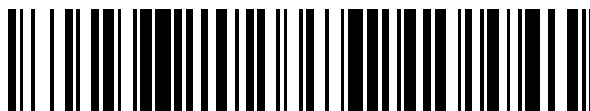


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 640 363**

51 Int. Cl.:

A61K 31/136 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 47/40 (2006.01)

A61K 38/38 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.11.2013 PCT/KR2013/010419**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.05.2014 WO14077629**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2013 E 13854991 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2017 EP 2921166**

54 Título: **Microgránulos biodegradables con capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos, que contienen albúmina y sulfato de dextrano, y método para su preparación**

30 Prioridad:

15.11.2012 KR 20120129722

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.11.2017

73 Titular/es:

**UTAH-INHA DDS & ADVANCED THERAPEUTICS
RESEARCH CENTER (100.0%)
4 FI, BRC Research Institute 9, Songdomirae-ro
Yeonsu-gu, Incheon 406-840, KR**

72 Inventor/es:

**KIM, SE YOON;
LEE, DON HAENG y
LI, YIXIAN**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 640 363 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

Microgránulos biodegradables con capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos, que contienen albúmina y sulfato de dextrano, y método para su preparación

5

Campo técnico

La presente invención se refiere a microgránulos biodegradables con una capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos, y un método para su preparación, y un método para el tratar el cáncer mediante su uso.

10

Antecedentes de la técnica

El reciente desarrollo de tecnologías de formación de imágenes puede localizar un cáncer que se oculta en el cuerpo y, por tanto, el cáncer ser eliminado mediante diversos métodos como irradiación de radiaciones y operación por endoscopia. Sin embargo, incluso aunque se encuentre la localización exacta de los cánceres, la exclusión quirúrgica de los cánceres es imposible debido a varias razones, como la extensión del cáncer fuera todo el conjunto de órganos o la anexión a otro órgano. El cáncer de hígado, el cáncer de páncreas o similares, incluso aunque sean detectados, no pueden ser radicalmente curados a través de una operación quirúrgica.

15

Actualmente, la quimioembolización transarterial (TACE), que se hace lo más habitualmente en el tratamiento de un tumor de hígado, es un tratamiento en el que un fármaco anticancerígeno es administrado a la arteria que suministra nutrición al tumor del hígado, y seguidamente el vaso sanguíneo es bloqueado. Los tejidos del hígado reciben oxígeno y nutrientes a través de la vena portal que gira alrededor del intestino delgado y el intestino grueso, y la arteria hepática, que sale directamente de la arteria principal.

20

25

Los tejidos vivos normales reciben sangre principalmente de la vena portal y los tejidos tumorales reciben sangre principalmente de la arteria hepática. Por lo tanto, en los casos en que es administrado un fármaco anticancerígeno a la arteria hepática, que suministra nutrición al tumor, y seguidamente la vena sanguínea es bloqueada, solamente el tumor puede ser selectivamente necrotizado sin dañar los tejidos de hígado normales. Este tratamiento tiene muchas ventajas, como no tener restricciones según el progreso del cáncer y, por tanto, tener una amplia gama de aplicaciones y tener pocas limitaciones en los objetos del tratamiento y, por tanto, actualmente constituye una gran contribución a la mejora en la tasa de curación del cáncer de hígado. En cuanto a la quimioembolización, se inserta en primer lugar un catéter en la arteria femoral en la ingle y se aproxima a la arteria hepática y seguidamente se inyecta un medio de contraste vascular para obtener la información necesaria para el tratamiento, como las posiciones, tamaños y aspectos de suministro de sangre a los tumores. Cuando está decidido el protocolo de tratamiento, se inserta un tubo fino con un grosor de aproximadamente 1 mm en el catéter y seguidamente se encuentra la arteria que va a ser dirigida a diana, seguido de una operación quirúrgica.

30

35

Actualmente, de forma representativa, la embolización hepática usando lipiodol ha sido clínicamente aplicada lo más frecuentemente y se ha informado también de un número significativo de tecnologías de patentes usando la embolización hepática. El lipiodol contiene mucho yodo como elemento constituyente y, por tanto, permite la formación de imágenes CT proporcionando así un procedimiento quirúrgico conveniente. Sin embargo, con el fin de introducir doxorubicina, una inyección en la que un fármaco está disuelto necesita ser agitada y mezclada con lipiodol aceitoso inmediatamente antes de la operación quirúrgica. Además, se ha informado clínicamente que después de la operación quirúrgica, la doxorubicina disuelta en fase acuosa no se acumula en el sitio del cáncer de hígado, sino que escapa inmediatamente en la sangre corporal, no consiguiendo así la obtención de un efecto anticancerígeno suficiente y provocando un efecto secundario considerable en los pacientes.

40

45

La patente de EE.UU. nº 7.442.385 describe un método en el que, después de que se reticula poli(alcohol vinílico) (PVA) para preparar partículas de tamaño micrométrico, la doxorubicina como fármaco anticancerígeno es adsorbida sobre las superficies de los gránulos a través de una atracción eléctrica y seguidamente es transferida al sitio del cáncer de hígado, consiguiendo así una liberación sostenida del fármaco anticancerígeno así como un efecto de embolización. Para conseguir esto, durante un procedimiento de reticulación de poli(alcohol vinílico), el ácido 2-acrilamido-2-metilpropano-sulfónico (AMPS), que es un monómero aniónico, se une covalentemente al extremo de la reticulación para modificar el polímero, permitiendo así que el polímero adsorba un fármaco aniónico, como la doxorubicina. Sin embargo, según la embolización hepática usando poli(alcohol vinílico), el PVA reticulado no se degrada en el cuerpo y, por tanto, después de la necrotización del tumor de hígado, los gránulos de PVA estaban irregularmente difundidos en el cuerpo, provocando una inflamación o, de forma más desafortunada, los gránulos de PVA pasan al vaso sanguíneo y se extienden a otro órgano, provocando una enfermedad cerebrovascular. Por tanto, se requiere un sistema de suministro de fármaco capaz de conseguir una función como portador de fármacos anticancerígenos, así como una función de embolización vascular para resolver los problemas que anteceden. El documento WO 95/13798 A1 y la publicación de CHEN, Y. ET AL. ("SYNTHESIS OF ALBUMIN-DEXTRAN SULFATE MICROSPHERES POSSESSING FAVOURABLE LOADING AND RELEASE CHARACTERISTICS FOR THE ANTICANCER DRUG DOXORUBICIN", JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, vol. 31, nº. 1, agosto de 1994 (1994-08), páginas 49-54, DOI: 10,1016/0168-3659(94)90250-X) describen microgránulos que comprenden dextrano y albúmina químicamente reticulada. Además, cuando se preparan los microgránulos su usa normalmente

50

55

60

65

un agente reticulante químico como glutaraldehído. En los casos en que la reticulación se realice usando glutaraldehído, el flujo de entrada de glutaraldehído en el cuerpo provoca el riesgo de fibrosis de tejidos y, por tanto, es necesario neutralizar completamente el glutaraldehído residual usando hidrógeno-sulfito de sodio al 5% y seguidamente se lava con agua destilada varias veces. Por lo tanto, debido al procedimiento de supresión de glutaraldehído, el procedimiento de preparación de microgránulos usando glutaraldehído es complejo y costoso y el fármaco anticancerígeno adsorbido sobre los gránulos, así como el glutaraldehído, es también suprimido, rebajando así finalmente la velocidad de adsorción del fármaco anticancerígeno.

En toda esta solicitud, se proporcionan diversas patentes y publicaciones como referencias y citaciones entre paréntesis. La descripción de estas patentes y publicaciones y sus autores se incorporan como referencias a la presente memoria descriptiva en esta solicitud con el fin de describir más en detalle esta invención y el estado de la técnica al que se refiere esta invención.

Descripción detallada de la invención

Problema técnico

Los presentes inventores se han esforzado en desarrollar un método para preparar microgránulos, capaz de resolver el problema de los microgránulos existentes para que el tratamiento local de un cáncer no se degrade en el cuerpo permitiendo que se adsorban grandes cantidades de un fármaco anticancerígeno sobre microgránulos y simplificando el procedimiento de preparación para mejorar la eficacia económica. Como resultado, se usó albúmina como un material polímero para formar una estructura de un gránulo, y se prepararon microgránulos de forma que el sulfato de dextrano, que es un polímero aniónico, fuera incluido en el producto reticulado de albúmina con el fin de permitir que un fármaco anticancerígeno se adsorba sobre las superficies de los gránulos, y de este modo se completó la presente invención. Además, como consecuencia de la preparación de microgránulos en la que la albúmina fue térmicamente reticulada y seguidamente se comprobó la capacidad de adsorción del fármaco anticancerígeno de los microgránulos, se confirmó que la capacidad de adsorción de los fármacos anticancerígenos de los presentes microgránulos era considerablemente superior a la de los gránulos preparados usando glutaraldehído como agente reticulante y, por tanto, se completó así la presente invención.

Por lo tanto, un aspecto de la presente invención es proporcionar microgránulos biodegradables con una capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos.

Otro aspecto de la presente invención es proporcionar un método para preparar microgránulos biodegradables con una capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos.

Todavía, otro aspecto de la presente invención es proporcionar microgránulos para tratar cáncer.

Otros objetos y ventajas de la presente invención resultarán evidentes a partir de la descripción detallada que sigue, tomada conjuntamente con las reivindicaciones anejas y los dibujos.

Solución técnica

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporcionan microgránulos biodegradables con una capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos, incluyendo el microgránulo:

(i) albúmina que es reticulada mediante reticulación térmica para formar la estructura de un gránulo; y

(ii) sulfato de dextrano, como un polímero aniónico, incluido en el producto reticulado de albúmina.

Los presentes inventores se han esforzado en desarrollar un método para preparar microgránulos, capaz de resolver el problema en cuanto que los microgránulos existentes para un tratamiento local de cáncer no se degradan en el cuerpo, permitiendo que grandes cantidades de un fármaco anticancerígeno se adsorban en los microgránulos, y simplificando el procedimiento de preparación para mejorar la eficacia económica. Como resultado, se usó albúmina como un material polímero para formar una estructura de un gránulo y los microgránulos se prepararon de forma que se incluyera sulfato de dextrano, que es un polímero aniónico, en un producto reticulado de albúmina con el fin de permitir que un fármaco anticancerígeno se adsorba en las superficies de los gránulos. Además, como resultado de preparar microgránulos en los que la albúmina fue térmicamente reticulada y verificando seguidamente la capacidad de adsorción de los fármacos anticancerígenos de los microgránulos, se confirmó que la capacidad de adsorción de fármacos anticancerígenos de los presentes microgránulos era considerablemente superior a la de los gránulos preparados usando glutaraldehído como agente reticulante.

Según una realización de la presente invención, los microgránulos comprenden adicionalmente un fármaco anticancerígeno adsorbido sobre una superficie del gránulo mediante una atracción electrostática con el polímero aniónico.

En una realización específica, el fármaco anticancerígeno es un fármaco anticancerígeno basado en antraciclina. Ejemplos del fármaco anticancerígeno basado en antraciclina son doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina, gemcitabina, mitoxantrona, pararubicina, y valrubicina.

5 En otra realización específica, el fármaco anticancerígeno es irinotecano.

Según una realización de la presente invención, los microgránulos de la presente invención son microgránulos para ser usados en una quimioembolización para el tratamiento de un cáncer sólido.

10 En una realización específica, los microgránulos de la presente invención son gránulos para la quimioembolización de cáncer de hígado (embolización de arterias hepáticas). En cuanto al cáncer sólido al que es aplicable la embolización, aparte del tratamiento del cáncer de hígado, el carcinoma rectal puede ser tratado a través de la arteria rectal (K. Tsuchiya, Urology, 55(4):495-500 (2000)).

15 Los microgránulos de la presente invención incluyen, como elementos constitutivos de los mismos, albúmina y sulfato de dextrano. La albúmina es térmicamente reticulada para actuar como un soporte para formar y mantener la estructura de un microgránulo. El sulfato de dextrano, que es un polímero aniónico, es incluido en la albúmina reticulada para permitir que el fármaco anticancerígeno se adsorba sobre la superficie de los gránulos. La albúmina y el sulfato de dextrano, que son ambos materiales polímeros biocompatibles, se pueden degradar en el cuerpo y, por tanto, pueden resolver los problemas provocados por la no degradación de gránulos convencionales usando poli(alcohol vinílico) en el cuerpo, por ejemplo, el poli(alcohol vinílico) está irregularmente difundido, provocando una inflamación, o pasa a los vasos sanguíneos y se extiende en otro órgano, provocando una enfermedad cerebrovascular.

20 Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "biodegradable" se refiere a que es capaz de degradarse cuando es expuesto a una solución fisiológica y, por ejemplo, se refiere a que es capaz de degradarse por el fluido corporal o microorganismos en las estructuras vivas de mamíferos, incluido un ser humano.

30 Según una realización de la presente invención, la albúmina es una proteína que está ampliamente distribuida en el fluido corporal e incluye albúminas animales y albúminas vegetales.

En una realización específica, la albúmina animal incluye ovalbúmina, albúmina de suero, lactalbúmina y miogen y las albúminas vegetales incluyen leucosina (semillas de cebada), legumelina (guisantes) y lisina (semillas de ricino). La albúmina incluye variantes de albúmina.

35 Según una realización de la presente invención, la reticulación de la albúmina se realiza mediante reticulación térmica. Como se comprueba en los siguientes ejemplos, los microgránulos, en los que albúmina estaba reticulada, tenían una capacidad de adsorción superior de fármacos anticancerígenos a los gránulos preparados usando glutaraldehído como agente reticulante; tenían una excelente compatibilidad con el cuerpo debido a la ausencia de uso de un agente reticulante que pueda ser perjudicial para el cuerpo; y tenía ventajas económicas debido a la omisión de una etapa de separación del agente reticulante (véanse las Tablas 2 a 4). La reticulación de albúminas se puede realizar mediante un agente reticulante de aldehído. El agente reticulante basado en aldehído se puede seleccionar entre el grupo que consiste en glutaraldehído, formaldehído, almidón de dialdehído, aldehído de succinato, acril-aldehído, oxalaldehído, 2-metilacrilaldehído y 2-oxopropanal.

45 Según una realización de la presente invención, la capacidad de adsorción de fármacos anticancerígenos de los microgránulos de la presente invención es de 10-100 mg por 1 ml de microgránulos. La capacidad de adsorción de fármacos anticancerígenos de los microgránulos de la presente invención es de 20-60 mg por 1 ml de microgránulos para una realización específica, 20-55 mg por 1 ml de microgránulos para otra realización específica y 20-50 mg para 1 ml de microgránulos para todavía otra realización específica.

50 Según una realización de la presente invención, la capacidad de adsorción de fármacos anticancerígenos de los microgránulos de la presente invención se mejora en 20-45% de la cantidad de fármaco anticancerígeno adsorbido sobre los microgránulos preparados en las mismas condiciones, con la excepción de que se usa un agente reticulante de glutaraldehído en lugar de la reticulación térmica. La capacidad de adsorción de fármacos anticancerígenos de los microgránulos de la presente invención es mejorada en 21-43% para una realización específica, 22-42% para otra realización específica y 23-41% para todavía otro ejemplo específico.

55 Según una realización de la presente invención, los microgránulos de la presente invención exhiben una propiedad de liberación sostenida. Los siguientes ejemplos verificaron que la doxorubicina se liberaba lentamente desde los microgránulos de la presente invención durante un mes (véase la figura 7).

Los microgránulos de la presente invención pueden ser preparados en un vial junto con una solución (tipo de microgránulo húmedo) y pueden selectivamente pulverizados para su uso (tipo de microgránulo seco).

65 De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona un método para preparar microgránulos biodegradables

con una capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos, incluyendo el método:

(a) emulsionar una solución para preparar gránulos, en la que se disuelven albúmina y sulfato de dextrano como un polímero aniónico, para formar burbujas de tamaño micrométrico; y

(b) reticular térmicamente las burbujas de tamaño micrométrico en la etapa (a) para formar microgránulos en los que la albúmina es reticulada y se incluye sulfato de dextrano en el producto reticulado de albúmina.

Según una realización de la presente invención, el método de la presente invención puede incluir además, después de la etapa (b), (c) poner los microgránulos de la etapa (b) en contacto con un agente anticancerígeno para permitir que el fármaco anticancerígeno se adsorba sobre las superficies de los microgránulos mediante una atracción electrostática del sulfato de dextrano de los microgránulos.

Según una realización de la presente invención, la relación en la composición de albúmina y sulfato de dextrano en la solución para preparar gránulos en la etapa (a) es de 15-50:10% (p/v). En los casos en que la cantidad de albúmina sea significativamente más pequeña que la de sulfato de dextrano en la solución para preparar gránulos, no se forman gránulos fuertemente. En los casos en que la cantidad de sulfato de dextrano sea significativamente más pequeña que la de albúmina, se deteriora la capacidad de adsorción de fármacos anticancerígenos.

La relación de composición de albúmina y sulfato de dextrano en la solución para preparar gránulos en la etapa (a) es de 15-45:10% (p/v) para una realización específica, 15-40:10% (p/v) para otra realización específica, 15-35:10% (p/v), 5-30:10% (p/v) para todavía otra realización específica, 20-45:10% (p/v) para todavía otra realización específica, 20-40:10% (p/v) para todavía otra realización específica, 20-35:10% (p/v) para todavía otra realización específica y 20-30:10% (p/v) para todavía otra realización específica.

Según una realización de la presente invención, el emulsionamiento de la solución para preparar gránulos en la etapa (a) se realiza usando un disolvente orgánico que contiene un aceite natural o un agente de aumento de la viscosidad. Ejemplos de un aceite natural utilizable pueden ser aceite MCT, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de albaricoque, aceite de aguacate, aceite de calabaza, aceite de manzanilla, aceite de manteca de cacao, aceite de coco, aceite de hígado de bacalao, aceite de café, aceite de pescado, aceite de linaza, aceite de jojoba, aceite de calabaza, aceite de semilla de uva, aceite de avellana, aceite de lavanda, aceite de limón, aceite de semilla de mango, aceite de naranja, aceite de oliva, aceite de visón, aceite de palma, aceite de romero, aceite de sésamo, manteca de karité, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de nueces y similares.

Ejemplos del disolvente orgánico utilizable pueden ser acetona, etanol, acetato de butilo y similares. El disolvente orgánico puede incluir un agente de aumento de la viscosidad para proporcionar la viscosidad apropiada. Ejemplos del agente de aumento de la viscosidad pueden ser polímeros basados en celulosa, como hidroximetil-celulosa, hidroxipropil-metil-celulosa y acetato-butilato de celulosa. Preferentemente, el disolvente orgánico que contiene el agente para aumentar la viscosidad es acetato de butilo que contiene acetato-butilato de celulosa.

Según una realización de la presente invención, las burbujas de tamaño micrométrico en la etapa (a) se pueden formar usando un sistema microfluído o un encapsulador. El sistema microfluído es un método en el que los gránulos se preparan usando un chip microestructurado. Después de que se coloca un tubo más pequeño dentro de un tubo más grande, se permite que fluyan una fase acuosa y una fase aceitosa a través de los tubos en direcciones opuestas, formando así gránulos por la tensión de los mismos. Es decir, cuando la solución para preparar los gránulos en forma de un fluido interno y el aceite natural o disolvente orgánico (solución de recogida) en forma de un fluido externo se dejan fluir, se forman los gránulos por tensión. Los gránulos se recogen en la solución de recogida y seguidamente se preparan los gránulos a través de una reacción de reticulación térmica.

La encapsulación es similar al electrohilado, y se caracteriza porque un campo eléctrico, que se forma entre una boquilla y una solución de recogida, finalmente divide gotas de agua generadas por tensión, dispersando así gotitas de tamaño muy pequeño. La solución para preparar los gránulos se transfiere a una jeringa correspondiente a su volumen y la jeringa se dispone en una bomba de jeringa y seguidamente se conecta a un encapsulador. Además, la solución de recogida se transfiere a un plato correspondiente a su volumen y seguidamente se coloca en un agitador. El entorno del encapsulador se ajusta apropiadamente y seguidamente la solución para preparar gránulos se pulveriza a la solución de recogida para formar burbujas. Preferentemente, las condiciones del encapsulador son preferentemente de un caudal de 1-5 ml/minuto, energía eléctrica aplicada de 1.000-3.000 V, onda ultrasónica de 2.000-6.000 Hz y número de revoluciones de 1.000 rpm. El tamaño de una boquilla de liberación se selecciona según el tamaño de los gránulos que van a ser preparados.

Según otra realización de la presente invención, las burbujas de tamaño micrométrico en la etapa (a) pueden ser preparadas mediante un método de emulsionamiento en el que una solución para preparar gránulos se mezcla con una solución de recogida y seguidamente la mezcla se agita a un número de revoluciones apropiado. En este caso, el tamaño de los gránulos depende del número de revoluciones y del tiempo de agitación. Cuando se forman burbujas de tamaño apropiado, la solución de recogida se calienta, formando así microgránulos a través de

reticulación térmica de albúmina.

Según una realización de la presente invención, la agitación continúa manteniendo una reacción de reticulación de albúmina hasta que se completa la reacción de reticulación de la albúmina y, tras completarse la reacción, los
5 gránulos se lavan varias veces usando una gran cantidad de acetona o etanol para lavar la solución de recogida.

Según una realización de la presente invención, en la etapa (b) de la presente invención, las burbujas de tamaño micrométrico obtenidas en la etapa (b) se calientan, con lo que la albúmina es térmicamente reticulada para formar una estructura de un microgránulo y se incluye sulfato de dextrano en el producto térmicamente reticulado de
10 albúmina.

Según una realización de la presente invención, la temperatura de reticulación es de 60-160 °C y el tiempo de reticulación es de 1 a 4 horas. En una realización específica, la temperatura de reticulación es de 80-160 °C y el tiempo de reticulación es de 1 a 4 horas.
15

Según una realización de la presente invención, en los casos en los que la albúmina es térmicamente reticulada, la cantidad de fármaco anticancerígeno adsorbido sobre los microgránulos es aumentado en 20-45% en comparación con los microgránulos preparados en las mismas condiciones, con la excepción de que se usa un agente reticulante de glutaraldehído en lugar de la reticulación térmica. La cantidad de fármaco anticancerígeno adsorbido sobre los
20 microgránulos es aumentada en 21-43% para una realización específica, 22-42% para otra realización específica y 23-41% para todavía otro ejemplo específico.

De acuerdo con todavía otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para tratar cáncer, incluyendo el método la administración a un paciente de microgránulos biodegradables con capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos, incluyendo los microgránulos albúmina que es reticulada para formar una estructura de un gránulos; sulfato de dextrano como un polímero aniónico, incluido en el producto reticulado de albúmina y un fármaco anticancerígeno adsorbido sobre una superficie de gránulo mediante una atracción electrostática con el polímero aniónico.
25

Según la presente invención, los microgránulos de la presente invención se administran a un paciente de cáncer, tratando así el cáncer a través de quimioembolización.
30

Según una realización de la presente invención, el paciente es un paciente de cáncer de hígado y los microgránulos son administrados a la arteria hepática del paciente.
35

Efectos ventajosos

Las características y ventajas de esta invención se resumen como sigue:

(i) La presente invención proporciona microgránulos biodegradables con capacidad de adsorción mejorada de fármacos anticancerígenos y un método para su preparación y un método para tratar el cáncer usando los mismos.
40

(ii) Los microgránulos de la presente invención son seguros para el cuerpo humano ya que los microgránulos se preparan en forma de un polímero biocompatible y biodegradable y pueden inhibir eficazmente el crecimiento de tumores bloqueando efectivamente el vaso sanguíneo que suministra nutrición al tumor de hígado y libera continuamente un fármaco anticancerígeno adsorbido sobre la superficie de los gránulos.
45

(iii) La presente invención puede preparar microgránulos a través de reticulación térmica. Los microgránulos tienen una capacidad de adsorción superior de fármacos anticancerígenos en comparación con los microgránulos preparados usando un agente reticulante químico, tienen una excelente compatibilidad corporal debido al no uso de un agente reticulante, que puede ser perjudicial para el cuerpo y tienen ventajas económicas debido a la omisión de una etapa de separación del agente reticulante.
50

(iv) Por lo tanto, la presente invención puede ser favorablemente utilizada para la quimioembolización del cáncer de hígado.
55

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una vista esquemática de un sistema microfluído autofabricado.
60

La figura 2 muestra imágenes de microgránulos preparados mediante el sistema microfluído según la relación de composición 1.

La figura 3 muestra imágenes de gránulos preparados mediante un encapsulador según la relación de composición 1.
65

La figura 4 muestra imágenes de gránulos preparados mediante un método de emulsiónamiento según la relación de composición 1.

5 La figura 5 es una vista en sección transversal de un gránulo de albúmina/sulfato de dextrano adsorbido en doxorubicina.

La figura 6 es un gráfico que muestra un comportamiento de liberación a corto plazo de gránulos de albúmina adsorbidos en doxorubicina que no contienen sulfato de dextrano.

10 La figura 7 es un gráfico que muestra un comportamiento de liberación a largo plazo de gránulos de albúmina/sulfato de dextrano adsorbido en doxorubicina.

Modo de llevar a cabo la invención

15 La presente invención se describirá seguidamente más en detalle mediante ejemplos. Será obvio para los expertos en la técnica que estos ejemplos están concebidos para ilustrar más concretamente y que el alcance de la presente invención como se expone en las reivindicaciones anejas, no está limitado por los ejemplos.

Ejemplos

20 Ejemplo preparativo: Preparación de microgránulos

1. Composición de microgránulos

25 Las composiciones de albúmina y polímero aniónico para preparar microgránulos se muestran en la tabla 1 siguiente.

Tabla 1

p/v %		Composición 1	Composición 2	Composición 3	Composición 4	Composición 5
Albúmina	Albúmina de suero humano	20	30	-	-	10
	Albúmina de suero bovino	-	-	20	30	10
Polímero aniónico	Sulfato de dextrano	10	10	10	10	10

30 2. Preparación de gránulos usando microfluidos

Como se muestra en la figura 1, las soluciones que tienen composiciones de 1 a 5 anteriores como fluidos internos, se deja que fluyan hasta un caudal de 2 ml/h a través de un sistema microfluído autoproducido y un aceite de MCT, que es un aceite de recogida, como un fluido externo, se deja que fluya a un caudal de 10 ml/h, formando así los gránulos. Seguidamente, los gránulos formados se recogen en una solución de recogida que contiene glutaraldehído como agente reticulante, seguido de reacción con agitación durante 24 horas. La figura 2 muestra imágenes de microgránulos preparados mediante el sistema microfluído según la relación de composición 1.

40 3. Preparación de gránulos para quimioembolización usando un encapsulador

Se prepararon gránulos con las composiciones 1 a 5 anteriores usando un encapsulador (B-390, BUCHI). Las condiciones de preparación fueron: un caudal de 1 a 5 ml/min, energía eléctrica aplicada de 1.000-3.000 V, onda ultrasónica de 2.000-6.000 Hz y número de revoluciones de 100 rpm. El tamaño de la boquilla de liberación se seleccionó según el tamaño de los gránulos que iban a ser preparados. Los gránulos preparados se recogieron en una solución de recogida y seguidamente se agitaron durante 24 horas. Como solución de recogida, se usó acetato de butilo que contenía 5-10% de acetato-butirato de celulosa o acetona que contenía propil-metil-celulosa. La figura 3 muestra imágenes de los microgránulos preparados mediante el sistema microfluído según la relación de composición 1.

50 4. Preparación de gránulos para quimioembolización usando encapsulador

Se formaron gránulos con las mismas composiciones y bajo las condiciones del ejemplo 3 con la excepción de que no se usó el agente reticulante y la solución de recogida se calentó a 120 °C para albúmina térmicamente reticulada, que es una proteína, formando así los gránulos. El tiempo de reacción fue de 2 horas.

55 5. Preparación de gránulos para quimioembolización usando emulsiónamiento

Las soluciones que tenían las composiciones 1 a 5 anteriores se mezclaron con una solución de recogida, seguido de agitación. Simultáneamente con la agitación, se añadió glutaraldehído como agente reticulante. La reacción se realizó durante 24 horas. Como solución de recogida, se usó acetato de butilo que contenía 5-10% de acetato-burilato de celulosa o acetona que contenía propil-metil-celulosa. La figura 4 muestra imágenes de los gránulos preparados mediante el método de emulsionamiento según la relación de composición 1.

Ejemplo de ensayo 1: Ensayo de adsorción de doxorubicina

El ensayo de adsorción de doxorubicina se realizó como sigue. En primer lugar, se disolvieron 50 mg de doxorubicina en 2 ml de agua destilada. Seguidamente se tomó 1 ml de gránulos y se puso en una solución de doxorubicina y a continuación se mezcló bien. Después de que la mezcla se dejara a temperatura ambiente durante 20 minutos, se tomó la parte sobrenadante y se midió la absorbancia a 483 nm mediante un espectrómetro ultravioleta. La cantidad de doxorubicina que escapó a partir de 50 mg/2 ml de solución de doxorubicina se puede determinar calculando la concentración a través de la comparación con la curva de calibración previamente preparada, y este valor fue la cantidad de doxorubicina adsorbida sobre los gránulos. Los resultados del ensayo se muestran en la tabla 2.

Tabla 2

Albúmina:sulfato de dextrano	20:10	30:10
Escape de la reticulación térmica	45±1 mg/ml	33±1 mg/ml
Escape de glutaraldehído	34±1 mg/ml	25±1 mg/ml

Como se muestra en la tabla 2, las cantidades de adsorción de doxorubicina de los gránulos que tienen las composiciones 1 y 3 fueron de 33-35 mg/ml para una reticulación usando glutaraldehído, etildimetilaminopropilcarbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS), pero de 44-46 mg/ml para la desnaturalización de proteína a través de la aplicación de calor. Además, las cantidades de adsorción de doxorubicina de los gránulos que tenían las composiciones 2 y 4 fueron de 24-26 mg/ml para una reticulación con glutaraldehído pero de 32-34 mg/ml para una desnaturalización de proteína a través de la aplicación de calor.

Como resultado de ensayar las cantidades de adsorción de daunorubicina y epirubicina mediante el mismo método, las cantidades de adsorción de daunorubicina y epirubicina se comprobó que eran equivalentes a las cantidades de adsorción de doxorubicina (Tabla 3).

Tabla 3

Clasificación	Doxorubicina		Daunorubicina		Epirubicina	
	20:10	30:10	20:10	30:10	20:10	30:10
Albúmina:Sulfato de dextrano	20:10	30:10	20:10	30:10	20:10	30:10
Reticulación térmica (mg/ml)	45±1	33±1	44±1	31±1	43±1	32±1
Reticulación de glutaraldehído (mg/ml)	34±1	25±1	32±1	24±1	33±1	23±1

Ejemplo de ensayo 2: Verificación de glutaraldehído residual

El glutaraldehído residual después de la reticulación se neutralizó con hidrógeno-sulfito de sodio al 5%. En este caso, con el fin de verificar la cantidad residual de glutaraldehído según el número de veces de tratamiento, el tratamiento con hidrógeno-sulfito de sodio se realizó durante un número diferente de veces, 0, 1 y 5 veces y durante 30 minutos cada vez. Después de esto, el glutaraldehído residual se confirmó a 483 nm usando HPLC. Se midió también la cantidad de adsorción de doxorubicina para cada grupo. Los resultados del ensayo se muestran en la tabla 4.

Tabla 4

	Sin neutralización	Neutralización una vez	Neutralización cinco veces
Glutaraldehído residual (µg/ml)	113,6	22,2	14,6
Doxorubicina adsorbida (mg/ml)	44,6±0,3	38,7±0,2	38,2±0,4

Como se puede comprobar en la tabla 4, cuando se repitió la desnaturalización, la cantidad residual de glutaraldehído disminuyó, pero disminuyó también la cantidad de adsorción de doxorubicina. El flujo de entrada del glutaraldehído residual en el cuerpo puede provocar riesgo de fibrosis de tejidos. Sin embargo, como se puede comprobar en el ejemplo de ensayo 1, cuando se prepararon gránulos mediante reticulación de albúmina a través de calentamiento, no hay peligro de glutaraldehído residual y la capacidad de adsorción mejoró (42-46 mg/ml de

adsorción de doxorubicina). La capacidad de adsorción anterior es bastante mayor que la capacidad de adsorción de doxorubicina (37 mg/ml) y se adquirieron gránulos de DC de la entidad Biocompatible UK, que están actualmente en el comercio. Además, cuando los gránulos se producen en masa a escala industrial, no es necesario el procedimiento de neutralización de glutaraldehído, simplificando así el procedimiento.

5

Ejemplo de ensayo 3: ensayo de liberación de doxorubicina

Se comprobó la liberación de doxorubicina para dos grupos. En primer lugar, los gránulos se dividieron fundamentalmente en un grupo de gránulos de albúmina/sulfato de dextrano para comprobar el comportamiento de liberación de los gránulos y un grupo de gránulos de albúmina que no contenía sulfato para comprobar la influencia del sulfato de dextrano como polímero aniónico. El método de ensayo fue como sigue. Se pusieron gránulos correspondientes a 3,5 mg de doxorubicina en un tubo cónico de 50 ml, que se rellenó con 50 ml de solución de liberación (PBS, pH 7,4), seguido de incubación a 37 °C. La solución de liberación se recogió toda en el momento de la recogida y seguidamente se intercambiaba con una solución de liberación nueva. La curva de liberación se calculó como un valor acumulativo. El fármaco liberado se analizó mediante HPLC. Los resultados se muestran en las figs. 6 y 7.

10

15

Como se muestra en la figura 6, la doxorubicina se adsorbió también en los gránulos de albúmina que no contenían sulfato de dextrano debido a la polaridad de la propia proteína, pero su comportamiento de liberación fue muy rápido. Mientras tanto, como se muestra en la figura 7, la atracción electrostática de los gránulos de albúmina que contenían sulfato de dextrano era más fuerte, y por tanto se liberó lentamente doxorubicina durante un mes.

20

REIVINDICACIONES

1. Microgránulos biodegradables, comprendiendo los microgránulos:
- 5 (i) albúmina que es reticulada mediante reticulación térmica para formar una estructura de un gránulo; y
(ii) sulfato de dextrano, como un polímero aniónico, incluido en el producto reticulado de albúmina.
- 10 2. Los microgránulos de la reivindicación 1, que comprenden adicionalmente un fármaco anticancerígeno adsorbido sobre una superficie del gránulo por una atracción electrostática con el polímero aniónico.
3. Los microgránulos de la reivindicación 2, en los que el fármaco anticancerígeno es un fármaco anticancerígeno basado en antraciclina.
- 15 4. Los microgránulos de la reivindicación 3, en que el fármaco anticancerígeno basado en antraciclina se selecciona entre el grupo que consiste en daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, gemcitabina, mitoxantrona, pirarubicina y valrubicina.
- 20 5. Los microgránulos de la reivindicación 2, en que el fármaco anticancerígeno es irinotecano.
6. Los microgránulos de la reivindicación 1, que tienen una capacidad de adsorción de fármaco anticancerígeno de 10-100 mg por 1 ml de microgránulos.
- 25 7. Microgránulos biodegradables, comprendiendo los microgránulos:
(i) albúmina que es reticulada mediante reticulación térmica para formar una estructura de un gránulo; y
(ii) sulfato de dextrano, como un polímero aniónico, incluido en el producto reticulado de albúmina;
- 30 para ser usados en quimioembolización.
8. Los microgránulos para ser usados de la reivindicación 7, en los que la quimioembolización es una quimioembolización para cáncer de hígado.
- 35 9. Un método para preparar microgránulos biodegradables, comprendiendo el método:
(a) emulsionar una solución para preparar gránulos, en que se disuelven albúmina y sulfato de dextrano como un polímero aniónico, para formar burbujas de tamaño micrométrico; y
- 40 (b) reticular térmicamente las burbujas de tamaño micrométrico de la etapa (a) para formar microgránulos en los que la albúmina es reticulada y es incluido sulfato de dextrano en el producto reticulado de albúmina.
- 45 10. El método de la reivindicación 9, que comprende adicionalmente, después de la etapa (b), (c) poner en contacto los microgránulos de la etapa (b) con un fármaco anticancerígeno para permitir que el fármaco anticancerígeno se adsorba sobre la superficie de los microgránulos mediante una atracción electrostática del sulfato de dextrano de los microgránulos.

Fig. 1

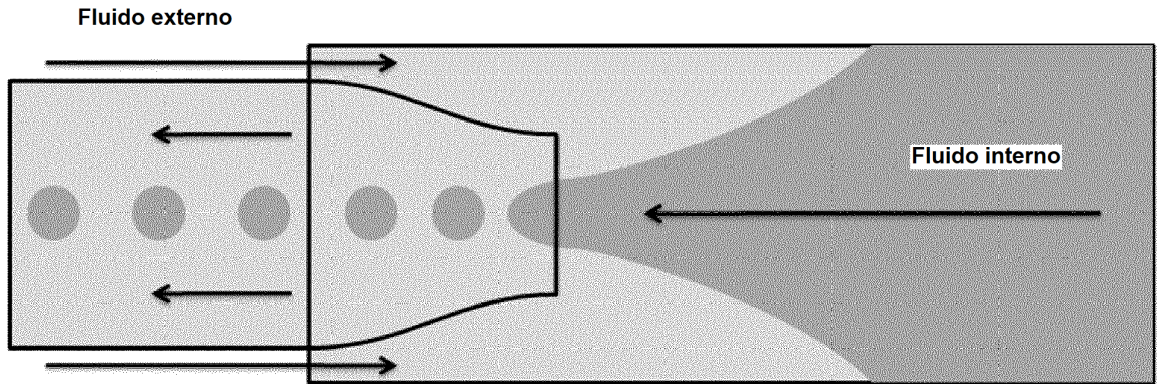


Fig. 2

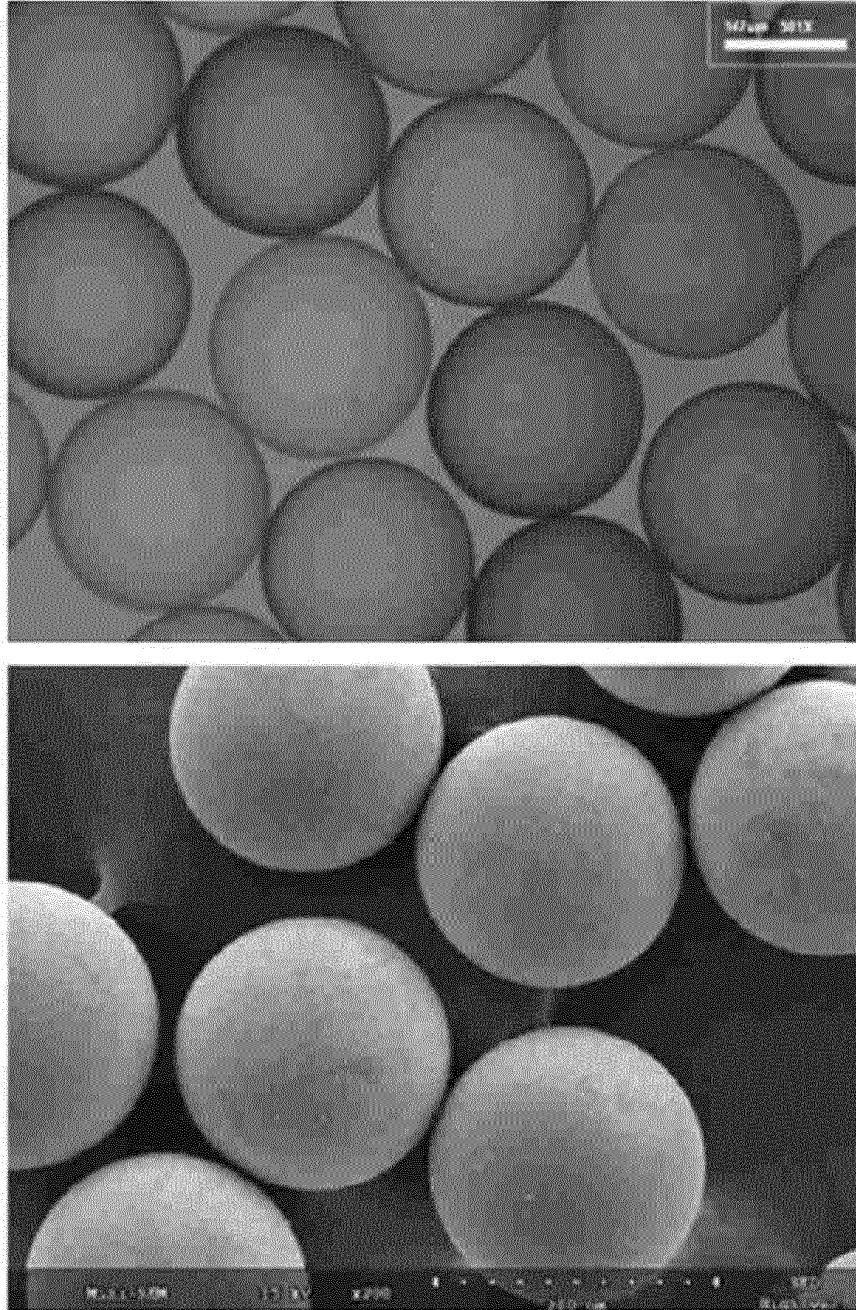


Fig. 3

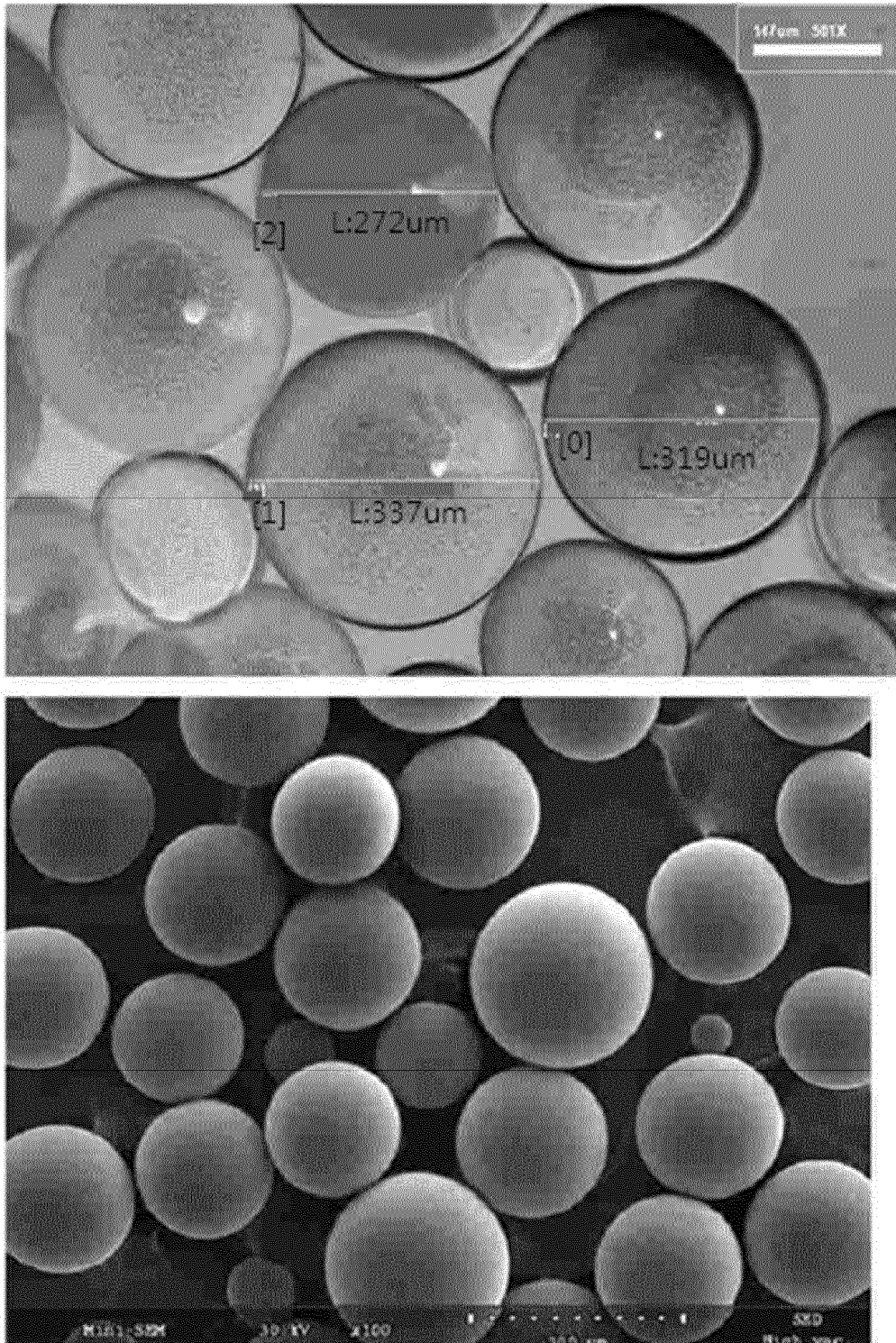


Fig. 4

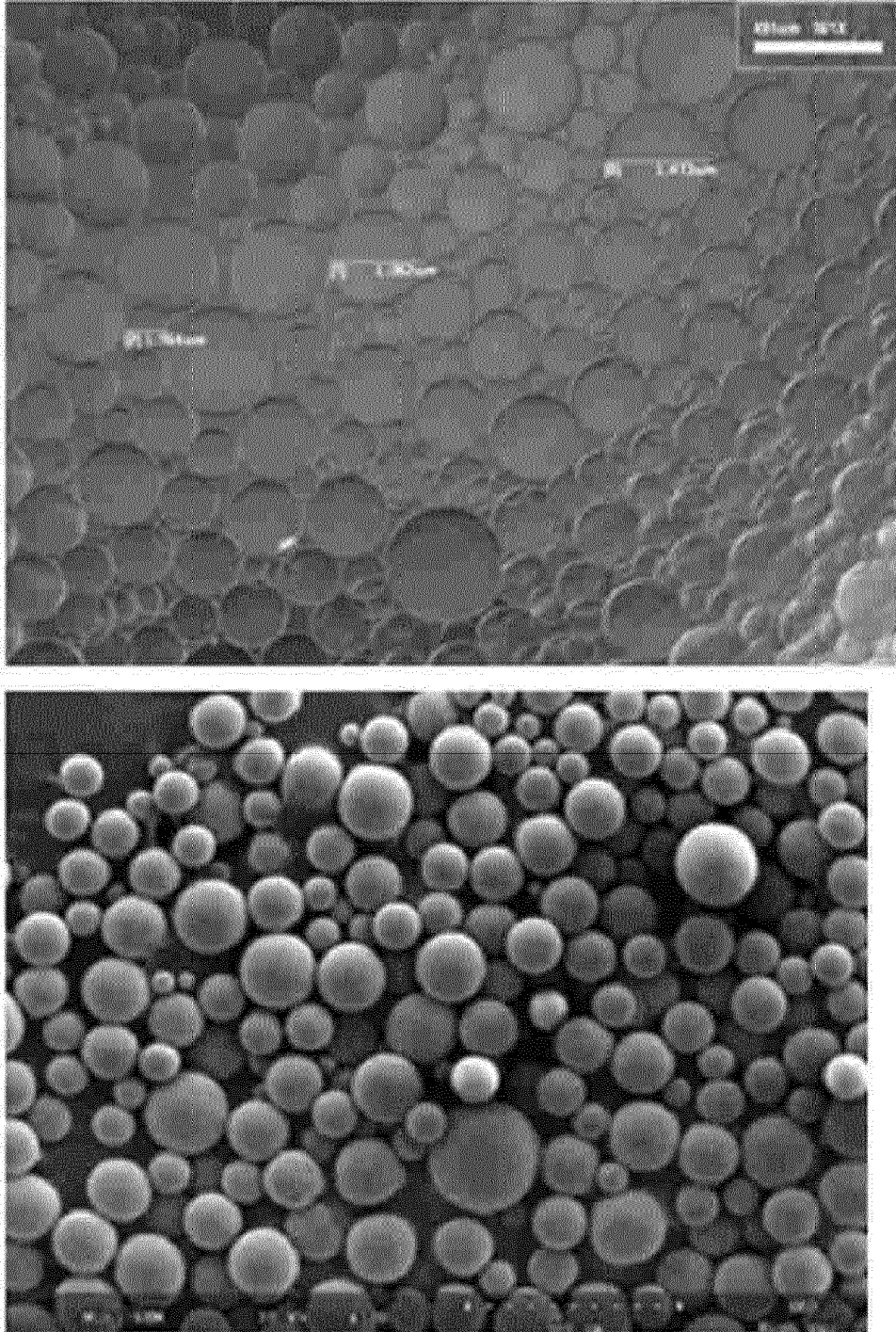


Fig. 5

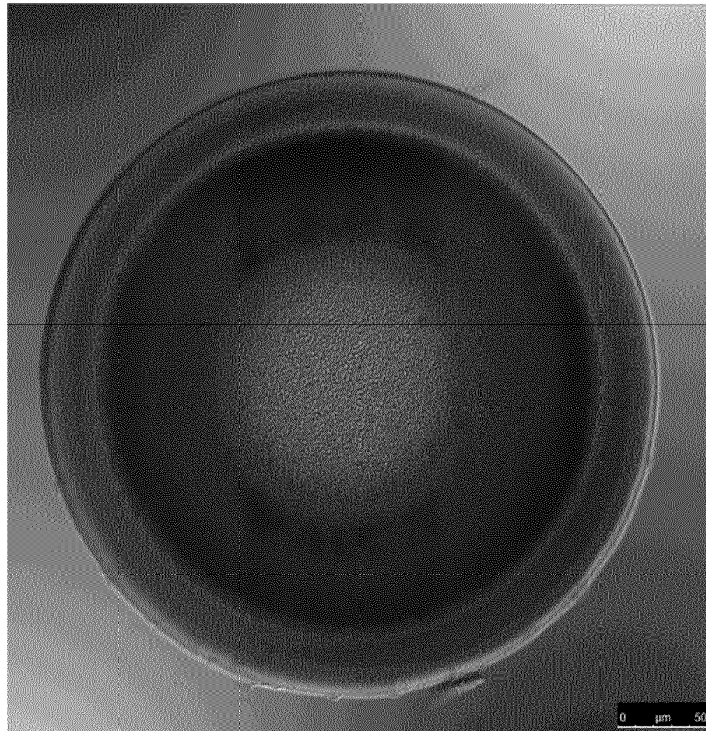


Fig. 6

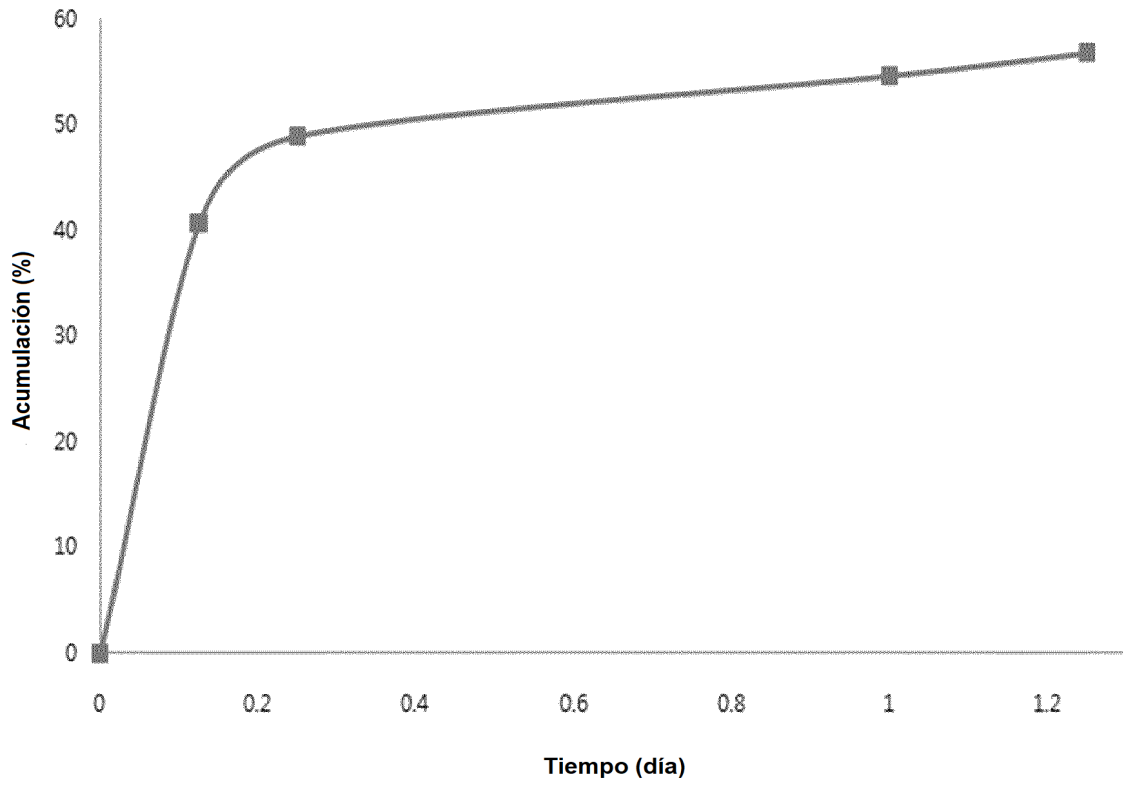


Fig. 7

