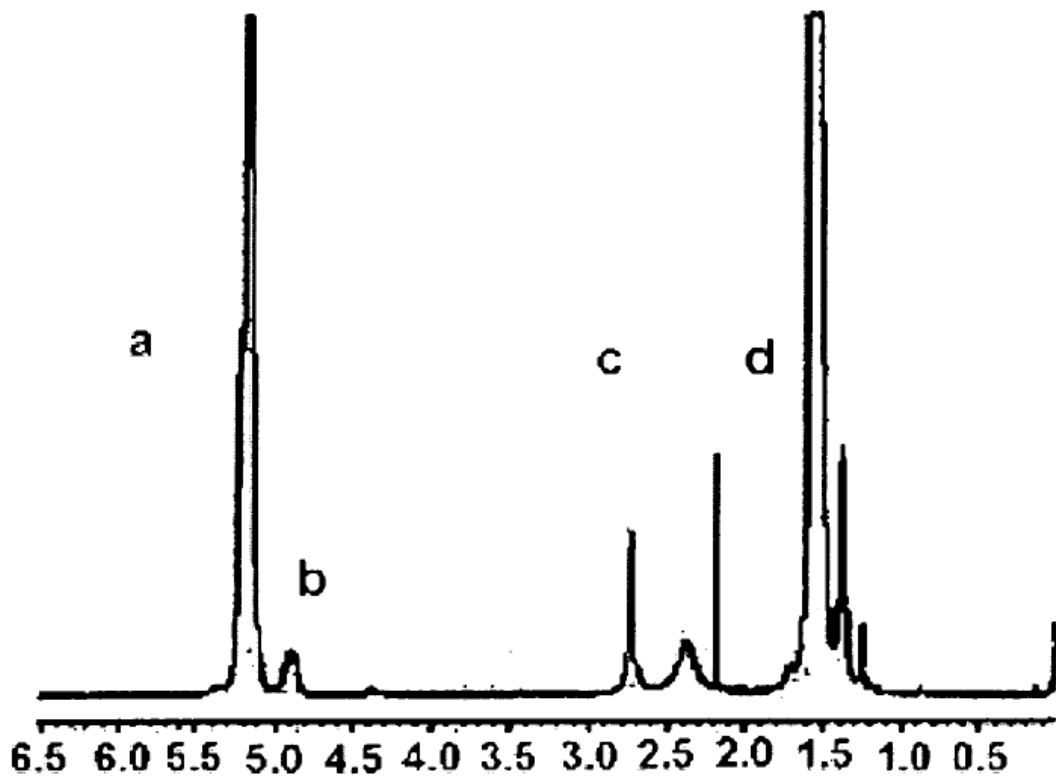
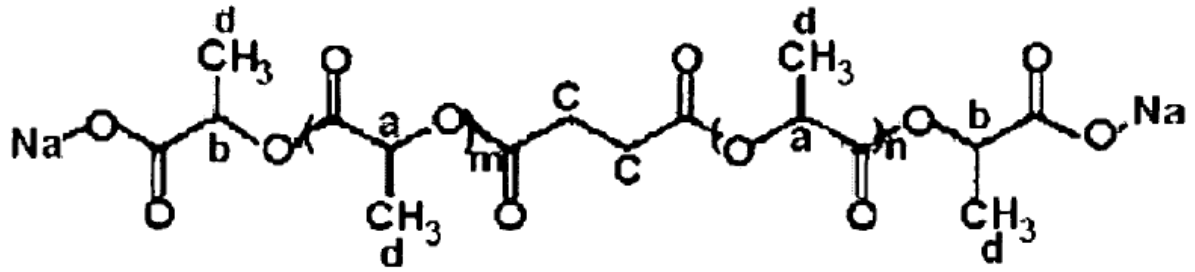
20 11. El método de preparación de una composición de liberación continua de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos según la reivindicación 7, que además comprende tras la etapa b) la etapa c) de centrifugar el precipitado obtenido en la etapa b) y lavar luego el precipitado con agua.

25 12. El método de preparación de una composición de liberación continua de fármacos proteicos, polipeptídicos o peptídicos según la reivindicación 7, que además comprende tras la etapa c) la etapa d) de liofilizar el precipitado separado en la etapa c).

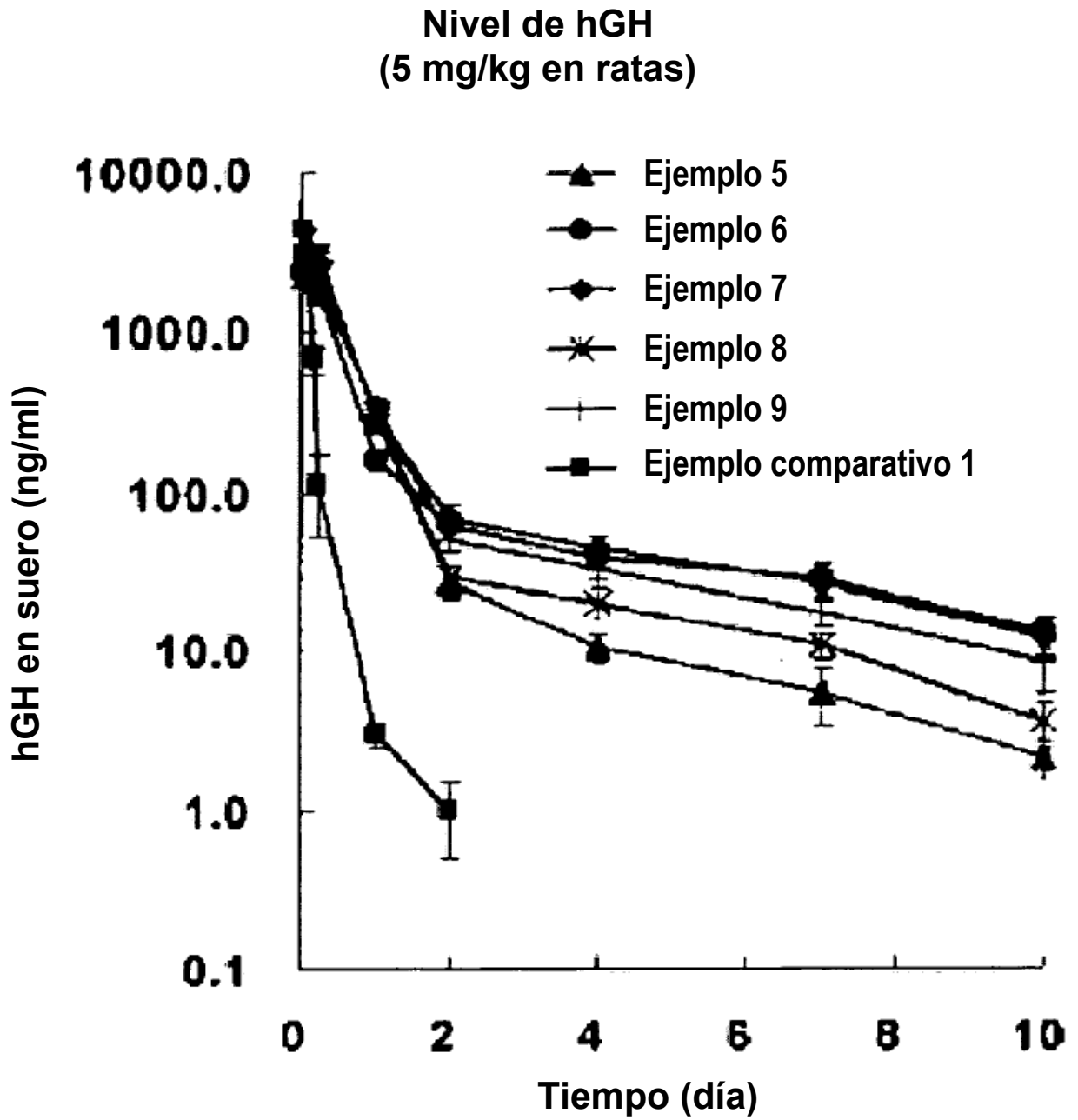
[Figura 1]



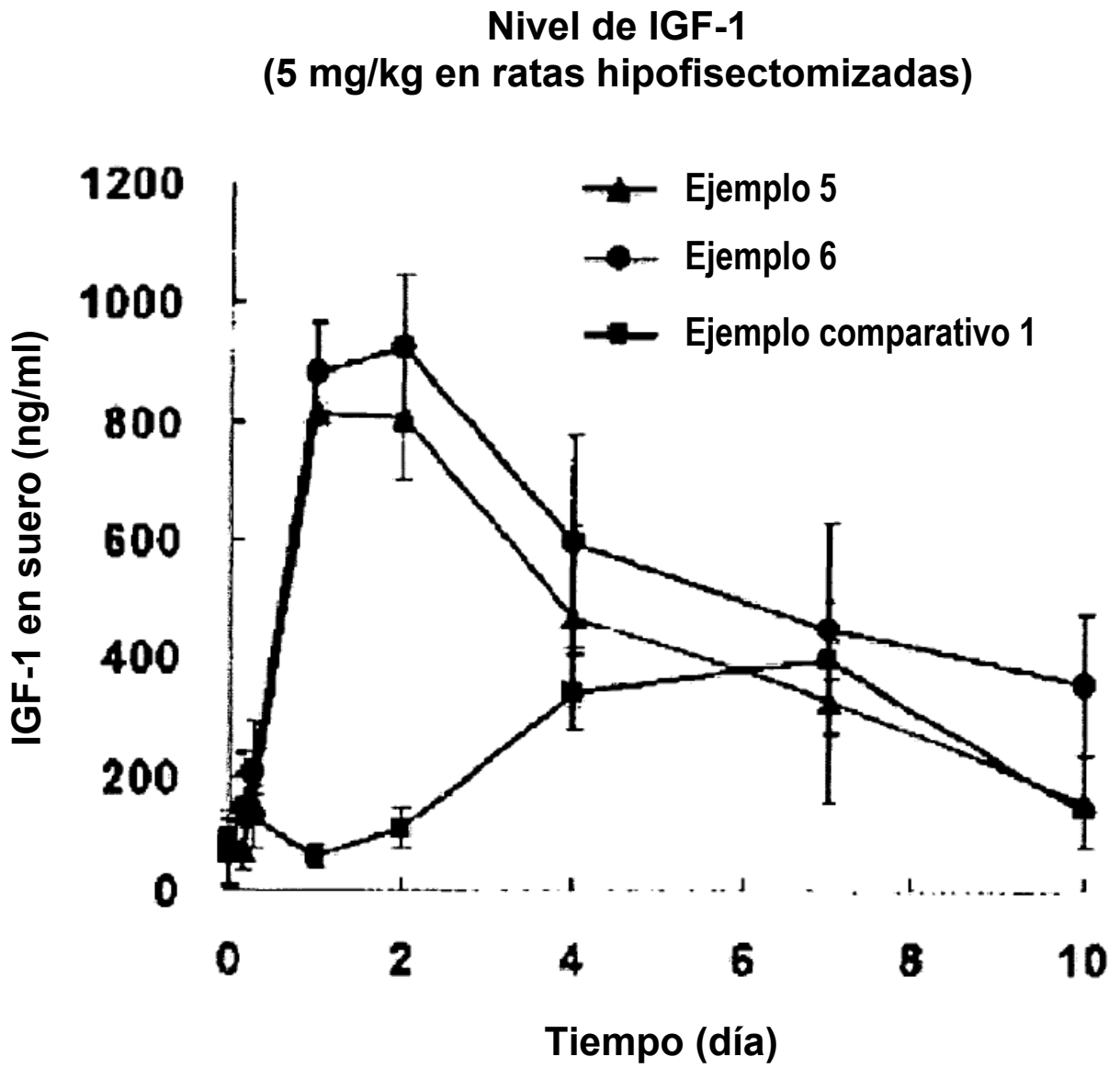
[Figura 2]



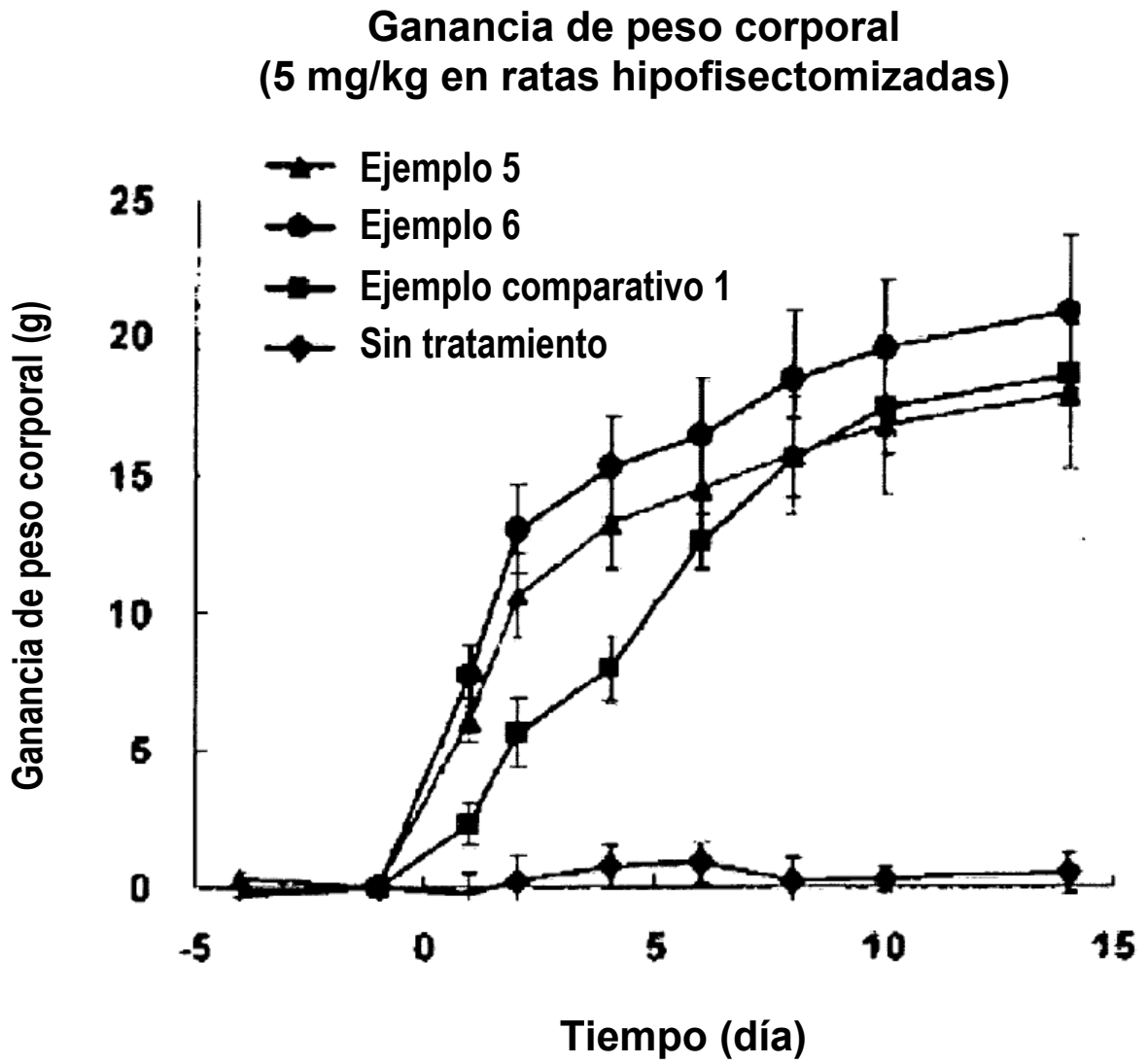
[Figura 3]



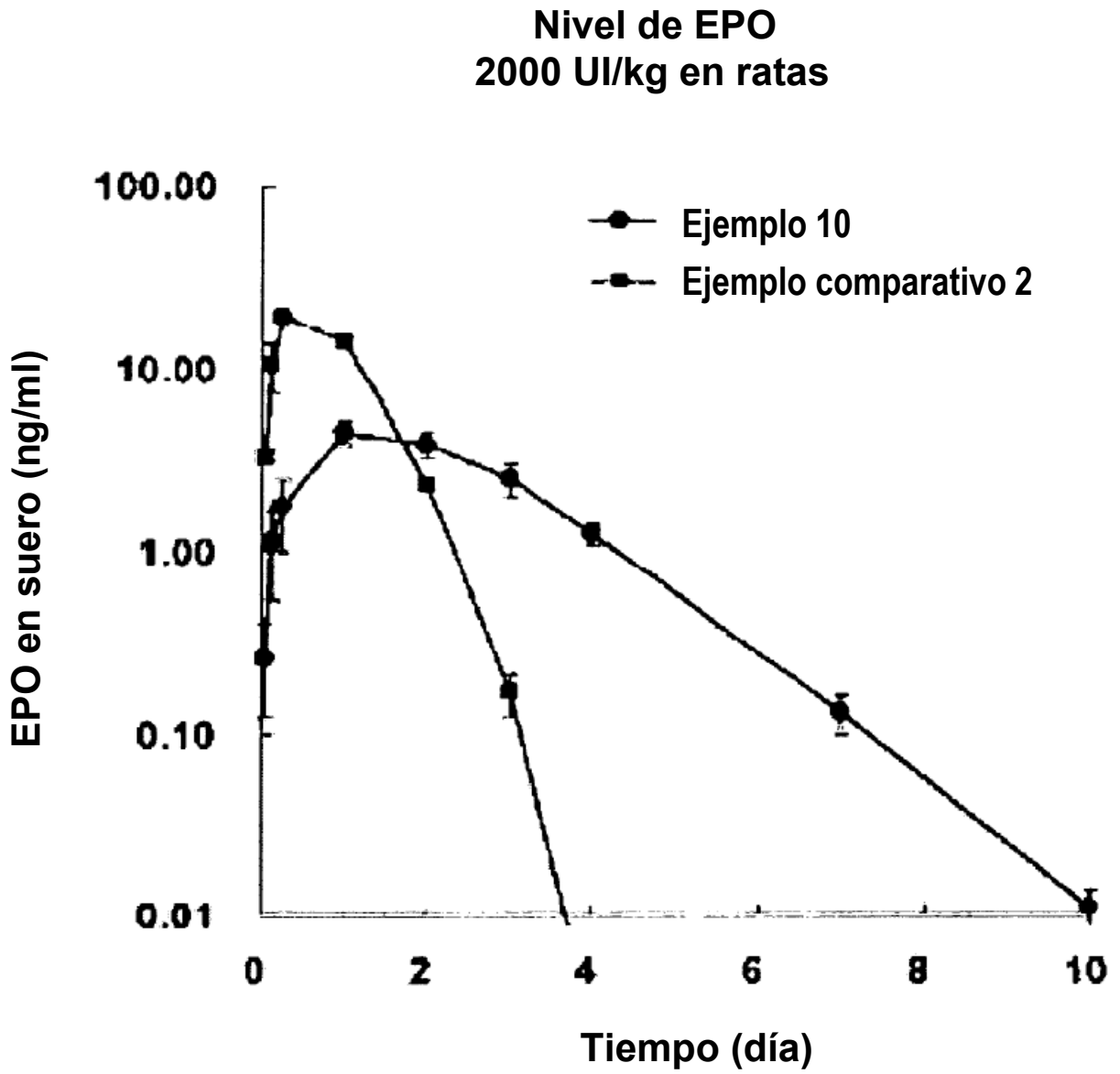
[Figura 4]



[Figura 5]



[Figura 6]



[Figura 7]

