

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 563 632**

51 Int. Cl.:

A61K 9/50 (2006.01)

A61K 38/37 (2006.01)

A61K 38/48 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2009 E 09380191 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.02.2016 EP 2201940**

54 Título: **Composición de micropartículas biocompatibles de ácido algínico para la liberación controlada de principios activos por vía intravenosa**

30 Prioridad:

23.12.2008 ES 200803671

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

15.03.2016

73 Titular/es:

**GRIFOLS, S.A. (100.0%)
C/ JESÚS Y MARÍA, 6
08022 BARCELONA, ES**

72 Inventor/es:

**GRANCHA GAMON, SALVADOR;
NARDI RICART, ANNA;
SUÑE NEGRE, JOSEP MARIA;
TIÇO GRAU, JOSEP RAMÓN y
MIÑARRO CARMONA, MONSERRAT**

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Luis Alfonso

ES 2 563 632 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 micropartículas biocompatibles de ácido algínico para la liberación controlada de principios activos por vía intravenosa

5 La presente invención se refiere una composición biocompatible que comprende micropartículas del ácido algínico o sus sales y un principio activo. Más en particular, la presente invención se refiere a micropartículas para la encapsulación de un principio activo que va a ser administrado por vía intravenosa a un paciente que lo necesite. Dichas micropartículas que tienen una combinación de tamaño adecuada para lograr un incremento de la vida media o permanencia del principio activo en sangre, con una baja captación hepática y un rápido aclaramiento celular cuando son administradas por vía intravenosa. Los principios activos de la composición de la presente invención son los factores de coagulación, tales como factor VIII, factor IX o factor VIIa.

15 Antecedentes de la invención

El aumento de la vida media en la sangre de un principio activo terapéutico presenta ventajas, entre las que se destaca la reducción en el número de administraciones necesarias para conseguir el efecto terapéutico deseado. Esta reducción del número de administraciones es de especial importancia en fármacos de administración parenteral, muy especialmente en aquellos de uso intravenoso y de especial relevancia en aquellas medicaciones de larga duración como, por ejemplo, las de carácter crónico.

20 La tendencia actual es, en la medida de lo posible, administrar los principios activos mediante rutas de administración que no supongan un acceso intravenoso, debido a la complejidad e inconveniencia para el paciente el uso de esta vía. Sin embargo, existe una serie de principios activos para los cuales no es posible disponer en la actualidad de una alternativa a la administración intravenosa. Entre ellos destacan los principios activos de gran tamaño y complejidad, tales como los productos biológicos o biotecnológicos, que incluyen proteínas y hormonas.

25 Un ejemplo de condición terapéutica crónica en la que es necesaria la administración repetida de principios activos complejos por vía intravenosa es el caso de la Hemofilia. La Hemofilia es una enfermedad hereditaria caracterizada por la aparición de hemorragias internas y externas debido a la deficiencia total o parcial de proteínas relacionadas con la coagulación. La Hemofilia A se caracteriza por un déficit del Factor VIII de coagulación, que impide una generación normal de trombina, dificultándose en consecuencia la correcta coagulación de la sangre. En el caso de la Hemofilia B, el déficit del Factor IX, provoca un estado clínico similar.

30 Para el tratamiento de la Hemofilia, la primera opción terapéutica consiste en reponer la proteína ausente (FVIII o FIX) mediante la administración de un concentrado terapéutico que contenga dicho factor. Otra opción terapéutica para conseguir una correcta hemostasia en Hemofilia es la administración de FVIIa, que es capaz de generar trombina en ausencia de FVIII ó FIX. Sin embargo, este tipo de tratamiento se suele limitar a casos donde el tratamiento con FVIII o FIX está dificultado o ha demostrado ser inefectivo, como por ejemplo en pacientes que han generado una respuesta inmunológica inhibitoria contra estos principios activos. Hasta la fecha, ninguno de estos productos ha podido ser administrado con éxito por alguna vía de administración diferente a la intravenosa, dada su complejidad estructural y baja permeabilidad epitelial.

35 Por lo tanto, los pacientes afectados de Hemofilia requieren administraciones intravenosas repetidas con una frecuencia que viene determinada por su vida media en el plasma. En el caso de FVIII la semivida es cercana a las doce horas. Ello implica, según la monografía de la Federación Mundial de Hemofilia (Casper, CK, Hereditary Plasma Clotting Factor Disorders and Their Management 5ª Ed WFH, Sam Schulman Ed, 2008), que para un régimen de profilaxis primaria, es decir, para la prevención de hemorragias en niños sin daños articulares, se utiliza una dosis de cerca de 20 U/kg cada 48h, suficiente para mantener un nivel de FVIII plasmático de FVIII superior al 1% del valor normal. Esencialmente, dicho tratamiento convierte a una persona con hemofilia severa en una con hemofilia leve o moderada. En el caso del FIX, la semivida es de cerca de 26 horas, por lo que para profilaxis primaria pueden administrarse dosis de alrededor de 40 U/kg, dos veces por semana a fin de mantener un nivel mínimo del 1%.

40 Debe considerarse que la profilaxis desde una edad temprana (alrededor de un año de edad o al inicio del gateo) constituye la norma de atención para evitar daño articular en casos de hemofilia severa.

45 En consecuencia, la hemofilia es un ejemplo evidente donde un incremento en la vida media de principio activo daría lugar a una mejora sustancial de la calidad de vida del paciente, ya que reduciría el número de administraciones intravenosas, especialmente difícil en niños de corta edad.

50 Otros ejemplos de tratamientos crónicos con productos de administración intravenosa son por ejemplo, el uso de inmunoglobulinas (IgG) en las inmunodeficiencias primarias y el uso de antitrombina III (AT) y alfa-1 antitripsina (AAT) en déficits congénitos.

55 Existen numerosas aproximaciones tecnológicas que han tenido como objetivo prolongar la vida media plasmática de estos tipos de principios activos. Una de las más estudiadas ha sido la derivatización de proteínas con polímeros

- compatibles, como es el caso del polietilenglicol (PEG). Esta tecnología supone en la práctica realizar una reacción química para unir covalentemente cadenas de PEG a los aminoácidos de la proteína. Esta técnica ha demostrado ser útil en el caso de hormonas y cadenas peptídicas de pequeño tamaño, como el interferón, ya que en este tipo de compuestos, el principal mecanismo de eliminación es el aclaramiento renal, fácilmente controlable por un simple aumento de tamaño (Bailon Pascal et al, *Bioconjugate Chem.* 2001, 12, 195-202). Sin embargo, la posibilidad de emplearla en principios activos más complejos, está aún pendiente de concreción, ya que se basan en la modificación externa de la estructura proteica para interferir. Además, este tipo de uniones covalentes con la proteína reducen sensiblemente la actividad biológica de la hormona o proteína tratada.
- Otra alternativa para modificar la vida media ha sido la adición o modificación de los residuos de azúcares presentes de modo natural en las proteínas u hormonas (Perlman Signe et al, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 88 (7): 3227–3235, 2003). Este procedimiento pretende alterar la proteína, modificando su reconocimiento por parte de los receptores implicados en su degradación. Sin embargo, los riesgos inherentes a dicha alteración son obvios, dado el alto potencial inmunogénico de las glicosilaciones presentes en las proteínas.
- Una tercera línea de acción ha sido la obtención de proteínas quiméricas en las que se expresa la secuencia activa de una proteína de interés, unida a secuencias de proteínas plasmáticas que poseen una larga vida media, como es el caso de la albúmina o fragmentos de inmunoglobulinas (Dennis, Marks S. et al, *The Journal of Biological Chemistry* vol. 277, N° 38, Issue of September 20, pp. 35035–35043, 2002). Sin embargo, esta tecnología presenta como principal desventaja, además de la previsible inmunogenicidad asociada a la exposición de los pacientes a proteínas no presentes en la naturaleza, la pérdida de eficacia de la proteína al modificar su estructura de un modo tan dramático.
- Otra posibilidad investigada para prolongar la vida media de principios activos complejos ha sido la coadministración del producto con un liposoma estabilizado con PEG. Esta técnica se basa en la afinidad del principio activo por el PEG, que permite una asociación reversible entre la proteína y el liposoma. Esta asociación transitoria debe dar lugar a un aumento de la vida media del principio activo proteico, ya que los liposomas estabilizados con PEG permanecen largo tiempo en circulación. Sin embargo, esta hipótesis no ha podido ser corroborada en la práctica, ya que este sistema ha demostrado ser ineficaz para prolongar la vida media del FVIII en pacientes de hemofilia (Powell J.S et al, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 6: 277-283, 2007).
- Hasta la fecha, ningún sistema de los descritos anteriormente ha conseguido modificar significativamente la vida media con contadas excepciones en las cuales, la introducción de modificaciones y alteraciones estructurales hacen inviable o muy compleja su aplicación en el tratamiento de patologías humanas.
- El documento US2003/0134778 describe partículas liposómicas que comprenden una proteína o un péptido, preferentemente el factor coagulante FVIII, cuya vida media se prolonga en el flujo sanguíneo después de administración parenteral.
- La liberación controlada de agentes terapéuticos encapsulados en microesferas poliméricas biodegradables ha sido extensamente estudiada. La microencapsulación del principio activo en polímeros biodegradables permite controlar la liberación del fármaco. Esta aproximación ha sido aplicada recientemente en formulaciones de liberación controlada de uso subcutáneo basadas en derivados de los ácidos láctico y glicólico. Estas formulaciones se han utilizado con éxito en la encapsulación de una amplia variedad de principios activos, incluyendo citostáticos, antiinflamatorios, péptidos y hormonas, entre otros (Tamilvanan S. et al, *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, vol. 62, N° 2, March-April 2008 pp.125–154).
- Pankaj (United States Patent, Patent Number: 5,417,982) describe el uso de microesferas de ácido láctico y glicólico para la liberación controlada de hormonas por vía oral. Aunque Pankaj describe la posibilidad de obtener un producto inyectable, es poco probable que dicha invención sea administrable por vía endovenosa, dada las exigencias de esta vía de administración, y en cualquier caso, dicha invención no anticipa el uso de alginatos para este fin.
- Sivadas (Sivadas Neeraj et al, *International Journal of Pharmaceutics* 358 (2008) pp. 159–167) describe el uso de diferentes polímeros, entre ellos la hidroxipropil celulosa, el quitosano, el ácido hialurónico, gelatina, ovoalbúmina y ácido poliláctico glicólico, como vehículos para la encapsulación de proteínas para su administración por vía inhalada.
- Una desventaja del uso de derivados de los ácidos láctico y glicólico, es la necesidad de realizar preparaciones en presencia de solventes orgánicos, algunos de ellos de conocida toxicidad, como el alcohol polivinílico, y que presentan incompatibilidades con la conservación de la actividad biológica de principios activos complejos como proteínas y hormonas.
- El uso de estos polímeros, resulta además en la obtención de partículas altamente hidrofóbicas, que, como se discute más adelante, son rápidamente eliminadas de la circulación por los mecanismos de captación celular. Otra desventaja adicional, es la generación de un ambiente localmente muy ácido alrededor de la partícula en el

momento de su disolución y, por tanto, en el momento en que se libera el principio activo. Esto se debe a que el polímero se va descomponiendo en ácido láctico y ácido glicólico, lo que genera un ambiente extremadamente ácido entorno a la partícula en disolución. Este ambiente ácido que puede dañar principios activos sensibles, y muy especialmente aquellos que poseen estructuras aminoácidas complejas con actividad biológica lábil.

Los alginatos tienen un amplio número de aplicaciones tanto en la industria alimenticia y la farmacéutica, como de química en general. Esta amplia variedad de aplicaciones viene definida por su propiedad hidrocoloide, es decir, su capacidad de hidratarse en agua para formar soluciones viscosas, dispersiones o geles. Esta característica confiere a los alginatos unas propiedades únicas como espesantes, estabilizantes, gelificantes y formadoras de películas.

Un campo donde las propiedades de los alginatos han sido explotadas ampliamente ha sido en la encapsulación de principios activos para mejorar, en concreto su solubilidad, o facilitar la administración de fármacos. (Tønnesen, Hanne Hjorth et al, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(6), 621-630 (2002)) por diferentes vías de administración. Entre estas destaca el uso de la administración por vía oral dadas las propiedades mucoadhesivas del alginato. La vía subcutánea ha sido también explorada. Sin embargo, no hay antecedentes de uso intravenoso debido a los estrictos requerimientos de esta vía de administración.

Por ejemplo, Benchabane (Benchabane, Samir et al, *Journal of Microencapsulation*, September 2007; 24(6): pp. 565–576) describe el uso de alginatos en la producción de microcápsulas de albúmina mediante “spray-drying” para administración oral. En un antecedente similar, Coppi (Coppi, Gilberto et al, 2001, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(5), pp. 393 – 400), muestra la formación de microesferas entrecruzadas con calcio y quitosano para la administración de proteínas por vía oral. En ambos casos, el alginato actúa como protector de la proteína frente a la degradación proteolítica que tiene lugar naturalmente durante la digestión gástrica.

Por otra parte, Mladenovska (Mladenovska, K., *International Journal of Pharmaceutics* 342 (2007) pp. 124–136) describe la obtención de micropartículas de alginato/quitosano destinadas a la administración por vía colónica.

Sivadas (Sivadas Neeraj et al, *International Journal of Pharmaceutics* 358 (2008) pp. 159–167) también cita el uso de alginatos como vehículo para la encapsulación de proteínas para su administración por vía inhalada.

Al margen de la administración directa de principios activos, los alginatos también han sido propuestos como vehículos para la administración de formas terapéuticas complejas. Por ejemplo, en la patente WO 2006/028996 A2 se describe el uso de alginato y Emulsan para el transporte de agentes detoxificantes de toxinas bacterianas.

Otro ejemplo, es el uso de alginato en la encapsulación de liposomas multivesiculares (Dai, Chuanyun, et al, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 47 (2006) pp. 205–210) o de células vivas (Patente Europea, Número de publicación: 2 159 523). En este caso, la administración de células vivas tiene como objetivo su aplicación en medicina regenerativa o terapia génica (WO 2007/046719 A2; Peirone, Michael et al, *J. Biomed. Mater. Res.* 42, pp. 587-596, 1998; García-Martín, Carmen et al, *The Journal of Gene Medicine*, *J Gene Med* 2002; 4: pp. 215-223). Curiosamente, García-Martín (García-Martín, Carmen et al, *The Journal of Gene Medicine*, *J Gene Med* 2002; 4: pp. 215-223) describe la posible de aplicación de la administración de células vivas modificadas genéticamente para el tratamiento de la hemofilia A, ejemplificando la relevancia médica del problema. En este caso, las microcápsulas de alginato que contienen las células vivas se implantan intraperitonealmente mediante la introducción de un catéter. En este caso, tanto el objetivo del tratamiento como la vía de administración -no intravenosa- se apartan radicalmente de la presente invención.

A pesar de esta amplia experiencia en el uso de polímeros para la encapsulación de principios activos complejos, como pueden ser las proteínas, no existen referencias que solventen la problemática asociada a la administración intravenosa de estos productos. Tal y como describe Wong et al (Wong, Joseph et al, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) pp. 939-954) existen solo tres productos aprobados que empleen suspensiones de partículas para su administración endovenosa. Ninguno de ellos contempla el uso de alginatos en su composición. En todos los casos, no se persigue un aumento de vida media, sino mejorar la solubilidad del producto.

La dificultad para administrar eficazmente micropartículas por vía intravenosa se puede concretar en (a) aspectos básicos de diseño del producto, como pueden ser el tamaño de partícula y distribución, ausencia de solventes orgánicos, así como la homogeneidad, viscosidad y “jeringabilidad” de la suspensión –entendiendo como “jeringabilidad” la facilidad de aspiración y de inyección del producto-; (b) aspectos técnicos de producción e industrialización, como pueden ser la uniformidad de la dosis, la cristalización indeseada de sales en el caso de productos obtenidos por precipitación de solvente, la esterilidad y apirogenicidad del producto; y (c) aspectos biológicos, como pueden ser la alteración no deliberada del perfil farmacocinético y farmacodinámico, alteración de la biodistribución, la bioacumulación del polímero, activación fagocítica, toxicidad y efectos de embolización o activación del complemento.

En este sentido, uno de los problemas más significativos en el desarrollo de estos productos es su rápido aclaramiento por parte del sistema mononuclear fagocítico (SMF), antes llamado Sistema retículo-endotelial (SRE), que incluye todas las células derivadas de los precursores monocíticos de la médula ósea, los monocitos de la

sangre periférica y los macrófagos o histiocitos de los distintos órganos y tejidos. Entre estos últimos cabe destacar, por su importancia en el aclaramiento de micropartículas en plasma, las células de Kúpfer del hígado y los macrófagos distribuidos en el bazo y la médula ósea (Passirane, Catherine et al, Pharmaceutical Research, Vol. 15, Nº 7, 1998 pp. 1046-1050).

Esta ampliamente descrito que tras la administración de nano o micropartículas a nivel intravenoso se produce una rápida opsonización de las mismas por parte de las proteínas del plasma. Esas proteínas absorbidas en la superficie de las mismas inducen el reconocimiento y captación por parte de las células de SMF (Passirane, Catherine et al, Pharmaceutical Research, Vol. 15, Nº 7, 1998 pp. 1046-1050).

Un efecto similar ha sido observado en liposomas (Ishida, Tatsuhiro et al, Journal of Controlled Release 126 (2008) pp. 162-165), donde se ha descrito un fenómeno conocido como Aclaramiento Acelerado en Sangre (ABC por sus siglas en inglés). Tanto en el caso de micropartículas poliméricas como en el de liposomas, los fenómenos de opsonización están además directamente relacionados con la activación del sistema de complemento (Ishida, Tatsuhiro et al, Journal of Controlled Release 126 (2008) pp. 162-165; Koide, Hiroyuki et al, International Journal of Pharmaceutics 362 (2008) pp. 197-200).

En la práctica, este fenómeno de fagocitosis impide el desarrollo de fármacos de vida media prolongada basados en micropartículas administradas por vía intravenosa, ya que el aumento del tamaño asociado a la encapsulación, no solo no aumenta sino que en ocasiones da lugar a una degradación acelerada. Evidentemente este fenómeno solo se observa mediante una experimentación in vivo que contemple estudios de farmacocinética en animales.

Esta ampliamente documentada la relación entre este aclaramiento vía fagocitosis y el tamaño de la partícula. Concretamente Champion (Champion, JA, Pharm Res. 2008 Aug; 25(8): 1815-21. Epub 2008 Mar 29) describe la relación entre la fagocitosis que sufren micropartículas poliméricas y su tamaño, observando un efecto máximo entre 2-3 μm . Otras características que definen la captación de micropartículas por parte del SMF in vivo, son la hidrofobicidad de las partículas y su Potencial Zeta (Potencial Z) (Szycher, Michael, High Performance Biomaterials: A Comprehensive Guide to Medical and Pharmaceutical Applications, publicado por CRC Press, 1991 ISB 0877627754, 9780877627753, 812 páginas).

El Potencial Z es una propiedad de las partículas. Concretamente, las partículas dispersas tienden a cargarse eléctricamente por adsorción de iones de la fase externa, o por ionización de grupos funcionales en su propia superficie. Una consecuencia de ello es que en el entorno de una partícula dispersa cargada negativamente, aparecerá una capa de contraiones adosada a la partícula, llamada capa de Stern. Sobre ésta, aparece una capa difusa caracterizada por la presencia de cargas móviles (de ambos signos) que va contrarrestando, en función de la distancia a la partícula, la carga de ésta. Se denomina Potencial Z a la diferencia de potencial entre la capa de contraiones y el punto de neutralidad electrocinética.

Los valores del Potencial Z son determinantes para la estabilidad de la mayoría de sistemas dispersos, ya que éste regulará el grado de repulsión entre partículas dispersas de carga similar, impidiendo un acercamiento excesivo de las mismas y el predominio de las fuerzas de atracción interparticulares que ocasionan los fenómenos de coalescencia. En relación al potencial Z, se ha descrito (Szycher, Michael, High Performance Biomaterials: A Comprehensive Guide to Medical and Pharmaceutical Applications, publicado por CRC Press, 1991 ISB 0877627754, 9780877627753, 812 páginas) que potenciales Z parcialmente negativos y próximos a 0 reducen la fagocitosis.

Por otra parte, la hidrofobicidad también favorece la opsonización y captación de las partículas. Esto es de especial interés, ya que las partículas derivadas del ácido poliláctico y glicólico, por ejemplo, son altamente hidrofóbicas.

Una aproximación realizada para prolongar la vida media en plasma de micropartículas y liposomas ha sido la introducción en superficie de polímeros cargados, capaces de modificar su carga y de generar una capa hidrofílica superficial que les proteja de la opsonización y fagocitosis. Entre ellos destaca el uso de polietilenglicol (PEG) (Ishida, Tatsuhiro et al, Journal of Controlled Release 126 (2008) 162-165; Owens III Donald E et al, International Journal of Pharmaceutics, volumen 307, Issue 1, 3 January 2006, Pages 93-102) o heparina (Passirane, Catherine et al, Pharmaceutical Research, Vol. 15, Nº 7, 1998 pp. 1046-1050).

Esta aproximación complica y dificulta el desarrollo de un producto farmacéutico al aumentar la complejidad del sistema. Además, como se ha discutido previamente, el uso de PEG-liposomas ha demostrado ser ineficaz en la prolongación de la vida media de una proteína compleja como es el FVIII (Powell J.S et al 2007, Journal of Thrombosis and Haemostasis, 6: pp. 277-283).

En el caso de las micropartículas, para obtener un producto viable de administración intravenosa sería necesario disponer de partículas hidrofílicas con una combinación de tamaño y potencial Z adecuado.

Terrence (Patente Europea, Número de publicación: 2 286 040, Número de solicitud europea: 00973477.3) describe el uso de polímeros como sistema de administración capaz de aumentar la vida media de los principios activos

encapsulados. Para este fin, dicha invención requiere el uso de (1) un primer polímero hidrosoluble, (2) al menos un polisacárido aniónico como primer agente acomplejante y (3) un catión divalente como segundo agente acomplejante. Como se observa, la citada invención resulta técnicamente compleja y de difícil ejecución en la práctica. En contraposición, en la presente invención la liberación controlada del principio activo se logra con micropartículas extremadamente más sencillas, que implican el uso de un solo polímero que concede todas las propiedades necesarias para su aplicación. Además, la invención de Terrence no demuestra la compatibilidad de su preparación para uso intravenoso por tamaño, ni tampoco explica o ejemplifica cómo evitar la fagocitosis celular.

El alginato, a diferencia de otros polímeros con el PLA ó PLGA, es hidrofílico. Las partículas generadas en la presente invención han demostrado tener potenciales Z parcialmente negativos, suficientes para evitar la agregación de las partículas, pero lo bastante neutros como para proporcionar un bajo perfil de opsonización.

Los tamaños de partícula máximos aceptables para su administración intravenosa se sitúan entorno a la 5µm. Esto queda demostrado por la existencia fármacos registrados que emplean albúmina marcada para diagnóstico por ultrasonidos (Optison, ficha técnica 28) con un tamaño medio de 3,0-4,5 µm.

El alginato es biocompatible, con una dilatada experiencia de administración por vía oral en humanos, dada su amplio uso en la industria alimentaria. Cuando se inyecta intravenosamente como polímero no particulado, se elimina en forma bifásica con vidas medias de 4 y 22 horas (Hagen, A. et al, European Journal of Pharmaceutical Sciences, Volumen 4, Supplement 1, September 1996, pp. 100-100 (1)) sin que se observen fenómenos adversos. El alginato se elimina por la orina.

Además, el hecho de ser un polímero hidrosoluble facilita su compatibilidad con proteínas complejas, ya que éste es su solvente natural.

La presente invención da a conocer una composición que comprende micropartículas de ácido algínico o sus sales farmacéuticamente aceptables con la que se consigue una liberación controlada, y con ello un incremento en la vida media de los principios activos administrados por vía intravenosa y resulta en una menor frecuencia de aplicación y consigue unos niveles de principio activo en sangre más estables, disminuyendo con ello los picos y valles típicos en la concentración del principio activo, que se dan en la infusión periódica de los mismos.

La presente invención describe micropartículas hidrofílicas de alginato con una combinación de tamaño adecuado para su infusión intravenosa y unas características físico-químicas adecuadas para evitar la fagocitosis acelerada de las mismas, permitiendo una liberación controlada de principios activos complejos.

Descripción de la invención

El ácido algínico y sus sales (alginato amónico, alginato cálcico, alginato potásico, alginato sódico y propilenglicol alginato) están entre los polímeros más usados y estudiados en la encapsulación de principios activos debido a sus propiedades fisicoquímicas y bioquímicas. Son polisacáridos de origen natural, producidos comercialmente a partir de algas o bacterias.

Los alginatos son las sales del ácido algínico, polisacárido lineal constituido por dos unidades monoméricas, el ácido β-(1-4)-D-manurónico (M) y el ácido α-(1-4)-L-gulurónico (G). Estos se agrupan en bloques formando gran diversidad de secuencias siendo las más frecuentes las G, las M y las MG.

En presencia de cationes multivalentes como el calcio (Ca⁺⁺), se producen fuertes uniones entre bloques G contiguos formando una red extendida de alginatos. Los iones de calcio se sitúan como puentes entre los grupos con carga negativa del ácido gulurónico.

En algunas formulaciones suelen ir acompañados de otros polisacáridos como el quitosán. El quitosán es un polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de β-(1-4) D-glucosamina (unidades deacetiladas) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada).

En algunas formulaciones de alginato se puede emplear como sustancia de carga la albúmina, preferiblemente albúmina humana estéril y apirógena; la cual puede actuar además como protector del principio activo durante el proceso de fabricación o como estabilizante durante la conservación del producto a largo plazo.

El principio activo del cual se pretende modificar su liberación en plasma son factores coagulantes.

El hecho de que estos principios activos posean actividad biológica los convierte en especialmente vulnerables a una eventual pérdida de funcionalidad como consecuencia de daños estructurales menores. Estos daños estructurales pueden estar asociados a la temperatura, presión, polaridad del medio, osmolalidad, presencia de oxígeno, agitación, etc.

En este sentido, entre estos principios activos destaca por su extremada labilidad el Factor VIII de la coagulación.

Debido a su complejidad estructural, resulta muy difícil estabilizar adecuadamente la actividad biológica del FVIII, especialmente en su forma purificada. Por ejemplo, Parti R et al (Haemophilia 2000; 6: 513-522) explica como incluso en su forma liofilizada, la actividad biológica del FVIII empieza a verse comprometida a temperaturas por encima de los 40°C. Esta inestabilidad se hace mucho más evidente cuando el FVIII está en solución, donde incluso a 25°C se observan signos de inestabilidad. En el caso del Factor IX y del Factor VIIa, también es conocida su sensibilidad a factores externos como puede ser la temperatura.

En este sentido cabe resaltar que el procedimiento de fabricación aplicado permite obtener preparaciones con terapéuticas con actividad biológica de FVIII. Eso significa que el procedimiento es aplicable a principios activos con actividades biológicas de difícil estabilización y, por lo tanto, que la presente invención es aplicable principios que sean tan lábiles como el FVIII. Por extensión, la presente invención es aplicable principios que sean más estables que el FVIII. Por ello, los factores de coagulación son un claro ejemplo de principio activo que puede beneficiarse de la aplicación de una formulación como la descrita en la presente invención.

En la presente invención el principio activo integrado en la microesfera polimérica es un factor de coagulación y más preferentemente, el principio activo es el factor VIII, el factor von Willebrand, el complejo formado por el factor VIII y el factor von Willebrand, el factor el factor IX o el factor VIIa.

Estos principios pueden ser de origen humano, animal, recombinante o transgénico. En estos últimos casos, la molécula sintetizada puede reproducir la molécula natural o estar deliberadamente modificada.

Obtención de la composición

La microencapsulación es un proceso de recubrimiento de moléculas, partículas sólidas o glóbulos líquidos, con materiales de distinta naturaleza, para dar lugar a partículas de tamaño micrométrico. El producto resultante de este proceso tecnológico recibe la denominación de micropartículas, microcápsulas o microesferas.

Hay diferentes técnicas de microencapsulación:

- Microencapsulación por métodos Químicos:

- Polimerización interfacial

- Microencapsulación por métodos Físicoquímicos:

- Evaporación de solvente
- Coacervación
- Gelificación
- Quelación
- Formación de vesículas

- Microencapsulación por métodos Mecánicos:

- Extrusión
- Co-extrusión
- Secado por atomización
- Spray chilling

La técnica escogida para la fabricación de micropartículas descrita en la presente invención es el Secado por atomización, descrita en Erdinc B.I. [Erdinc B.I. (2007) Micro/nanoencapsulation of proteins within alginate/chitosan matrix by spray drying. Tesis de Licenciatura, Queen's University, Kingston, Canadá]. Este técnica de fabricación se caracteriza porque consta de una sola etapa y se obtienen micropartículas como producto final.

El procedimiento de fabricación de una composición biocompatible para administración por vía intravenosa que comprende micropartículas de ácido alginico o sales del mismo para la liberación controlada de un principio activo de la presente invención está caracterizado porque comprende las etapas de:

- atomización, en la que la solución/suspensión/emulsión que contiene el principio activo y el polímero es bombeada a través de una boquilla y es dispersada en forma de gotas,

- desecación en la cámara de secado, en la que el aire caliente favorece la evaporación del solvente de las gotas, y

- Recogida del producto encapsulado

realizándose dicho procedimiento a una temperatura entre 140 y 180°C, con una aspiración entre 35 y 40 m³/h, un

flujo de inyección entre 3,5 y 5 ml/min y una presión entre 4 y 6 psi.

Con estas condiciones se logran obtener partículas con un tamaño menor o igual a 5 µm, preferentemente entre 1 y 4,5 µm y mantener la actividad del principio activo. Adicionalmente, el tamaño promedio de las partículas se puede mejorar en un proceso opcional de homogenización de la emulsión antes de la etapa de atomización. Esta homogenización adicional se realiza mediante presión, por ejemplo entre 1500 y 2000 psi.

La encapsulación de principios activos mediante el secado por atomización es un proceso continuo en el que una solución o emulsión se deshidrata, recuperando al final del proceso un sólido formado por micropartículas.

Para ello, el fluido que contiene al principio activo se impulsa mecánicamente a un determinado flujo de inyección hacia una boquilla o disco rotatorio en la que se atomiza en millones de gotas de tamaño muy pequeño. El tamaño de las gotas viene determinado en gran medida por la presión del gas que provoca la pulverización del fluido. Este proceso tiene lugar en una cámara cerrada donde circula de manera continua una corriente de gas controlada, que normalmente es aire, a una determinada velocidad de aspiración y a una temperatura controlada.

Como consecuencia de la atomización, el fluido aumenta enormemente su superficie de contacto con el aire, de modo que cuando se encuentra con la corriente de aire de secado se produce una evaporación rápida del solvente del fluido, generalmente agua. Esta rápida evaporación genera un enfriamiento interno de cada pequeña gota debido al calor producto del cambio de estado. De este modo es posible realizar un secado rápido a la vez que se minimiza el choque térmico sobre el principio activo. Una vez finalizado el proceso, el producto se recoge en forma sólida.

Caracterización de la composición

Las micropartículas obtenidas son caracterizadas determinando su tamaño medio de partícula, su potencial Z y su actividad biológica. El tamaño de partícula se determina con el equipo Beckman Coulter LS13320 a través de un láser de difracción

Al tratarse de una administración intravenosa se requieren tamaños de partícula menor o igual a 5 µm, preferentemente entre 1 y 4,5 µm, ya que tamaños de partícula superiores podrían inducir la formación de trombos.

El potencial Z, el cual se determina con el equipo Malvern Zetasizer, es uno de los parámetros fundamentales que controla la interacción de las partículas en suspensión. Viene determinado por la naturaleza de la superficie de la partícula y el medio de dispersión. En este caso los valores óptimos son los superiores a -30mV ya que se asegura la repulsión entre partículas y la ausencia de agregados. Se ha demostrado que micropartículas con potenciales Z próximos a 0, preferentemente entre -30 mV y 0, sufren una baja captación hepática y aclaramiento celular. (Szycher, Michael, High Performance Biomaterials: A Comprehensive Guide to Medical and Pharmaceutical Applications, publicado por CRC Press, 1991 ISB 0877627754, 9780877627753, 812 páginas).

Uso de la composición

Las formas farmacéuticas de liberación modificada o controlada son aquellas diseñadas de tal manera que se modifica la velocidad y/o el lugar de liberación de la sustancia o sustancias activas respecto a la forma farmacéutica de liberación convencional, administrada por la misma vía.

En la presente invención se ha observado como la encapsulación de factores de coagulación, permite una liberación controlada en un modelo de liberación in Vitro. El Factor VIII destaca por su extremada sensibilidad a factores externos dada a su complejidad estructural. De hecho, incluso la congelación del FVIII en el propio plasma humano, su matriz natural, da lugar a una pérdida parcial de actividad biológica (Bravo, M.I. et al, Pharmeuropa Scientific Notes, 2006-1 pp.1-5).

Así, cuando se colocaron las micropartículas descritas en la presente invención conteniendo FVIII humano en una celda de flujo continuo frente a un medio similar al plasma humano, se observó un retraso, en comparación al producto no encapsulado, en la liberación del FVIII al medio.

De un modo similar, la administración intravenosa en conejo de las micropartículas conteniendo FVIII objeto de la presente invención, dan lugar a una prolongación consistente y significativa de la vida media en plasma del FVIII, en relación al producto convencional. Además, no se observaron efectos adversos en los animales que pudieran indicar algún efecto de toxicidad asociado a la formulación descrita.

Los datos de farmacocinética in vivo son muy significativos, ya que prueban sin lugar a dudas que el efecto de opsonización y captación acelerada por el SMF ha sido resuelto correctamente por la formulación objeto de la invención.

La presente invención puede ser usada en el tratamiento de diferentes patologías que requieran la administración endovenosa de principios complejos, que pueden incluir por ejemplo, desórdenes hemorrágicos y alteraciones de la

coagulación, enfermedades hormonales, etc. En estos casos, se lograría una prolongación significativa de la vida media, que por ejemplo en el caso del FVIII, podría suponer reducir el número de administraciones para mantener un régimen de profilaxis primaria a, por ejemplo, una administración semanal.

5 Un posible inconveniente asociado al uso de polímeros hidrofílicos puede ser la disolución parcial de la micropartícula durante el periodo de tiempo que transcurre desde la suspensión del producto en un vehículo de administración acuoso, por ejemplo, agua para inyección apirógena y estéril; hasta el momento de la infusión endovenosa. Este tipo de inconvenientes se pueden solventar por ejemplo con el uso de soluciones biocompatibles parcialmente apolares, como puede ser etanol, propilenglicol, polietilenglicol, dimetilsulfóxido, N-metil-2-pirrolidona, glicofurool, ispropilideno-glicerol, formalglicerol o acetona (Mottu F, et al. Journal of Pharmaceutical Science & Technology 2000 Vol 54, N°6, 456-469), entre otros; como vehículos de resuspensión y administración de las micropartículas descritas en la presente invención.

15 La invención puede ser producida, por ejemplo, en forma de producto deshidratado o liofilizado envasado al vacío o en atmósfera inerte, lo que permite una larga estabilidad en condiciones de temperatura variables, por ejemplo, entre 2°C y 40°C. El producto así conservado, puede ser administrado intravenosamente después de su reconstitución con un solvente que puede ser agua para inyección, o una solución salina, o una mezcla o solución salina acuosa con un contenido variable, por ejemplo entre el 0,5% y el 50%, de solventes biocompatibles, como por ejemplo etanol, propilenglicol, polietilenglicol, dimetilsulfóxido, N-metil-2-pirrolidona, glicofurool, ispropilideno-glicerol, formalglicerol o acetona; entre otros.

Ventajas sobre el estado de la técnica

25 La presente invención describe la obtención de micropartículas hidrofílicas de alginato con una combinación de tamaño adecuado para su infusión intravenosa y unas características físico-químicas adecuadas para evitar la fagocitosis acelerada de las mismas, permitiendo una prolongación de la vida media de principios activos complejos.

30 El alginato es biocompatible y se elimina por la orina, sin que se asocie efecto alguno conocido de toxicidad. Por sus características, la presente invención es compatible con la administración de proteínas y principios activos complejos.

35 Esta invención permite subsanar todos los inconvenientes que hacían inviable un sistema intravenoso de administración controlada, permitiendo así reducir el número de administraciones necesarias para el tratamiento con principios activos inalterados de uso intravenoso. En este sentido cabe destacar que la presente invención no requiere de modificación alguna de principio activo, a nivel de secuencia aminoácida, glicosilaciones o introducción de derivados sintéticos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

40 La figura 1 muestra una gráfica comparativa de los resultados de los Test de liberación in Vitro de los lotes LOTE 9 y LOTE 1.

45 La figura 2 muestra una farmacocinética de FVIII:C humano en plasma de conejo tras la administración del FVIII no encapsulado y tras la aplicación de la composición.

La figura 3 muestra una farmacocinética de FVW:Ag humano en plasma de conejo tras la administración del FVIII no encapsulado y tras la aplicación de la composición.

Ejemplo 1

50 Obtención de las micropartículas

55 Para la obtención de las micropartículas de alginato se utilizó el procedimiento de secado por atomización ("spray-drying") tal y como se describe en Erdinc B.I. [Erdinc B.I. (2007) Micro/nanoencapsulation of proteins within alginate/chitosan matrix by spray drying. Tesis de Licenciatura, Queen's University, Kingston, Canadá]. Básicamente, las micropartículas se prepararon realizando una emulsión con el polímero y el principio activo escogido.

60 Se utilizó un equipo Büchi Mini Spray Dryer B-290 para atomizar las muestras con las siguientes condiciones: temperatura de atomización: 140°C–180°C, aspiración: 35–40 m³/h, flujo de inyección: 3,5–5 ml/min y presión: 4–6 psi.

Ejemplo 2

65 Caracterización de las micropartículas

Las tablas 1, 2 y 3 describen los materiales empleados en la fabricación de las micropartículas y sus características,

incluyendo tamaño, potencial Z y rendimiento. El procedimiento de fabricación y las condiciones utilizadas fueron las descritas en el ejemplo 1.

Tabla 1: Caracterización de micropartículas de FVIII (FVIII plasmático)

Lote	Polímero	Tamaño medio de partícula (µm)	Potencial Z (mV)
LOTE 1 FVIII	Alginato sódico	3,6	-32
LOTE 2 FVIII	Alginato sódico	4,5	-32
LOTE 3 FVIII	Alginato sódico	4,7	-31

La proporción de actividad de FVIII/FVIII Antígeno da una idea de la proporción de proteína activa en una muestra dada. De este modo, si se compara la proporción de actividad/antígeno en la muestra inicial con el obtenido en la muestra encapsulada, se puede calcular la proporción de principio activo que sigue siendo funcional tras la microencapsulación. En el ejemplo, se encontró que los rendimientos de actividad durante el proceso de encapsulación, expresados como porcentaje respecto al inicial, son del 57,6%, 33,9% y 35,7% para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente.

Tabla 2: Caracterización de micropartículas de FIX (FIX plasmático)

Lote	Polímero	Tamaño medio de partícula (µm)	Potencial Z (mV)
LOTE 4 FIX	Alginato sódico	4,9	-63
LOTE 5 FIX	Alginato sódico	4,5	-18
LOTE 6 FIX	Alginato sódico	4,9	-10

En este caso, se encontró que los rendimientos de actividad durante el proceso de encapsulación en los lotes 4, 5 y 6, son del 100% en todos ellos.

Tabla 3: Caracterización de micropartículas de rFVIII (FVIII_{recombinante}) y rFVIIa (FVIIa_{recombinante})

Lote	Polímero	Tamaño medio de partícula (µm)	Potencial Z (mV)
LOTE 7 rFVIII	Alginato sódico	4,7	-70
LOTE 8 rFVIIa	Alginato sódico	4,9	-64

En el caso de proteínas de origen recombinante, se encontraron rendimientos de actividad durante el proceso de encapsulación del 25% y del 71% para los lotes 7 y 8 respectivamente.

En todos los lotes, el tamaño de partícula se determinó con el equipo Beckman Coulter LS13320 a través de un láser de difracción y el Potencial Z se midió con el equipo Malvern Zetasizer.

La actividad biológica del FVIII fue determinada mediante ensayo de coagulación en plasma deficiente o evaluando la generación de FXa mediante método cromogénico. En el caso del FVIIa y el FIX, la actividad biológica se determinó mediante evaluación del tiempo de coagulación (tiempo parcial de tromboplastina activada) de plasmas carentes respectivamente de FVII y FIX. La concentración de proteína fue determinada mediante método de detección inmunológica por enzimo-inmunoensayo (ELISA) empleando anticuerpos específicos contra el FVIII:Ag, FIX:Ag ó FVII:Ag respectivamente.

Las proporciones entre actividad/antígeno, indicativas de la proporción de proteína activa en una muestra dada, se calcularon obteniendo el cociente entre las unidades de actividad y antígeno para el principio activo específico en dicha muestra. El cálculo del rendimiento Actividad/Antígeno se realiza estimando el porcentaje de variación entre las proporciones de actividad/antígeno de la muestra de partida y del producto final encapsulado.

Como se puede observar en todos los casos, el tamaño medio de partícula es inferior o igual a 5 µm y el potencial Z es negativo. Asimismo los resultados de rendimiento Actividad/Ag nos indican que se mantiene la Actividad biológica durante el proceso.

Las diferentes tablas muestran que el sistema de liberación controlada es apto para diferentes principios activos.

Ejemplo 3

Test de Liberación In Vitro

Para evaluar la liberación de principio activo se desarrolla un test de liberación controlada con una celda de flujo continuo en un equipo SOTAX CE1 en circuito cerrado.

El Test se realizó a una temperatura de 37°C, con un flujo de 7-25ml/min y empleando como medio de disolución un tampón imidazol pH 7,3 conteniendo albúmina humana al 1%. A diferentes tiempos (5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 120 minutos, 180 minutos y 240 minutos) se extrajo muestra representativa para su análisis. Para corregir la pérdida de volumen, el volumen de muestra extraído fue reemplazado con el mismo volumen de medio fresco.

La actividad biológica del FVIII fue determinada mediante ensayo de coagulación en plasma deficiente o evaluando la generación de FXa mediante método cromogénico. En el caso del FVIIa y el FIX, la actividad biológica se determinó mediante evaluación del tiempo de coagulación (tiempo parcial de tromboplastina activada) de plasmas carentes respectivamente de FVII y FIX. La concentración de proteína fue determinada mediante método de detección inmunológica por enzimo-inmunoensayo (ELISA) empleando anticuerpos específicos contra el FVIII:Ag, FIX:Ag ó FVII:Ag respectivamente.

Tras la realización de los test se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 4. Test de liberación In Vitro de FVIII liofilizado no encapsulado (LOTE 9)

LOTE 9 (no encapsulado)	
Tiempos (min)	FVIII:C liberado (%)
5	100

Tabla 5. Test de liberación In Vitro de nanopartículas de FVIII (LOTE 1)

LOTE 1 (encapsulado)	
Tiempos (min)	FVIII:C liberado (%)
5	20,7
10	29,6
15	35,2
30	40,5
60	51,7
120	63,0
180	69,0
240	71,0

Se puede observar que la composición de la micropartícula aplicada a al principio activo modifica la cinética de liberación del producto respecto al producto no encapsulado.

Ejemplo 4

Farmacocinética del Factor VIII en animales

5 Para evaluar el efecto de la composición sobre la liberación de principio activo in vivo, se realizó un ensayo de farmacocinética en conejo. Para ello, se administró a tres conejos hembra New Zealand White, una dosis de 50IU/kg de FVIII humano procedente del Lote 9 (no encapsulado) por vía intravenosa. De igual modo, se administró intravenosamente a otros tres conejos hembra New Zealand White, una dosis de 50IU/kg de FVIII encapsulado procedente del Lote 1, fabricado según se describe en el ejemplo 1 y caracterizado según el ejemplo 2. A diferentes
10 tiempos, se obtuvieron muestras de plasma las cuales fueron analizadas para detectar la presencia de FVIII:C humano, tal y como se describe en la tabla 6. La detección de FVIII humano se realizó mediante método cromogénico previa captura inmunológica selectiva de las moléculas de FVIII humanas. Esto permitió discriminar la actividad del FVIII humano infundido frente a la del FVIII del propio conejo.

15 Tabla 6. Farmacocinética de FVIII:C humano en plasma de conejo tras la administración del FVIII no encapsulado y tras la aplicación de la composición

Tiempos (horas)	FVIII (no encapsulado) LOTE 9	Micropartículas de FVIII (encapsulado) LOTE 1
	hFVIII:C (U/ml)	hFVIII:C (U/ml)
0	0,018 ± 0,024	0,046 ± 0,012
0,5	0,931 ± 0,069	0,459 ± 0,186
2	0,678 ± 0,236	0,534 ± 0,158
6	0,238 ± 0,165	0,346 ± 0,076
12	0,054 ± 0,062	0,243 ± 0,005
24	0,023 ± 0,027	0,090 ± 0,008
36	0,022 ± 0,024	0,073 ± 0,009
49	0,021 ± 0,026	0,033 ± 0,011

20 De los resultados se puede observar que la composición retrasa la liberación del principio activo en plasma. Además, estos resultados demuestran que no existe ningún mecanismo celular (hígado, bazo, o macrófagos) que elimine aceleradamente las micropartículas de la circulación, a pesar de su tamaño.

25 El análisis de estos datos mediante un software adecuado a tal fin (WinNonlin 5.2) permitió calcular las constantes farmacocinéticas detalladas en la tabla 7.

Tabla 7. Parámetro farmacocinéticos del FVIII:C humano en plasma de conejo tras la administración del FVIII no encapsulado y tras la aplicación de la composición

		FVIII (no encapsulado) LOTE 9	Micropartículas de FVIII (encapsulado) LOTE 1
FVIII:C	Vida media (h)	3,0 ± 1,6	12,7 ± 2,7
	Tiempo medio de residencia (h)	5,1 ± 1,1	17,4 ± 3,8

30 Ejemplo 5

Farmacocinética del Factor von Willebrand en animales

35 Tanto en el caso de la preparación LOTE 9 (FVIII no encapsulado) como en el de la preparación LOTE 1 (FVIII encapsulado), el FVIII era de origen plasmático y con un contenido significativo de Factor von Willebrand (FVW). Esto significa que simultáneamente a la encapsulación de FVIII se produce la encapsulación del FVW. Por tanto, su comportamiento puede ser estudiado de modo independiente. Para ello se procedió a analizar independientemente

la farmacocinética del FVW, evaluando la presencia del FVW antigénico humano (FVW:Ag) en el plasma del conejo. Los resultados se recogen en la tabla 8.

5 Tabla 8. Farmacocinética de FVW:Ag humano en plasma de conejo tras la administración del FVW no encapsulado y tras la aplicación de la composición

Tiempos (horas)	FVIII/FVW (no encapsulado) LOTE 9	Micropartículas de FVIII/FVW (encapsulado) LOTE 1
	FVW:Ag (UI/ml)	FVW:Ag (UI/ml)
0	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
0,5	0,859 ± 0,193	1,053 ± 0,048
2	0,552 ± 0,247	0,862 ± 0,055
6	0,150 ± 0,080	0,384 ± 0,106
12	0,033 ± 0,022	0,207 ± 0,031
24	0,005 ± 0,002	0,040 ± 0,005
36	0,001 ± 0,000	0,019 ± 0,008
49	0,001 ± 0,000	0,009 ± 0,005

10 De los resultados se puede observar que la composición retrasa la liberación del principio activo en plasma. Además, estos resultados demuestran que no existe ningún mecanismo celular (hígado, bazo, o macrófagos) que elimine aceleradamente las micropartículas de la circulación, a pesar de su tamaño.

El análisis de estos datos mediante un software adecuado a tal fin (WinNonlin 5.2) permitió calcular las constantes farmacocinéticas detalladas en la tabla 9.

15 Tabla 9. Parámetro farmacocinéticos del FVW:Ag humano en plasma de conejo tras la administración del FVIII/FVW no encapsulado y tras la aplicación de la composición

		FVIII (no encapsulado) LOTE 9	Micropartículas de FVIII (encapsulado) LOTE 1
FVW:Ag	Vida media (h)	5,7 ± 0,3	11,1 ± 2,8
	Tiempo medio de residencia (h)	3,6 ± 0,5	11,9 ± 3,7

20 Tal y como se observa, el encapsulamiento del principio activo, FVW en este caso, prolonga significativamente la vida media del mismo.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición biocompatible para administración intravenosa para la liberación controlada de un ingrediente activo, comprendiendo un factor coagulante de la sangre, en el que el ingrediente activo está incluido en micropartículas de ácido algínico o sales del mismo, en la que estas micropartículas tienen dimensiones menores o iguales a 5 μm y un potencial Z negativo.
- 10 2. Composición, según la reivindicación 1, en la que las dimensiones de las micropartículas están comprendidas entre 1 y 4,5 μm .
3. Composición, según las reivindicaciones 1 o 2, en las que el potencial Z está comprendido entre -70 y 0 mV, no incluyendo 0.
- 15 4. Composición, según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el ingrediente activo es factor VIII.
5. Composición, según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el ingrediente activo es FVW.
- 20 6. Composición, según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el ingrediente activo es el complejo formado por FVIII y FVW.
7. Composición, según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el ingrediente activo es factor IX.
- 25 8. Composición, según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el ingrediente activo es factor VIIa.

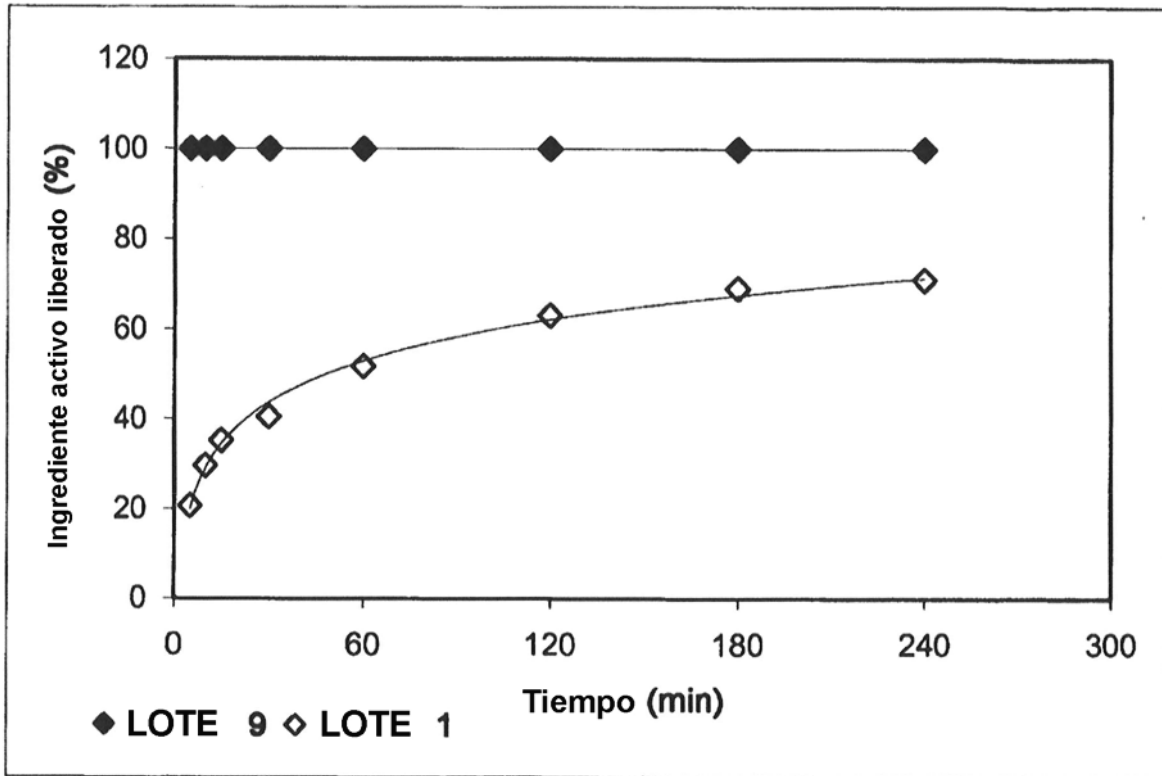


Fig. 1

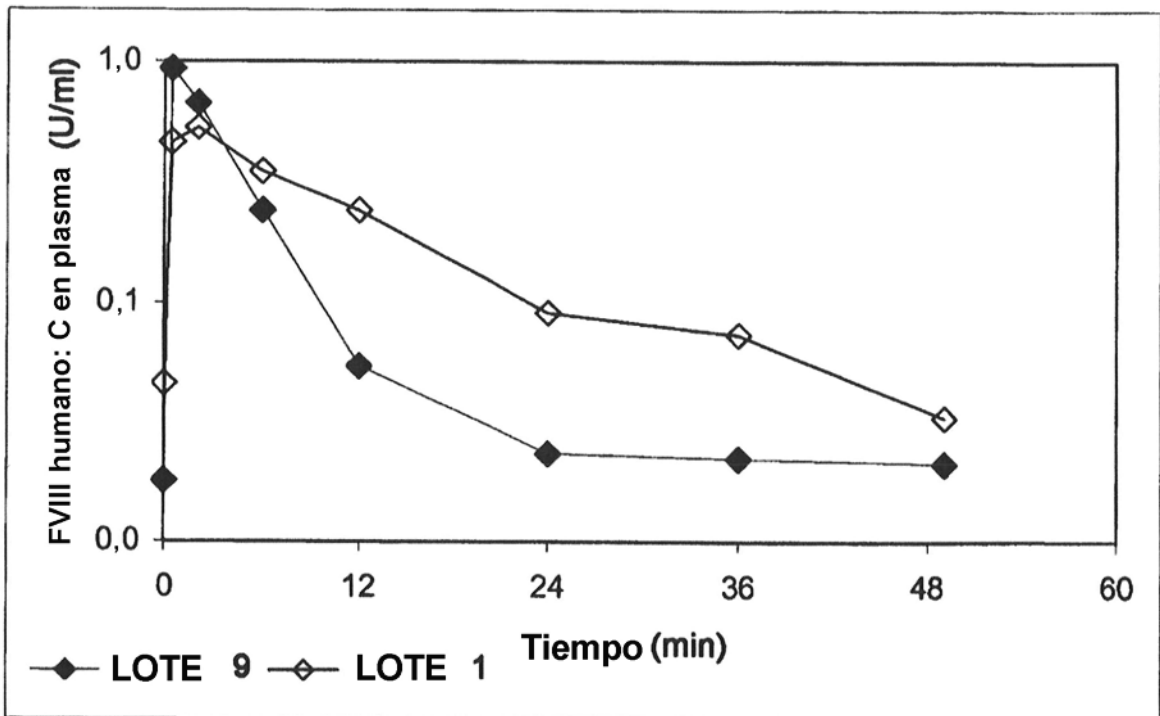


Fig. 2

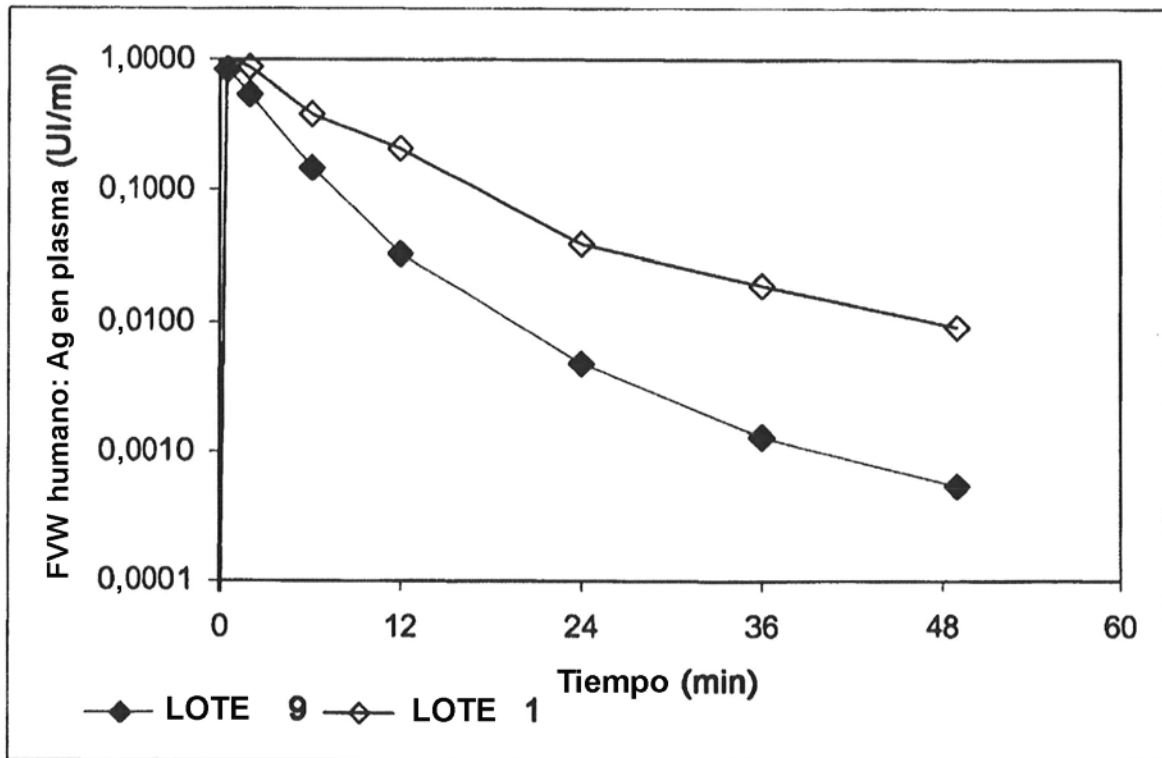


Fig. 3