

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 743 225**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 47/36** (2006.01)

**A61K 31/00** (2006.01)

**A61K 38/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.04.2015** **E 15164516 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2019** **EP 3006019**

54 Título: **Composición de gel de liberación de fármaco inyectable de larga duración y método y fabricación de la misma**

30 Prioridad:

**08.10.2014 TW 103135071**

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

**18.02.2020**

73 Titular/es:

**NATIONAL CHIAO TUNG UNIVERSITY (100.0%)  
No. 1001, Daxue Road, East District  
East District, TW**

72 Inventor/es:

**LIU, DEAN-MO;  
CHOU, HAO-SYUN;  
HSIAO, MENG-HSUAN y  
CHEN, YI-CHIEH**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 743 225 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

Composición de gel de liberación de fármaco inyectable de larga duración y método y fabricación de la misma

5 **Antecedentes**

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a una composición de gel método de fabricación de la misma. Más particularmente, la presente invención se refiere a una composición de gel de liberación de fármaco inyectable de larga duración y método de fabricación de la misma.

Descripción de la técnica relacionada

15 Un montón de pacientes que padecen enfermedades crónicas necesitan inyectarse o tomar medicinas en un momento específico para mantener su bienestar. La medicina de inyección es un tipo de medicación que se inyecta directamente en el organismo. La tasa de absorción del fármaco es alta, aunque la tasa de liberación del fármaco no puede regularse en este tipo de tratamiento. Por lo tanto, los pacientes tienen que recibir la inyección de forma regular, lo que puede causar determinada carga tanto mental como física. Los fármacos que se administran por vía oral pueden evitar la inconveniencia conseguida por la inyección, pero la mayoría de los fármacos no pueden transportarse fielmente a la zona diana, de modo que la tasa de absorción es baja y la eficacia no es destacada.

20 Se toma la diabetes como ejemplo. El tratamiento habitual se consigue por inyección regular. Los pacientes deben inyectarse insulina dos veces al día y controlar sus valores de glucemia todo el tiempo. Además, el tipo de inyección y dosificación pueden variar de acuerdo con el estado de salud del paciente. Esto provoca una tremenda carga mental y física. En el caso de inyección incorrecta de insulina o sobre/subdosis, puede dar lugar a consecuencias mortales para el paciente. Por lo tanto, hay una urgente necesidad de proporcionar un tratamiento más fiable y más fácil.

30 Entre los estudios actuales, la administración oral de insulina es la más conveniente. Sin embargo, la tasa de absorción de insulina es relativamente baja y requiere una dosificación mayor para ejercer su efecto. Además, la insulina de administración oral tiene que absorberse desde el sistema gástrico y entonces entrar en la circulación corporal que tarda mucho tiempo y no logra funcionar inmediatamente. Si el paciente no toma la medicina a tiempo, la consecuencia puede ser grave. Otro tipo de estudios se centra en un vehículo de liberación del fármaco de larga duración. Hasta la fecha, Sinha *et al.* divulgó (Sinha *et al.*, "Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs", International Journal of Pharmaceutics, 2004; 274(1-2):1-33) que el quitosano puede ser un agente de carga de fármaco. Hay algunos factores que afectan a la liberación del fármaco desde las microesferas de quitosano. Estos factores incluyen el peso molecular del quitosano, la concentración de quitosano, el contenido de fármaco en las microesferas, el estado físico del fármaco, la densidad de reticulación y aditivos. La liberación de insulina desde el vehículo del fármaco se regula por la concentración de glúcidos en sangre o el valor de pH de la sangre. Por ejemplo, Anderson *et al.* divulgó en el documento WO 2013/123492 A2 microgeles cargados con insulina inyectables que pueden modificar la cantidad de insulina liberada basándose en los niveles de glucosa tisular en el paciente. Cuando la glucemia es demasiado elevada, la estructura de este tipo de vehículo de fármaco puede perderse o descomponerse para liberar la insulina. Cuando el nivel de glucemia vuelve a la normalidad, el vehículo de fármaco también vuelve a su estructura anterior y suspende la liberación de insulina. Este mecanismo de liberación de fármaco se inicia por un nivel de glucemia específico y se detiene cuando el nivel de glucemia es bajo. El inicio y la detención no pueden controlarse fácilmente, lo que causa una fluctuación brusca del nivel de glucemia. En este mecanismo, la dosificación de insulina no puede regularse cada vez que se libera y puede producirse un estallido repentino a lo largo del tiempo. La ventana de tiempo eficaz y nivel de dosificación apenas pueden controlarse.

50 Por lo tanto, una composición de larga duración de vehículo de fármaco es de gran interés y las cuestiones mencionadas anteriormente pueden resolverse acompañadas por una mayor eficacia.

**Sumario**

55 La presente divulgación proporciona una composición de gel que incluye un cuerpo de gel, una enzima de descomposición de quitosano y un fármaco. El cuerpo de gel incluye una primera solución, una pluralidad de esferas de quitosano y un agente estabilizante de quitosano alcalino. La primera solución contiene agua y disolvente oleoso. Las esferas de quitosano se forman por autoensamblaje de quitosano en la primera solución. El agente estabilizante de quitosano alcalino conecta las esferas de quitosano para formar un cuerpo de gel. La enzima de descomposición de quitosano se dispersa en el cuerpo de gel y es sensible a la temperatura. El fármaco se dispersa en el cuerpo de gel.

60 De acuerdo con una realización de la presente divulgación, la composición de gel tiene un valor de pH que varía de 5 a 9.

De acuerdo con una realización de la presente divulgación, el quitosano es un quitosano anfipático.

De acuerdo con una realización de la presente divulgación, el agente estabilizante de quitosano alcalino es genipina, β-glicerofosfato de sodio, NaHCO<sub>3</sub> o la combinación de los mismos.

5 De acuerdo con una realización de la presente divulgación, la enzima de descomposición de quitosano es lisozima, celulasa, quitinasa o la combinación de las mismas.

10 De acuerdo con una realización de la presente divulgación, el fármaco se dispersa en y entre las esferas de quitosano.

De acuerdo con una realización de la presente divulgación, el fármaco es insulina, sensibilizante de insulina, sulfonilurea o la combinación de los mismos.

15 De acuerdo con una realización de la presente divulgación, la composición de gel incluye además un diluyente que ajusta un valor de pH de la composición de gel. El diluyente puede ser agua o una mezcla de agua y un disolvente oleoso, y el disolvente oleoso es uno seleccionado del grupo que consiste en dimetilsulfóxido (DMSO), etanol, glicol y glicerol.

20 La presente divulgación también proporciona un método de fabricación de composición de gel, que incluye preparar una solución de quitosano que tiene una concentración de un 1 a un 10 % (p/v) y solubilizar el quitosano en un disolvente. El quitosano se autoensambla en una pluralidad de esferas de quitosano en el disolvente. A continuación, a una temperatura de 4 a 10 grados Celsius, se añade un fármaco a la solución de quitosano para formar una primera solución. Posteriormente, se añade un agente estabilizante de quitosano alcalino y una enzima de descomposición de quitosano y se mezclan en la primera solución. El agente estabilizante de quitosano alcalino conecta las esferas de quitosano para formar la composición de gel después de reposar y solidificar. Una concentración del agente estabilizante de quitosano en la composición de gel es de un 0,1 a un 10 % (p/v).

30 De acuerdo con una realización de la presente divulgación, el quitosano es quitosano anfipático.

De acuerdo con una realización de la presente divulgación, el fármaco es insulina, sensibilizante de insulina, sulfonilurea o la combinación de los mismos. Una concentración del fármaco en la composición de gel es de 0,1 a 10 mg/ml.

35 De acuerdo con una realización de la presente divulgación, el método incluye además añadir un diluyente a la solución de quitosano para formar la primera solución y ajustar un valor de pH de la primera solución a entre 5 y 9. El diluyente puede ser agua o una mezcla de agua y un disolvente oleoso, y el disolvente oleoso es uno seleccionado del grupo que consiste en DMSO, etanol, glicol y glicerol.

40 De acuerdo con una realización de la presente divulgación, una concentración de la enzima de descomposición de quitosano en la composición del gel es de 0,1 a 500 µg/ml.

45 La composición de gel de la presente divulgación es una composición de gel de liberación de fármaco inyectable inducida por enzima de larga duración. Añadiendo la enzima de descomposición de quitosano en la composición de gel, las esferas de quitosano se descomponen en segmentos, y la composición de gel se desensambla de modo que se libera el fármaco. Ajustando la concentración de enzima, puede regularse la tasa de descomposición de la composición de gel. La velocidad de liberación del fármaco y la cantidad también pueden controlarse para cumplir la dosificación eficaz. La composición de gel permite un tratamiento más fiable, estable y mantenible.

50 Debe entenderse que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son mediante ejemplos, y no pretenden proporcionar una explicación adicional de la invención reivindicada.

### Breve descripción de los dibujos

55 La invención puede entenderse más completamente leyendo la siguiente detallada de la realización, con referencia a los dibujos adjuntos siguientes:

la figura 1 es una vista en sección transversal que muestra una composición de gel de acuerdo con una realización de la presente divulgación;

60 las figuras 2A a 2C son diagramas esquemáticos que ilustran la liberación del fármaco desde la composición de gel de acuerdo con una realización de la presente divulgación;

65 la figura 3 es un diagrama de flujo que describe un método de fabricación de composición de gel de acuerdo con una realización de la presente divulgación;

la figura 4 es un gráfico que muestra el porcentaje en peso frente al tiempo de una composición de gel de acuerdo con una muestra ejemplar de la presente divulgación;

5 la figura 5 es un gráfico que muestra una cantidad de insulina liberada frente al tiempo de una composición de gel de acuerdo con una muestra ejemplar de la presente divulgación; y

la figura 6 es un gráfico que muestra el nivel de glucemia de un ratón con diabetes contraída frente al tiempo de acuerdo con una muestra ejemplar de la presente divulgación.

## 10 Descripción detallada

Ahora se hará referencia en detalle a las presente realizaciones de la invención, cuyos ejemplos se ilustran en los dibujos adjuntos. Siempre que sea posible, se usan los mismos números de referencia en los dibujos y la descripción para hacer referencia a las mismas partes o similares.

15 Remítase a la figura 1 que muestra una vista en sección transversal de la composición de gel 100 de acuerdo con una realización de la presente divulgación. La composición de gel 100 incluye una pluralidad de esferas de quitosano 110, un agente estabilizante de quitosano alcalino 120, una enzima de descomposición de quitosano 130 y un fármaco 140. Las esferas de quitosano 110 se forman mediante autoensamblaje de quitosano (no mostrado). El agente estabilizante de quitosano alcalino 120 conecta las esferas de quitosano para formar un cuerpo de gel 102. La enzima de descomposición de quitosano 130 se dispersa en el cuerpo de gel 102 y descompone la composición de gel 100 a una temperatura de 20 a 40 grados Celsius. El fármaco 140 se distribuye en el cuerpo de gel 102.

25 En una realización, un valor de pH de la composición de gel es entre 5 y 9. Este intervalo de pH simula el intervalo de pH en un organismo para evitar cualquier efecto adverso al organismo.

En otra realización, el quitosano es quitosano anfipático. El quitosano anfipático tiene un extremo hidrófilo y un extremo hidrófobo al mismo tiempo. El quitosano se autoensamblará en esferas de quitosano de acuerdo con la propiedad estructural hidrófila o hidrófoba.

30 El agente estabilizante de quitosano alcalino 120 se usa para estabilizar la estructura de las esferas de quitosano 110. El agente estabilizante de quitosano alcalino 120 es electronegativo, lo que produce esferas de quitosano cargadas positivamente 110 interconectadas para formar el cuerpo de gel 102. En una realización, el agente estabilizante de quitosano alcalino puede ser genipina,  $\beta$ -glicerofosfato de sodio,  $\text{NaHCO}_3$  o la combinación de los mismos.

35 La temperatura puede afectar a la actividad y tasa de reacción de la enzima de descomposición de quitosano 130. En condiciones convencionales y a temperatura apropiada, la actividad enzimática aumenta junto con la elevación en la temperatura. La tasa de reacción aumenta según sube la temperatura. Cuando la temperatura excede una temperatura activa, la actividad enzimática disminuye abruptamente. Cuando la temperatura está por debajo de la temperatura activa, la enzima no ejerce su función catalítica, sino que permanece intacta. Por lo tanto, si la temperatura sube de nuevo, la actividad enzimática se recupera gradualmente también. Una temperatura activa de enzima de descomposición de quitosano 130 varía entre 20 y 40 grados Celsius. A este intervalo de temperatura, la enzima de descomposición de quitosano 130 puede descomponer el quitosano. Por lo tanto, cuando la composición de gel 100 no se inyecta en un organismo, la composición de gel 100 tiene que almacenarse a baja temperatura (de aproximadamente 4 a 10 grados Celsius para evitar que la enzima de descomposición de quitosano 130 desmantele las esferas de quitosano 110 en segmentos. La integridad del cuerpo de gel 102 se descompone según se segmentan las esferas de quitosano 110. De esta manera la composición de gel 100 también se descompone, y se liberará el fármaco 140. Por consiguiente, ajustando la concentración de la enzima de descomposición de quitosano 130, puede regularse también la tasa de descomposición de las esferas de quitosano 110. En otras palabras, la cantidad y período de liberación del fármaco 140 pueden manipularse.

50 En una realización, la enzima de descomposición de quitosano puede ser lisozima, celulasa, quitinasa o la combinación de las mismas.

55 De acuerdo con la dimensión del fármaco 140, puede dispersarse en el interior o entre las esferas de quitosano 110. Si el fármaco 140 es de tamaño más grande, se dispersa entre las esferas de quitosano 110. Si el fármaco 140 es de tamaño más pequeño, se distribuye dentro de las esferas de quitosano 110. La composición de gel 100 puede contener más de un fármaco, y los fármacos pueden distribuirse en el interior y entre las esferas de quitosano 110.

60 Cuando la composición de gel 100 se usa para tratar la diabetes, el fármaco 140 puede ser insulina y/u otra medicina relacionada con la diabetes. Otros fármacos asociados incluyen, aunque sin limitación, sensibilizante de insulina y sulfonilurea. El sensibilizante de insulina puede ser, por ejemplo, tiazolidinadiona (TZD).

65 La composición de gel puede incluir diluyente para ajustar el valor de pH de la composición del gel. El valor de pH de la composición de gel debe estar entre 5 y 9. En una realización, el diluyente puede ser agua o una mezcla de agua

y disolvente oleoso. De acuerdo con las realizaciones, el disolvente oleoso es uno seleccionado del grupo que consiste en, aunque sin limitación, dimetilsulfóxido (DMSO), etanol, glicol y glicerol.

5 Remítase a las figuras 2A a 2C que son diagramas esquemáticos que ilustran la liberación del fármaco desde la composición de gel de acuerdo con una realización de la presente divulgación.

10 Remítase a la figura 2A que muestra un diagrama antes de que la composición de gel 200 se inyecte en un organismo. La composición de gel 200 incluye una pluralidad de esferas de quitosano 210, agente estabilizante de quitosano alcalino 220, enzima de descomposición de quitosano 230 y fármaco 240. Las esferas de quitosano 210 se forman por autoensamblaje de quitosano. El agente estabilizante de quitosano alcalino 220 conecta las esferas de quitosano para formar un cuerpo de gel 202. La enzima de descomposición de quitosano 230 se dispersa en el cuerpo de gel 202 y descompone la composición de gel 200 a una temperatura de 20 a 40 grados Celsius. El fármaco 240 se distribuye en el cuerpo de gel 202. La temperatura de la composición de gel 200 se controla por debajo de la temperatura activa de la enzima de descomposición de quitosano 230 de modo que la enzima de descomposición de quitosano 230 no ejercerá su función catalítica, y la composición de gel 200 no se descompondrá.

20 Remítase a la figura 2B que muestra la composición de gel 200 después de inyectarse en un organismo. En esta fase, a causa de la temperatura corporal, la temperatura de la composición de gel 200 llega al intervalo de temperatura activa de la enzima de descomposición de quitosano 230. Posteriormente, la enzima de descomposición de quitosano 230 se recupera de la inactividad y descompone las esferas de quitosano 210.

25 Remítase a la figura 2C que muestra la composición de gel 200 descomponiéndose. La enzima de descomposición de quitosano 230 dismantela las esferas de quitosano 210 en trozos de segmentos de quitosano 214. Las esferas de quitosano 210 pierden su integridad en segmentos de quitosano 214, y la estructura del cuerpo de gel 202 se descompone. Por lo tanto, según se descompone la composición de gel 200, se libera el fármaco 240 y se transmite al sitio diana para el tratamiento.

30 La composición de gel de la presente divulgación puede usarse para transportar fármacos. Añadiendo la enzima de descomposición de fármaco, el fármaco puede liberarse de una manera estable y continua. Además, ajustando la concentración de enzima de descomposición de quitosano y el fármaco en la composición de gel, puede regularse la cantidad y periodo de fármaco liberado,

35 Método de fabricación de la composición de gel

Remítase a la figura 3 que muestra un diagrama de flujo de un método de fabricación de la composición de gel. En primer lugar, tiene que prepararse la solución de quitosano 310. A continuación, a 4 hasta 10 grados Celsius, se añade el fármaco a la solución de quitosano 310 para formar una primera solución 320. Después, el agente estabilizante de quitosano alcalino y la enzima de descomposición de quitosano se añaden a la primera solución y se mezclan. Después de la solidificación, se forma la composición de gel 330.

45 En la etapa 310, se prepara la solución de quitosano, y la solución contiene quitosano en el disolvente. El quitosano se autoensambla en una pluralidad de esferas de quitosano que se dispersan en el disolvente. La concentración de quitosano es de un 1 a un 10 % (p/v) y el disolvente podría ser agua o una mezcla de agua y etanol.

El porcentaje en peso/volumen (p/v) se refiere al peso de soluto en gramos en 100 ml de solución. Por ejemplo, 1 g de soluto en 100 ml de solución tiene una concentración de un 1 % (p/v).

50 En una realización, el quitosano es quitosano anfipático. Más específicamente, tiene propiedad hidrófila e hidrófoba al mismo tiempo. Cuando se prepara la solución de quitosano, el quitosano se autoensambla de acuerdo con la hidrofilia o hidrofobia para formar las esferas de quitosano.

55 En una realización, el fármaco es insulina, sensibilizante de insulina, sulfonilurea o la combinación de los mismos. La concentración del fármaco en la composición del gel está entre 0,1 y 10 mg/ml.

60 En una realización, en la etapa 320, incluye además añadir un diluyente a la solución de quitosano para formar una primera solución, y el valor de pH de la primera solución puede ajustarse a 5 hasta 9 en la adición del diluyente. Es para estimular una condición similar al valor de pH en el organismo. El diluyente puede ser agua o una mezcla de agua y disolvente oleoso. La concentración del disolvente oleoso en la mezcla está entre un 1 y un 20 %. El disolvente oleoso incluye, aunque sin limitación, dimetilsulfóxido, etanol, glicol y glicerol.

65 El agente estabilizante de quitosano alcalino cargado negativamente facilita la conexión entre las esferas de quitosano cargadas positivamente para formar una estructura de gel estable. Por lo tanto, en la etapa 330, después de la adición y mezcla del agente estabilizante de quitosano alcalino en la primera solución, el agente estabilizante de quitosano alcalino conecta las esferas de quitosano. Después de reposar, la solución solidifica, la enzima de descomposición de quitosano y el fármaco en el cuerpo de gel juntos forman la composición de gel. La

concentración de agente estabilizante de quitosano alcalino en la composición de gel varía entre un 0,1 y un 10 % (p/v) y la enzima de descomposición de quitosano descompone la composición de gel a una temperatura de 20 a 40 grados Celsius.

5 La concentración de enzima de descomposición de quitosano puede ajustarse de acuerdo con la cantidad y periodo de liberación de fármaco requeridos. Cuanto mayor sea la concentración, más rápida será la tasa de descomposición de la composición de gel. De esta manera, la cantidad de liberación del fármaco es mayor en un periodo de tiempo más corto. En una realización, la concentración de enzima de descomposición de quitosano en la composición de gel varía de 0,1 a 500 µg/ml.

10 La composición de gel de la presente divulgación es una composición de gel de liberación de fármaco inducida por enzima de larga duración inyectable. La adición de enzima de descomposición de quitosano y fármaco en la composición de gel puede regular la liberación del fármaco mediante la tasa de descomposición de la composición de gel. Además, ajustando las diferentes concentraciones de la enzima de descomposición de quitosano y el fármaco, pueden reajustarse la cantidad y periodo de tiempo de liberación del fármaco.

15 Se proporcionan varios ejemplos en este documento para elaborar la composición de gel de la presente divulgación. Sin embargo, los ejemplos son con fines de demostración únicamente, y la presente divulgación no está limitada a los mismos.

### 20 **Ejemplo 1**

El ejemplo 1 usó dos concentraciones diferentes de quitosano, concretamente un 2,4 % (p/v) y un 3 % (p/v). Se añadieron dos concentraciones diferentes de enzima de descomposición de quitosano, que eran 10 y 100 µg/ml, para formar diferentes composiciones de gel. Se usó una muestra de control sin ninguna enzima de descomposición de quitosano para la comparación de pesos entre diferentes composiciones de gel. En este experimento, el agente estabilizante de quitosano alcalino fue β-glicerofosfato de sodio, y la enzima de descomposición de quitosano fue lisozima. Debe apreciarse que una vez que se inyecta la composición de gel dentro de un organismo, a causa del flujo de líquidos corporales, los segmentos de quitosano descompuestos se verán sustraídos desde el punto de inyección. Por lo tanto, este experimento simulaba las condiciones en un organismo, y la composición de gel se depositó en una solución tamponante que era parecida al líquido corporal. La solución de tampón se renovó regularmente, y los segmentos de quitosano se retiraron de la misma. Entonces se registro el cambio de peso de la composición de gel.

35 Remítase a la figura 4 que muestra un gráfico de porcentaje en peso de la composición de gel frente al tiempo. El peso en día 0 fue de un 100 % cuando la composición de gel no se había añadido, y el porcentaje en peso restante era en relación con el día 0. Las líneas 410, 420, 430, 440 y 450 representan la composición de gel sin lisozima y un 3 % de quitosano, 10 µg/ml de lisozima y un 3 % de quitosano, sin lisozima y un 2,4 % de quitosano, 10 µg/ml de lisozima y un 2,4 % de quitosano y 100 µg/ml de lisozima y un 2,4 % de quitosano, respectivamente. El cambio en el peso a lo largo del curso del tiempo se muestra en la figura 4. La composición de gel con mayor concentración de quitosano tuvo velocidad de descomposición más lenta. En el día 14, la diferencia entre las líneas 410 y 430 era significativa, que era más de un 20 %. Además, según aumentaba la concentración de lisozima, se observaba mayor velocidad de descomposición en composición de gel al 2,4 % y al 3 %. Después de una quincena, la línea 450 perdió casi un 70 % de su peso. Como resultado, ajustando la concentración de cuerpo de gel y enzima, puede controlarse la cronología de descomposición de la composición de gel. La fórmula de concentración puede ajustarse de acuerdo con las necesidades, de modo que la duración de la composición de gel y la tasa de descomposición puedan controlarse.

### 50 **Ejemplo 2**

El ejemplo 2 usó diferentes concentraciones de solución de quitosano y enzima de descomposición de quitosano en la composición de gel. Se midió la cantidad acumulada de liberación de fármaco. En este experimento, el agente estabilizante de quitosano alcalino era β-glicerofosfato de sodio, la enzima de descomposición de quitosano era lisozima y el fármaco era insulina con una concentración de 5 mg/ml.

55 Remítase a la figura 5 que muestra la cantidad acumulada de liberación de insulina desde la composición de gel frente al tiempo. Las líneas 510, 520, 530 y 540 representan la composición de gel sin lisozima y un 2,4 % de quitosano, 10 µg/ml de lisozima y un 2,4 % de quitosano, 100 µg/ml de lisozima y 2,4 % de quitosano y 10 µg/ml de lisozima y un 3 %, respectivamente. De acuerdo con la figura 5, puede observarse que según aumentaba la concentración de lisozima, aumentaba enormemente también la cantidad de insulina liberada. En comparación con la composición de gel sin lisozima (línea 510), la composición de gel con 10 µg/ml de lisozima (línea 520) tenía una cantidad de liberación de insulina casi duplicada. Cuando la concentración de lisozima subió a 100 µg/ml (línea 530), la cantidad de insulina liberada aumentaba cinco veces. Por lo tanto, la cantidad de insulina liberada en el organismo puede ajustarse de acuerdo con diferentes necesidades para controlar el nivel de glucemia.

65

**Ejemplo 3**

El ejemplo 3 se realizó *in vivo* en ratones con diabetes contraída. La eficacia de la composición de gel se estudió en este experimento. En este experimento, el agente estabilizante de quitosano alcalino era  $\beta$ -glicerofosfato de sodio, la enzima de descomposición de quitosano era lisozima y el fármaco era insulina con una concentración de 5 mg/ml.

Remítase a la figura 6 que muestra el nivel de glucemia de los ratones frente al tiempo. Las líneas 610 y 620 representan respectivamente un grupo de control sin inyección de composición de gel y un ejemplo con inyección de composición de gel. El cambio en el nivel de glucemia puede observarse a lo largo del transcurso del tiempo. La composición de gel en este experimento tenía 10  $\mu$ g/ml de lisozima y un 2,4 % de quitosano. El nivel de glucemia normal debe controlarse por debajo de 200 mg/dl. En la figura 6, los ratones sin inyección de composición de gel (línea 610) tenían un nivel de glucemia mayor de 400 mg/dl todo el tiempo, que estaba mucho más allá del nivel de glucemia normal. Por otro lado, los ratones con la inyección de composición de gel de 10  $\mu$ g/ml de lisozima y un 2,4 % de quitosano (línea 620) tenían un nivel de glucemia por debajo de 200 mg/dl a lo largo del tiempo, que estaba en un intervalo normal. La eficacia duró 10 días. Por lo tanto, la composición de gel de la presente divulgación puede liberar insulina en un modo estable y continuo. La composición de gel ayuda a controlar el nivel de glucemia a mayor plazo. Una inyección puede durar 10 días, y la carga mental y física de la administración del fármaco se reduce enormemente.

Después de la inyección de la composición de gel de la presente divulgación, es improbable que se induzca respuesta inmunitaria a causa de su elevada biocompatibilidad.

La composición de gel de la presente divulgación es una composición de liberación de fármaco inducida por enzima de larga duración inyectable. Añadiendo enzima de descomposición de quitosano a la composición de gel, las esferas de quitosano se descomponen en segmentos y el fármaco se liberará de las mismas. Aunque otros investigadores también sugieren que el gel puede descomponerse por enzimas del organismo, la concentración enzimática y tasa de descomposición no puede regularse bien. La composición de gel de la presente divulgación contiene enzima de descomposición de quitosano de modo que la descomposición de gel y la liberación del fármaco puedan controlarse hasta su tasa, cantidad y periodo de tiempo. La dosificación requerida en el tratamiento puede conseguirse fácilmente, y la eficacia dura más en una tendencia estable. Además, en una realización, la composición de gel puede inyectarse una vez cada dos semanas, para reducir el número de inyecciones. La liberación estable desde la composición de gel permite la medición precisa de la concentración de fármaco en el organismo y el almacenamiento del restante. El nivel de glucemia se regula mejor en estas condiciones. En resumen, la composición de gel de la presente divulgación reduce el número de inyecciones y aporta calidad de vida a los pacientes.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición de gel, que comprende:

5 un cuerpo de gel (102) que incluye:

- una primera solución que contiene agua y disolvente oleoso;
- una pluralidad de esferas de quitosano (110), autoensamblándose cada una de las esferas de quitosano (110) por el quitosano en la primera solución;
- 10 - un agente estabilizante de quitosano alcalino (120) que conecta las esferas de quitosano (110);

una enzima de descomposición de quitosano (130) que se dispersa en el cuerpo de gel (102), en la que la enzima de descomposición de quitosano es sensible a la temperatura; y

15 un fármaco (140) que se dispersa en el cuerpo de gel (102).

2. La composición de gel de la reivindicación 1, en la que la composición de gel tiene un valor de pH que varía de 5 a 9.

20 3. La composición de gel de la reivindicación 1, en la que el quitosano es un quitosano anfipático.

4. La composición de gel de la reivindicación 1, en la que el agente estabilizante de quitosano alcalino (120) es genipina,  $\beta$ -glicerofosfato de sodio,  $\text{NaHCO}_3$  o una combinación de los mismos.

25 5. La composición de gel de la reivindicación 1, en la que la enzima de descomposición de quitosano (130) es lisozima, celulasa, quitinasa o una combinación de las mismas.

6. La composición de gel de la reivindicación 1, en la que el fármaco (140) se dispersa en y entre las esferas de quitosano (110).

30 7. La composición de gel de la reivindicación 1, en la que el fármaco (140) es insulina, sensibilizante de insulina, sulfonilurea o una combinación de los mismos.

8. La composición de gel de la reivindicación 1, que comprende además:

35 un diluyente que ajusta un valor de pH de la composición de gel, en la que el diluyente es agua o una mezcla de agua y un disolvente oleoso, y el disolvente oleoso es dimetilsulfóxido, etanol, glicol o glicerol.

9. Un método de fabricación de composición de gel, que comprende:

40 preparar una solución de quitosano que tiene una concentración de un 1 a un 10 % (p/v), solubilizar quitosano en un disolvente, autoensamblándose el quitosano en una pluralidad de esferas de quitosano en el disolvente;

45 a una temperatura de 4 a 10 grados Celsius, añadir un fármaco a la solución de quitosano para formar una primera solución; y

añadir y mezclar un agente estabilizante de quitosano alcalino y una enzima de descomposición de quitosano a la primera solución, conectando el agente estabilizante de quitosano alcalino las esferas de quitosano, solidificando la primera solución para formar la composición de gel, en la que una concentración del agente estabilizante de quitosano en la composición de gel es de un 0,1 a un 10 % (p/v).

50 10. El método de la reivindicación 9, en el que el quitosano es quitosano anfipático.

11. El método de la reivindicación 9, en el que el fármaco es insulina, sensibilizante de insulina, sulfonilurea o una combinación de los mismos.

55 12. El método de la reivindicación 11, en el que una concentración del fármaco en la composición de gel es de 0,1 a 10 mg/ml.

60 13. El método de la reivindicación 9, que comprende además:

añadir un diluyente a la solución de quitosano para formar la primera solución; y

ajustar un valor de pH de la primera solución entre 5 y 9.

65

14. El método de la reivindicación 13, en el que el diluyente es agua o una mezcla de agua y un disolvente oleoso, y el disolvente oleoso es dimetilsulfóxido, etanol, glicol o glicerol.

5 15. El método de la reivindicación 9, en el que una concentración de la enzima de descomposición de quitosano en la composición de gel es de 0,1 a 500 µg/ml.

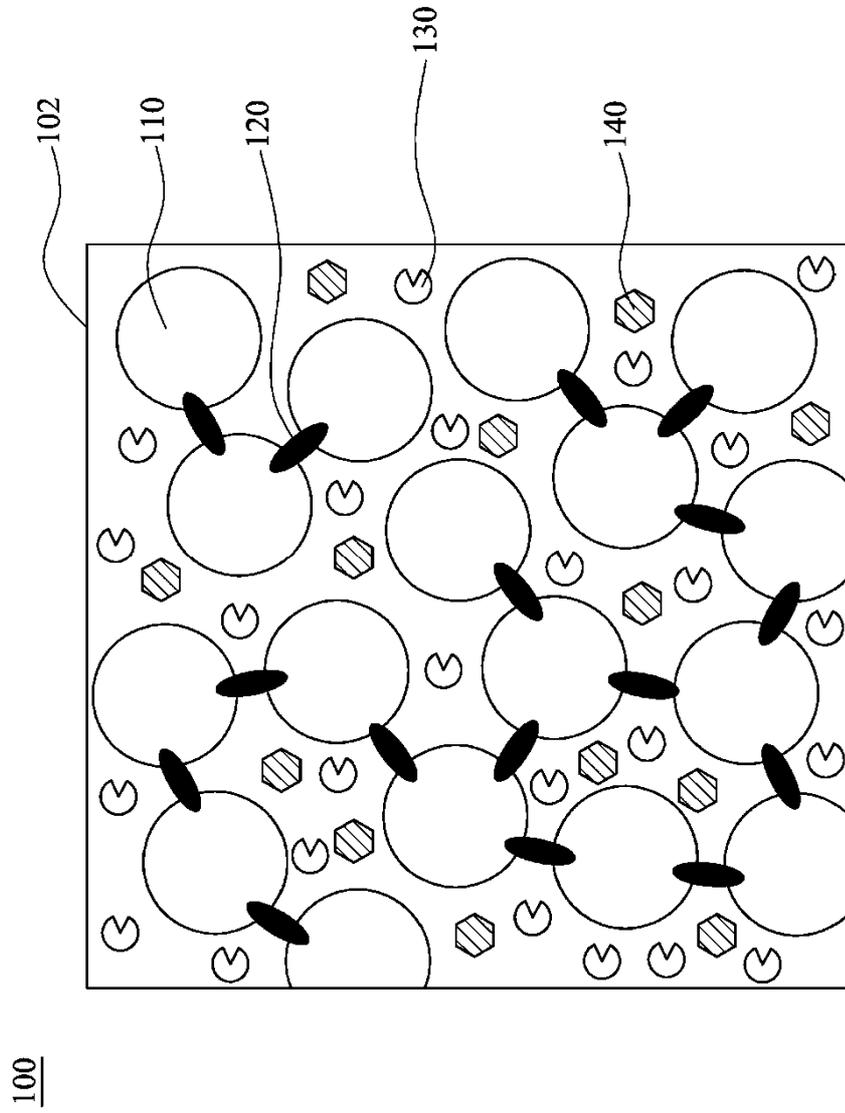
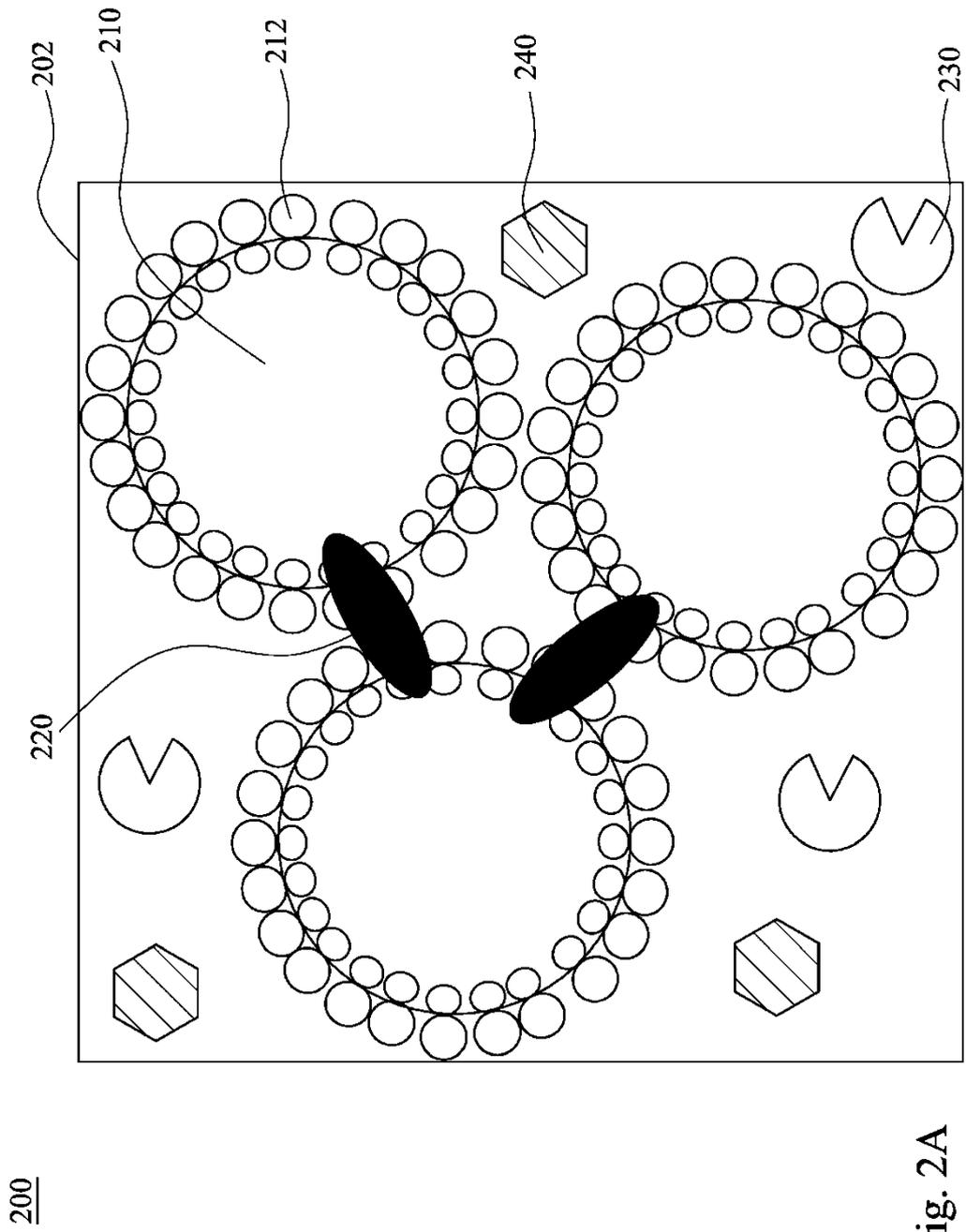
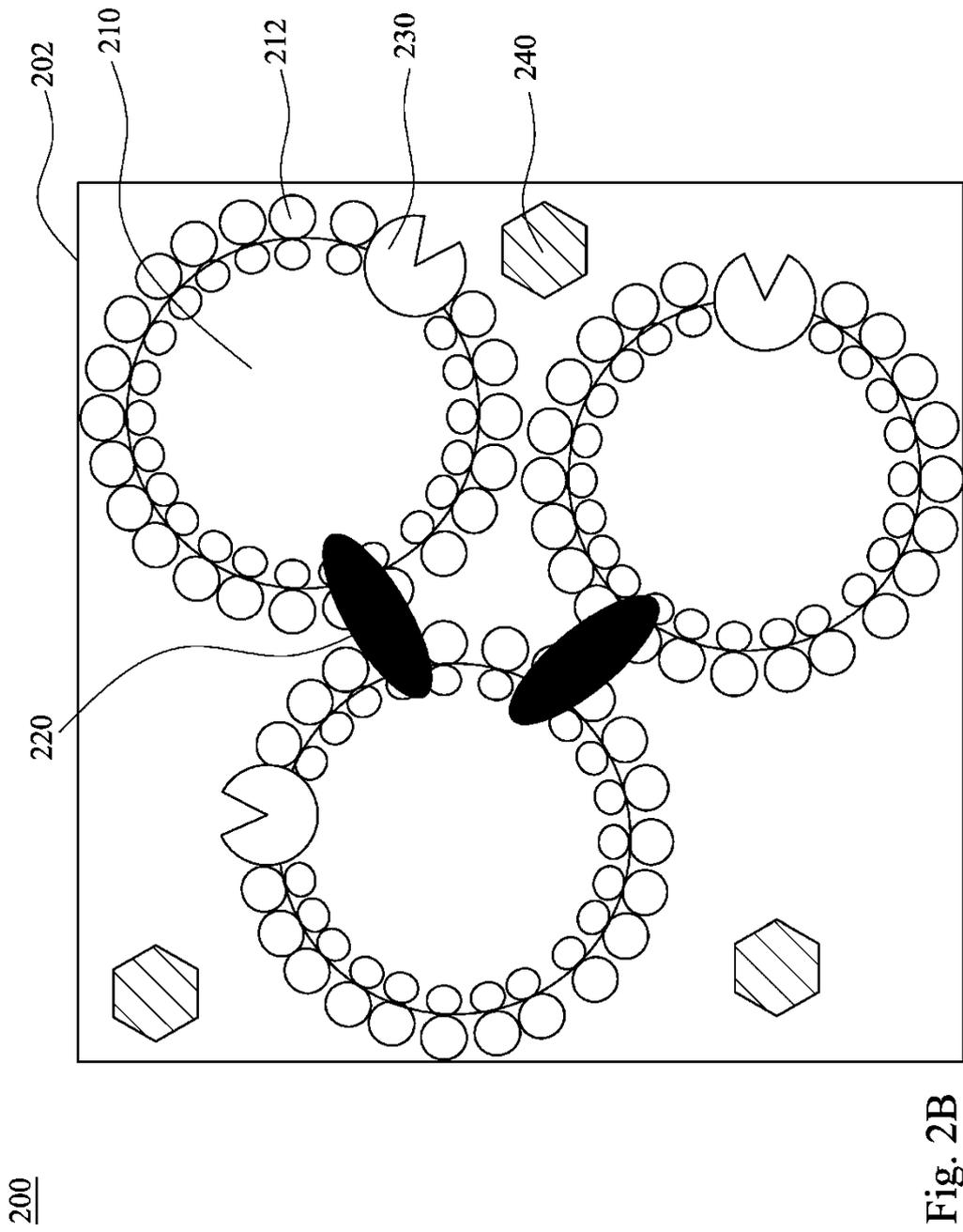


Fig. 1





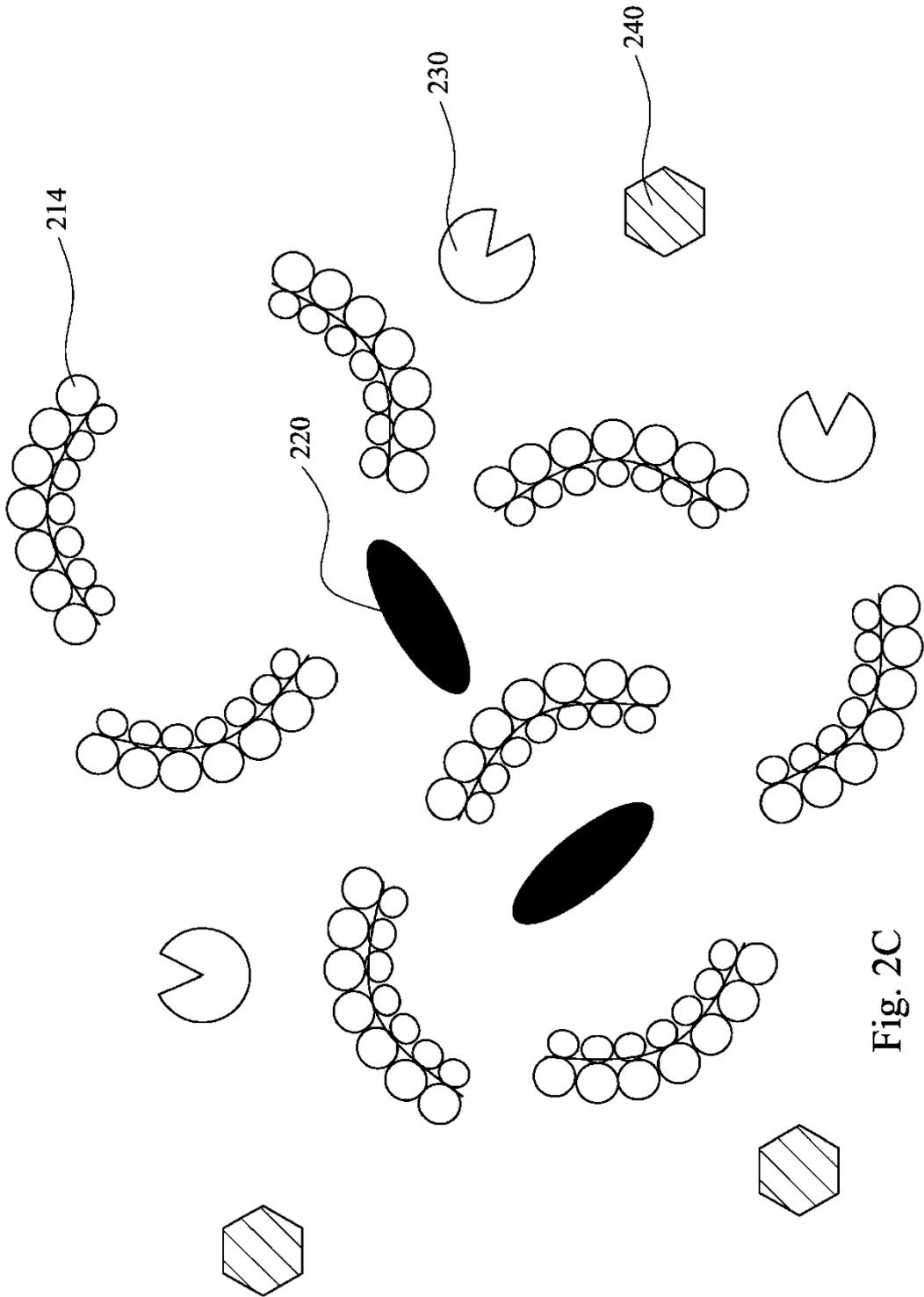


Fig. 2C

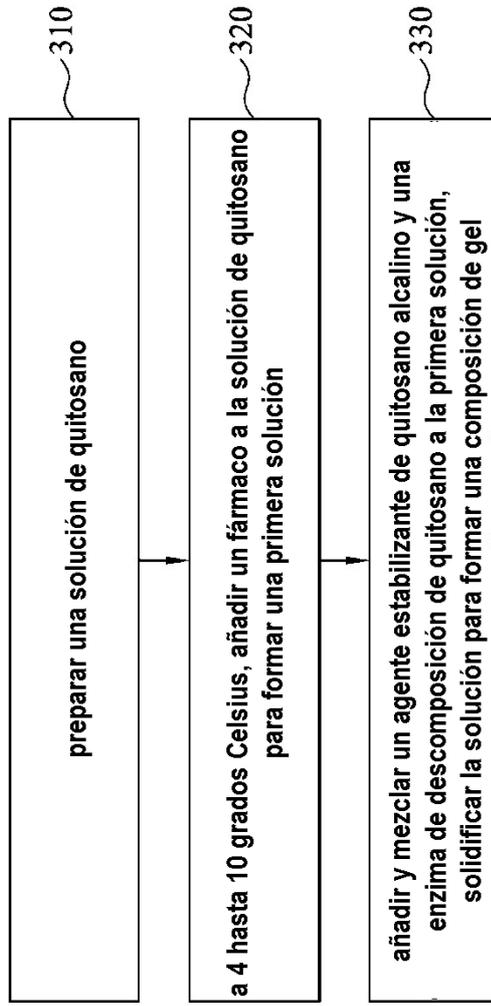


Fig. 3

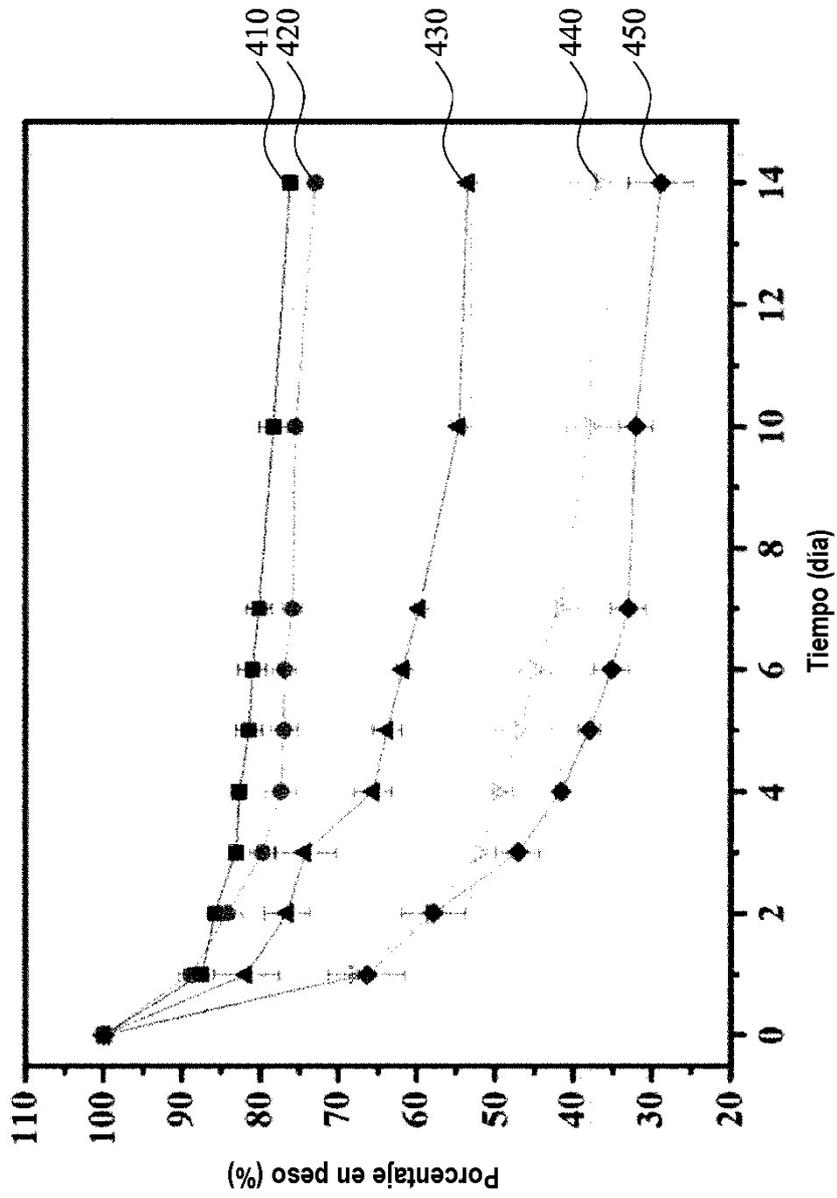


Fig. 4

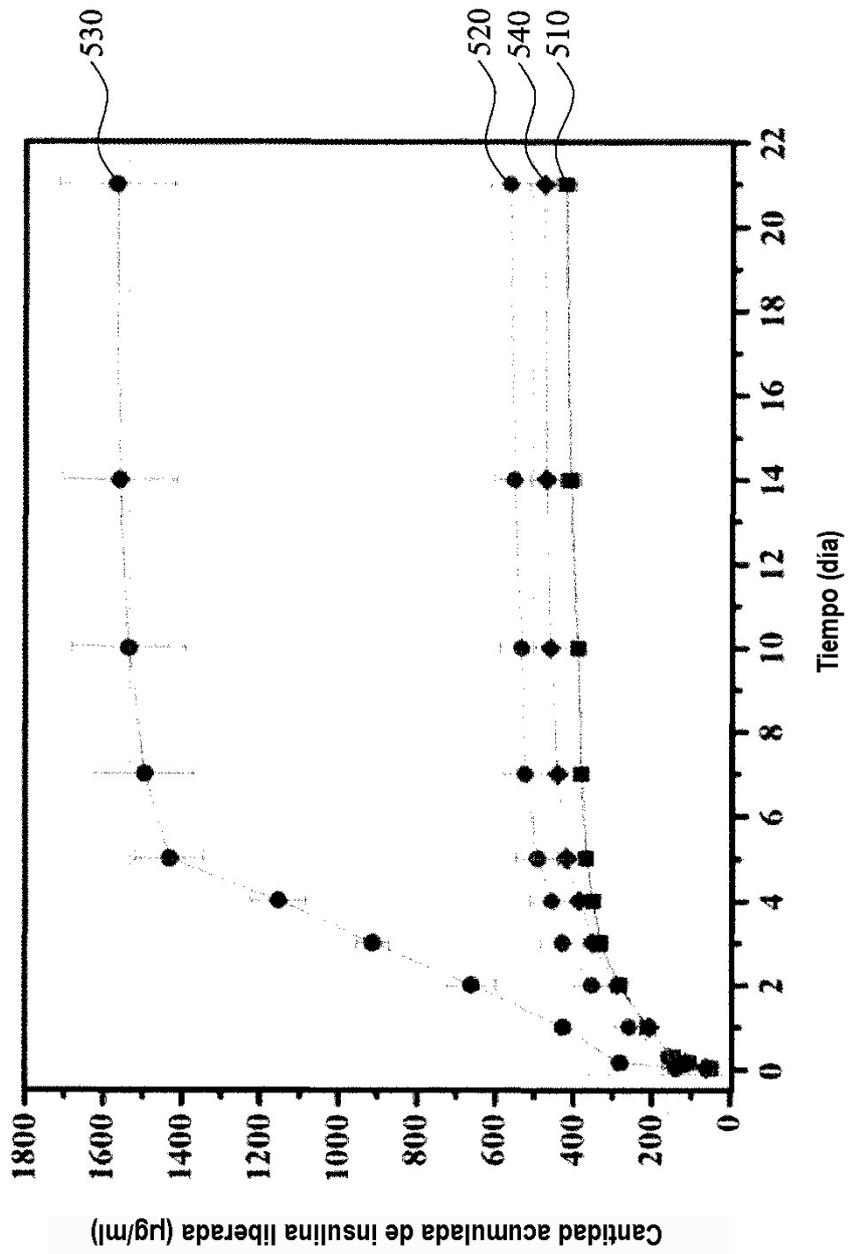


Fig. 5

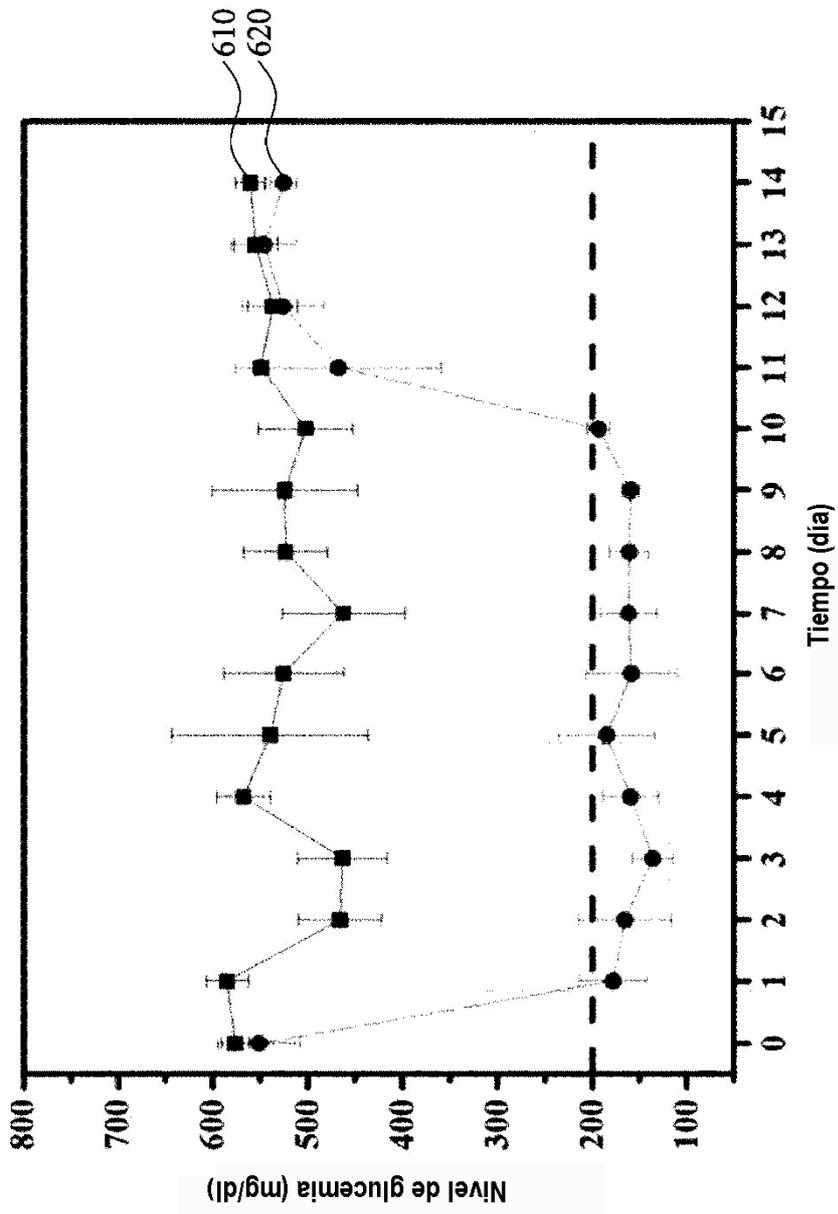


Fig. 6