

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 661 847**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)
A61K 38/09 (2006.01)
A61K 47/34 (2007.01)
A61L 27/54 (2006.01)
A61L 27/58 (2006.01)
A61L 27/18 (2006.01)
A61K 9/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.04.2010 PCT/IB2010/001303**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.11.2010 WO10125475**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.04.2010 E 10728285 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2017 EP 2424558**

54 Título: **Formulaciones de liberación sostenida que comprenden acetato de triptorelina**

30 Prioridad:

29.04.2009 EP 09290312

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

04.04.2018

73 Titular/es:

**IPSEN PHARMA S.A.S. (100.0%)
65, Quai Georges Gorse
92100 Boulogne-Billancourt, FR**

72 Inventor/es:

**CHERIF-CHEIKH, ROLAND;
LACOMBE, FRÉDÉRIC;
TORRES SALGADO, MARIA-LUISA;
CAMBRIEL, PERRINE;
CARDUS MALASPINA, MERCÈ;
DIAZ DEL CONSUELO, ISABEL;
MONTES, MARTIN;
JEANNEROT, FABIEN;
DELPORTE, MARIE;
BROCHARD, ANNE y
RICHARD, JOËL**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 661 847 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

Formulaciones de liberación sostenida que comprenden acetato de triptorelina

5 La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de composiciones farmacéuticas para la liberación controlada y sostenida de una sustancia activa que comprende un polímero o copolímero biodegradable. Más aun, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas para la liberación controlada y sostenida de al menos una sustancia activa tal como péptidos u hormonas y análogos de los mismos.

Más particularmente, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas en la forma de implantes pequeños que comprenden al menos una sustancia activa tal como los análogos de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) tales como triptorelina o sales de la misma en una cubierta de polímero o copolímero.

10 La GnRH, también denominada LHRH, es una hormona decapeptídica responsable de la secreción de la hormona foliculoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Los análogos de GnRH son fármacos peptídicos sintéticos modelados en base a la GnRH. Los análogos pueden ser agonistas o antagonistas. Los agonistas activan el receptor de GnRH que resulta en una mayor liberación de FSH y LH. Por otro lado, los antagonistas bloquean el receptor de GnRH, reduciendo la liberación de FSH y LH.

15 La triptorelina también denominada [D-Trp6] LHRH, es el ingrediente activo en el medicamento DECAPEPTYL® y puede usarse para tratar enfermedades como cáncer de próstata, en particular cáncer de próstata metastásico avanzado, endometriosis, infertilidad femenina y en general se asocia con otras hormonas durante la fertilización in-vivo (IVF), pubertad precoz; fibromas y endometriosis.

20 Los péptidos, tales como los análogos de GnRH, en general son administrados parenteralmente, por ejemplo, mediante inyección subcutánea. Una de las razones es que, en general, se degradan en el tracto gastrointestinal. Los tratamientos con análogo de GnRH requieren la administración continua o repetida al paciente durante un período de tiempo prolongado.

25 Sin embargo, inyecciones repetidas provocan inconveniencia e incomodidad al paciente. Las formulaciones de liberación sostenida se han desarrollado para administrar análogos de GnRH durante períodos de tiempo prolongados sin la necesidad de inyecciones repetidas. Dichas formulaciones han agregado beneficios, incluida una mejora en el aumento de la precisión de la dosificación y el cumplimiento del paciente.

Un problema subyacente con la liberación sostenida de muchas formulaciones existentes durante un período prolongado no se contempla en la técnica anterior. Considerablemente, muchos tratamientos con análogo de GnRH requieren administración al paciente durante seis meses o más.

30 La preparación de muchas formulaciones existentes es relativamente compleja debido a que los procedimientos correspondientes requieren la adición de uno o más excipientes o etapas adicionales tales como fusión con calor y moldeado por compresión.

35 A menudo se requieren excipientes adicionales para la homogeneidad, estabilización y para mejorar la moldeabilidad o solidificar la mezcla. Por lo tanto, sería ventajoso si las propiedades deseables pudieran obtenerse sin necesidad de agregar excipientes.

La fusión con calor y el moldeado por compresión pueden emplearse para colocar el ingrediente activo en el núcleo. El moldeado por compresión puede ser necesario a medida que la mezcla se transforma en un sólido antes de ser introducida en el núcleo. Un problema con los métodos de producción que involucran estas etapas es que son relativamente complejos, dificultando la industrialización.

40 La publicación de patente internacional número 2005117934 divulga un aparato de liberación sostenida que incluye al menos un implante. El implante incluye un material de apoyo y una composición farmacéutica que incluye un componente agonista y/o antagonista de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH). El implante puede tener una estructura de capa doble, estando la capa externa formada por material de silicona. El implante que tiene un extremo abierto en una terminal puede fabricarse al sumergir una terminal de la formulación en una solución para disolver el material de la capa externa.

45 El uso de silicio puede sufrir una desventaja debido a que no se degrada después de su administración. Esto puede afectar de manera adversa el perfil de liberación del componente agonista y/o antagonista de LHRH y resultar en material de desecho de silicio no deseado que permanece en el sujeto después de terminada la liberación.

50 La patente europea número 1001743 divulga un núcleo que contiene un principio activo y una cubierta que rodea completamente el núcleo. Tener una cubierta que rodea completamente el núcleo reduce el desempeño debido a que el nivel del ingrediente activo liberado poco después de la administración es bajo debido a que la cubierta bloquea la liberación. Dichos implantes también sufren una segunda desventaja debido a que el proceso para su fabricación es relativamente complejo.

La patente de los Estados Unidos número 5.851.547 divulga una formulación de fármaco de liberación controlada

5 que comprende una capa interna que se hincha y una capa externa que es impermeable al agua y que controla la hinchazón de la capa interna. El fármaco se libera exclusivamente a través de al menos un extremo abierto de la capa interna y la capa interna no se desintegra debido a que retiene su forma original durante el período de tiempo por el cual se libera el fármaco. Un problema con dichas formulaciones es que la liberación del fármaco se rige únicamente por un parámetro: la cantidad de fármaco que puede liberarse por el extremo abierto. Esta es una consecuencia de la capa interna que no se desintegra y limita el período de liberación.

En un aspecto particular, la invención es adecuada para proporcionar la liberación controlada y sostenida de la triptorelina análoga de GnRH de un ácido poli(láctido-co-glicólido) (PLGA) recubierto con una cubierta de polímero o copolímero biodegradable.

10 Por lo tanto es objeto de la presente invención proporcionar un método que alivie al menos una desventaja al proporcionar, por ejemplo:

- liberación extendida,
- mejor control de la liberación,
- liberación más completa,

15 • un proceso de fabricación relativamente simple y/o

- biodegradabilidad mejorada.

En un aspecto, la invención proporciona un implante alargado para la liberación controlada y sostenida del análogo de GnRH acetato de triptorelina, comprendiendo el implante

- una cubierta polimérica o copolimérica que tiene al menos un extremo abierto y

20 • en la cubierta, un núcleo que comprende el acetato de triptorelina, obtenible mediante el proceso definido a continuación.

En otro aspecto, la invención proporciona un proceso para la preparación de un implante alargado que comprende las siguientes etapas

- preparar una cubierta polimérica o copolimérica,

25 • preparar una solución de entre 40 y 80% (p/p) de acetato de triptorelina en agua,

- colocar la solución en la cubierta,
- incubar la solución durante 2-48 h a 20-30°C y
- secar durante 6-24 h al vacío.

30 Otro proceso para la preparación de un implante alargado puede ser la "extrusión doble" que comprende las siguientes etapas:

- introducir granulados hechos de polímero o copolímero biodegradable y sustancia activa en el extrusor de núcleo
- extruir el núcleo hecho de polímero o copolímero biodegradable y sustancia activa (análogo de GnRH) y después enfriar
- recubrir con un polímero o copolímero biodegradable.

35 Descripción de las figuras

Figura 1: compara los perfiles de disolución *in vitro* de un implante que comprenden un núcleo polimérico de acetato de triptorelina y PLGA en una cubierta polimérica de PLGA preparada de acuerdo con el Ejemplo 5 (representado por cuadrados pintados) y un núcleo polimérico de acetato de triptorelina y PLGA preparada de acuerdo con el Ejemplo 2 (representado por círculos pintados).

40 Figura 2: muestra una concentración de triptorelina a lo largo del tiempo en seis perros luego de una inyección de un implante preparado de acuerdo con el Ejemplo 5 (5,9 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,1 mm).

45 Figura 3: muestra una concentración de triptorelina a lo largo del tiempo en seis perros luego de una inyección de un implante preparado de acuerdo con el Ejemplo 6 (6,4 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 0,85 mm).

Figura 4: muestra una concentración de triptorelina a lo largo del tiempo en seis perros luego de una inyección de un implante preparado de acuerdo con el Ejemplo 7 (9,1 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,1 mm).

5 Figura 5: muestra la concentración de triptorelina a lo largo del tiempo después de la inyección del implante del Ejemplo 13 (6,3 mg de núcleo de acetato de triptorelina en una cubierta de 0,85 mm) en seis perros.

Figura 6: muestra la concentración de triptorelina a lo largo del tiempo después de la inyección del implante del Ejemplo 14 (10,0 mg de núcleo de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,10 mm) en seis perros.

Las siguientes definiciones se establecen para ilustrar y definir el significado y alcance de varios términos usados para describir la invención en la presente.

10 La expresión "liberación controlada y sostenida" tal como se usa en la presente significa la liberación de la sustancia activa en un paciente de manera que el paciente reciba una dosis efectiva de la sustancia activa durante un período de tiempo de al menos un mes.

15 Cuando se usa con referencia a la GnRH, "análogo" significa un péptido natural, recombinante o sintético o un derivado o fragmento de péptidos, que exhibe básicamente el mismo efecto agonista o antagonista que los péptidos no modificados o naturales.

La expresión "cambio conformacional" con referencia a los cambios conformacionales de acetato de triptorelina significa un cambio en la conformación espacial del acetato de triptorelina cuando se mezcla con el agua. El cambio puede inducirse por ejemplo al cambiar la temperatura o concentración.

20 La expresión "extrusión doble" significa la producción en la misma línea de producción de un cuerpo central cilíndrico o núcleo hecho de copolímero y o un ingrediente farmacéutico activo (API) y un recubrimiento de polímero tubular o carcasa depositada en el núcleo después de su solidificación.

Análogos de GnRH adecuados para las composiciones divulgadas en la presente invención incluyen leuprorelina, buserelina, nafarelina, histrelina, goserelina, deslorelina, gonadorelina, avorelina, triptorelina y sus formas salinas.

25 De acuerdo con la presente invención se usa preferiblemente el análogo de GnRH como una sal de triptorelina. Más preferiblemente, el análogo de GnRH es acetato de triptorelina o pamoato de triptorelina. Incluso más preferiblemente, el análogo de GnRH es acetato de triptorelina.

30 En la presente solicitud, "acetato de triptorelina" significa una forma salina de acetato de triptorelina que contiene más de 95% en peso de acetato de triptorelina pura y preferiblemente más de 97 o 98% en peso de acetato de triptorelina pura. Esto corresponde respectivamente a un porcentaje de aproximadamente 80, 84 u 85% en peso de triptorelina pura.

De acuerdo con la presente divulgación, cuando el análogo de GnRH es acetato de triptorelina, la cantidad de acetato de triptorelina en el núcleo polimérico se encuentra en el rango de 30 a 90% en peso con respecto al peso total del núcleo polimérico. Preferiblemente, la cantidad de triptorelina en el núcleo polimérico se encuentra en el rango de 35 a 65% en peso con respecto al peso total del núcleo polimérico.

35 De acuerdo con la presente invención, la liberación sostenida de la sustancia activa puede ocurrir a través de al menos dos mecanismos, lo que permite un control mejorado durante la liberación. En primer lugar, el análogo de la hormona puede liberarse a través de al menos un extremo abierto de la cubierta. En segundo lugar, el análogo de la hormona puede liberarse a través de la cubierta, a medida que la cubierta y el núcleo se degradan. El implante alargado puede incluir un vacío entre la cubierta y el núcleo que puede ayudar a la liberación sostenida.

40 Dichos polímeros o copolímeros se usan preferentemente en una forma que está purificada o exenta de la fracción de monómero residual. Los polímeros o copolímeros de este tipo se describen por ejemplo en la patente de los Estados Unidos número 4.728.721.

45 De acuerdo con la invención el polímero o copolímero se forma a partir de ácido láctico y/o ácido glicólico. Más preferiblemente, el polímero o copolímero es ácido poliláctico (PLA), un polímero formado a partir de ácido láctico. Incluso más preferiblemente, el polímero o copolímero es ácido poli(láctico-co-glicólico), que es un copolímero de ácido láctico y ácido glicólico.

50 El copolímero de PLGA se degrada mediante hidrólisis de sus enlaces de éster en presencia de agua. El tiempo requerido para la degradación del polímero de PLGA en general depende de la relación de los monómeros usados para su producción, con una proporción más alta de unidades de ácido láctico que resulta en un aumento en el tiempo requerido para su degradación.

De acuerdo con la invención la relación entre ácido láctico y ácido glicólico en el PLGA se encuentra en el rango de 70:30 a 90:10. Preferiblemente, la relación entre ácido láctico y ácido glicólico en el PLGA es 85:15. Una relación entre ácido láctico y ácido glicólico en el PLGA de 85:15, por ejemplo, indica un polímero de PLGA que comprende

85% de unidades derivadas de ácido láctico y 15% de unidades derivadas de ácido glicólico. También pueden emplearse polímeros de ácido láctico puro y son particularmente adecuados para los períodos de liberación de más de tres meses.

5 De acuerdo con la presente divulgación, la cubierta polimérica o copolimérica y el núcleo polimérico o copolimérico están hechos a partir del mismo polímero o copolímero. La cubierta polimérica o copolimérica y el núcleo polimérico o copolimérico pueden estar hechos ambos a partir de PLGA hecho con una relación entre ácido láctico y ácido glicólico de 85:15.

10 Cuando el polímero o copolímero comprende PLGA, preferiblemente tiene una masa molecular de al menos 60 kDa. Más preferiblemente, el PLGA tiene una masa molecular de al menos 100 kDa. Más preferiblemente, el PLGA tiene una masa molecular dentro del rango de 120 kDa a 170 kDa. Cuando el polímero comprende PLA, el PLA tendrá preferiblemente una masa molecular comprendida entre 15 kDa o 20 kDa y 30 kDa o 40 kDa, o más preferiblemente 25 kDa.

El implante es adecuado para la liberación del análogo de GnRH por una duración de al menos 3 meses, preferiblemente por una duración de al menos 6 meses.

15 Cuando el análogo de GnRH comprende acetato de triptorelina, está preferiblemente presente en una cantidad en el rango de 0,5 a 50 mg. Más preferiblemente el acetato de triptorelina está presente dentro del rango de 2 a 20 mg. Más preferiblemente, el acetato de triptorelina está presente en una cantidad de aproximadamente 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg.

20 Además, la longitud axial del implante se encuentra entre 1 y 4 cm. Preferiblemente, la longitud axial del implante se encuentra entre 2 y 3 cm. Más preferiblemente, la longitud axial del implante es de aproximadamente 2,5, 2,6, 2,7 o 2,8 cm. Más preferiblemente, la longitud axial del implante es de 2,6 cm.

Preferiblemente, el diámetro externo del implante alargado está comprendido dentro del rango de 0,70 mm a 1,2 mm, más preferiblemente dentro del rango de 0,80 mm a 1,1 mm. Incluso más preferiblemente, el diámetro externo del implante alargado es de 0,85, 0,90, 0,95, 1,0 o 1,1 mm.

25 Preferiblemente, la relación entre el diámetro y la longitud axial del implante es de entre 1:20 y 1:40. Más preferiblemente, la relación entre el diámetro y la longitud axial del implante es de entre 1:22 y 1:30. Incluso más preferiblemente, la relación entre el diámetro y la longitud axial del implante es de entre 1:23, 1:25, 1:28 o 1:30.

El tamaño óptimo del implante puede determinarse considerando el volumen de la dosis a incluir y la incomodidad aumentada al paciente que está asociada con el tamaño del implante aumentado.

30 Más aun, el porcentaje del análogo de GnRH liberado del implante alargado durante la liberación sostenida es más del 60%. Preferiblemente, se libera más del 80% del análogo de GnRH en la forma de acetato de triptorelina del implante alargado durante la liberación sostenida. Más preferiblemente, se libera más del 90% del acetato de triptorelina del implante durante la liberación sostenida. Más preferiblemente, se libera el 100% del acetato de triptorelina del implante durante la liberación sostenida.

35 De acuerdo con la divulgación, otro proceso para la preparación de un implante alargado comprende las siguientes etapas

- preparar una cubierta polimérica o copolimérica biodegradable,
- combinar un análogo de GnRH y un polímero o copolímero para formar un núcleo polimérico y
- posteriormente, colocar el núcleo en la cubierta.

40 Este proceso tiene la ventaja de una simplicidad mejorada al evitar la adición de excipientes que no sean PLGA al análogo de la hormona.

45 La cubierta polimérica y el núcleo polimérico pueden prepararse, por ejemplo, mediante extrusión o moldeo. Preferiblemente, la cubierta polimérica y el núcleo polimérico se preparan mediante extrusión por fusión. Preferiblemente, la primera etapa en la preparación de la cubierta polimérica y el núcleo polimérico es la extrusión de PLGA para formar granulados. La extrusión para formar los granulados preferiblemente ocurre a una temperatura de entre aproximadamente $130 \pm 10^\circ\text{C}$ y $155 \pm 10^\circ\text{C}$, preferiblemente a $145 \pm 10^\circ\text{C}$, y a una velocidad de rotación de extrusor de aproximadamente 25 ± 10 rpm a 25 ± 10 rpm, preferiblemente a 25 ± 10 rpm. Los granulados resultantes pueden molerse entonces, por ejemplo, con un molino criogénico para formar un polvo. El tamaño del polvo es preferiblemente menor que 1 mm y más preferiblemente menor que 500 μm .

50 Preferiblemente, la cubierta se prepara mediante extrusión de los granulados de polímero. Esta extrusión preferiblemente ocurre a una temperatura dentro del rango de 130 a 160°C , más preferiblemente 142 a 156°C . La velocidad de rotación del extrusor es preferiblemente entre 1 y 30 rpm, más preferiblemente 2 y 6 rpm y más preferiblemente 4 rpm.

- 5 Para preparar el núcleo polimérico, el polvo y el análogo de GnRH pueden combinarse mezclando, preferiblemente durante aproximadamente 30 minutos a 42 rpm. La formación del núcleo polimérico del polvo preferiblemente ocurre en dos extrusiones. En la primera extrusión, la mezcla se extruye a una temperatura preferiblemente dentro del rango de 110 a 130°C, más preferiblemente 116 a 124°C y más preferiblemente aproximadamente 120°C para formar granulados. La velocidad de rotación del extrusor es preferiblemente entre 1 y 40 rpm, más preferiblemente 15 y 25 rpm y más preferiblemente 21 rpm. La primera extrusión mejora las propiedades de flujo de la mezcla, permitiendo una velocidad de alimentación constante durante la segunda extrusión y por lo tanto un material extruido de diámetro uniforme.
- 10 La humedad residual en los granulados de acetato de triptorelina y PLGA que resulta de la primera extrusión es preferiblemente menor que 5% en peso de agua con respecto al peso total. Sin embargo, el contenido de humedad preciso depende de la proporción del análogo de GnRH, que es la fuente principal de humedad. A este respecto, la humedad residual en los granulados que resulta de la primera extrusión es más preferiblemente menor que aproximadamente 1,5% cuando la concentración de triptorelina es aproximadamente 35% y menor que aproximadamente 2% cuando la concentración de triptorelina es aproximadamente 50%. Los granulados se secan preferiblemente al vacío antes de la segunda extrusión, para reducir el contenido de agua por debajo del límite deseado.
- 15 Después del secado, los granulados pueden someterse a una segunda extrusión a una temperatura preferiblemente dentro del rango de 120 a 160°C, más preferiblemente 130 a 150°C y más preferiblemente aproximadamente 140°C.
- 20 El estado fundido o licuado del péptido en el polímero nos permite mezclar sin la necesidad de tratamientos previos costosos usando vehículos de producción que tendrían que ser posteriormente eliminados.
- La temperatura puede adaptarse en función del polímero o copolímero usado; por ejemplo será aproximadamente 10°C menor en el caso de un PLGA con viscosidad inherente más baja o aproximadamente 10°C más alta para un PLGA con una viscosidad más alta.
- 25 De acuerdo con esta variante del proceso de producción del núcleo polimérico, la operación se lleva a cabo sin un tratamiento previo de la mezcla usando disolventes acuosos u orgánicos, que necesitarían ser eliminados posteriormente. El proceso también evita la necesidad de liofilización de las mezclas y diferente precalentamiento para la compresión antes de la extrusión.
- 30 La mezcla sólida de polvo de acetato de triptorelina y polímero de PLGA puede fusionarse a una temperatura suficiente para obtener un estado no sólido de los dos constituyentes para luego mezclarlos y luego extruirlos o moldearlos antes de bajar la temperatura y volver el arreglo al estado sólido.
- La máquina de extrusión puede operar a temperatura ambiente a la salida del extrusor.
- Este extruido continuo puede entonces cortarse para proporcionar núcleos poliméricos de tamaño apropiado. La dosis deseada puede obtenerse de este modo antes de que el núcleo polimérico se coloque en la cubierta.
- 35 Dependiendo de la forma, dosis y perfil de liberación deseado, el proceso de producción del núcleo polimérico también puede aplicarse a formas con pequeñas cargas del ingrediente activo. Las indicaciones dadas anteriormente en términos de humedad residual y cantidad de ingrediente activo así como de la naturaleza del polímero, por ejemplo, pueden aplicarse a composiciones que tienen cargas de menos de 50% así como aquellas que tienen cargas mayores que este valor. Las adaptaciones necesarias se encuentran dentro del alcance de un experto en la técnica teniendo en cuenta las indicaciones dadas anteriormente así como en los ejemplos de producción.
- 40 De acuerdo con la invención, se verifican las dimensiones de la cubierta polimérica y núcleo polimérico y el núcleo se coloca en la cubierta manualmente o mecánicamente. El implante puede colocarse entonces en un dispositivo de inyección y someterse a radiación gamma antes de su administración.
- 45 Dependiendo del tamaño del implante, el médico tratante puede usar dispositivos de inyección tales como aquellos descritos en la Solicitud PCT WO 2006/058745 o jeringas de tamaño estándar para llevar a cabo la administración.
- Un experto en la técnica puede elegir usar otros polímeros o también una mezcla de polímeros o tener otras proporciones de sal de triptorelina y polímero de PLGA; en este caso, la masa molecular del polímero de PLGA y el peso del núcleo polimérico se adaptarán para obtener el perfil de liberación deseado.
- Otro proceso para la preparación de un implante alargado comprende los siguientes pasos
- 50 • combinar un análogo de GnRH y un polímero o copolímero y
- posteriormente, coextruir la combinación y un polímero o copolímero biodegradable,
- para formar un implante que comprenda un análogo de GnRH y núcleo polimérico o copolimérico dentro de una cubierta polimérica o copolimérica biodegradable.

Preferiblemente, cuando se combina el análogo de GnRH y el polímero, se forman granulados.

La temperatura de coextrusión y velocidad de extrusión pueden seleccionarse en base al punto de ablandamiento de la combinación que forma el núcleo y el polímero que forma la cubierta. Preferiblemente, la coextrusión ocurre en las condiciones identificadas anteriormente para las únicas extrusiones.

5 Otro proceso para la preparación de un implante alargado comprende los siguientes pasos

- introducir granulados hechos de polímero o copolímero biodegradable y sustancia activa en el extrusor de núcleo
- extruir el núcleo hecho de polímero o copolímero biodegradable y sustancia activa y después enfriar
- recubrir con un polímero o copolímero biodegradable.

10 La distancia entre la cabeza de extrusión y la cabeza de recubrimiento/deposición puede aumentarse y la canaleta de fusión se coloca después de la cabeza de extrusión del núcleo para enfriar y solidificar el núcleo antes de que ingrese en el canal del equipo de recubrimiento.

La posición entre la cabeza de extrusión del núcleo y el recubrimiento/deposición se ajusta opcionalmente a alrededor de 130 mm a 160 mm, preferiblemente alrededor de 150 mm, para obtener un implante de carcasa del núcleo. La distancia elegida puede controlar el período de enfriamiento.

15 De acuerdo con el proceso, la adhesión del núcleo y carcasa podrían controlarse mediante parámetros del proceso tales como temperaturas, velocidad de extrusión y recubrimiento. El ajuste de estos parámetros puede crear un enlace permanente o un ajuste más flojo que permita la presencia de un pequeño espacio de aire entre el núcleo y la carcasa.

20 El producto final obtenido por este proceso es un implante alargado cilíndrico que consiste en un núcleo hecho de una mezcla de copolímero y sustancia activa y una carcasa. La carcasa está hecha de polímero o copolímero puro y es opcionalmente de la misma o diferente naturaleza y composición que el copolímero usado para el núcleo.

El producto terminado obtenido es un núcleo cubierto con un recubrimiento transparente: las dos partes forman un producto integral.

25 En este aspecto de la divulgación y mediante este proceso es posible obtener implantes estructurados similares a aquellos obtenidos por la inserción manual del núcleo cilíndrico en el tubo.

La ventaja valiosa del proceso tal como se describió anteriormente es que no necesita ningún ensamblaje manual del implante de núcleo en la carcasa.

De acuerdo con la invención, el acetato de triptorelina se somete a un cambio conformacional que aumenta la viscosidad del núcleo.

30 De acuerdo con la invención, la cubierta se degrada durante la liberación.

La cubierta polimérica puede prepararse de acuerdo con el método descrito anteriormente. De acuerdo con la invención, el contenido de agua en el implante alargado de este aspecto de la invención es menor que 1%.

De acuerdo con la invención, el gel de acetato de triptorelina y agua se introduce directamente en la cubierta y por lo tanto el proceso puede evitar la necesidad de moldeado o extrusión del núcleo.

35 De acuerdo con la invención, al menos 40% de acetato de triptorelina se mezcla con agua y se coloca en la cubierta. Preferiblemente, al menos 50 o 60 o 70 u 80 o 90% de acetato de triptorelina se mezcla con agua y se coloca en la cubierta.

40 Métodos preferidos para la preparación del núcleo comienzan con el mezclado de 40 a 80% (p/p) de acetato de triptorelina y agua, preferiblemente 50 a 70% (p/p) de acetato de triptorelina o más preferiblemente 55, 60 o 65% (p/p) de acetato de triptorelina. La concentración de acetato de triptorelina preferida permite suficiente contenido de acetato de triptorelina en el implante alargado final.

45 En un método preferido, el agua y el acetato de triptorelina se colocan en recipientes separados conectados a través de una válvula y un vacío creado en el recipiente que aloja el acetato de triptorelina. Abrir la válvula resulta en que el agua ingrese en el recipiente que aloja el acetato de triptorelina y se llenen los espacios en el polvo de acetato de triptorelina. El gel formado por agua y acetato de triptorelina puede homogeneizarse entonces.

En un método preferido alternativo, el acetato de triptorelina y el agua pueden mezclarse mediante agitación suave.

Preferiblemente, el agua usada en la preparación del núcleo está en la forma de agua para inyección.

La temperatura durante el mezclado de acetato de triptorelina y agua se mantiene preferiblemente por debajo de

25°C, más preferiblemente por debajo de 15°C e incluso más preferiblemente entre 5 y 10°C. Mantener una temperatura relativamente baja retrasa la cristalización o cambio conformacional.

El acetato de triptorelina y agua pueden colocarse entonces convenientemente en las cubiertas.

5 Una vez que el semisólido se encuentra dentro del tubo, el gel puede someterse a un cambio conformacional y se cristaliza.

10 La primera etapa de este proceso de dos etapas puede involucrar una incubación durante 2-48 horas a 20°C-40°C, preferiblemente a 20-30°C, y presión atmosférica para producir una composición semisólida de acetato de triptorelina y agua. La incubación del núcleo puede producir un cambio conformacional en el acetato de triptorelina. Solidificar la composición de esta manera facilita la retención de la composición dentro de la cubierta y facilita el secado de la composición en la segunda etapa.

La segunda etapa puede incluir secar durante 6 a 24 horas a temperatura ambiente al vacío para reducir el contenido de agua.

15 De acuerdo con la invención, el implante puede colocarse manualmente en el dispositivo para su administración mediante inyección. El implante y el dispositivo se exponen preferiblemente a radiación gamma antes de su administración mediante inyección. Alternativamente, la esterilización terminal puede evitarse al producir los implantes en condiciones asépticas.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se usarán de manera parenteral tal como inyección subcutánea o intramuscular.

20 Preferiblemente, la administración de la composición farmacéutica como implante alargado que contiene 6, 9 o 10 mg de acetato de triptorelina se realiza mediante una inyección subcutánea repetida cada 6 meses.

Preferiblemente, el uso de triptorelina en un implante alargado como se divulga en la presente invención se adapta para tratar enfermedades, incluidos cáncer de próstata, en particular cáncer de próstata metastásico avanzado, endometriosis, infertilidad femenina y en general se asocia con otras hormonas en el curso de fertilización in-vivo (IVF), pubertad precoz; fibromas y endometriosis.

25 Todas las publicaciones, solicitudes de patente, todas las patentes y otras referencias mencionadas aquí se incorporan a modo de referencia.

Los siguientes ejemplos sirven como ilustraciones de la invención sin limitarla. Los ejemplos 3, 12-16, 25 y 26 se realizan de acuerdo con la invención reivindicada, los otros ejemplos no.

Ejemplo 1

30 Método de fabricación de núcleo polimérico

Los ejemplos 1 a 12 se refieren a la preparación de implantes de acuerdo con la invención que comprenden un núcleo polimérico de acetato de triptorelina y PLGA en una cubierta tubular polimérica de PLGA.

35 Para su uso en la preparación de cubiertas y núcleos poliméricos, el PLGA se sometió a una etapa de preparación inicial. La etapa implicó extruir el PLGA a $25 \pm 10^\circ\text{C}$ y 25 ± 10 rpm y moler los granulados resultantes en un molino criogénico para formar un polvo de PLGA que tenía un tamaño de partícula de menos de $500 \mu\text{m}$ para la fabricación de implantes.

Para producir el núcleo polimérico, el análogo de GnRH en la forma de acetato de triptorelina y el polvo de PLGA se pesaron consecutivamente. El acetato de triptorelina se pasó a través de un tamiz para evitar la presencia de grumos en la mezcla. La mezcla se mezcló entonces durante 30 min y luego se extruyó a $25 \pm 4^\circ\text{C}$ y 25 ± 1 rpm.

40 Los granulados se secaron al vacío antes de la segunda extrusión para reducir el contenido de agua por debajo de 2% o 1,5%. Los gránulos se extruyeron por fusión a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y 25 ± 2 rpm.

El extruido se cortó durante la segunda extrusión y se obtuvieron los núcleos poliméricos individuales.

Ejemplo 2

Resultados de la fabricación de núcleo polimérico

45 Un núcleo polimérico se fabricó de acuerdo con el procedimiento general mencionado en el Ejemplo 1.

El núcleo polimérico contenía una dosis de 6 mg, medía 0,85 mm de diámetro y aproximadamente 26 mm de largo y estaba compuesto de 40% en peso de acetato de triptorelina (pureza $\geq 97,5\%$) y 60% en peso de 85:15 PLGA (viscosidad inherente iv en cloroformo: $1,2 \text{ dl/g} \leq \text{iv} \leq 1,7 \text{ dl/g}$).

Ejemplo 3

Método de fabricación de cubierta polimérica

Para producir la cubierta, el polvo de PLGA habiéndose sometido a la etapa de preparación inicial mencionada en el Ejemplo 1 se extruyó con fusión a $25 \pm 7^\circ\text{C}$ y 25 ± 2 rpm y el tubo extruido se cortó para obtener las cubiertas.

5 Ejemplo 4

Método de fabricación de núcleo polimérico en cubierta polimérica

Una gran cantidad de núcleos poliméricos y cubiertas poliméricas se prepararon de acuerdo con los Ejemplos 1 y 3, respectivamente. Se verificaron las dimensiones de los núcleos y cubiertas poliméricos y los núcleos se colocaron en las cubiertas. Los implantes resultantes se colocaron en un dispositivo de inyección y se sometieron a radiación gamma por encima de 25 kGy antes de su administración.

10

Ejemplo 5

Resultados de fabricación de núcleo polimérico en cubierta polimérica 1

Se seleccionaron los implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 4 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1: 5,9 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,1 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26,0
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	1,10
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,82
Núcleo	Contenido de Acetato de Triptorelina (mg/mg)	0,342
	Dosis media (mg)	5,9
	Pureza media (%)	97,3
	Carga de núcleo del implante en acetato de triptorelina (%)	40,2

15

Ejemplo 6

Resultados de fabricación de núcleo polimérico en cubierta polimérica 2

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 4 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2: 6,4 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 0,85 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26,1
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	0,85
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,65
Núcleo	Contenido de Acetato de Triptorelina (mg/mg)	0,597
	Dosis media (mg)	6,4
	Pureza media (%)	97,6
	Carga de núcleo del implante en acetato de triptorelina (%)	70,3

20

Ejemplo 7

Resultados de fabricación de núcleo polimérico en cubierta polimérica 3

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 4 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3: 9,1 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,1 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26,0
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	1,10
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,82
Núcleo	Contenido de Acetato de Triptorelina (mg/mg)	0,486
	Dosis media (mg)	9,5
	Pureza media (%)	97,8
	Carga de núcleo del implante en acetato de triptorelina (%)	57,2

5

Ejemplo 8

Resultados de fabricación de núcleo polimérico en cubierta polimérica 4

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 4 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4: 4,2 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 0,87 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26,3
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	0,87
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,70
Núcleo	Contenido de Acetato de Triptorelina (mg/mg)	0,352
	Dosis media (mg)	4,2
	Pureza media (%)	97,4
	Carga de núcleo del implante en acetato de triptorelina (%)	41,4

10

Ejemplo 9

Resultados de fabricación de núcleo polimérico en cubierta polimérica 5

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 4 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5: 6,2 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,08 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26,2
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	1,08
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,90
Núcleo	Contenido de Acetato de Triptorelina (mg/mg)	0,345
	Dosis media (mg)	6,2
	Pureza media (%)	97,5
	Carga de núcleo del implante en acetato de triptorelina (%)	40,6

Ejemplo 10

Resultados de fabricación de núcleo polimérico en cubierta polimérica 6

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 4 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 6 a continuación.

Tabla 6: 4,1 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 0,85 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26,1
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	0,85
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,65
Núcleo	Contenido de Acetato de Triptorelina (mg/mg)	0,394
	Dosis media (mg)	4,1
	Pureza media (%)	97,6
	Carga de núcleo del implante en acetato de triptorelina (%)	46,3

5

Ejemplo 11

Resultados de fabricación de núcleo polimérico en cubierta polimérica 7

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 4 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 7 a continuación.

Tabla 7: 4,9 mg de núcleo polimérico de acetato de triptorelina en una cubierta de 0,85 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26,1
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	0,85
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,65
Núcleo	Contenido de Acetato de Triptorelina (mg/mg)	0,464
	Dosis media (mg)	4,9
	Pureza media (%)	97,7
	Carga de núcleo del implante en acetato de triptorelina (%)	54,6

10

Ejemplo 12

Método de fabricación de núcleo de triptorelina en cubierta

Los ejemplos 12 a 16 se refieren a la preparación de implantes de acuerdo con la invención que comprenden un núcleo de acetato de triptorelina en una cubierta tubular polimérica de PLGA.

15 Cuarenta partes de agua por inyección y 60 partes de acetato de triptorelina se pesaron en dos recipientes separados que se conectaron por medio de una válvula. Se usó una bomba para crear un vacío en el recipiente de acetato de triptorelina. Las jeringas se pusieron en contacto y el agua se succionó hacia los espacios vacíos entre las partículas de polvo.

El gel formado por agua y acetato de triptorelina se homogeneizó mediante mezclado.

20 El acetato de triptorelina resultante en gel de agua se cargó en una cubierta preparada de acuerdo con el Ejemplo 3. La cubierta se pesó antes y después del llenado para confirmar que se dosificó la cantidad correcta de acetato de triptorelina en agua.

25 El acetato de triptorelina y el agua cargados dentro del tubo se secaron en dos etapas. La mezcla se incubó durante 2-48 h a 20-30°C y presión atmosférica para producir un cambio conformacional y después se secó 6 h-24 h al vacío para reducir el contenido de agua.

Ejemplo 13

Resultados de fabricación de núcleo de triptorelina en cubierta 1

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 12 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 8 a continuación.

Tabla 8: 6,3 mg de núcleo de acetato de triptorelina en una cubierta de 0,85 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	0,85
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,65
Núcleo	Dosis media (mg)	6,3
	Pureza media (%)	98,6

5

Ejemplo 14

Resultados de fabricación de núcleo de triptorelina en cubierta 1

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 12 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 9 a continuación.

Tabla 9: 10,0 mg de núcleo de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,10 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	1,10
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,85
Núcleo	Dosis media (mg)	10,0
	Pureza media (%)	98,4

10

Ejemplo 15

Resultados de fabricación de núcleo de triptorelina en cubierta 1

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 12 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 10 a continuación.

Tabla 10: 6,3 mg de núcleo de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,1 mm		
Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	26,0
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	1,10
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,82
Núcleo	Dosis media (mg)	6,3
	Pureza media (%)	98,6

15

Ejemplo 16

Resultados de fabricación de núcleo de triptorelina en cubierta 1

Se seleccionaron seis implantes preparados de acuerdo con el Ejemplo 12 que tienen el conjunto de propiedades establecidas en la Tabla 11 a continuación.

Tabla 11: 7,2 mg de núcleo de acetato de triptorelina en una cubierta de 1,2 mm

Cubierta	Longitud de la cubierta (mm)	28
	Diámetro externo de la cubierta (mm)	1,2
	Diámetro interno de la cubierta (mm)	0,8
Núcleo	Dosis media (mg)	7,2
	Pureza media (%)	98,8

Ejemplo 17

Proceso de extrusión doble

- 5 Un PLGA 85:15 en polvo se extruyó primero en granulados. Se extruyeron aproximadamente 600 g de polvo de PLGA y 586,88 g se recuperaron en granulados (correspondientes a un rendimiento de 86%). Los granulados fueron variables.

El parámetro de extrusión fue el siguiente:

Parámetros	Valor objetivo	Especificaciones	
		Máx	Mín
Zona de temperatura 1	148°C	155°C	125°C
Zona de temperatura 2	148°C	155°C	125°C
Zona de temperatura 3	155°C	175°C	145°C
Zona de temperatura 4	130°C	145°C	115°C
Velocidad del tornillo	30tr/min	45tr/min	25tr/min
Humedad	45	75	15
Presión	/	325	/
Torque	/	20	/
Velocidad de estiramiento	/	40	/
Oxígeno	/	40	10
Corte de longitud	1 mm	/	/
Diámetro	1000 µm	1500 µm	500 µm
Temperatura de baño	20°C	23°C	17°C
Temperatura de alimentación	/	27°C	17°C

- 10 Las muestras se produjeron con un conjunto específico de equipos colocados en serie en una única línea de producción, un extrusor de núcleo y un sistema de recubrimiento/deposición tubular.

Ejemplo 18

Núcleo de granulados de PLGA/acetato de triptorelina que contiene 34% de acetato de triptorelina

Este experimento se realizó con granulados de PLGA y acetato de triptorelina (PLGA + sustancia activa). El proceso de la concentración de acetato de triptorelina en granulados fue de aproximadamente 34%.

- 15 Parámetros del proceso:

Parámetros	Valor real
Extrusión del núcleo A (Núcleo)	
Zona de temperatura 1 (°C)	130

Zona de temperatura 2 (°C)	130
Zona de temperatura 3 (°C)	130
Temperatura del material (°C)	130
Presión del material (bar)	105
Velocidad del tornillo (rpm)	8
Torque de tornillo (m/N)	64,7
Sistema de recubrimiento/deposición B (Núcleo)	
Zona de temperatura 1 (°C)	140
Zona de temperatura 2 (°C)	150
Zona de temperatura 3 (°C)	140
Temperatura del material (°C)	145
Presión del material (bar)	45
Velocidad del tornillo (rpm)	20
Torque de tornillo (m/N)	
Velocidad de carrusel (m/min)	

Las dos partes, núcleo y carcasa, mostraron una alta adhesión y permanecieron unidas.

Ejemplo 19

Método de liberación de núcleo polimérico y núcleo polimérico en cubierta polimérica *in vitro*

- 5 Los Ejemplos 19 y 20 se refieren a estudios *in vitro* del núcleo polimérico del Ejemplo 2 y un núcleo polimérico en cubierta polimérica del Ejemplo 6.

10 El siguiente procedimiento se usó en pruebas de liberación *in vitro* de implantes de acuerdo con los Ejemplos 2 y 6: El aparato comprendió un baño de disolución USP I (sistema de canastas) modificado, conectado a un procesador de muestras automático (MAXIMIZER™) con impresora para registrar datos en línea y un espectrofotómetro UV-Vis con sistema multicelular con termostato mediante un baño de recirculación programable. El circuito de recirculación de este baño incluyó un vaso de 2L donde se mantuvo el medio de liberación usado en la segunda parte del ensayo.

El espectrofotómetro se conectó a una PC que ejecutó el software CHEMSTATION™ y controló el muestreo, el análisis y las condiciones de baño durante el ensayo.

Otras condiciones fueron como se establece a continuación.

- 15 • Gradiente de temperatura: 56 horas a 37°C, aumento hasta 55°C en 24 horas y 55°C hasta el final.
- Medio de liberación: PBS pH=7,4 durante 44 horas. Luego ocho transferencias (una cada 4 horas): que consistieron en extracción de 25 ml de medio de PBS e introducción de ácido láctico 20mM precalentado pH = 3. Después de estas transferencias se mantuvo el medio de liberación. Ambos medios se desgasificaron antes de su uso.
- Velocidad de agitación: 75 rpm.
- 20 • Volumen del medio de disolución: 100 ml.
- Duración: 7 días para implantes / 10 días para microtubo (no definido completamente).
- Análisis en línea: UV-Vis (280 nm).

Ejemplo 20

Resultados de liberación de núcleos poliméricos y núcleos poliméricos en cubiertas poliméricas *in vitro*

- 25 El perfil de liberación *in vitro* de un núcleo polimérico del Ejemplo 2 y un implante del Ejemplo 6 se obtuvieron de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 19. El perfil de liberación *in vivo* se muestra en la Figura 1.

El perfil de liberación *in vitro* es notablemente más lento cuando el núcleo polimérico de acetato de triptorelina y

PLGA se cubre con una cubierta polimérica de PLGA que cuando no está cubierto.

Ejemplo 21

Método de núcleo polimérico en cubierta polimérica *in vivo*

5 Los ejemplos 1 a 22 se refieren a estudios *in vivo* de implantes de acuerdo con la invención que comprenden un núcleo polimérico de acetato de triptorelina y PLGA en una cubierta tubular polimérica de PLGA.

Se usó el siguiente procedimiento para pruebas *in vivo* de implantes de acuerdo con la invención.

Se seleccionaron seis perros Beagle macho y se administró un implante a cada perro mediante vía subcutánea en la parte de atrás del cuello.

10 Un implante producido de acuerdo con el Ejemplo 4 se colocó manualmente en el dispositivo para su administración por inyección. El implante y el dispositivo se expusieron a radiación gamma por encima de 25 kGy. El dispositivo en la forma de una jeringa se pesó antes y después de la administración para verificar la administración completa.

15 Se obtuvieron muestras de sangre por la vena cefálica. El programa de muestreo de 6 meses se preparó de la siguiente manera: antes de la inyección (tiempo 0), 15 y 30 min, 1, 2, 4, 8 y 12 h y luego 1, 2, 3, 7, 10, 15, 20, 24, 27, 30, 37, 44, 51, 60, 69, 76, 83, 90, 105, 120, 135, 150, 165, 180 d. Si las concentraciones de triptorelina ya se habían detectado y los perros se habían castrado, las muestras se tomaron una vez cada 14 a 16 d desde este tiempo hasta que los niveles de triptorelina estuvieron repetidamente por debajo de los niveles detectables y los niveles de testosterona estuvieron por encima del límite de castración.

20 Las muestras se extrajeron en una jeringa que contenía un anticoagulante y un conservante. El contenido de cada jeringa se mezcló cuidadosamente. Las muestras de sangre permanecieron en un baño de agua fría hasta que se centrifugaron (1600 g durante 20 min a 4°C). Finalmente, 1 ml del plasma se transfirió a criotubos de polipropileno para análisis de testosterona y el plasma restante se transfirió a tubos de poliestireno para análisis de triptorelina. Se congelaron rápidamente por debajo de -20°C, temperatura a la cual se mantuvieron hasta su análisis.

25 Las concentraciones de triptorelina en plasma se determinaron por medio del método RIA. Este método, previamente validado, implica la preparación de curvas estándar calibradas y la inclusión de muestras de control de calidad. El límite de cuantificación es 20 pg·ml⁻¹.

30 Además, la concentración de testosterona en muestras de plasma de perro se analizó después de la extracción en fase sólida en línea de 0,3 ml de muestras de plasma de perro acopladas a LC-MS/MS usando la testosterona trideuterada como estándar interno y plasma en blanco de perra para que no interfiriera con los niveles de testosterona basal presentes en perros macho saludables. Este método, previamente validado, implica la preparación de curvas de calibración estándar y la inclusión de muestras de control de calidad de plasma en blanco de perra para que no interfiera con los niveles de testosterona basal presentes en perros macho.

Los implantes de los Ejemplos 6 a 8 anteriores fueron administrados a perros en los Ejemplos 22 a 24 correspondientes.

35 La administración se realizó a través de agujas que tenían un diámetro externo de 1,2 o 1,4 mm o por medio de un Retroinyector.

Ejemplo 22

Resultados *in vivo* de núcleo polimérico en cubierta polimérica 1

Implantes del Ejemplo 6 se inyectaron en seis perros de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 21. El perfil de liberación *in vivo* se muestra en la Figura 2.

40 Después de la administración subcutánea, los niveles del fármaco en plasma fueron cuantificables durante al menos 8 meses en todos los perros. El nivel en plasma medio ± DE de triptorelina a los 6 meses fue de 25 ± 0,08 ng/ml. La gráfica de los niveles en plasma con respecto a los tiempos de muestreo mostró un muy buen control de brotes (C_{máx} media ± DE de 25 ± 0,87 ng/ml) a un t_{máx} medio de 4 horas. Luego, después de una leve disminución en los niveles de triptorelina hasta 30 días, se observó una liberación de orden cero hasta 90 días (alrededor del valor de C_{30.90d} media de 0,127 ng/ml). Se observaron niveles en plasma pico en todos los perros entre 90 y 180 días, con concentraciones de triptorelina en el rango de 0,379 a 1,395 ng/ml.

Ejemplo 23

Resultados *in vivo* de núcleo polimérico en cubierta polimérica 2

50 Implantes del Ejemplo 7 se inyectaron en seis perros de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 21. El perfil de liberación *in vivo* se muestra en la Figura 3.

Después de la administración subcutánea, los niveles del fármaco en plasma fueron cuantificables durante al menos 7 meses en cinco de los seis perros. El nivel en plasma medio \pm DE de triptorelina a los 6 meses fue de $0,13 \pm 0,11$ ng/ml. La gráfica de los niveles en plasma con respecto a los tiempos de muestreo mostró un buen control de brotes ($C_{m\acute{a}x}$ media \pm DE de $6,0 \pm 1,6$ ng/ml) a un $t_{m\acute{a}x}$ medio de 2,5 horas. Luego, después de una leve disminución en los niveles de triptorelina hasta 30 días, se observó una pseudoliberación de orden cero hasta 90 días (aproximadamente valor $C_{30,90d}$ media de $0,341$ ng/ml). Posteriormente, los niveles disminuyeron rápidamente hasta 105 días (de valor de C_{90d} media de $0,42$ ng/ml a valor de C_{105d} media de $0,10$ ng/ml). Finalmente, se observaron niveles en plasma pico en todos los perros entre 105 y 150 días, con concentraciones de triptorelina en el rango de $0,226$ a $0,678$ ng/ml.

10 Ejemplo 24

Resultados *in vivo* de núcleo polimérico en cubierta polimérica 3

Implantes del Ejemplo 8 se inyectaron en seis perros de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 21. El perfil de liberación *in vivo* se muestra en la Figura 4.

Después de la administración subcutánea, los niveles del fármaco en plasma fueron cuantificables durante al menos aproximadamente 8 meses en cinco de los seis perros. El nivel en plasma medio \pm DE de triptorelina a los 6 meses fue de $25 \pm 0,26$ ng/ml. La gráfica de los niveles en plasma con respecto a los tiempos de muestreo mostró un buen control de brotes ($C_{m\acute{a}x}$ media \pm DE de $7,4 \pm 1,7$ ng/ml) a un $t_{m\acute{a}x}$ medio de 4 horas. Luego, después de una leve disminución de los niveles de triptorelina hasta 20 días, se observó una pseudoliberación de orden cero hasta 150 días (alrededor del valor de $C_{20,150d}$ media de $0,36$ ng/ml).

20 Ejemplo 25

Resultados *in vivo* de núcleo de triptorelina en cubierta polimérica 1

Los ejemplos 25 y 26 se refieren a estudios *in vivo* de implantes de acuerdo con la invención que comprenden un núcleo de triptorelina en una cubierta tubular polimérica de PLGA.

Implantes del Ejemplo 13 se inyectaron en seis perros de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 21. El perfil de liberación *in vivo* se muestra en la Figura 5.

Después de la administración subcutánea, los niveles del fármaco en plasma fueron cuantificables durante al menos 6 meses en todos los perros. El nivel en plasma medio \pm DE de triptorelina a los 6 meses fue de $25 \pm 0,05$ ng/mL. La gráfica de los niveles en plasma con respecto a los tiempos de muestreo mostró un buen control de brotes ($C_{m\acute{a}x}$ media \pm DE de $25 \pm 2,3$ ng/ml) a un $t_{m\acute{a}x}$ medio de 1 hora. Luego, después de una rápida disminución de los niveles de triptorelina de 1 hora a 12 horas, se observó una liberación de orden cero a los 40 días (alrededor del valor de $C_{0,5-40d}$ media de $0,633$ ng/ml). Se observaron dos niveles en plasma pico en la mayoría de los perros entre 40 y 90 días y de 98 a 180 días, con concentraciones de triptorelina en el rango de $0,414$ a $2,164$ ng·ml⁻¹ y de $0,307$ a $1,311$ ng/ml, respectivamente.

Ejemplo 26

35 Resultados *in vivo* de núcleo de triptorelina en cubierta polimérica 2

Implantes del Ejemplo 14 se inyectaron en seis perros de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 21. El perfil de liberación *in vivo* se muestra en la Figura 6.

Después de la administración subcutánea, los niveles del fármaco en plasma fueron cuantificables durante al menos 6 meses en cinco de los seis perros. El nivel en plasma medio \pm DE de triptorelina a los 6 meses fue de $0,12 \pm 0,15$ ng/ml. La gráfica de los niveles en plasma con respecto a los tiempos de muestreo mostró un buen control de brotes ($C_{m\acute{a}x}$ media \pm DE de $25 \pm 5,0$ ng/ml) a un $t_{m\acute{a}x}$ medio de 1 hora. Luego, después de una rápida disminución de los niveles de triptorelina de 1 hora a 1 día, se observó una liberación de orden cero a los 30 días (alrededor del valor de $C_{0,5-30d}$ media de $0,552$ ng/ml). Luego se observaron dos niveles en plasma pico en la mayoría de los perros entre 30 y 90 días y de 90 a 180 días con concentraciones de triptorelina en el rango de $0,323$ a $3,709$ ng·ml⁻¹ y de $0,457$ a $2,247$ ng/ml, respectivamente.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de un implante alargado que comprende los siguientes pasos
 - preparar una cubierta polimérica o copolimérica,
 - preparar una solución de entre 40 y 80% (p/p) de acetato de triptorelina en agua,
- 5
 - colocar la solución en la cubierta,
 - incubar la solución durante 2-48 h a 20-30°C y
 - secar durante 6-24 h al vacío.
2. Un implante alargado para la liberación controlada y sostenida del análogo de GnRH acetato de triptorelina, comprendiendo el implante
- 10
 - una cubierta polimérica o copolimérica que tiene al menos un extremo abierto y
 - en la cubierta, un núcleo que comprende el acetato de triptorelina, obtenible mediante el proceso de la reivindicación 1.
3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polímero o copolímero se forma a partir de ácido láctico y/o ácido glicólico.
- 15
 - 4. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polímero o copolímero es un copolímero de ácido láctico y ácido glicólico.
 - 5. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la relación entre el ácido láctico y el ácido glicólico en el copolímero de ácido láctico y ácido glicólico PLGA se encuentra en el rango de 70:30 a 90:10.
- 20
 - 6. El implante de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la cubierta polimérica o copolimérica se forma a partir de ácido láctico y/o ácido glicólico.
 - 7. El implante de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la cubierta polimérica o copolimérica es un copolímero de ácido láctico y ácido glicólico (PLGA).
 - 8. El implante de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la relación entre el ácido láctico y el ácido glicólico en el PLGA se encuentra en el rango de 70:30 a 90:10.
- 25
 - 9. El implante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 y 6 a 8 que es capaz de liberación sostenida durante al menos 3 meses, preferiblemente durante al menos 6 meses.
 - 10. El implante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 y 6 a 9, en donde el acetato de triptorelina está presente en una cantidad dentro del rango de 0,5 a 50 mg, preferiblemente presente en una cantidad en el rango de 2 a 20 mg.
- 30
 - 11. El implante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 y 6 a 10, en donde la longitud axial del implante se encuentra entre 2 y 3 cm, preferiblemente la longitud axial del implante es de aproximadamente 2,6 cm.

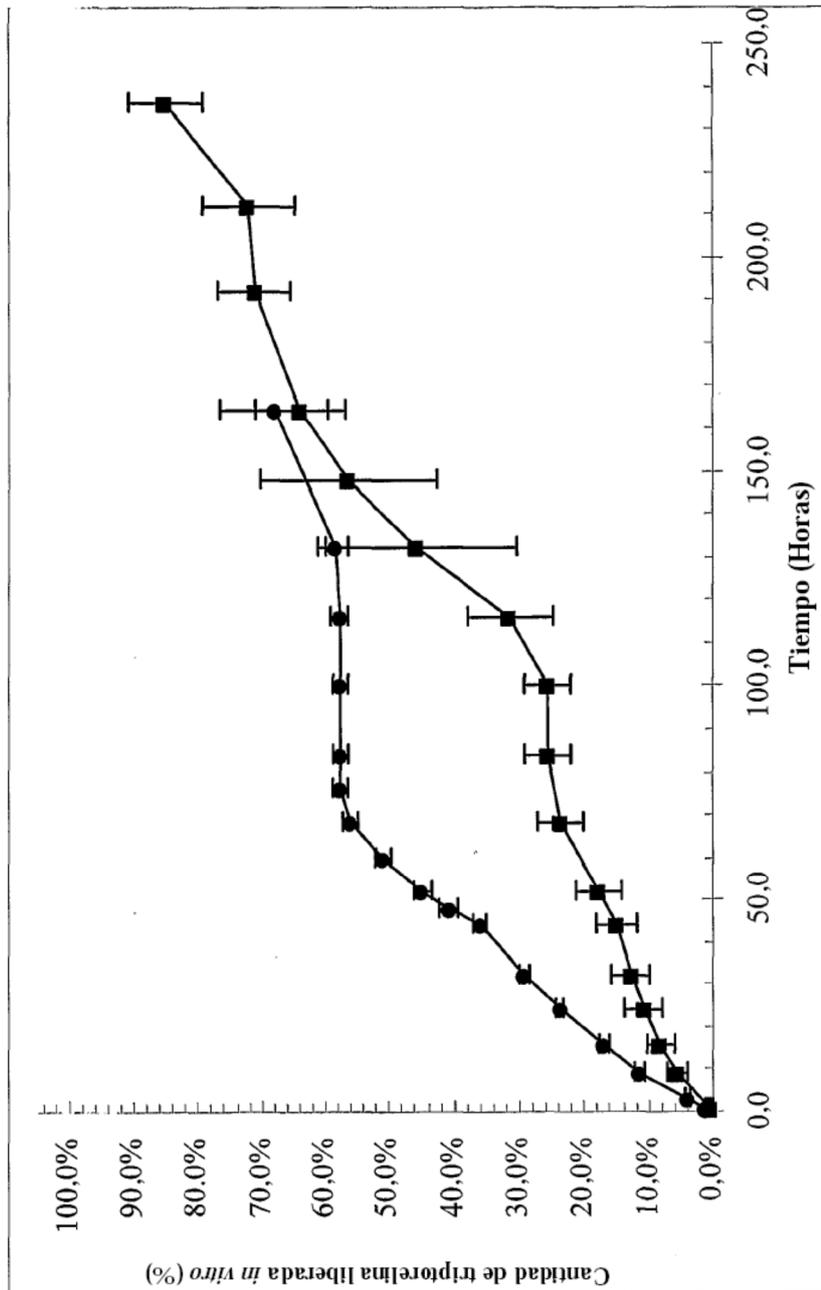


Figura 1

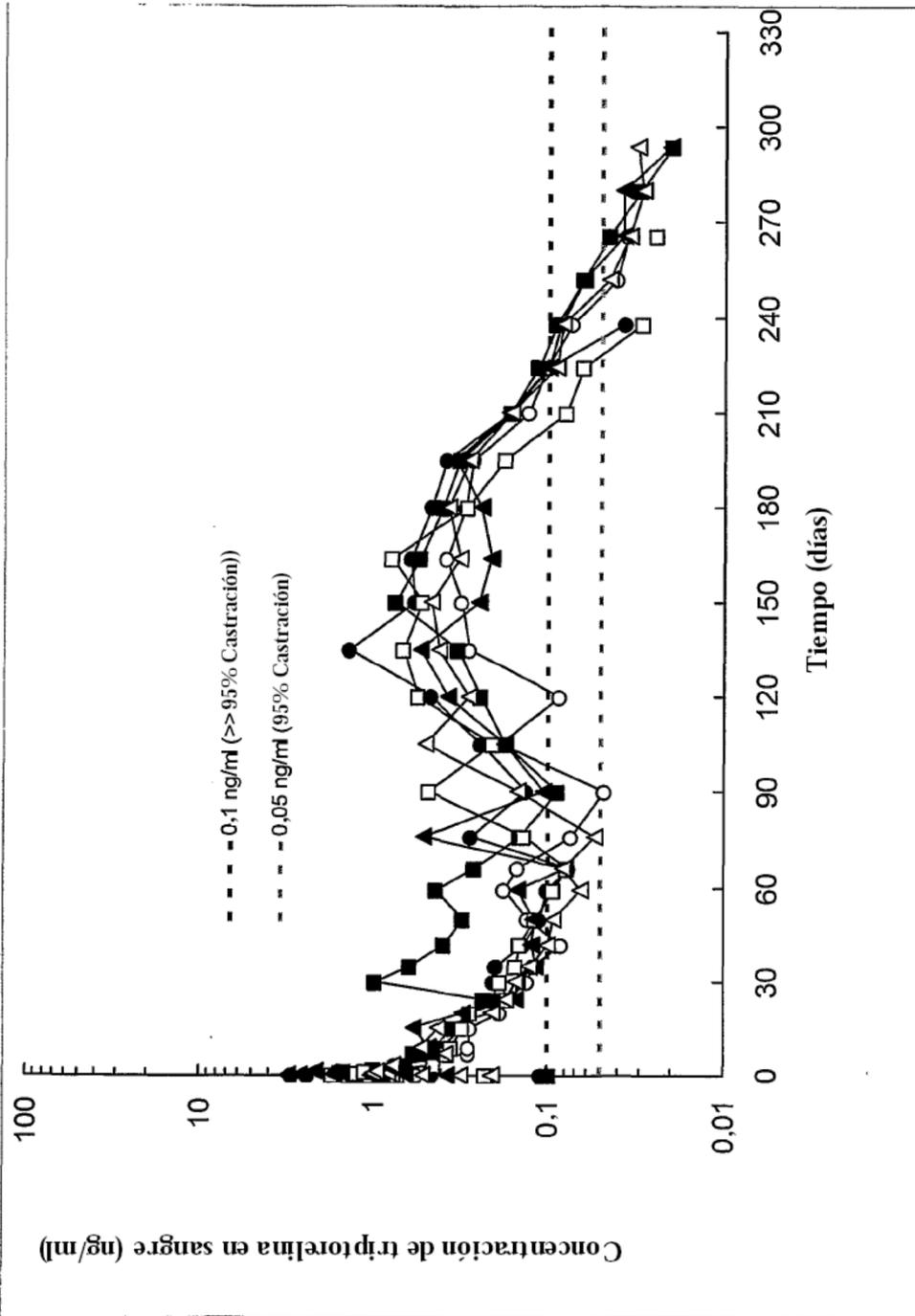


Figura 2

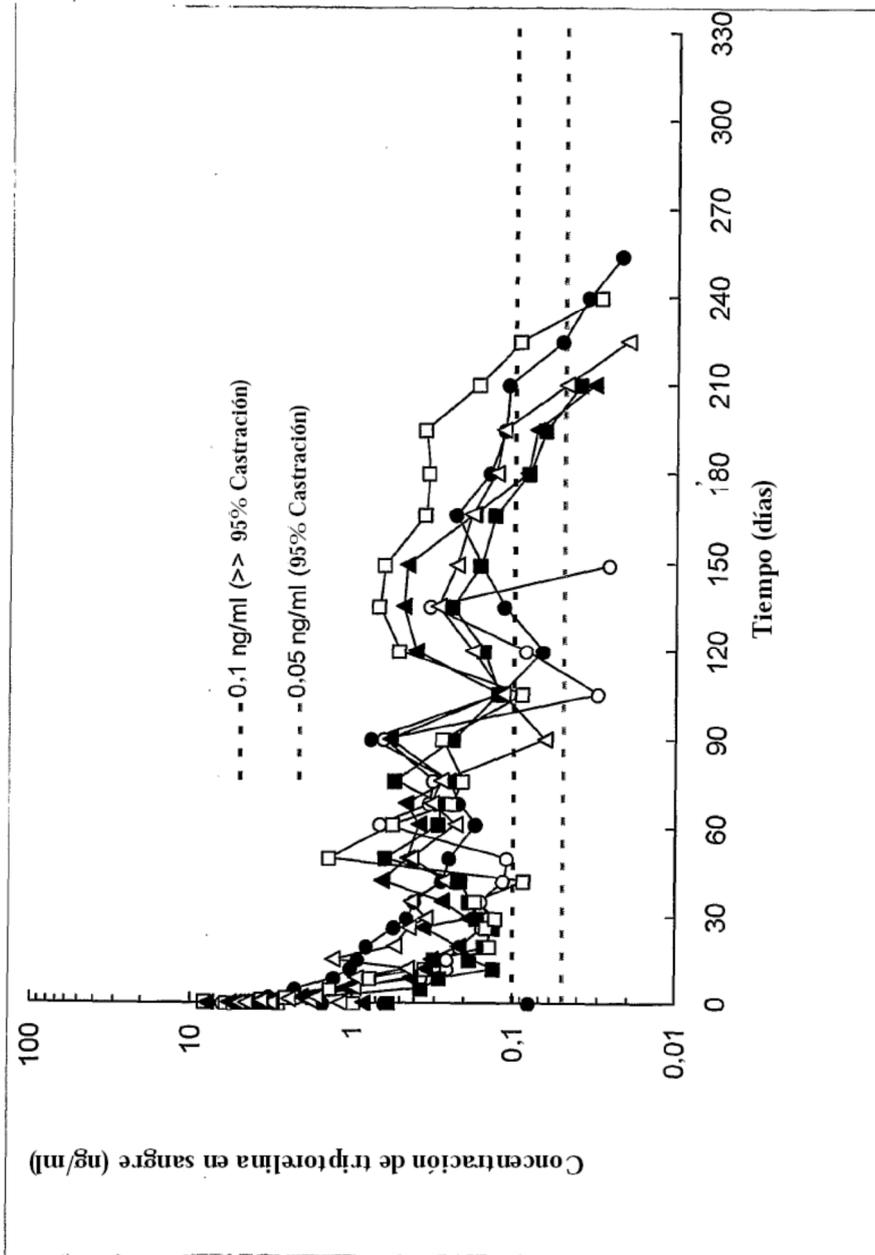


Figura 3

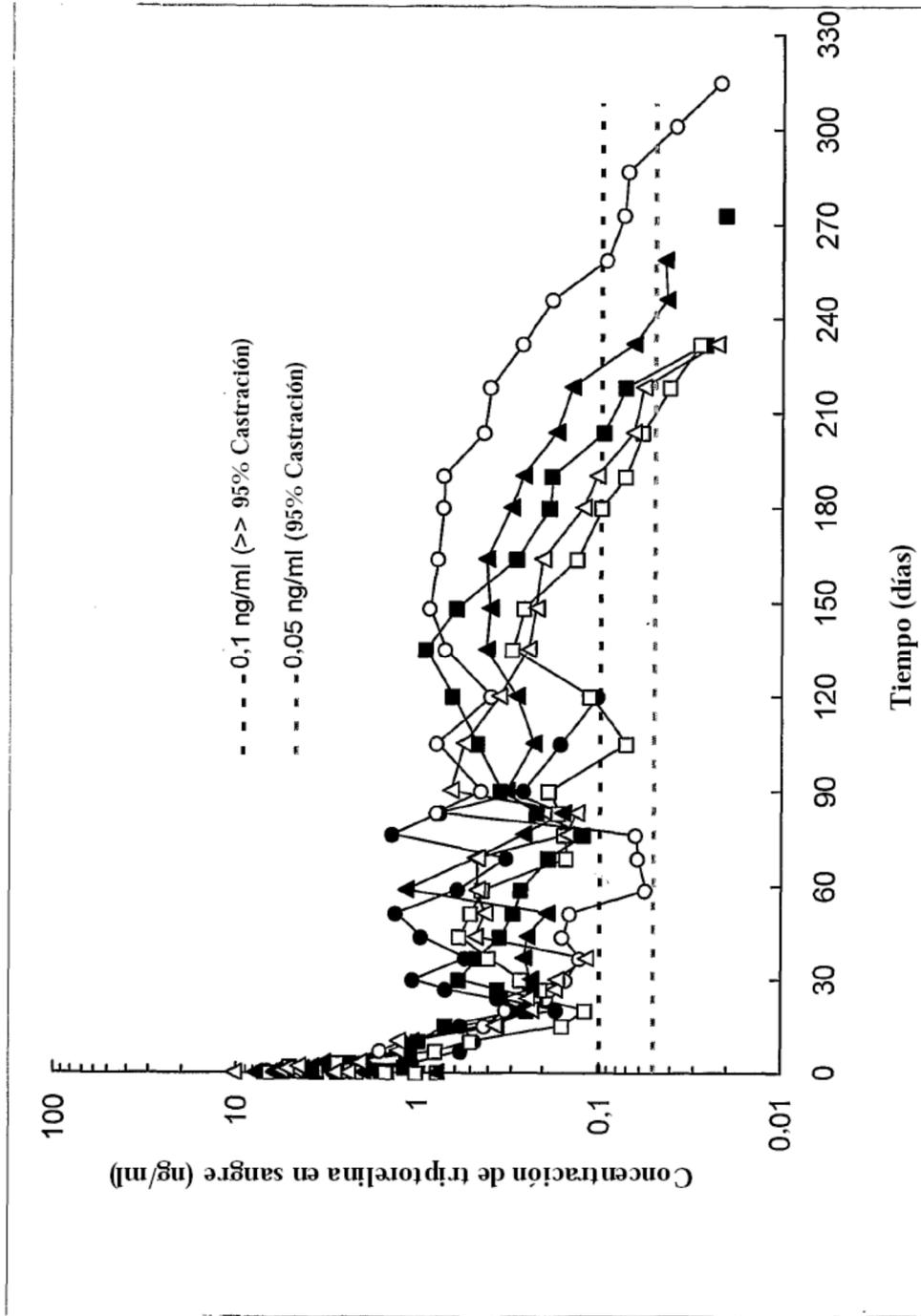


Figura 4

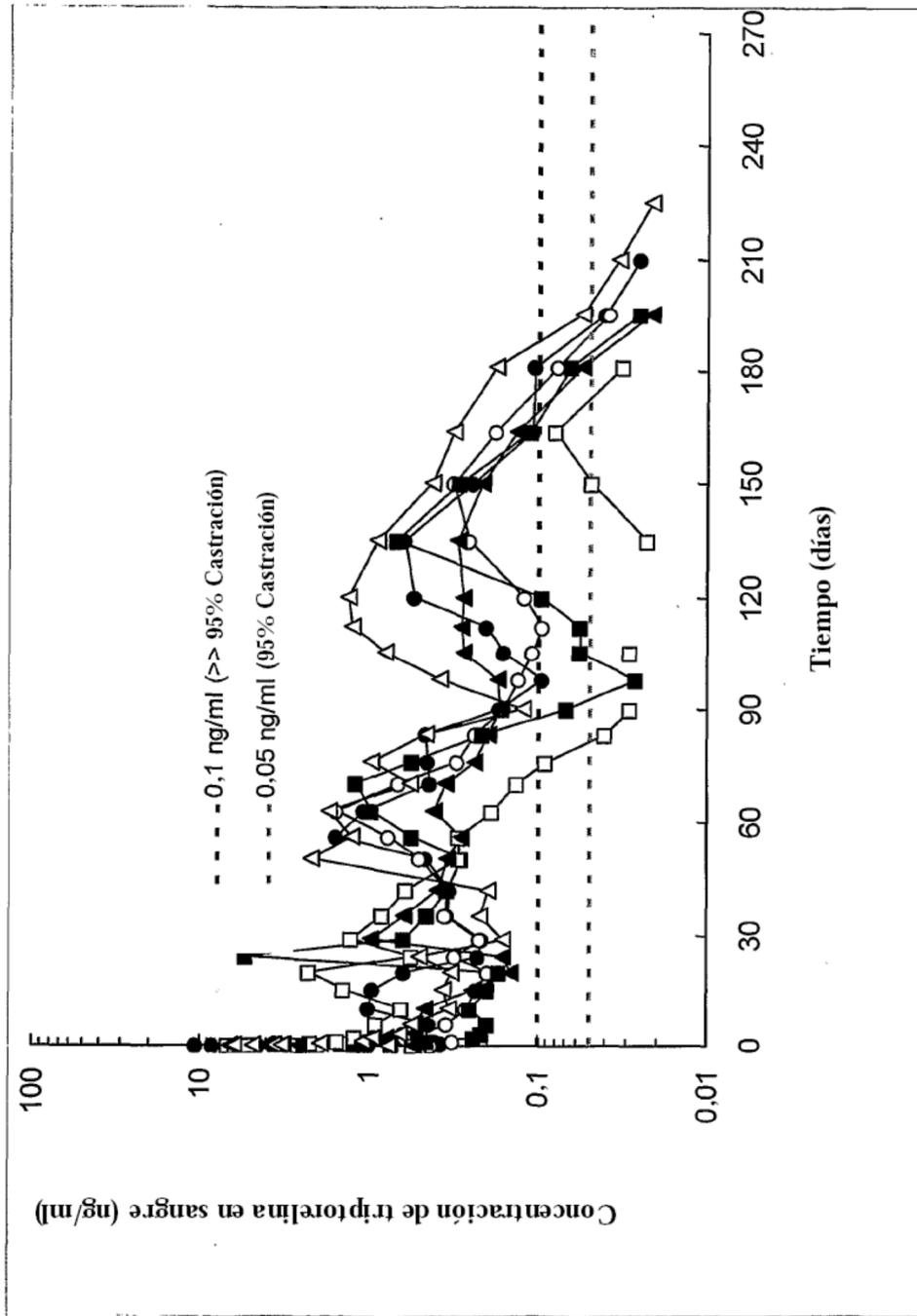


Figura 5

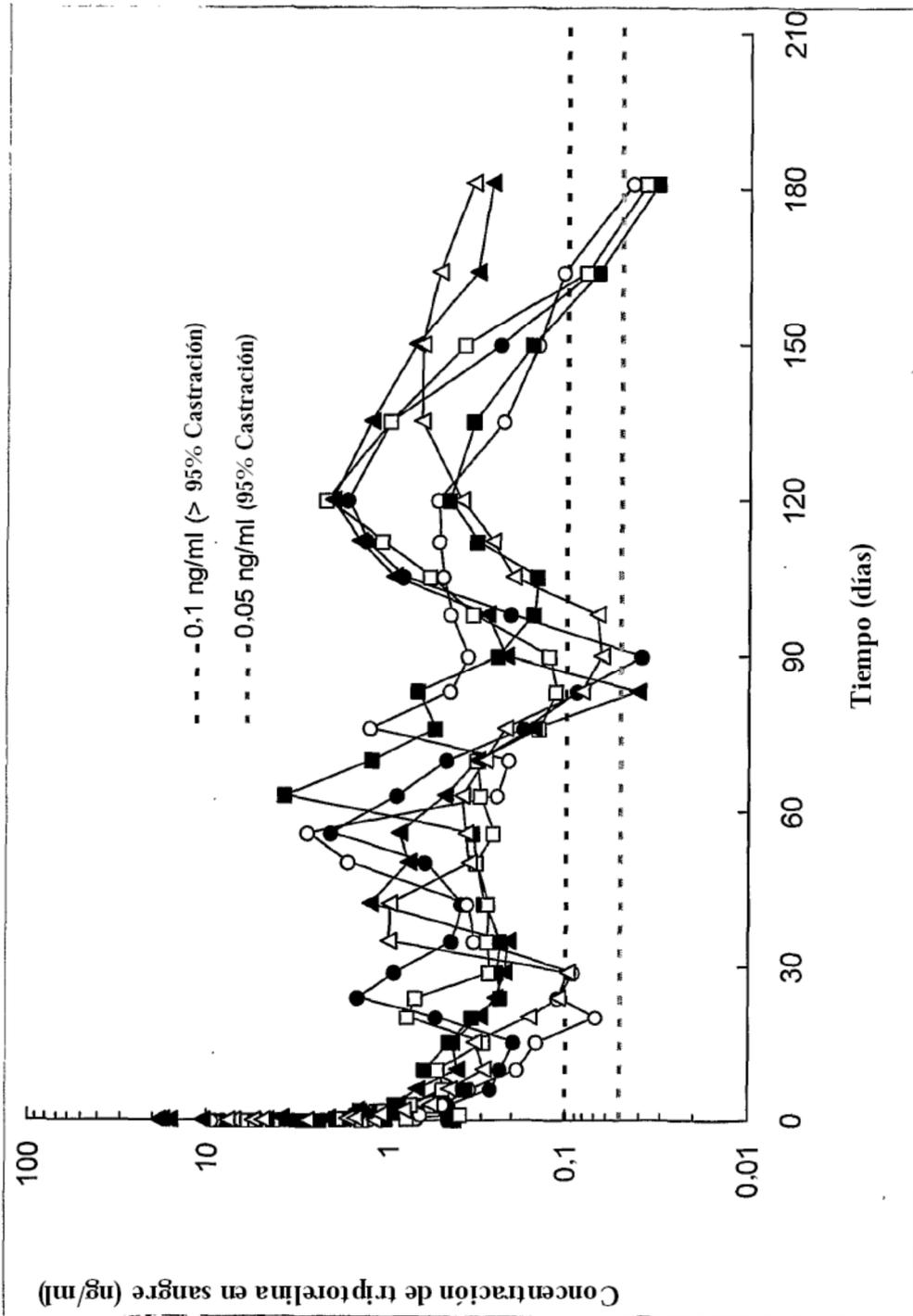


Figura 6