

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 388**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61M 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.05.2009 PCT/CN2009/000510**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.04.2010 WO10040271**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.05.2009 E 09818735 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018 EP 2346563**

54 Título: **Microagujas poliméricas de transición de fases**

30 Prioridad:

07.10.2008 US 103560 P

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

27.11.2018

73 Titular/es:

**JIN, TUO (100.0%)
Shanghai Jiao Tong University School of
Pharmacy 800 Dongchuan Road
Shanghai 200240, CN**

72 Inventor/es:

JIN, TUO

74 Agente/Representante:

SERRAT VIÑAS, Sara

ES 2 691 388 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

Microagujas poliméricas de transición de fases

5 **Referencia cruzada y solicitudes relacionadas**

Esta solicitud reivindica prioridad del documento estadounidense con número de serie 61/103.560 presentado el 7 de octubre de 2008.

10 A lo largo de toda esta solicitud, se hace referencia a diversas publicaciones. Las divulgaciones de estas publicaciones, en su totalidad, se incorporan por el presente documento como referencia en esta solicitud para describir más completamente el estado de la técnica a la que pertenece esta invención.

15 **Campo de la invención**

15 La presente invención describe un parche de microagujas poliméricas que supera las limitaciones de los sistemas de microagujas existentes y puede usarse para un sistema de administración transdérmica para agentes terapéuticos y otras aplicaciones. Las microagujas de esta matriz de microagujas poliméricas son lo suficientemente duras y fuertes como para penetrar en la piel en un estado seco pero se convierten en una forma de hidrogel cuando absorben 20 líquido corporal o agua. Este sistema ofrece una permeabilidad a través de la piel suficiente y administración de liberación controlada de agentes hidrófilos, incluyendo proteínas, péptidos, ADN, ARN y otros fármacos.

Antecedentes de la invención

25 La administración no invasiva de agentes terapéuticos proteicos y peptídicos ha sido un objetivo tradicional en el desarrollo farmacéutico. Tomando la diabetes como ejemplo, para evitar la inyección frecuente a lo largo de toda la vida, los esfuerzos de investigación de vías no invasivas para reemplazar a la inyección comenzaron tan pronto como en 1921. Desde entonces, se han examinado muchas estrategias sin inyección, incluyendo el sistema de administración por inhalación desarrollado por Pfizer y Nekerta que se retiró del mercado tan pronto como se 30 comercializó. La reciente retirada del producto de Pfizer-Nekerta, Exubera, (junto con el reciente fracaso de GlaxoSmith-Kline en el desarrollo de insulina oral con Nobex) han demostrado de nuevo que administrar fármacos hidrófilos que incluyen proteínas-péptidos a través de las barreras biológicas naturales es una tarea desalentadora.

35 Gracias a los avances en la tecnología de sistemas microelectromecánicos (MEMS), estuvieron disponibles microagujas, una matriz de agujas de varios cientos de micrómetros de longitud. La disponibilidad de una matriz de microagujas ha proporcionado una solución prometedora para la administración de fármacos a través de la piel sin sensación de dolor y daño a la piel. Las agujas pueden penetrar en la capa más impermeable de la piel (estrato córneo) sin herir la dermis y los nervios. Teóricamente, un parche transdérmico equipado con una matriz de este tipo de las microagujas huecas para penetrar en el estrato córneo y con un depósito de fármaco para almacenar agentes 40 terapéuticos puede ser una solución ideal para la administración transdérmica de agentes hidrófilos. Desde un punto de vista práctico, sin embargo, las matrices de microagujas fabricadas mediante la tecnología de MEMS son demasiado caras como forma de dosificación desechable diaria. Para una administración de fármacos prolongada, las agujas de metal tienen que retenerse en la piel durante periodos de tiempo prolongados. Esto puede provocar irritación de la piel y retraso en la recuperación de los orificios perforados en la piel por las agujas. En el caso de que 45 las agujas se rompan y dejen metal u otras partículas inorgánicas en la piel, puede inducirse una irritación de la piel más grave. Además, los agentes terapéuticos proteicos almacenados en el depósito en estado de disolución pueden tener un problema de estabilidad cuando se unen a la piel a temperatura corporal.

50 Para reducir costes y simplificar el procedimiento de fabricación de microagujas, se usaron pulverizaciones con agujas sólidas hechas de silicio, metales, polímeros y azúcares para la administración transdérmica de fármacos. Se usó una matriz de microagujas sólidas para perforar microorificios en la piel en primer lugar, luego se hicieron gotear disoluciones de fármaco sobre el sitio de perforación inmediatamente después de que la matriz de microagujas se retirara. Sin embargo, el tipo de administración de fármacos de perforación-goteo se ve comprometido por la falta de control en la dosis y la captación cutánea del fármaco. Los orificios perforados por la matriz de microagujas pueden 55 cerrarse tras retirar las agujas de modo que la difusión del fármaco a través de la piel puede terminarse por accidente.

60 La fabricación de matrices de microagujas usando materiales poliméricos tales como poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), celulosa, amilopectina, maltosa, polivinilpirrolidona (PVP) reticulada es una estrategia razonable para mejorar la biocompatibilidad del parche. Estos sistemas, sin embargo, todavía no pueden ofrecer una administración de fármacos de liberación sostenida o controlada. Las matrices de microagujas hechas de PLA, PGA o PLGA pueden no contener fármaco y se usan del mismo modo que las agujas de metal sólidas: para perforar microorificios en la piel, seguido por diseminar disoluciones de fármaco sobre el sitio de perforación. Sigue existiendo el problema de cierre por accidente de los microorificios. Estos 65 sistemas de matrices de microagujas pueden fabricarse también con carga de fármaco en la cavidad de las agujas. Los fármacos pueden liberarse por vía subcutánea mediante la degradación gradual del polímero del que están

5 formadas las microagujas. Sin embargo, la degradación de PLA, PGA y PLGA es a menudo demasiado lenta como para administrar el fármaco a la velocidad requerida. Además, la carga de proteínas en una cavidad hidrófoba puede provocar que las macromoléculas se desnaturalicen. Además, tras la degradación de las microagujas (hechas de los polímeros degradables), los canales a través del estrato córneo ya no existirán más de modo que sólo los fármacos cargados en la cavidad de la aguja tienen la posibilidad de administrarse.

10 Las matrices de microagujas hechas de celulosa, amilopectina, maltosa, PVP reticulada son solubles en agua y contienen fármacos en el cuerpo de las agujas. Los fármacos se administran cuando las microagujas se disuelven mediante el líquido corporal. Este tipo de matrices de microagujas ofrecen una dosis bien definida de fármaco, pero no pueden lograr una administración sostenida o controlada a lo largo de un periodo de tiempo prolongado puesto que los orificios pueden cerrarse tras disolverse las agujas. Hasta la fecha aún sigue sin haber un sistema de matriz de microagujas que proporcione administración de fármacos transdérmica sostenida y controlada.

15 El documento WO 2007/030477 da a conocer un perforador de disolución sólida disoluble. El fármaco activo está en una forma particulada o el fármaco se absorbe sobre la superficie de las partículas en el material de la cavidad que se disuelve en contacto con el cuerpo de un paciente.

20 El documento US A2002/082543 da a conocer dispositivos de microagujas y comenta métodos y materiales para fabricar y usar dispositivos de microagujas, en los que las microagujas están formadas por un primer y segundo material en donde el segundo material está dispersado por todo el primer material o forma parte de la microaguja. El segundo material puede ser un fármaco. Las agujas actúan como una función de conducto o el fármaco puede romperse deliberadamente para liberar el fármaco.

25 El documento WO 2004/024224 da a conocer microperforadores porosos dispuestos en una matriz de múltiples perforadores para administrar un fármaco, en los microperforadores pueden disolverse *in situ*. En el caso de que el microperforador poroso no se disuelva, el fármaco se libera desde o a través de los poros. El material del microperforador es sólido.

30 El documento WO 2008/011625 da a conocer dispositivos de microagujas en los que las microagujas se disuelven o se hinchan tras su inserción en una barrera biológica.

Sumario de la invención

35 El sistema de microagujas en esta invención está formado por materiales poliméricos hidrófilos que son duros y lo suficientemente fuertes como para penetrar en la epidermis en estado vítreo seco, pero experimentan una transición de fases al estado de hidrogel absorbiendo líquido corporal cuando entran en contacto con la dermis. Este parche transdérmico consiste en una matriz de microagujas y una placa de depósito de fármaco (denominada "placa de contención" a continuación) sobre la parte superior de la cual las microagujas están dispuestas como una matriz (como una pieza integrada). Pueden cargarse agentes terapéuticos y otros agentes que van a administrarse en la cavidad de las agujas y la placa de depósito, o cargarse sólo en las agujas.

40 El mecanismo de funcionamiento del sistema de microagujas de transición de fases se ilustra en la figura 1. Las microagujas formadas de los polímeros hidrófilos penetran en la epidermis, luego absorben fluido corporal para hidratarse hasta el estado de hidrogel permeable a proteínas, péptidos, genes u otros agentes terapéuticos solubles en agua cargados en la cavidad de las agujas y/o la placa de depósito. Durante la transición de fases de las agujas y la placa desde el estado seco hasta el estado de gel hidratado, se abren (se forman) canales de difusión para los agentes lipófilos cargados en el sistema. Este sistema de microagujas difiere del fabricado de polisacárido porque las microagujas no desaparecen por la hidratación, sino que permanecen en la piel como canales de difusión sostenidos. La administración de liberación controlada se logra mediante tres factores: transición de fases del polímero, difusión del fármaco, así como el procedimiento de fabricación del parche de microagujas (colada programada).

45 Además de la naturaleza de la transición de fases, una ventaja importante de este sistema de matriz de microagujas es su procedimiento de fabricación fácil aunque multifuncional. La matriz de microagujas puede prepararse simplemente mediante colada de una disolución acuosa del polímero que forma las microagujas sobre un molde que tiene microorificios alineados sobre su superficie como una matriz. La forma final del parche de microagujas se forma secando la disolución colada y se desprende del molde. Se añaden fármacos que van a administrarse a la disolución de polímero antes de la colada sobre el molde. Una característica única e interesante de este sistema es que su procedimiento de fabricación puede usarse para lograr un patrón de liberación deseado. Mediante una colada programada (es decir, colada de disoluciones de polímero con diferente concentración de fármacos por etapas en el molde), puede lograrse un perfil de liberación de fármacos programado de manera precisa. La figura 2 describe el procedimiento de colada programada esquemáticamente.

60 Por ejemplo, una disolución de polímero cargada con fármaco se cuele en primer lugar sobre el molde con microorificios alineados para formar una capa que contiene microagujas. Entonces, se cuele una disolución de polímero libre de fármaco (o reducida en fármaco) sobre la parte superior de la primera capa. Esta colada de carga

de fármaco y libre de fármaco (o reducida en fármaco) puede repetirse varias veces, mediante lo cual puede lograrse un perfil de liberación de múltiples pulsos programada. En este caso, la altura de pico de cada pulso puede determinarse mediante la concentración del fármaco en la disolución de polímero respectiva, la anchura de pico de cada pulso viene decidida por el grosor de la capa de polímero respectiva, y el intervalo de picos está controlado por el grosor de la capa libre de fármaco (o reducida en fármaco). Para lograr una liberación lineal (de orden cero), la concentración de fármaco se aumenta gradualmente durante la colada programada.

El molde puede ser una placa hecha de materiales hidrófilos que consisten en una matriz de microorificios sobre la superficie. El molde puede estar hecho de materiales permeables al aire si se usa vacío para forzar la disolución de polímero que se irriga dentro de los microorificios.

El método de la invención puede comprender además una etapa para retirar el parche de microagujas secado del molde tras la etapa d).

La disolución de polímero para cada nueva colada repetida puede ser la misma o diferente a otras en composición de polímero y contenido de agentes terapéuticos.

La lámina de polímero puede fabricarse colando la disolución de polímero sobre una placa plana sin orificios, seguido por secado.

El método de la invención puede comprender además cubrir y envasar el parche de microagujas desprendido del molde para evitar la absorción de humedad en almacenamiento y evitar la evaporación de agua cuando se aplica sobre la piel.

La tecnología de colada programada puede permitir también preparar parches de microagujas con agujas duras y placa de contención blanda (incluso en estado seco) usando diferentes disoluciones de polímero para capas respectivas de colada. Este tipo de parche puede preferirse para aplicaciones de cuidado de la piel porque los parches pueden ajustarse al contorno (silueta) de los rostros humanos.

Descripción de las figuras

Figura 1. Ilustración esquemática del mecanismo de funcionamiento del sistema de microagujas de transición de fases.

Figura 2. Descripción esquemática del método de fabricación de microagujas usando el método de colada programada.

Figura 3. Imagen fotográfica de un parche de microagujas preparado colando una disolución mixta de PVA y dextrano sobre un molde hecho de yeso.

Figura 4. Imagen fotográfica de un trozo de piel de cerdo perforada mediante un parche de microagujas teñido (mediante azul tripano) de PVA y dextrano.

Figura 5. Perfiles de liberación acumulada de insulina a partir de parches de microagujas formados por PVA y dextrano (PVA/dextrano = 80/20) por medio de diversos ciclos de congelación-descongelación.

Figura 6. Perfiles de liberación acumulada de insulina a partir de parches de microagujas formados por PVA y dextrano sometidos a 4 ciclos de tratamientos de congelación-descongelación pero diferentes en las razones de PVA/dextrano.

Figura 7. Perfil de liberación acumulada de insulina a partir de parches de microagujas formados por PVA y dextrano (PVA/dextrano = 80/20) preparados mediante tres capas de colada programada (cargada con fármaco + libre de fármaco + cargada con fármaco).

Figura 8. Perfil de liberación horaria de insulina a partir de parches de microagujas formados por PVA y dextrano (PVA/dextrano = 80/20) preparados mediante tres capas de colada programada (cargada con fármaco + libre de fármaco + cargada con fármaco).

Descripción detallada de la invención

Selección de materiales poliméricos

La selección del polímero o polímeros que forman las microagujas es la primera etapa para preparar parches de microagujas de transición de fases. El polímero debe ser soluble en agua antes de que se forme el parche con el fin de añadir los fármacos en su disolución acuosa y colarlo sobre un molde. Además, los materiales poliméricos no deben ser solubles en agua tras formarse el parche de modo que las microagujas que penetran en la piel puedan

retener su forma y crear canales de difusión sostenidos para los agentes que van a administrarse. Por supuesto, los materiales deben ser lo suficientemente duros y fuertes en estado seco como para penetrar en la dermis y poder hincharse cuando entran en contacto con un líquido corporal para abrir los canales de difusión para los fármacos.

5 Los materiales que cumplen los criterios mencionados anteriormente son aquellos que son hidrófilos y solubles en agua en una determinada condición (agua caliente por ejemplo) pero forman una red de hidrogel insoluble en agua a continuación. Hay dos modos de formar una red de hidrogel, mediante reticulación química o mediante reticulación física. Para preparar microagujas de hidrogel reticulado químicamente, un método viable es modificar polisacáridos con grupos reactivos y reticular los grupos reactivos tras colarse la disolución de polisacáridos sobre el molde. Para conseguir microagujas de hidrogel reticuladas físicamente, pueden usarse dos mecanismos, interacción iónica y formación de microcristales. Para el mecanismo de interacción iónica, se permite que grupos cargados de procesamiento de polisacáridos interaccionen con contraiones multivalentes en un sistema de disolución acuosa. Para el mecanismo por medio de formación de microcristales, deben usarse polímeros solubles en agua que puedan formar un dominio microcristalino.

15 Los materiales poliméricos usados para formar el parche de microagujas se han usado en el campo farmacéutico durante años y han demostrado compatibilidad con la piel y con proteínas.

20 Como ejemplo en la presente invención, se usó poli(alcohol vinílico) (PVA) para formar parches de microagujas. El PVA es soluble en agua caliente pero forma un hidrogel cuando su disolución acuosa se congela y se descongela. Cuantos más ciclos experimente la disolución de PVA, más dominios microcristalinos (que funcionan como uniones de reticulación de la red de hidrogel) se forman.

25 Otro criterio importante para la transición de fases es la dureza. El PVA es resistente a la rotura pero puede no ser lo suficientemente duro como para penetrar en la piel. El PVA a su vez es plástico cuando la temperatura ambiental es mayor de 25°C. Este problema puede resolverse fácilmente mezclando PVA con polisacárido, por ejemplo dextrano, alginato, ácido hialurónico, quitosano o celulosa. Sin embargo, puesto que los polisacáridos, tales como dextrano, son solubles en agua, el contenido de polisacárido mezclado en la cavidad de PVA debe limitarse (por debajo del 25% en peso) con el fin de mantener la red de hidrogel y la forma de la aguja cuando entra en contacto con líquido corporal.

30 *Diseño de parches de microagujas*

35 La presente invención también ha dado a conocer varios signos de parches de microagujas. Para la administración transdérmica de liberación controlada de una dosis suficiente, el parche dependido del molde debe consistir en una matriz de microagujas y una placa de depósito de fármaco (la "placa de contención" como una pieza integrada con la matriz de microagujas), con la propia matriz de microagujas como parte del depósito de fármaco. Una vez aplicadas sobre la piel, las microagujas poliméricas penetran en el estrato córneo, y el parche integrado absorbe líquido corporal y se hincha gradualmente hacia arriba desde la parte inferior formando canales de difusión sostenidos para los agentes terapéuticos cargados. El propio proceso de hinchamiento será parte del mecanismo (junto con la difusión de fármaco) de la administración de liberación controlada de las proteínas, los péptidos u otros agentes terapéuticos cargados.

45 La velocidad de liberación de fármaco para un fármaco dado a partir del parche transdérmico puede ajustarse mediante la densidad de uniones de reticulación de la cavidad de hidrogel y los tamaños de los canales de difusión formados mediante hidratación. Estos dos criterios importantes pueden lograrse mediante el procedimiento de formación del parche y la composición del parche. Para el parche de PVA-dextrano examinado en esta invención, cuantos más ciclos del tratamiento de congelación-descongelación mayor será la población de uniones de reticulación que se formarán; cuanto más contenido de dextrano mezclado en la cavidad de PVA, más canales de difusión pueden formarse.

50 Para lograr una liberación de múltiples pulsos programada, es viable un procedimiento de colada programada. Las disoluciones de polímero acuoso cargadas con diversas concentraciones de un fármaco dado pueden colarse sobre un molde de formación de microagujas (molde de colada) por etapas y en un programa bien diseñado, de modo que el perfil de liberación puede diseñarse de manera precisa.

55 Para alcanzar un perfil de liberación lineal (de orden cero), se llevará a cabo una colada en gradiente de concentración (de fármaco). En resumen, la colada será por etapas en un orden tal desde las disoluciones de polímero cargadas con una concentración inferior de un fármaco dado hasta el fármaco de concentración superior.

60 Para los agentes terapéuticos biológicos con un peso molecular por encima de 10 K, los tamaños de los canales de difusión de la cavidad de hidrogel pueden no ser suficientemente grandes. En este caso, los agentes terapéuticos macromoleculares se cargarán principalmente en la parte de microaguja (es decir las microagujas serán el depósito de fármaco principal).

65 Esta tecnología de microagujas también puede usarse como membranas cosméticas. En este caso, el parche está

diseñado de tal modo que las microagujas son duras pero la placa de contención es blanda con el fin de ajustarse a la silueta (contorno) de los rostros humanos. Como ejemplo para esta invención, se mezclará PEG (o glicerol) en lugar de polisacáridos en la cavidad de PVA de la placa de contención.

5 *Procedimiento de colada y diseño del molde*

Un procedimiento de colada aceptable y factible para fabricar el parche de microagujas de transición de fases debe garantizar dos objetivos: 1) tener la disolución de polímero viscosa rellena en los microorificios del molde de colada; 2) secar el parche de microagujas colado sin colapso y deformación de las agujas. En la presente invención, los dos objetivos se lograrán mediante diseños racionales del procedimiento de colada y el molde de colada. Para permitir que la disolución polimérica (una disolución de polímero es normalmente viscosa) rellene los microorificios, debe aplicarse una fuerza. Pueden concebirse dos fuerzas: fuerza de centrifugación y presión hidrostática. Desde la finalidad de fabricación, esto último es más asequible y más fácil de aumentar a escala. Por otro lado, para evitar el colapso y la deformación de las agujas, el proceso de secado debe garantizar que no se produzca colapso inducido por secado en las agujas (aunque puede producirse en la placa de contención). En otras palabras, la evaporación de agua debe comenzar a partir de las agujas de modo que las agujas puedan endurecerse antes que la placa de contención.

El diseño del molde tiene que cumplir los requisitos del procedimiento comentados anteriormente. Para forzar que la disolución de polímero hidrófilo rellene los microorificios, los materiales del molde (o los microorificios) deben ser permeables al aire para evitar el atrapamiento de aire en los microorificios durante la colada. La permeabilidad al aire puede permitir también la aplicación de un vacío al lado posterior del molde para aspirar la disolución de polímero dentro de los microorificios (es decir, para crear una fuerza hidrostática para forzar a la disolución dentro de los orificios). Por otro lado, el molde no debe tener fugas de la disolución líquida de modo que los componentes para formar el parche no se perderán en los poros de los materiales del molde. La propiedad de superficie del material del molde, especialmente la superficie de los microorificios que entra en contacto con la disolución de polímero de formación de microagujas, debe ser hidrófila para permitir un buen contacto con la disolución de polímero acuosa. Sin embargo, el contacto no debe ser adhesivo de modo que las microagujas secadas puedan desprenderse fácilmente del molde. Como ejemplo, se usan materiales cerámicos y yeso para formar el molde en la presente invención.

20 *Envasado del parche de microagujas de transición de fases*

Puesto que la transición de fases inducida por agua (desde xerogel duro a hidrogel blando) está implicada en el mecanismo de funcionamiento del parche de microagujas, el envasado a prueba de agua es una etapa importante para la fabricación del sistema para evitar el ablandamiento de las microagujas al absorber humedad. Otra función del envasado es proteger la punta afilada de las microagujas. El envasado del parche de microagujas implica una parte posterior a prueba de agua que tiene un entorno adhesivo con la piel para el contacto con la piel, una membrana de teflón delgada en la que penetran las microagujas y en contacto estrecho con la superficie de la placa de contención, una capa de esponja en la que se insertan las microagujas y otra membrana a prueba de agua sobre la parte superior de la esponja para sellar el parche frente a la absorción de humedad. Antes de la aplicación, la membrana superior y la capa de esponja se retiran.

45 *Aplicaciones del parche de microagujas de transición de fases*

Los parches de microagujas de transición de fases desarrollados en esta invención pueden usarse para la administración transdérmica de una variedad de agentes terapéuticos incluyendo fármacos proteicos y peptídicos, genes y ARN, vacunas de subunidades y agentes cosméticos. Proteínas y péptidos que pueden administrarse a través de la vía transdérmica usando el parche de microagujas de transición de fases son cualquiera de aquellos con un peso molecular menor de 200 K, tales como insulina, calcitonina, eritropoyetina (EPO), exanatida, GLP-1, GM-CSF, interferón, factor VIII, interleucinas, HSF, interferón humano recombinante pegilado-alfa 2b (PEG-IFNa2b), interferón humano recombinante (IFN), hormona paratiroidea humana recombinante (PTH1-84), ligando de CD40 soluble humano recombinante (CD154)/TRAP, proteína morfogenética ósea humana recombinante (BMP), interleucina-15 humana recombinante (IL-15), factor inhibidor de leucemia humano recombinante (LIF), interleucina-2 humana recombinante (IL-2), hormona del crecimiento humana recombinante (rHGH), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento de fibroblastos básico(FGF), factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-β1), IGF, factor de crecimiento endotelial vascular humano recombinante (VEGF), PDGF, factor de crecimiento de células endoteliales (ECGF), NGF, BDGF, factor de crecimiento derivado del cerebro A (BDGF-A), antígeno polipeptídico tisular (TPA), anticuerpo, factor de coagulación VIII, factor hereditario IX, inmunoglobulina humana, factores de células madre (SDF), proteína C activada y así sucesivamente. Vacunas de subunidades que pueden administrarse usando este sistema son cualquiera de aquellas con un peso molecular menor de 500 K. Los genes y ARN que pueden administrarse usando este sistema son aquellos que pueden formarse como nanopartículas o como moléculas libres.

65 Para aplicaciones cosméticas, el parche puede diseñarse de manera que: las microagujas son duras en el estado seco, pero la placa de contención es blanda con el fin de ajustarse al contorno de los rostros humanos. Los

materiales para formar las microagujas duras son los mismos que el parche para aplicaciones terapéuticas, mientras que la placa de contención contiene algunos materiales de ablandamiento tales como PEG líquido o glicerol. Para la administración de moléculas extremadamente grandes (es decir, aquellas por encima de 100 K de peso molecular), el agente que va a administrarse debe cargarse principalmente en la cavidad de las microagujas en vez de la placa de contención.

Ejemplos

Los ejemplos a continuación proporcionan una descripción comprensible para ayudar a los trabajadores técnicos familiarizados con los métodos y el conocimiento general a entender mejor la técnica de la presente invención. Los ejemplos no deben usarse para limitar el alcance de esta invención y sus aplicaciones.

Ejemplo 1. Preparación de parche de microagujas de transición de fases usando poli(alcohol vinílico) (PVA) y dextrano.

Se coló una disolución acuosa mixta de PVA (concentración del 15% en peso y peso molecular promedio en peso de 10.000-250.000) y dextrano (concentración del 0-3% en peso y peso molecular promedio en peso de 6.000-5.000.000) sobre un molde de yeso que consistía en una matriz de microorificios. Tras colar la disolución de polímero sobre el molde, se aplicó vacío sobre el otro lado del molde para aspirar la disolución de polímero dentro de los microorificios. Se añadieron fármacos que iban a administrarse (tales como insulina) en la disolución de polímero mezclada antes de colar sobre el molde. Tras rellenar los microorificios con la disolución de polímero, se enfrió la muestra para congelar la disolución a base de agua. La muestra puede congelarse de nuevo tras calentarse hasta temperatura ambiente y el tratamiento de congelación-descongelación puede repetirse varias veces para ajustar la densidad de las uniones de reticulación cristalinas de PVA. Entonces, se cubrió la superficie superior del polímero para retardar la velocidad de evaporación de agua desde la parte superior, y se aplicó vacío de manera continua por debajo del molde para garantizar que las microagujas se secan antes que la placa de contención. Incluso si el sistema colapsaba, el colapso se producía hacia abajo desde la placa de contención hasta las agujas. Finalmente, se desprendió el parche de microagujas secado del molde y se selló con materiales a prueba de agua. La figura 3 muestra una imagen fotográfica de un parche de microagujas desprendido de un molde.

El parche de microagujas desprendido del molde como anteriormente se aplicó sobre un trozo de piel de cerdo sin vello para someter a prueba su capacidad para penetrar en la piel. Antes de aplicar el parche sobre la piel, se tiñeron las microagujas con azul tripano. La figura 4 muestra la imagen fotográfica de la piel de cerdo justo tras habersele colocado el parche de microagujas teñido. Los orificios coloreados indicaron claramente que las microagujas penetraron en la piel.

La concentración de la disolución de polímero es una variable importante en cuanto a optimización del proceso de colada del parche de microagujas. Puesto que la reducción del volumen debido a deshidratación es la causa principal de colapso del parche de microagujas, se prefiere una concentración superior para prevenir o limitar la deformación de las microagujas durante la etapa de secado. Sin embargo, una disolución de polímero de alta concentración es más viscosa de modo que el relleno de los microorificios del molde se convierte en un desafío. Por otro lado, disoluciones de polímero de baja concentración son más fáciles de rellenar en los microorificios pero el colapso del volumen debido a deshidratación se vuelve más significativo. Para determinar el límite de concentración, se examinaron las disoluciones de PVA de desde el 5% hasta el 30% en peso de concentración. Los resultados se resumen en la tabla a continuación.

Tabla 1. Efecto de la concentración de polímero sobre el procedimiento de colada de parches de microagujas

Conc. de PVA	5%	10%	15%	20%	25%	30%
Conc. de Dext.	0,6%	1,3%	2%	2,5%	3%	4%
Solubilización	fácilmente	fácilmente	mediante calentamiento	mediante calentamiento	mediante calentamiento	difícil
Relleno del molde	fácil	fácil	forzado	forzado	forzado	difícil
Razón de colapso	grande	grande	aceptable	aceptable	bueno	N/A
Conclusión	N/A	aceptable	recomendado	recomendado	aceptable	N/A

Ejemplo 2. Cinética de liberación de insulina a partir de parches de microagujas

Para someter a prueba los perfiles de liberación de insulina, se unieron los parches de microagujas preparados como anteriormente a una piel modelo montada sobre una célula de difusión de Franz cargada con tampón PBS a pH 7,4 que se agita a 100 rpm (como vaso de recepción). Se cubrió el parche con película de plástico para impedir la evaporación de agua desde la parte superior. Se examinó la cinética de liberación de insulina a partir del parche a

37°C sometiendo a ensayo el cambio de concentración de insulina en el tampón PBS. Se tomó una muestra de la célula de recepción a un tiempo programado y se sometió a ensayo para determinar la concentración de insulina usando HPLC. En la figura 5 y la figura 6 se muestran, respectivamente, los perfiles de la liberación acumulada de insulina a partir de los parches de microagujas de transición de fases formados por medio de diversos ciclos de tratamiento de congelación-descongelación y formados por PVA y dextrano a diversas razones.

La figura 5 muestra los perfiles de liberación acumulada de los parches preparados a una razón en peso de PVA/dextrano fija (80/20) y ciclos de congelación-descongelación variados (2, 4 y 6). Para los parches preparados por medio de 2 y 4 ciclos de congelación-descongelación, la liberación de insulina se detuvo a las 40 horas desde el experimento. Sin embargo, se liberó el 70% de la carga de insulina total a partir del primero y el 60% a partir del último. La figura 6 muestra los perfiles de liberación de los parches preparados por medio de ciclos de congelación-descongelación fijos (4 ciclos) y razones en peso de PVA/dextrano variadas (100/0, 90/10 y 80/20). La velocidad y el grado de liberación de insulina aumentaron a medida que el contenido en dextrano aumentó.

Ejemplo 3. Preparación de parches de microagujas de transición de fases estratificados por medio de colada programada (moldeo)

Se usaron dos métodos para preparar parches de microagujas de transición de fases estratificados: colada repetida y ensamblaje de láminas preformadas. Para cualquiera que fuera el método, la capa de matriz de microagujas se formó mediante colada de una disolución de polímero sobre el molde que tenía una matriz de microorificios. Para el método de colada repetida, se coló una capa de disolución libre de fármaco (o disolución reducida en fármaco) sobre la parte superior de la primera capa tras el tratamiento de congelación (algunas veces se omitió la etapa de congelación). Esta operación se repitió varias veces hasta que se logró la estructura diseñada. La figura 2 muestra el procedimiento de fabricación esquemáticamente. La concentración de fármaco y el grosor de cada capa pueden variarse para lograr los perfiles de liberación diseñados.

Para el método de ensamblaje (no mostrado mediante las figuras), tras colarse la disolución libre de fármaco o reducida en fármaco sobre la parte superior de la capa de matriz de microagujas, se colocó una lámina de PVA-dextrano cargada con fármaco preformada sobre la capa recién colada. Entonces se coló de nuevo la disolución libre de fármaco o reducida en fármaco sobre la parte superior de la lámina, seguido por el ensamblaje de otra lámina preformada. Esta operación puede repetirse hasta que se ensambla la estructura diseñada. Los dos métodos no tienen diferencias significativas en los perfiles de liberación de fármacos.

Ejemplo 4. Perfiles de liberación de insulina a partir de parches de microagujas de transición de fases preparados mediante colada programada

Se examinaron los parches de microagujas preparados mediante colada programada usando el procedimiento descrito en el ejemplo 2. La figura 7 y la figura 8 muestran un perfil de liberación acumulada y un perfil de liberación horaria de insulina a partir de un parche de microagujas de tres capas (cargada con fármaco + libre de fármaco + cargada con fármaco), respectivamente. La razón en peso de PVA/dextrano del parche era de 85/15, y el contenido en insulina en la capa cargada con fármaco era del 1% en peso. Claramente, se logró el perfil diseñado (dos picos de liberación de insulina con un intervalo de cinco horas) mediante la colada programada.

Ejemplo 5. Preparación de parches de microagujas de transición de fases que consisten en agujas duras y placa de contención blanda

Con el fin de ajustarse al contorno de los rostros humanos, se usó disolución de PVA mezclada con PEG (peso molecular promedio en peso de 100-1.000) o glicerol para colar la placa de contención. En primer lugar, se coló una disolución mixta de PVA y dextrano sobre el molde para la capa que tenía la matriz de microagujas. Tras someterse la muestra a un tratamiento de congelación, se coló otra disolución de polímero que contenía PVA y PEG-600 (o glicerol) sobre la parte superior de la primera capa, seguido por el procedimiento de secado como en el ejemplo 1. Se confirmó que el parche desprendido del molde (tocando el parche con las manos) tenía agujas duras y placa de contención blanda (datos no mostrados).

REIVINDICACIONES

1. Parche de microagujas formado por materiales poliméricos hidrófilos, que comprende una matriz de microagujas que tienen 100-1000 μm de longitud y tienen la capacidad para convertirse desde un estado sólido duro hasta un estado de hidrogel absorbiendo agua y una placa sobre la que las microagujas están dispuestas y alineadas, en el que las microagujas formadas a partir de los materiales poliméricos:
 - a) están estructuradas en forma de una red reticulada con dominios microcristalinos como uniones de reticulación; y
 - b) pueden hincharse con agua pero son insolubles en agua.
2. Parche de microagujas según la reivindicación 1, en el que los materiales poliméricos son la combinación de poli(alcohol vinílico) (PVA) y polisacárido(s), o PVA y polietilenglicol (PEG).
3. Parche de microagujas según la reivindicación 1, en el que las microagujas son duras para penetrar en la piel en estado seco pero se ablandan y permiten que pasen agentes hidrófilos a su través en estado hidratado.
4. Parche de microagujas según la reivindicación 1, en el que al menos un agente bioactivo seleccionado de proteínas, péptidos, vacunas de subunidades, ADN, ARN, otros agentes terapéuticos lipófilos, liposomas que llevan fármacos, nanopartículas que llevan fármacos, o su mezcla de cualquiera agente anterior se carga en los materiales poliméricos hidrófilos.
5. Parche de microagujas según la reivindicación 4, en el que las proteínas y los péptidos se seleccionan de insulina, calcitonina, exantida, GLP-1, HSF, GM-CSF, eritropoyetina (EPO), exantida, interferón, factor VIII, interleucinas, HSF, interferón humano recombinante pegilado-alfa 2b (PEG-IFNa2b), interferón humano recombinante (IFN), hormona paratiroidea humana recombinante (PTH1-84), ligando de CD40 soluble humano recombinante (CD154)/TRAP, proteína morfogenética ósea humana recombinante (BMP), interleucina-15 humana recombinante (IL-15), factor inhibidor de leucemia humana recombinante (LIF), interleucina-2 humana recombinante (IL-2), hormona del crecimiento humana recombinante (rHGH), factor de crecimiento epidérmico EGF, factor de crecimiento de fibroblastos básico (FGF), factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1), IGF, factor de crecimiento endotelial vascular humano recombinante (VEGF), PDGF, factor de crecimiento de células endoteliales (ECGF), NGF, BDGF, factor de crecimiento derivado del cerebro A (BDGF-A), antígeno polipeptídico tisular (TPA), anticuerpo, factor de coagulación VIII, factor hereditario IX, inmunoglobulina humana, factores de células madre (SDF) y proteína C activada.
6. Parche de microagujas según la reivindicación 4, en el que al menos un agente bioactivo puede cargarse en las microagujas y la placa, o cargarse sólo en las microagujas.
7. Parche de microagujas según la reivindicación 2, en el que el/los polisacárido(s) se selecciona(n) de dextrano, quitosano, alginato o hialuronato.
8. Parche de microagujas según la reivindicación 7, en el que la razón en peso de PVA/polisacárido(s) es de entre 100/0 y 75/25.
9. Parche de microagujas según la reivindicación 7, en el que el peso molecular promedio en peso de PVA es de entre 10.000 - 250.000, el peso molecular promedio en peso de dextrano es de entre 6.000-5.000.000, el peso molecular promedio en peso de quitosano es de entre 20.000 - 4.000.000, el peso molecular promedio en peso de alginato es de entre 10.000 - 3.000.000, el peso molecular promedio en peso de hialuronato es de entre 100.000-5.000.000 y el peso molecular promedio en peso de PEG es de entre 100-1.000.
10. Método para preparar el parche de microagujas según la reivindicación 1, que comprende las siguientes etapas:
 - a) preparar una disolución acuosa de los materiales poliméricos (4) que pueden contener o no agentes terapéuticos;
 - b) colar la disolución (4) preparada en la etapa a) sobre un molde que consiste en una matriz de microorificios;
 - c) llenar los microorificios con la disolución de a);
 - d) aplicar un tratamiento de congelación-descongelación a la disolución de polímero colada contenida en los microorificios; y

e) secar el parche de microagujas colado y congelado-descongelado y desprender el parche de microagujas del molde.

- 5
11. Método según la reivindicación 10, en el que el molde se fabrica de materiales permeables al aire.
12. Método según la reivindicación 11, en el que la etapa c) puede aplicarse mediante centrifugación o mediante vacío.
- 10
13. Método según la reivindicación 10, en el que la capa colada de disolución de polímero puede someterse a un tratamiento de congelación-descongelación repetidamente entre -100°C y temperatura ambiente, o entre temperatura ambiente y 160°C durante de 1 a 20 veces.
- 15
14. Método según la reivindicación 10, en el que la disolución de polímero puede colarse sobre la parte superior de la capa ya colada de la disolución de polímero, y la disolución de polímero para cada nueva colada repetida puede ser la misma o diferente a otras en composición de polímero y contenido de agentes terapéuticos.
- 20
15. Método según la reivindicación 14, en el que la operación de nueva colada puede repetirse varias veces hasta 5 veces.

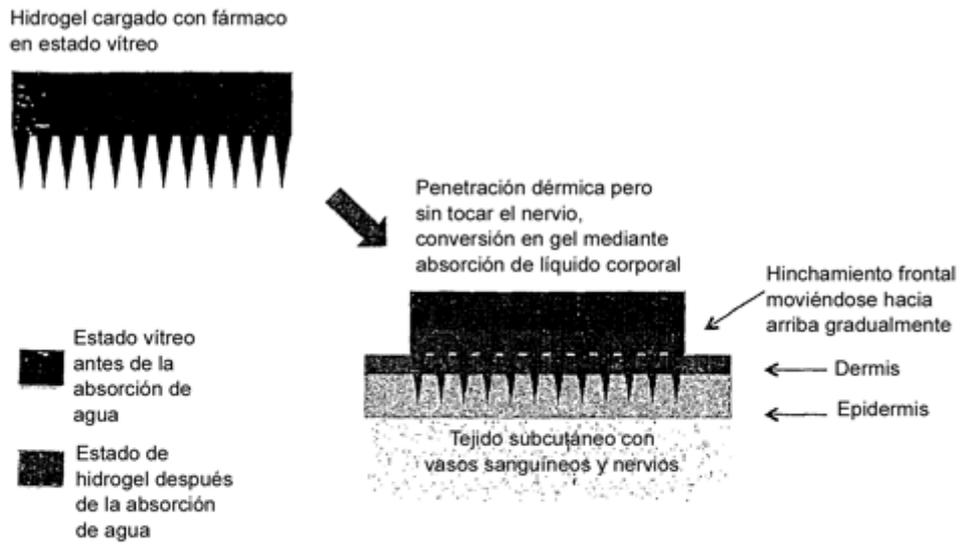


Fig. 1

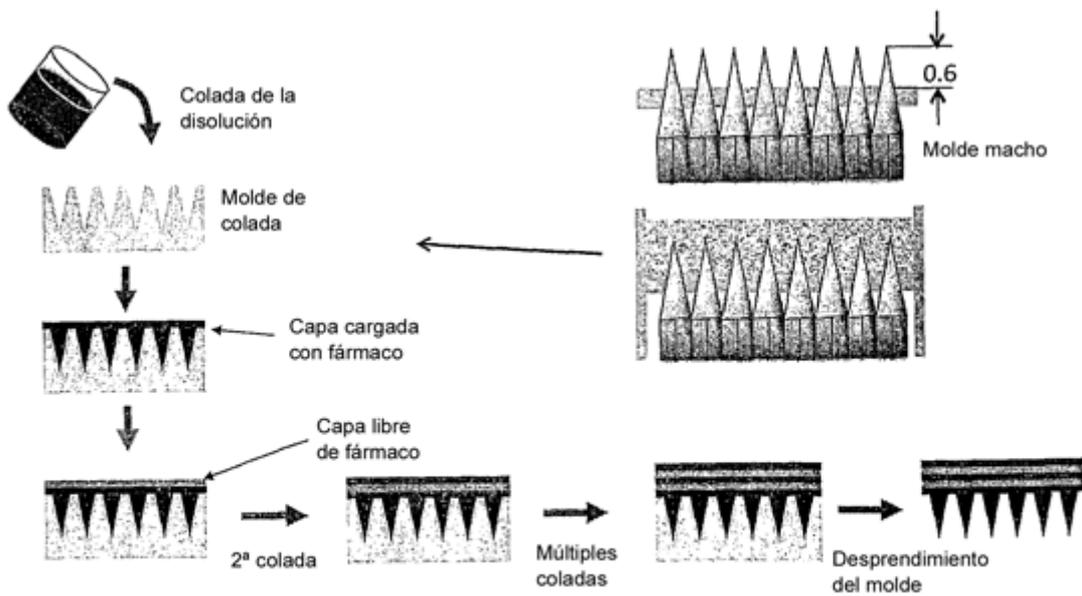


Fig. 2

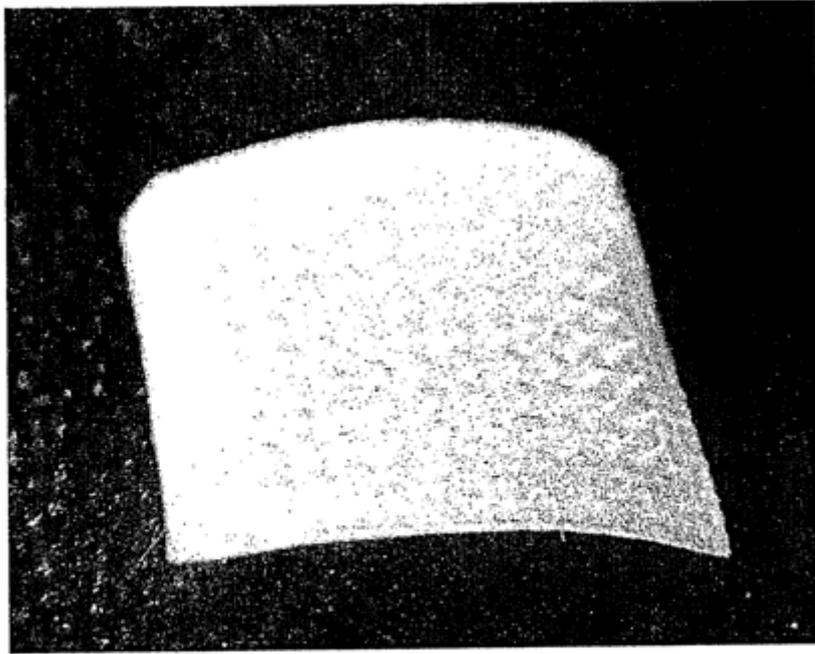


Fig. 3

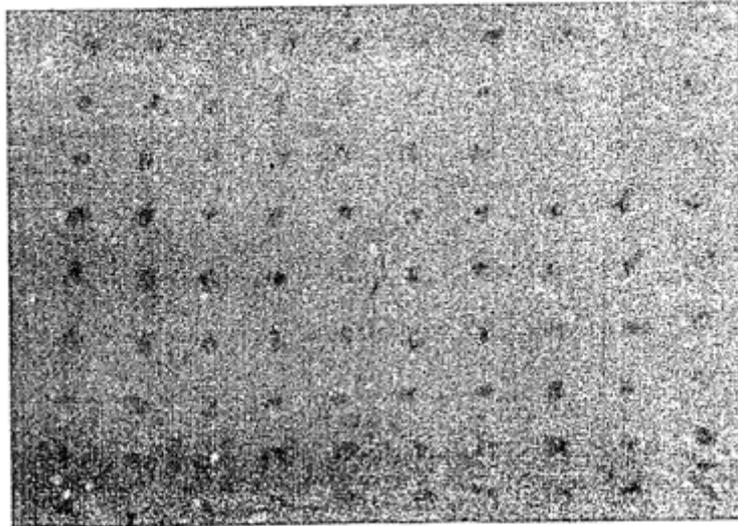


Fig. 4

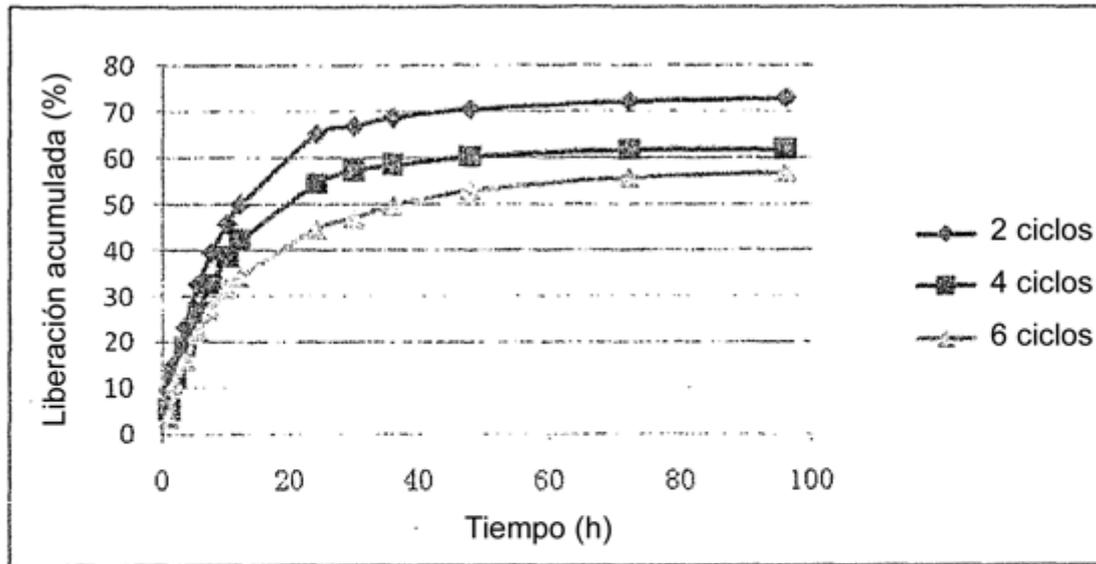


Fig. 5

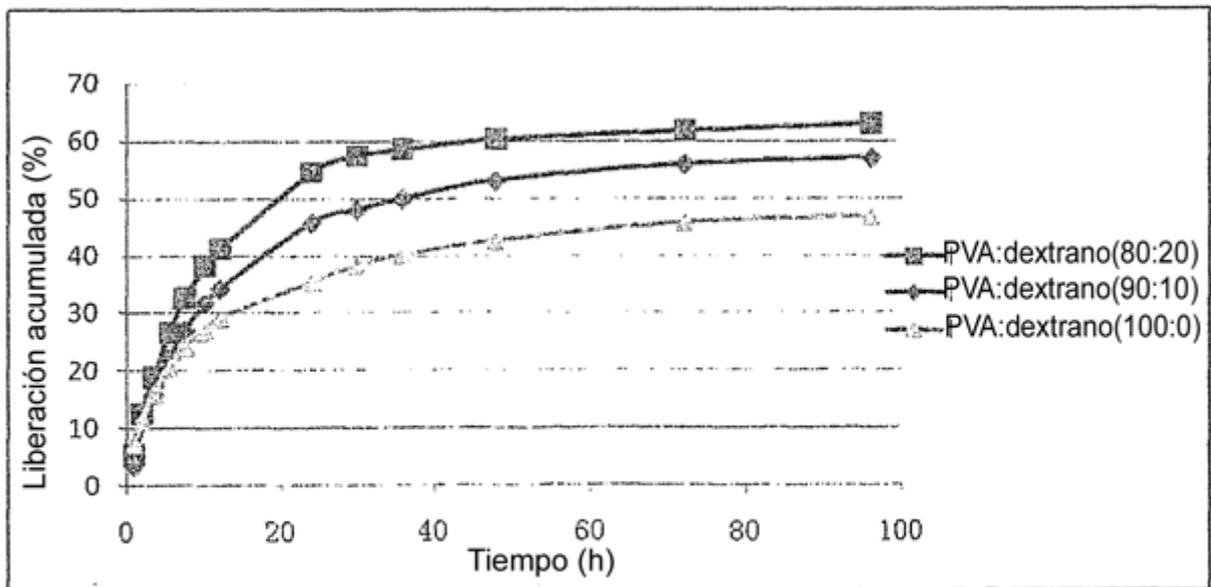


Fig. 6

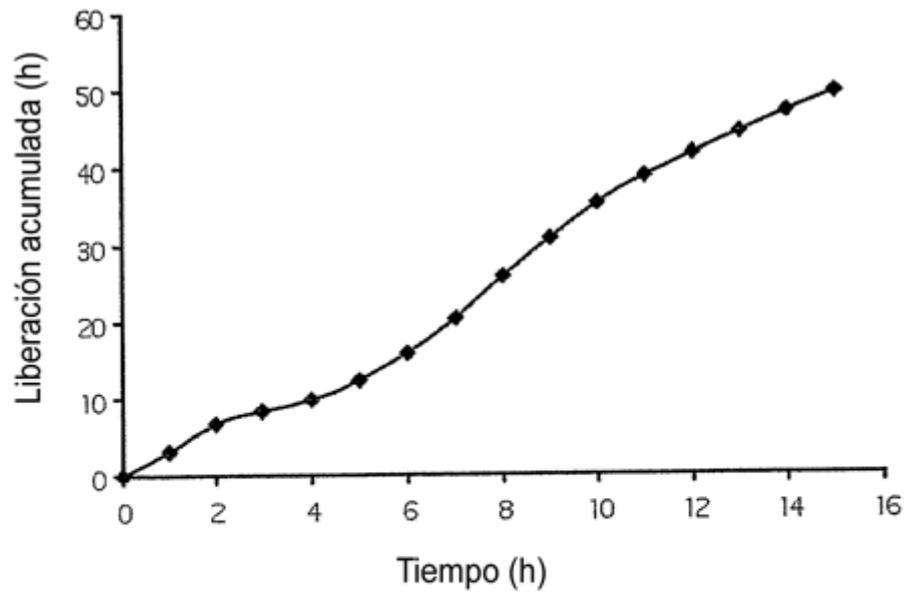


Fig. 7

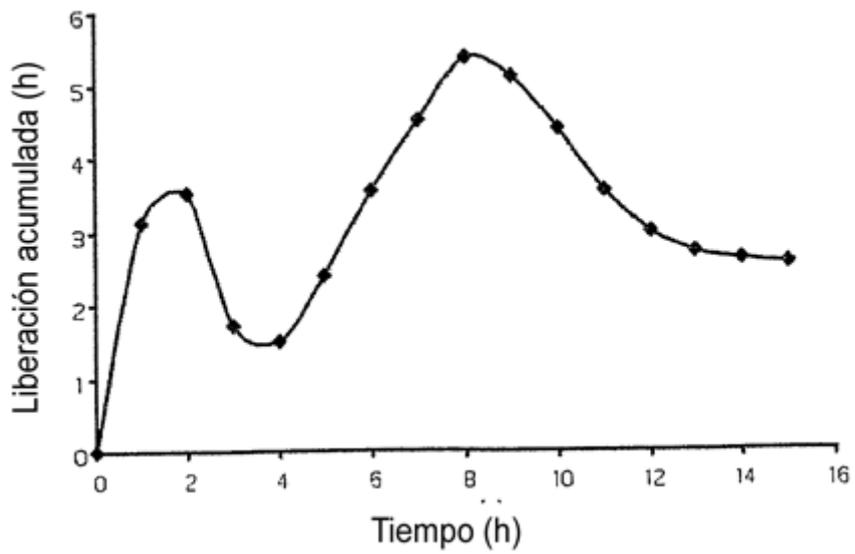


Fig. 8