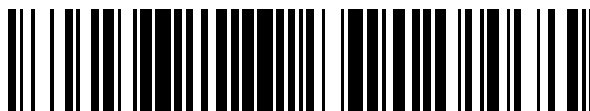


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 691**

51 Int. Cl.:
C08F 263/04 (2006.01)
C08F 273/00 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
C08G 63/08 (2006.01)
C08J 3/14 (2006.01)
C08G 85/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08803822 .9**
96 Fecha de presentación: **08.09.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2201053**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.06.2010**

54 Título: **Copolímeros de injerto como sistemas de suministro de fármacos**

30 Prioridad:
11.09.2007 EP 07116143

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
29.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
29.11.2012

73 Titular/es:
EVONIK RÖHM GMBH (100.0%)
Kirschenallee
64293 Darmstadt, DE

72 Inventor/es:
KISSEL, THOMAS y
WANG, XIAOYING

74 Agente/Representante:
LEHMANN NOVO, María Isabel

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).

ES 2 391 691 T3

DESCRIPCIÓN

Copolímeros de injerto como sistemas de suministro de fármacos

Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de sistemas de suministro de fármacos. Describe copolímeros de injerto de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico)-g-poli(lactida-co-glicolida) (abreviados como P(VS-VA)-g-PLGA, con propiedades de electrolito negativamente cargado, su método de preparación y su uso. Estos copolímeros de injerto cargados negativamente son adecuados para la carga eficaz y la liberación sostenida de especialmente fármacos, proteínas y péptidos cargados positivamente; y las partículas de estos copolímeros injertados cargadas con fármacos son especialmente útiles como sistemas de suministro parenteral o mucosal de fármacos para aplicaciones farmacéuticas.

Antecedentes de la invención

La protección frente a la desnaturalización y la degradación enzimática de sustancias biológica y/o farmacéuticamente activas como fármacos y especialmente proteínas destinadas a ser aplicadas para usos médicos es una cuestión importante para todos los sistemas de suministro de fármacos. También, la liberación controlada de tales compuestos activos, incluyendo pequeñas moléculas, después de la aplicación, y la mejora del transporte a través de las superficies mucosales, siguen siendo cuestiones importantes.

Los excipientes poliméricos como posibles sistemas de suministro de fármacos son en principio conocidos en el estado de la técnica. Las posibles estrategias basadas en vehículos poliméricos para el suministro mucosal y parenteral de proteínas incluyen, por ejemplo, (a) la modificación de compuestos biológicamente activos con polímeros, (b) el encapsulamiento de las macromoléculas hidrófilas en micro- o nanoesferas o micro- o nanopartículas, y (c) la carga de forma adsorbente del fármaco sobre la superficie de micro- o nanoesferas o micro- o nanopartículas. Debido a su uso médico, es necesario que estos sistemas también sean biodegradables.

Este reto es especialmente importante para sistemas orales, mucosales y parenterales, diseñados para ingredientes hidrófilos, especialmente macromoleculares. Adicionalmente, cada requisito difiere con respecto a la aplicación pretendida específica, lo que motiva una búsqueda de polímeros químicamente diversos. Ya se han desarrollado algunos polímeros para satisfacer estos requisitos, pero todavía queda un reto formidable puesto que todavía son escasas las relaciones de estructura/función de polímeros adecuados. Un cierto enfoque tiene como objetivo la identificación de polímeros cargados negativamente, especialmente poliésteres como vehículos para sustancias farmacológicamente activas, debido a que se espera que estos sean particularmente adecuados para la carga eficaz y para mostrar propiedades de liberación sostenida de fármacos, proteínas y péptidos cargados positivamente.

En el documento US 3773919 ya se han descrito polímeros de matrices biodegradables para embeber ingredientes activos. Se propusieron polímeros de ácidos hidroxicarboxílicos, especialmente ácido láctico y/o glicólico. Sin embargo, las formas de depósito de poliácido láctico (PLA) o poliácido láctico-co-glicólico (PLGA), especialmente micropartículas, generalmente muestran una tendencia a la liberación de múltiples fases, e inicialmente presentan una liberación acusadamente incrementada debido al ingrediente activo presente sobre la superficie. A esto le sigue una fase de liberación acusadamente reducida o no existente, especialmente en ingredientes activos peptídicos, que entonces es seguida por la liberación tardía del ingrediente activo apoyado por la degradación de la masa polimérica.

El documento EP 058481 A1 describe el uso de una mezcla de PLGA que tiene diferentes pesos moleculares. Se supone que la liberación de fármaco es lineal por esto, y la velocidad de degradación se ajusta al período de liberación. Sin embargo, el uso de tales mezclas poliméricas impone enormes requisitos sobre la estabilidad hidrolítica del ingrediente activo, y generalmente no son muy adecuadas para la producción de micropartículas.

El documento DE 3430852 A1 describe ésteres de polioles con poliácido o copoliácido láctico, que también se proponen como polímeros de matriz para formas de depósito. El Ejemplo 26 supone la liberación *in vitro* de micropartículas lavadas que contienen mesilato de bromocriptina producidas mediante secado por pulverización. A pesar de la eliminación del ingrediente activo que se adhiere a la superficie de las micropartículas, después de 24 horas el 62% de la carga de ingrediente activo ya se había liberado.

El documento EP 407617 A1 describe un poliéster biocompatible con una velocidad de hidrólisis incrementada, que consiste en sacáridos enlazados a PLA o PLGA. Los poliésteres se proponen como material de matriz para formas de depósito. Sin embargo, parecen estar asociados con el problema de la liberación no uniforme de ingrediente activo, y especialmente el problema del efecto de estallido inicial.

Adicionalmente, los poliésteres que consisten en una cadena principal de polisacárido no son térmicamente muy estables durante la reacción de injerto, y también son menos solubles en la masa fundida monomérica en comparación con los poliésteres con una cadena principal polivinílica. Además, la presencia del sacárido de origen natural puede implicar el riesgo de posibles reacciones inmunógenas *in vivo*. Además, estos polímeros muestran erosión a gran escala.

El documento DE 19839515 A1 describe la asociación coloidal de un agente activo, como un péptido, un constructo de ADN o una vacuna, con un éster de poliol que, juntos, en forma de un coloide, se usarán como una preparación farmacéutica para la administración transmucosal controlada. Los polímeros descritos para tal uso son ésteres de polioles ramificados que consisten en una molécula central a la que se unen grupos éster de ácido hidroxicarboxílico de cadena corta, biodegradable.

Los polímeros basados en la cadena principal de polialcohol vinílico se describen en la publicación "Biodegradable comb polyesters: Part 1; synthesis, characterization and structural analysis of poly(lactide) and poly(lactide-co-glycolide) grafted onto water-soluble poly(vinyl alcohol) as backbone" de Breitenbach y Kissel, Polymer, 39 (14): 3261-3271 (1998). Basándose en un análisis de sus propiedades fisicoquímicas, tienen un potencial considerable como un sistema de suministro parenteral de fármacos para péptidos y proteínas.

La solicitud de patente EP 1132416 A1 describe vehículos coloidales en forma de nanopartículas que comprenden polímeros de tipo peine solubles en agua cargados y no cargados, y su uso en aplicaciones mucosales. Se caracterizan por una cadena principal formada por un poliol o polioles solubles en agua injertados con cadenas laterales hidrófobas, que proporcionan un carácter anfifílico, y opcionalmente grupos iónicos, en los que el polímero de la cadena principal tiene un peso molecular medio ponderal (Mw) de 10.000-30.000 g/mol, y las cadenas laterales tienen preferiblemente un Mw combinado de 45.000-100.000 g/mol. Se afirma que tales vehículos coloidales en forma de nanopartículas son útiles como sistemas de suministro de fármacos para biomoléculas especialmente grandes, como proteínas y ácidos nucleicos. Desafortunadamente, debido a su capacidad para unirse a membranas mucosales (bioadhesión), se espera que induzcan una respuesta inmunitaria sistémica.

La solicitud de patente US 2001/0047074 A1 (concedida como US 6616944 B2) describe sistemas de suministro a base de polímeros, que se autoensamblan, para proteínas. Los sistemas de suministro comprenden un agente activo y un éster de poliol, que tiene un poliol lineal que contiene seis o más grupos hidroxilo como cadena principal central, y grupos éster hidroxicarboxílicos biodegradables unidos a la cadena principal central; como característica adicional de estos sistemas, el poliol lineal contiene grupos cargados, grupos dadores de protones, y/o grupos aceptores de protones, que están unidos vía un grupo espaciador o un enlace de éter, éster o uretano al poliol lineal. Se describe que tales sistemas de suministro forman complejos estables con proteínas, y por lo tanto son útiles como vehículos farmacéuticos para uso terapéutico o vacunas.

Desafortunadamente, los copoliésteres de sólo ácido láctico y glicólico (PLGA) resultaron ser subóptimos para el suministro de proteínas y ADN debido a la inactivación por el microentorno ácido, y a la liberación de estallido descontrolada debido a una mala compatibilidad entre polímeros lipófilos y candidatos farmacéuticos hidrófilos.

Una solución propuesta para resolver estos problemas asociados con PLGA ha sido introducir la composición hidrófila con grupo funcional a este sistema de poliéster, conduciendo a los primeros copolímeros de PLGA y poli(etilenglicol) (PEG), como se describe, por ejemplo, en: Youxin, L., Kissel T.: Synthesis and properties of biodegradable ABA triblock copolymers consisting of poly(L-lactic acid) or poly(L-lactide-co-glycolic acid) A-blocks attached to central poly(oxyethylene) B-blocks; J. Control Release 1993; vol. 27, páginas 247-257.

Subsiguientemente, los enfoques descritos han sido:

- el desarrollo de poli(lactida) o poli(lactidas) (PLAs) y PLGs ramificadas en forma de estrella con alcoholes multifuncionales de bajo peso molecular, como glicerol, pentaeritritol, manitol/sorbitol, o poli(etilenglicol) o poli(etilenglicoles) con forma de estrella, como se describe, por ejemplo, en: S.H. Kim et al.: Preparation of star-shaped polylactide with pentarythritol and stannous octoate; Makromol. Chem., vol. 194 (1993), páginas 3229-3236;
- el uso de poliésteres muy ramificados, de tipo peine, sintetizados injertando cadenas principales a base de dextrano modificado con sulfónico con lactida y glicolida, lo que permite una degradación biológica más rápida con grupos cargados negativamente, como se describe, por ejemplo en: Li et al.: Biodegradable brush-like graft polymers from poly(D,L-lactide) or poly(D,L-lactide-co-glycolide) and charge-modified, hydrophilic dextrans as backbone- Synthesis, characterization and in vitro degradation properties; Polymer 1997; vol. 38, páginas 6197-6206;
- la síntesis de PLGA de tipo peine biodegradable injertando cadenas cortas de PLGA sobre diferentes polioles de cadena principal a base de poli(alcohol vinílico) (PVA), poli(alcohol 2-sulfobutilvinílico) y poli(alcohol dietilaminoetil-vinílico). En este sistema, el ajuste de las propiedades del polímero se llevaron a cabo introduciendo grupos cargados, restos sulfobutílicos o estructuras amínicas en la cadena principal de PVA, para crear polímeros con cargas negativas o positivas, como se describe, por ejemplo, en: Breitenbach A, Kissel T.: Biodegradable comb polyester: Part 1. Synthesis, characterization and structural analysis of poly(lactide) and poly(lactide-co-glycolide) grafted onto water-soluble poly(vinyl alcohol) as backbone; Polymer, 1998; vol. 39: páginas 3261-3271.

Mediante otro enfoque para cargar eficazmente fármacos, proteínas y péptidos cargados positivamente, se introdujeron grupos funcionales en los sistemas de suministro de fármacos, tales como grupos hidroxicarboxílico, como se describe, por ejemplo, en el documento WO 95/23175 A1.

También, mediante el método de activación por NaH, se obtuvieron los PVA sulfobutilados y se usaron para injertar PLGA, se prepararon los poli(alcohol 2-sulfobutilvinílico)-g-PLGA cargados negativamente, conduciendo a una mejor estabilidad a las temperaturas durante la polimerización en masa con PLGA (Breitenbach A. et al.: Biodegradable comb polyesters containing polyelectrolyte backbones facilitate the preparation of nanoparticles with defined surface structure and bioadhesive properties; Polym. Adv. Technol.; 2002; vol. 13, páginas 938-950).

Debido al método de activación mediante NaH, la síntesis del poli(alcohol 2-sulfobutilvinílico)-g-PLGA cargado negativamente es difícil de controlar con respecto al grado de sustitución que se puede alcanzar mediante la introducción de los grupos sulfobutílicos en la cadena principal de PVA.

Adicionalmente, el enfoque de sulfobutilación sólo proporciona un pequeño intervalo de variaciones del grado de sustitución con cargas negativas.

Como se puede observar a partir de estas explicaciones, todavía existe la necesidad de polímeros adicionales que sean mucho más adecuados como vehículos apropiados para sustancias biológica o farmacológicamente activas y que permitan la carga eficaz y la liberación sostenida de especialmente fármacos, proteínas y péptidos cargados positivamente a partir de micro- o nanoesferas o micro- o nanopartículas como sistemas poliméricos de suministro de fármacos. Se debe tener en mente que estas sustancias farmacológicamente activas constituyen un grupo bastante diverso de entidades moleculares, caracterizadas por diferentes propiedades fisicoquímicas y diferentes requisitos con respecto a la aplicación.

Por lo tanto, es un objetivo de la presente invención proporcionar un conjunto de nuevos polímeros que se puedan usar como sistemas poliméricos de suministro de fármacos (excipientes poliméricos) para al menos una, preferiblemente más clases de ingredientes farmacéuticamente activos.

Es una tarea adicional proporcionar polímeros que sean especialmente muy adecuados como vehículos para moléculas biológica y/o farmacológicamente activas como proteínas y péptidos y fármacos, especialmente aquellos que sean catiónicos y/o estén cargados positivamente. Las propiedades biofísicas globales de tales materiales se han de diseñar específicamente para permitir modificaciones del comportamiento de carga de fármacos y degradación del sistema de suministro de fármacos deseado.

Es una tarea adicional proporcionar polímeros que permitan la preparación de micro- o nanopartículas y de sistemas coloidales autoagregantes con propiedades superficiales definidas y finamente ajustables. Preferiblemente, esta preparación de sistemas de micro- o nanopartículas debería ser posible incluso sin el uso de tensioactivos en la fase acuosa durante su preparación, capacitando así a los polímeros resultantes para el uso en las vías respiratorias.

Como solución a estos problemas, la presente invención proporciona copolímeros de injerto de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico)-g-poli(lactida-co-glicolida) (P(VS-VA)-g-PLGA) con propiedades de electrolito cargado negativamente.

Los copolímeros de injerto según la invención proporcionan nuevos excipientes poliméricos con propiedades hasta ahora desconocidas que los hacen muy adecuados como sistemas de suministro de fármacos. Estos sistemas permiten la carga eficaz y la liberación sostenida de fármacos, proteínas y péptidos, especialmente para aplicaciones médicas. También se pueden aplicar a la preparación de partículas, micropartículas y nanopartículas cargadas con fármacos, y a sistemas coloidales autoagregantes. Los sistemas de suministro de fármacos basados en este material son especialmente útiles para sistemas de suministro parenteral o mucosal de fármacos para aplicaciones farmacéuticas.

La naturaleza anfífila y cargada negativamente de los copolímeros de injerto según la invención permite una mejor carga de fármaco mediante interacciones electrostáticas como una función de la sustitución sulfónica. Son adecuados para todas las sustancias farmacológicamente activas y para la carga eficaz y la liberación sostenida de tales sustancias activas, especialmente de fármacos, proteínas y péptidos cargados positivamente.

La ventaja particular de este tipo de polímeros es el amplio intervalo del grado de sustitución con cargas negativas que no se puede lograr, por ejemplo, mediante la sulfobutilación.

De este modo, es una ventaja de los copolímeros de injerto según la invención el que se pueden sintetizar de forma reproducible con variaciones incluso pequeñas de la estructura química. Por ejemplo, se pueden diseñar el grado de sustitución sulfónica y el grado de sustitución de PLGA, así como la composición de las cadenas laterales de PLGA. Esto también permite la preparación de micro- y nanopartículas y de sistemas coloidales autoagregantes con propiedades exactamente definidas tales como inercia frente a fármacos o biopolímeros como proteínas o ácidos nucleicos, viscosidad intrínseca, solubilidad, punto de fusión, temperatura de transición vítrea, hidrofilia/hidrofobia (naturaleza anfífila), velocidad de degradación, y carga superficial. Especialmente, el grado de sustitución de las

cargas negativas se puede variar a lo largo de un amplio intervalo, que es más amplio, por ejemplo, que el grado de variación respectivo de PLGA injertado con sulfobutil-polialcohol vinílico (SB-PVAL-g-PLGA).

Por ejemplo, un sistema según la invención se puede diseñar para la carga con fármacos cargados positivamente, como salbutamol, bromuro de ipratropio o bromuro de tiotropio, u otros (véase más abajo). La carga permite una liberación más lenta del fármaco *in vivo*, en comparación con un material más neutro.

Adicionalmente, en la mayoría de los casos, la preparación de micro- y nanopartículas y sistemas coloidales autoagregantes a partir de estos polímeros es posible incluso sin el uso de tensioactivos en la fase acuosa.

Estos polímeros combinan, en una arquitectura tridimensional modificada, hidrofilia incrementada (debido a las cadenas laterales injertadas) y grupos cargados negativamente (debido al vinilsulfónico) en un único polímero, todos los cuales se pueden sintetizar de forma precisa.

Debido a la existencia de grupos cargados y/o polares, los copolímeros de injerto según la invención se pueden mezclar con una mayor cantidad de fármacos con grupos cargados positivamente que lo que lo pueden hacer los vehículos neutros. En condiciones de aplicación, un fármaco activo se libera más lentamente por un material según la invención que por un material sin grupos aniónicos.

Destinándose a un uso farmacéutico de los copolímeros de injerto según la invención, se debería observar que son muy biodegradables debido a que los polímeros de ácidos hidroxicarboxílicos como ácido láctico y/o glicólico se hidrolizan en el cuerpo del paciente a ácido láctico y/o ácido glicólico, que se metabolizan posteriormente a CO₂ y agua. Por lo tanto, los copolímeros de injerto según la invención son particularmente ventajosos para la producción de preparaciones parenteralmente aplicables. Se pueden usar variaciones en la estructura para modificar la velocidad de degradación de los polímeros de injerto según esta invención.

Los copolímeros de injerto según la invención se pueden aplicar en todas las áreas industriales que se refieran a polímeros. Son especialmente útiles como componentes de sistemas de suministro de fármacos, permitiendo formulaciones de ingredientes farmacéuticamente activos, especialmente para proporcionar formas de liberación lenta de los sistemas de suministro de fármacos que se pueden usar, por ejemplo, para aplicaciones parenterales o mucosales.

Los copolímeros de injerto según la invención muestran una superficie de núcleo-corona, con los grupos sulfónicos hidrófilos cargados negativamente orientados hacia la fase acuosa exterior, que proporciona una superficie óptima para la carga de las sustancias catiónicas. Esta estructura permite la preparación de vehículos coloidales sin el uso de tensioactivos adicionales. Esto es extremadamente importante para aplicaciones pulmonares, puesto que la inhalación de cantidades significativas de tensioactivo puede perturbar la tensión superficial regulada naturalmente del fluido protector pulmonar, conduciendo así a una función pulmonar alterada o a inflamación.

Sumario de la invención

Como ya se señala anteriormente, la presente invención proporciona copolímeros de injerto de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico)-g-poli(lactida-co-glicolida) (P(VS-VA)-g-PLGA) con propiedades de electrolito cargado negativamente.

Una solución adicional al problema subyacente, y de este modo un segundo aspecto de la invención, es un método de síntesis de un copolímero de injerto según la invención. Este segundo aspecto permite diversas modificaciones de las propiedades del polímero.

Otros aspectos de la presente invención son

- un vehículo farmacéutico coloidal, que comprende un copolímero de injerto según la invención;
- nanopartículas que comprenden un copolímero de injerto según la invención, así como métodos para sintetizarlas;
- una composición que comprende (a) un fármaco biológica y/o farmacéuticamente activo y (b) un copolímero de injerto según la invención o sintetizado según la invención, un vehículo farmacéutico coloidal, o nanopartículas según la invención o sintetizadas según la invención;
- el uso de un copolímero de injerto según la invención para la preparación de un vehículo farmacéutico coloidal; y
- el uso de un copolímero de injerto según la invención o sintetizado según la invención, un vehículo farmacéutico coloidal, o nanopartículas según la invención o sintetizadas según la invención, para la preparación de una composición que comprende un fármaco biológica y/o farmacéuticamente activo para la liberación controlada de dicho fármaco.

Estos se describen con detalle en el texto a continuación y mediante referencia a las figuras siguientes.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Un esquema de reacción típico para la síntesis de un copolímero de injerto según la invención (véase el ejemplo 1).

5 Figura 2: Espectros de RMN ¹H de la cadena principal de P(VS-VA) en D₂O, de diferentes cadenas principales poliméricas como se preparan mediante el ejemplo 3.

(a) P(VS-VA)-2

(b) P(VS-VA)-4

(c) P(VS-VA)-6

(d) P(VS-VA)-8

10 Figura 3: Espectro de FT-IR de P(VS-VAc) (VS:VAc = 8:2), antes de la hidrólisis (véase el ejemplo 4).

Figura 4: Espectro de FT-IR de P(VS-VAc) (VS:VAc = 8:2), después de la hidrólisis (véase el ejemplo 4).

Figura 5: Espectro de FT-IR de P(VS-VA)-g-PLGA(8-10) (véase el Ejemplo 4).

Figura 6: Espectro de RMN ¹H de P(VS-VA)-g-PLGA(8-10) (véase el Ejemplo 5).

Figura 7: Espectro de RMN ¹³C de P(VS-VA)-g-PLGA(8-10) (véase el Ejemplo 5).

15 Figura 8: Perfil de degradación *in vitro* de P(VS-VA)-g-PLGA. Pérdida de masa de P(VS-VA)-g-PLGA(2-10), P(VS-VA)-g-PLGA(4-10) y P(VS-VA)-g-PLGA(6-10) en función del tiempo durante la incubación en PBS (pH 7,4; 37°C; véase el Ejemplo 7).

Figura 9: Perfiles de GPC P(VS-VA)-PLGA(2-10) durante la degradación, medida después de 2 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas y 4 semanas (véase el ejemplo 7).

20 Figura 10: Imagen de SEM (microscopía electrónica de barrido) de nanopartículas de P(VS-VA)-g-PLGA(6-10) (véase el ejemplo 8).

Descripción detallada de la presente invención

Excepto que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen el mismo significado que los entendidos habitualmente por un experto normal en la técnica a la que pertenece la invención.

25 Todos los valores y concentraciones presentados aquí están sujetos a variaciones inherentes aceptables en ciencia biológica dentro de un error de ± 10%. La expresión "alrededor de" también se refiere a esta variación aceptable.

30 Polímeros de injerto, en el sentido de la presente invención, se definen como polímeros que comprenden una cadena principal polimérica e, injertadas en ella (es decir, unidas covalentemente), cadenas laterales que ellas mismas pueden ser oligopolímeros o polímeros. Además, las partes injertadas de tal polímero pueden comprender un único tipo de monómeros o una mezcla de más de un solo tipo de monómeros.

Los copolímeros de injerto se definen como un cierto grupo de polímeros de injerto con una cadena principal que no deriva de un único tipo de monómeros sino de una mezcla de más de un solo tipo de monómeros. Nuevamente, las partes injertadas de tal polímero también pueden comprender un único tipo de monómeros o una mezcla de más de un solo tipo de monómeros.

35 En este sentido, el término poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico)-g-poli(láctida-co-glicolida) representa un copolímero de injerto que comprende una cadena principal copolimérica derivada de vinilsulfónico (VS) y acetato de vinilo (VAc), e, injertadas (g) en ella, cadenas laterales copoliméricas derivadas de una copolimerización de ácido láctico (LA) y ácido glicólico (GA). Esto se refleja mediante la abreviatura P(VS-VA)-g-PLGA.

40 La siguiente nomenclatura se usará para caracterizar los copolímeros de injerto según la invención: P(VS-VA)-g-PLGA, o para describir la arquitectura de los diversos elementos de forma más precisa: P(VS-VA)-g-PLGA(X-Y), con el siguiente significado:

P: poli;

VS: vinilsulfónico;

VA: alcohol vinílico;

45 VAc: acetato de vinilo;

g: injerto;

LA: ácido láctico;

GA: ácido glicólico;

5 PLGA: Polímero derivado de ácido láctico y glicólico; debido a su estructura química, también se puede definir como un cierto "poliéster" (véase más abajo).

X: El primer número (X) en el paréntesis designa la relación de alimentación molar de VS en la copolimerización. Por ejemplo, 2, 4, 6 y 8 representan la relación de alimentación molar de vinilsulfónico de 20%, 40%, 60% y 80%, correspondiente a la relación de alimentación molar de acetato de vinilo de 80%, 60%, 40% y 20%.

10 Y: El segundo número (Y) en el paréntesis designa la relación de alimentación en peso de la cadena principal frente a las cadenas de poliéster injertadas (P(VS-VA):PLGA), es decir, una relación de alimentación de 1:5 se representa como Y = 5, y en general la relación de alimentación en peso es 1:Y.

15 Los polímeros de injerto según la invención son particularmente útiles en el campo técnico del suministro de fármacos. También se pueden describir como "excipientes poliméricos". Otros nombres apropiados para describir este uso son "vehículos" o "matrices". Todos estos términos describen el uso de este material a mezclar con uno o más fármacos biológica y/o farmacéuticamente activos y opcionalmente otros ingredientes a fin de preparar una composición para una aplicación médica. Tales composiciones pueden ser aplicadas en principio en cualquier forma apropiada, por ejemplo mucosal o parenteral.

20 El cierto efecto ejercido por este material es un efecto de liberación controlada y/o sostenida que es debido a las propiedades fisicoquímicas de este material, especialmente debido a la posibilidad de interacciones electrostáticas de este material con los fármacos mezclados, y a la velocidad de hidrólisis del copolímero de injerto.

25 Las propiedades de electrolito globales del copolímero de injerto según la invención se pueden describir como propiedades de electrolito cargado negativamente. Como se requiere por el problema subyacente, los polímeros según la invención deben permitir la carga eficaz y la liberación sostenida de fármacos, proteínas y péptidos cargados positivamente. Esto se resuelve mediante esta característica de propiedades globales de electrolito cargado negativamente. Sin embargo, en la misma molécula polimérica pueden existir variaciones en la distribución de grupos cargados, conduciendo incluso a áreas cargadas parcialmente de forma positiva, que pueden ser útiles para ciertas aplicaciones, y por lo tanto están igualmente comprendidas por esta invención.

30 Por ejemplo, se puede usar una variación del grado de grupos cargados negativamente de la cadena principal para optimizar este sistema para que diferentes moléculas biológicamente activas se asocien con tal sistema vehiculo. Por ejemplo, se puede usar un copolímero de injerto según la invención con una cantidad elevada de grupos cargados negativamente, especialmente para moléculas de bajo peso molecular cargadas positivamente.

35 Se puede usar una variación de las cadenas laterales del poliéster hidrolizable para un ajuste de la velocidad de hidrólisis y de este modo de la liberación del fármaco cuando la preparación final se aplica a un paciente.

40 La hidrofilia del polímero según la invención está influida por la polaridad de las cadenas laterales del poliéster, y está especialmente influida por la carga negativa de los grupos funcionales de la cadena principal. Por lo tanto, cambiando el número o longitud de las cadenas laterales de PLGA, o cambiando el número de sustituyentes cargados negativamente, es decir, el VS, también se puede cambiar la hidrofilia. También, la hidrofilia cambia con la discrepancia de la longitud de cadena de la cadena lateral de PLGA, y con la cantidad relativa presente en el polímero.

45 Las sustancias farmacológicamente activas cargadas están unidas principalmente por interacción electrostática; las sustancias lipófilas se pueden adsorber a o disolver en la matriz polimérica. Las propiedades hidrófilas y lipófilas de la matriz polimérica se pueden ajustar mediante el grado de injerto de la cadena principal de P(VS-VA) con las cadenas de PLGA. Las propiedades de carga se pueden modificar mediante la variación de la cantidad de grupos vinilsulfónicos cargados en la cadena principal de P(VS-VA).

50 Las propiedades de solubilidad se pueden modificar mediante el siguiente principio: una longitud de cadena lateral de PLGA corta y un grado elevado de sustitución sulfónica dan como resultado poliésteres más hidrófilos y solubles en agua, mientras que los poliésteres con cadenas laterales largas y bajo grado de sustitución sulfónica muestran una naturaleza más lipófila.

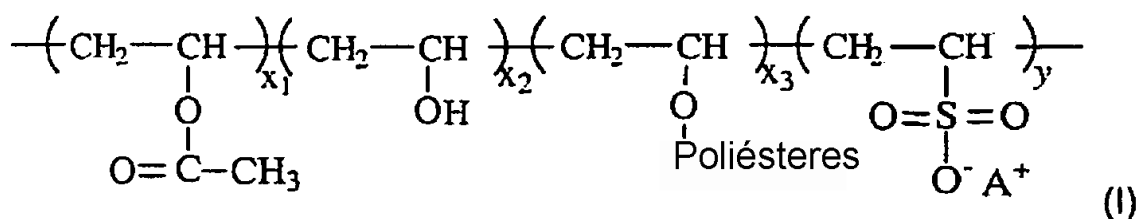
Los copolímeros de injerto según la invención son generalmente muy biodegradables por hidrólisis, que es especialmente debido a las cadenas laterales del poliéster hidrolizable. La cinética de biodegradación dependerá, entre otros factores tales como el tamaño de la partícula polimérica o el entorno fisiológico (por ejemplo, el valor del pH), que son conocidos por la persona experta en la técnica, de la hidrofilia del polímero. En contraste con los

poliésteres monocatenarios convencionales, en los que la degradación se produce mediante corte aleatorio de la cadena larga del poliéster, la estructura de tipo peine de los copolímeros según la invención permite que muchos más restos ataquen hidrolíticamente a las cadenas laterales. La posibilidad de modificar la hidrofilia usando la sustitución sulfónica también influirá en la velocidad de biodegradación. Además, los copolímeros de injerto según la invención pueden mostrar un microentorno ácido debido a la presencia de los grupos sulfónicos, incrementando adicionalmente la velocidad de hidrólisis ácida del poliéster.

Debido a la cantidad elevada de grupos cargados y/o polares, los copolímeros de injerto según la invención pueden formar micro- o nanopartículas coloidales. Tales partículas con un tamaño típico entre 50 nm y 500 nm (intervalo el cual no pretende limitar el alcance de las reivindicaciones) son especialmente muy adecuadas como vehículos farmacéuticos para aplicaciones parenterales y mucosales (véase más abajo).

Los copolímeros de injerto según la invención se pueden sintetizar mediante métodos que en principio son conocidos por la persona experta en la técnica. Más abajo se describen y se ilustran mediante los ejemplos ciertas formas para la síntesis, que también se pueden interpretar como puntos de partida para otras variaciones.

Un copolímero de injerto preferido según la invención se describe mediante esta fórmula (I):



en la que

A^+ se selecciona de Na^+ , K^+ , Li^+ , NH_4^+ , o cualquier otro catión monovalente,

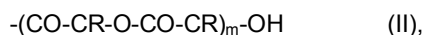
el número de unidades monoméricas ($x_1 + x_2 + x_3 + y$) es igual o inferior a 1000,

la relación molar ($x_1 + x_2 + x_3$) frente a y es de 0,1 a 10,

la relación molar x_2 frente a x_3 es de 0 a 0,1,

la relación molar x_1 frente a x_3 es de 0 a 0,1, y

"Poliésteres" es un homo- o copolímero al azar descrito mediante esta fórmula (II):



en la que

R es H o CH_3 , y

m es un número entero de 1 a 100.

Un copolímero de injerto según la invención comprende una cadena principal que está compuesta de diferentes unidades monoméricas con ciertos sustituyentes. Esa cadena principal es producida preferiblemente mediante un procedimiento de copolimerización de ambos monómeros, procedimiento el cual es en principio conocido por una persona experta en la técnica. Por ejemplo, en el ejemplo 1 se describe un procedimiento de copolimerización radicalica para la síntesis de la cadena principal.

Los sustituyentes de la cadena principal son grupos acetilo, hidroxilo, "poliéster" y sulfónico. Cada uno de estos grupos puede estar presente en diferentes cantidades, como se expresa mediante los índices x_1 , x_2 , x_3 , y , respectivamente. Las unidades monoméricas con los grupos acetilo, hidroxilo, y "poliéster" como sustituyentes (x_1 , x_2 , x_3) pueden derivar todas de un grupo acetilo, mediante hidrólisis parcial e injerto subsiguiente, como se ejemplifica en el ejemplo 1 y en la figura 1. En consecuencia, x_1 , x_2 , x_3 en el producto final suman el número de x , que se ha usado para describir la cantidad de VAc durante la reacción inicial de la síntesis de la cadena principal.

Se debería observar también que la composición de la cadena principal, así como la composición de las cadenas laterales, es en principio aleatoria. No hay ningún orden restrictivo de grupos VA y VS alternos en la cadena principal tras su síntesis inicial, debido a que el procedimiento de polimerización es aleatorio. No hay ningún orden restrictivo de grupos acetilo, hidroxilo y poliéster en el copolímero injertado según la invención, debido a que la hidrólisis de las cadenas laterales de acetilo (por ejemplo, en la etapa de reacción (b); véase la figura 1) también es en principio aleatoria. Además, la reacción de injerto no tiene lugar necesariamente en todos los grupos hidroxilo libres del copolímero no injertado.

De este modo, x (como la suma de x_1 y x_2 y x_3) caracteriza el número de las unidades monoméricas derivadas de acetato de vinilo en la cadena principal después de su formación.

y caracteriza el número de las unidades monoméricas derivadas de vinilsulfónico en la cadena principal después de su formación.

5 Los valores de x e y se pueden controlar vía las condiciones de la reacción de polimerización, como es conocido en principio por una persona experta en la técnica y como se esquematiza más abajo y se ilustra mediante los ejemplos. Sin embargo, la suma total de estas unidades monoméricas se puede controlar especialmente vía las cantidades de la alimentación de los monómeros respectivos VAc y VS al comienzo de la síntesis de la cadena principal, y en general mediante las condiciones de reacción.

10 Los resultados de procedimientos alternativos y/u obviamente modificados también están comprendidos por la invención.

15 Como se ilustra mediante el esquema de reacción en la figura 1, parte B, un copolímero de injerto según la invención comprende una cadena principal que se modifica adicionalmente con la unidad que se repite derivada de acetato de vinilo/vinilsulfónico. Especialmente a través de una etapa de hidrólisis, un subconjunto del monómero derivado de acetato de vinilo en la cadena principal se hidroliza para dar como resultado un grupo hidroxilo. Esta transformación se puede controlar vía las condiciones de reacción, como es conocido en principio por una persona experta en la técnica y como se esquematiza más abajo y se ilustra mediante los ejemplos. Los resultados de procedimientos alternativos y/u obviamente modificados también están comprendidos por la invención.

20 x_1 representa entonces el número del monómero derivado de acetato de vinilo no hidrolizado en la cadena principal, y x_2 representa el número del monómero derivado de acetato de vinilo hidrolizado en la cadena principal.

La reacción de injerto es también conocida per se por una persona experta en la técnica, y también se ejemplifica mediante la figura 1 y el ejemplo 1. Son posibles alternativas y variaciones de estos procedimientos, especialmente a fin de variar las variables y y n .

25 Como se puede ver por ejemplo del esquema de reacción en la figura 1, parte C, un polímero según la invención comprende además cadenas laterales injertadas derivadas de una copolimerización de ácido láctico (LA) y ácido glicólico (GA). Estos están unidos vía el grupo hidroxilo, derivado de la hidrólisis parcial del monómero derivado de acetato de vinilo en la cadena principal. En consecuencia, el número de cadenas laterales del "poliéster" es debido al valor de x_2 , como se define anteriormente, y a la eficiencia de la reacción de injerto. Esta reacción de injerto se puede controlar vía las condiciones de reacción de polimerización, como es conocido en principio por un experto en la técnica y como se esquematiza más abajo y se ilustra mediante los ejemplos. Los resultados de procedimientos alternativos y/u obviamente modificados también están comprendidos por la invención.

30 Nuevamente, la reacción de injerto es en principio aleatoria. Las unidades monoméricas derivadas de LA y GA no están ordenadas en un orden estricto, sino estadísticamente. Esto explica por qué el sustituyente R no puede (en la mayoría de los casos) ser explicado de forma más precisa. R representa las partes restantes respectivas de las moléculas ácido láctico (LA) y de ácido glicólico (GA), que son $-\text{CH}_3$ y $-\text{H}$, respectivamente. A lo largo del tramo total de la cadena lateral del "poliéster" descrita en la fórmula (II), hay un orden estadístico de los sustituyentes $-\text{CH}_3$ y $-\text{H}$, orden el cual es debido al procedimiento de polimerización estadística de ambos monómeros. Sin embargo, la suma total de estos sustituyentes se puede controlar especialmente vía las cantidades de la alimentación de los monómeros respectivos. Los resultados de procedimientos alternativos y/u obviamente modificados también están comprendidos por la invención.

35 De este modo, m caracteriza el número de las unidades monoméricas derivadas de LA y GA en la cadena lateral de PLGA, como se ilustra mediante la fórmula (II).

45 El valor de m se puede controlar vía las condiciones de reacción de polimerización, como es conocido en principio por una persona experta en la técnica y como se esquematiza más abajo y se ilustra mediante los ejemplos. Los resultados de procedimientos alternativos y/u obviamente modificados también están comprendidos por la invención.

En casos típicos, la relación en peso de P(VS-VA):PLGA se elige como 1:5, 1:10, 1:15 o cualquier otra relación entre estos valores, o incluso menores o mayores. Esta relación se puede controlar especialmente vía las condiciones de reacción durante la alimentación en la reacción de injerto, como se ilustra mediante los ejemplos de esta solicitud.

50 Una variación de esta relación cambia por ejemplo las propiedades fisicoquímicas globales del material resultante, como la hidrofilia, las velocidades de biodegradación y las propiedades de carga del polímero. Como se ilustra mediante los ejemplos que se acompañan, un incremento de esta relación conduce a un incremento de la temperatura de transición vítrea. También, la capacidad para formar nanoestructuras coloidales se verá afectada por un cambio de la relación pondera. Por ejemplo, una proporción elevada de la cadena principal P(VS-VA) aumentará la hidrofilia, y mejorará la captación de agua por nanopartículas derivadas a partir de tal polímero.

Como se evidencia por los datos presentados en los ejemplos, especialmente en el ejemplo 7, las variaciones analizadas del método de síntesis según la invención permiten la producción de polímeros de injerto con diversas propiedades fisicoquímicas. Esto demuestra que, mediante esta invención, existe un grupo de polímeros relacionados con propiedades definitivamente variables.

5 Como se evidencia además por los datos presentados en los ejemplos, especialmente en el ejemplo 8, las variaciones en la síntesis conducen a variaciones en el polímero, conduciendo a diferentes propiedades de las nanopartículas, haciendo de este modo a los polímeros de injerto según la invención muy adecuados para ajustar a la medida las características necesarias para un sistema de suministro de fármacos polimérico.

10 Un componente adicional de la fórmula (I) es A^+ . Este componente representa cualquier catión monovalente como contraión para el grupo sulfónico de la cadena principal del polímero de injerto según la invención. Los iones Na^+ , K^+ , Li^+ , NH_4^+ , especialmente Na^+ , son los más preferidos. Se debería tener en mente que al menos un pequeño grado de los grupos sulfónicos de la cadena principal pueden permanecer en forma protonada, es decir ácida, lo que es especialmente debido al equilibrio químico entre los grupos ácido protonados y desprotonados y las moléculas de agua que quedan en contacto estrecho con los polímeros según la invención. Sin embargo, las propiedades globales de electrolito de los polímeros según la invención se describen como una carga negativa global, que es debida a los grupos sulfónicos no protonados y a los contraiones respectivos.

Con respecto a la aplicación pretendida del polímero de injerto, es aconsejable limitar el número total de unidades monoméricas ($x_1 + x_2 + x_3 + y$) a un valor de 1000 o inferior.

20 El peso molecular (MW) del copolímero de injerto total resulta del componente de la cadena principal así como de las cadenas laterales de PLGA. El peso molecular del componente de la cadena principal solo se puede calcular mediante análisis del producto de la etapa (b) según el esquema de reacción como se muestra en la figura 1, es decir, después de la polimerización de VS y VAc y la hidrólisis subsiguiente (al menos parcial) de los grupos acetilo, derivados de VAc.

25 En copolímeros de injerto preferidos según la invención, el MW del componente de la cadena principal está por debajo de 50000 Da. Son más preferidos los valores por debajo de 20000 Da, e incluso son más preferidos 2000 a 8000 Da. Esto es especialmente debido al uso pretendido de tales copolímeros para aplicaciones médicas. En este caso, el copolímero es absorbido por el cuerpo del paciente, y los metabolitos resultantes han de ser excretados, mayoritariamente vía los riñones. El copolímero completo se puede hidrolizar, especialmente con respecto a los componentes del poliéster injertado. Sin embargo, la cadena principal comprende enlaces C-C que no se pueden hidrolizar efectivamente por el cuerpo de un mamífero. Esto significa que grandes partes de la cadena principal permanecen sin ser excretadas vía los riñones. Por lo tanto, el MW de la cadena principal se ha de limitar, preferiblemente a los valores designados anteriormente.

30 En casos típicos, la contribución de las cadenas laterales injertadas al MW total del copolímero de injerto es mayor que aquella de la cadena principal. Como se menciona anteriormente, la relación ponderal de P(VS-VA):PLGA se elige preferiblemente como 1:5, 1:10, 1:15 o incluso mayor. Lo que significa que el MW total del polímero de injerto puede ser muchas veces mayor que la contribución de la cadena principal sola.

Debido a que las cadenas laterales se pueden hidrolizar por un cuerpo de mamífero, especialmente el cuerpo humano, no se espera que tal MW grande provoque graves problemas para la metabolización del copolímero de injerto completo.

40 Según la invención, la relación en moles ($x_1 + x_2 + x_3$) frente a y es de 0,1 a 10. Tal variación amplia de los monómeros derivados de VAc y VS permite una amplia variación de las propiedades químicas y fisicoquímicas del copolímero de injerto resultante. Una cantidad elevada de ($x_1 + x_2 + x_3$) permite una amplia variación con respecto a la reacción de injerto. La cantidad de y permite una amplia variación de la carga superficial del polímero, y de este modo su aplicabilidad como excipiente polimérico para diversas moléculas. Tal amplia variación no es posible cuando se usa por ejemplo una cadena principal definida como polioxietileno o dextrano. También, el sulfobutil-polialcohol vinílico injertado con PLGA (SB-PVAL-g-PLGA) no permite tal amplia variación de la distribución de cargas negativas a lo largo del polímero completo.

45 Según la invención, la relación en moles x_2 frente a x_3 es de 0 a 0,1. Este valor describe el grado del injerto con las cadenas laterales del poliéster, y se puede usar para variar especialmente la hidrofilia y la estructura global del copolímero injertado según la invención.

Según la invención, la relación en moles x_1 frente a x_3 es de 0 a 0,1. Este valor describe el grado del injerto con las cadenas laterales del poliéster en comparación con las cadenas laterales que todavía quedan de los monómeros de VAc iniciales de la síntesis de la cadena principal. Una variación de este valor también se puede usar para variar especialmente la hidrofilia y la estructura global del copolímero injertado según la invención.

55 Según la invención, m es un número entero de 1 a 100. Esta variable caracteriza la longitud de la cadena lateral de PLGA. Ésta también se puede variar a fin de afectar la hidrofilia y la estructura global del copolímero injertado según la invención. Adicionalmente, una variación de este valor se puede usar para ajustar la velocidad de hidrólisis del

copolímero injertado, que a su vez influirá en la liberación de una sustancia mezclada así como en la biodegradabilidad.

En vista de una aplicación médica, en muchos casos se desea sostener la liberación de una sustancia mezclada en comparación con la liberación de la misma sustancia no mezclada a un sistema de suministro de fármacos. Este efecto puede ser controlado muy eficientemente vía las características del polímero y el sistema de suministro de fármacos, por ejemplo mediante el tamaño de partículas del vehículo, la hidrofilia, el potencial zeta y las características de hidrólisis de un excipiente polimérico según la invención, todos los cuales son accesibles para la variación mediante la composición polimérica.

De este modo, un efecto de liberación sostenida no sólo se puede alcanzar, sino también se puede controlar y ajustar finamente a través del diseño del copolímero mezclado según la invención.

Todas las variaciones de estas relaciones conducen a una flexibilidad muy elevada a la hora de diseñar un gran número de copolímeros de injerto relacionados según la invención, que permite el diseño de polímeros muy específicos para una multitud de diferentes efectos frente a la hidrofilia-hidrofobia, velocidades de liberación y biodegradación cuando se aplican especialmente para usos médicos.

Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención en el que A^+ se selecciona de Na^+ o K^+ , preferiblemente Na^+ .

Se desea introducir una carga negativa vía el grupo sulfónico respectivo. Por lo tanto, es aconsejable usar un contraión fuerte para el grupo sulfónico. Además, como se puede observar a partir del ejemplo 1, la sal sódica del ácido vinilsulfónico resultó ser una pareja de reacción muy conveniente y eficiente para la síntesis de la cadena principal del polímero.

Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención en el que el número de unidades monoméricas ($x_1 + x_2 + x_3 + y$) es igual o está por debajo de 300, preferiblemente de 20 a 100.

El intervalo de tamaños parece ser muy prometedor para varias aplicaciones del copolímero respectivo, especialmente para un uso médico deseado.

Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención en el que la relación en moles ($x_1 + x_2 + x_3$) frente a y es de 0,2 a 5, preferiblemente de 0,5 a 1.

Este intervalo de tamaños parece ser muy prometedor para varias aplicaciones del copolímero respectivo, especialmente para un uso médico deseado.

Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención en el que la relación en moles x_2 frente a x_3 es de 0 a 0,05, preferiblemente de 0 a 0,01.

Esto significa que hay muchos menos grupos hidroxilo no sustituidos en el polímero final que en las cadenas laterales injertadas. Sin embargo, estos intervalos parecen ser muy eficientes para la modificación de la hidrofilia de la molécula completa, especialmente a la vista de su posibilidad para formar coloides y nanopartículas como se describe más abajo.

Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención en el que la relación en moles x_1 frente a x_3 es de 0 a 0,05, preferiblemente de 0 a 0,01.

El intervalo de tamaños parece ser muy prometedor para varias aplicaciones del copolímero respectivo, especialmente para un uso médico deseado.

Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención en el que la relación ponderal en moles de la cadena principal de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico), que consiste en todos los grupos x_1 y x_2 y x_3 sin "Poliésteres" e y según la fórmula (I), a PLGA injertado, que consiste en todos los grupos "Poliésteres" según las fórmulas (I) y (II), (expresada como P(VS-VA):PLGA) está entre 1:2 y 1:30, preferiblemente entre 1:3 y 1:20, más preferible entre 1:5 y 1:15, incluso más preferible entre 1:8 y 1:12, y lo más preferible 1:10.

El intervalo de tamaños parece ser muy prometedor para varias aplicaciones del copolímero respectivo, especialmente para un uso médico deseado que requiere un ajuste fino individual de los efectos respectivos de ambas partes de la molécula, especialmente la hidrofilia de las cadenas laterales infectadas y la polaridad y distribución de cargas de la cadena principal.

Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención en el que m es un número entero de 5 a 60, preferiblemente de 10 a 30.

Mediante este intervalo de tamaños es posible controlar la velocidad de hidrólisis global y la hidrofilia del polímero. Este intervalo de tamaños parece ser muy prometedor para varias aplicaciones del copolímero respectivo, especialmente para un uso médico deseado.

- 5 Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención en el que la relación en moles de LA ($R = CH_3$) frente a GA ($R = H$) está entre 0 a 100 y 100 a 0, preferiblemente entre 1 a 99 y 99 a 1, más preferiblemente entre 10 a 90 y 90 a 10, incluso más preferiblemente entre 30 a 70 y 70 a 30, y lo más preferible entre 45 a 55 y 55 a 45.

Esta variación permite una modificación de la hidrofobia del copolímero de injerto, y se puede variar especialmente con respecto a la mezcla con moléculas que se caracterizan por diferentes valores de hidrofilia/hidrofobia.

- 10 Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención que se caracteriza por una temperatura de transición vítrea (T_g) entre 10 y 50°C, preferiblemente entre 20 y 40°C, lo más preferible entre 25 y 38°C.

- 15 Este parámetro describe la estructura aleatoria del copolímero. Este intervalo de tamaños parece ser muy prometedor para varias aplicaciones del copolímero respectivo, especialmente para un uso médico deseado. Este uso requiere la mezcla óptima con el fármaco pretendido, y de este modo la manipulación física de ambos componentes se debe alcanzar en un cierto intervalo de temperatura en el que ambos se mezclan entre sí. Estos valores y cómo se pueden modificar se ejemplifican mediante el ejemplo 6 de esta solicitud.

- 20 En principio, lo mismo se aplica al parámetro fisicoquímico de la viscosidad intrínseca, o viscosidad inherente (número de viscosidad límite; índice de Staudinger) como parámetro, aceptado por la IUPAC para describir especialmente a polímeros. Se da en $dl/g = cm^3/g^{-1}$. Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención que se caracteriza por tener una viscosidad intrínseca entre 0,01 y 1,0, preferiblemente entre 0,02 y 0,2, lo más preferible entre 0,04 y 0,18 dl/g .

Estos valores y cómo se pueden modificar se ejemplifican mediante el ejemplo 2 de esta solicitud.

- 25 Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención que se caracteriza por un tiempo de degradación del 50% entre 2 y 28 días, preferiblemente entre 2 y 18 días, más preferible entre 2 y 10 días, medido en las siguientes condiciones:

- a) captura de una película polimérica a partir de una disolución al 5% (p/v) del copolímero de injerto según la invención en diclorometano, dando como resultado un conjunto de muestras iguales para ser tratadas en las siguientes etapas;
- 30 b) secado durante 72 h a una temperatura de 4°C;
- c) eliminación de disolventes residuales *a vacío* a 25°C hasta peso constante;
- d) incubación en disolución salina tamponada con fosfato (PBS) 0,15 M, pH 7,4, a 37°C y agitación suave una vez al día;
- e) recuperación de las muestras en varios puntos en el tiempo durante el transcurso de tiempo monitorizado;
- 35 f) liofilización de las muestras recuperadas durante aprox. 72 h *a vacío* a 25°C hasta que se alcance una masa constante;
- g) y el siguiente cálculo:

$$\text{Pérdida de masa (\%)} = 100 - (\text{masa (seca)} \times 100 / \text{masa original}), \text{ con}$$

masa (seca) = peso después de la etapa (f), y

- 40 masa original = peso después de la etapa (c).

La medida de este parámetro se ejemplifica mediante el ejemplo 7 de esta solicitud. Además se ilustra mediante la figura 8. En esta figura, el valor de la masa restante del 50% se muestra mediante una línea discontinua.

- 45 Este parámetro describe la estabilidad de los copolímeros en un modelo diseñado para asemejar las condiciones *in vivo* tras la administración de un fármaco que comprende un copolímero según la invención. Es deseable encontrar un equilibrio entre la estabilidad durante el almacenamiento de la preparación respectiva y la velocidad de liberación en las condiciones de aplicación. Como se explica anteriormente, también esa velocidad no debería en la mayoría de los casos tener lugar inmediatamente, sino debería ser sostenida durante un cierto intervalo de tiempo. Se encuentra que los valores definidos satisfacen de la mejor manera este requisito, especialmente para un uso médico deseado.

Una realización preferida adicional de la invención comprende un copolímero de injerto según la invención que se caracteriza por la capacidad de formar nanopartículas con un tamaño medio de partículas entre 50 y 500 nm, preferiblemente entre 100 y 250 nm, más preferible entre 120 y 160 nm.

Los términos micropartículas y nanopartículas se refieren al tamaño de las partículas respectivas. A este respecto, el estado de la técnica no siempre es consistente; por ejemplo, un grupo de partículas con un tamaño medio de 500 nm – y de este modo, partículas en el intervalo “nano” – también comprende estadísticamente en la mayoría de los casos algunas partículas de 800, 900 o incluso 1000 nm, y también se pueden ver de este modo como partículas “micro”. Por lo tanto, según la invención, todas las partículas pequeñas por debajo de un tamaño medio de 1 mm se denominan nanopartículas. Sin embargo, se prefieren los intervalos de partículas mencionados anteriormente que son siempre aplicables al tamaño medio de las partículas. Esta capacidad es enormemente debida a las propiedades de hidrofilia del copolímero de injerto respectivo, pero también a otras propiedades fisicoquímicas. Para ensayar esta capacidad para un cierto polímero de injerto, se puede llevar a cabo una reacción como aquella que se describe en el ejemplo 8.

Estos intervalos preferidos de tamaños parecen ser muy prometedores para varias aplicaciones del copolímero respectivo, especialmente para un uso médico deseado, ya que tienen en cuenta la necesidad de prepararlos, así como la estabilidad durante el almacenamiento y la capacidad del cuerpo del paciente para resorber tales partículas.

La presente invención proporciona un método para la síntesis de un copolímero de injerto de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico)-g-poli(lactida-co-glicolida) (P(VS-VA)-g-PLGA) con propiedades de electrolito cargado negativamente, que comprende las etapas de:

- a) sintetizar una cadena principal polielectrolítica mediante copolimerización radicalica de acetato de vinilo y una sal de ácido vinilsulfónico en presencia de un disolvente polar y un catalizador, opcionalmente seguido del aislamiento y/o purificación y/o secado del producto,
- b) hidrolizar total o parcialmente o producir la alcoholisis del poli(vinilsulfónico-co-acetato de vinilo) (producto de a)) en condiciones alcalinas en presencia de un disolvente, opcionalmente seguido del aislamiento y/o purificación y/o secado del producto, y
- c) injertar poli(lactida-co-glicolida) (PLGA) al poli(alcohol vinílico) modificado con sulfónico (producto de b) mediante polimerización de apertura de anillo en presencia de un catalizador, opcionalmente seguido del aislamiento y/o purificación y/o secado del producto.

Esas etapas ya se han esquematizado anteriormente en el contexto de la descripción del polímero según la invención. En lo siguiente se resumen otros medios para controlar las etapas de reacción y las variaciones.

En la etapa (a) se copolimerizan acetato de vinilo y ácido vinilsulfónico en la forma de su sal, preferiblemente en la forma de una sal con un catión monovalente, muy preferiblemente en forma de su sal sódica. Los disolventes polares apropiados pueden ser, por ejemplo, agua y/o un alcohol como metanol. La reacción de copolimerización se lleva a cabo vía el procedimiento de polimerización radicalica. Los iniciadores apropiados de la reacción de copolimerización son, por ejemplo, persulfato de amonio ((NH₄)₂S₂O₈; APS, soluble en agua), 2-(bifenil-4-il)-5-feniloxazol (BPO) o azo-bis-isobutironitrilo (AIBN), todos ellos generalmente conocidos como iniciadores apropiados para la polimerización radicalica de acetato de vinilo. El iniciador más preferido es APS.

Sin embargo, el sistema de disolvente se ha de elegir con respecto a la solubilidad de los componentes de la reacción. Por ejemplo, el acetato de vinilo no se puede disolver en agua, sino en una mezcla de metanol y agua. Por otro lado, el vinilsulfonato sódico se suministra preferiblemente como una disolución acuosa, preferiblemente como una disolución acuosa al 30%. En consecuencia, la cantidad de metanol en una mezcla de metanol/agua se ha de elegir en relación con la cantidad de acetato de vinilo.

BPO y AIBN son sustancialmente insolubles en agua, mientras que APS es insoluble en metanol puro pero soluble en agua. Por esta razón, el disolvente más preferido es también una mezcla de agua/metanol, preferiblemente a una relación v/v de 0,2 a 5.

Para la polimerización radicalica, especialmente la pureza de cada monómero, el tipo del iniciador, el disolvente y la temperatura de la polimerización tienen efectos significativos sobre el peso molecular del producto obtenido. El grado de polimerización se puede controlar mediante la cantidad de iniciador en el sistema. Durante la polimerización de acetato de vinilo, la reacción de transferencia de cadena al disolvente tiene lugar fácilmente debido a la elevada reactividad del acetato de vinilo. Por lo tanto, la composición polimérica no reflejará directamente la relación de alimentación sino que se ha de adaptar experimentalmente, lo que es en principio conocido por una persona experta.

La reacción de copolimerización debería tener lugar por debajo de los puntos de ebullición del acetato de vinilo (72°C) y del metanol (63-64°C). Un intervalo preferido es 55-65°C, lo más preferido es alrededor de 60°C.

Además, se ha demostrado que es útil llevar a cabo una reacción a reflujo en un gas protector, como nitrógeno o argón.

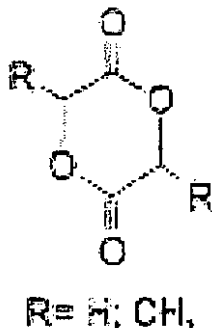
El acetato de vinilo sin reaccionar se puede eliminar mediante evaporación en metanol tras la polimerización. El vinilsulfonato sódico sin reaccionar y otras impurezas de pequeño peso molecular, algunas producidas por hidrólisis, se pueden eliminar mediante una ultrafiltración subsiguiente, todo lo cual es en principio conocido por una persona experta en la técnica.

En la etapa de reacción (b), la etapa de hidrólisis o alcoholisis, el producto de la etapa (a) se pone en contacto con agua y/o un alcohol como etanol en condiciones alcalinas. Estas condiciones se eligen para permitir una reacción de al menos algunas de las cadenas laterales de acetato de vinilo del poli(vinilsulfónico-co-acetato de vinilo), que resulta de la etapa (a). Según la invención, una hidrólisis y/o alcoholisis total o parcial cambiará esta proporción reaccionante (x2) de las cadenas laterales de acetato de vinilo en grupos hidroxilo. La proporción restante, no hidrolizada o alcoholizada, se expresa como x1.

En la reacción de hidrólisis, la cantidad de KOH en relación con las unidades de VAc se puede usar para controlar el grado de hidrólisis. Para una hidrólisis completa (por ejemplo, según el ejemplo 2), una cantidad convencional de KOH usada puede ser una relación en moles de 0,3 a 0,5 a unidades de VAc en la cadena principal.

La etapa de reacción (c) se puede describir como una polimerización en masa así como la reacción de injerto. En esta etapa, el producto de la etapa (b), que se puede describir como un poli(alcohol vinílico) modificado con sulfónico, caracterizado por un número (x2) de grupos hidroxilo, se pone en contacto con monómeros de ácido láctico/ácido glicólico (véase más abajo) en presencia de un catalizador apropiado. Estas condiciones de reacción se eligen para permitir una reacción de polimerización de estos monómeros con/sobre los grupos hidroxilo de la cadena principal que se han preparado mediante la etapa (b). Esta reacción de injerto se puede llevar a cabo en disolución, o preferiblemente sin la presencia de un disolvente (compárese el ejemplo 1), y entonces se puede describir como una polimerización en fundido. Esto conduce a un polímero que comprende una cadena principal de poli(alcohol vinílico) modificado con sulfónico, la cual está injertada con poli(lactida-co-glicolida).

Como se sabe del estado de la técnica, el ácido glicólico (OH-CH₂-COOH) y el ácido láctico (CH₃-C*(OH)(COOH)) se pueden dimerizar para formar una lactona cíclica de esta fórmula:



Estas moléculas se pueden someter a una polimerización de apertura de anillo cuando están presentes como catalizadores ácidos de Lewis. Por ejemplo, en Li et al. (1997); Polymer, vol. 38, páginas 6197-6206 se describe una reacción de injerto de tal polímero de PLGA, que comprende unidades que se repiten de anillos abiertos de estas lactonas, sobre una cadena principal de dextrano.

En consecuencia, la etapa (c) de un método de la síntesis de un copolímero de injerto según la invención también se describe como una reacción de polimerización de apertura de anillo. Puesto que la polimerización de apertura de anillo comienza en realizaciones preferidas de la invención a partir de unidades monoméricas diméricas, las cadenas laterales de PLGA contendrán en principio dos unidades monoméricas de ácido láctico o dos unidades monoméricas de ácido glicólico, consecutivamente, como también se ilustra mediante la fórmula (II). Las desviaciones de este orden son posibles en principio en pequeñas cantidades (por ejemplo de heterodímeros que se pueden formar *in situ* durante la reacción de polimerización), dependiendo de las condiciones de reacción.

Los catalizadores apropiados de la reacción de la etapa (c) son ácidos de Lewis, especialmente octoato estannoso (Sn(Oct)₂).

Opcionalmente, y a fin de acabar cada una de estas etapas (a), (b) y (c), se pueden añadir tantas etapas como sean necesarias para el aislamiento, purificación y/o secado apropiado del producto respectivo. Esto depende especialmente de las necesidades de la etapa subsiguiente o del uso pretendido del producto final. Por ejemplo, si la etapa (c) se lleva a cabo como una polimerización en fundido, se ha de eliminar cualquier disolvente de las etapas anteriores. También, el producto final de la etapa (c) debe satisfacer ciertos requisitos de pureza con respecto al uso ideado. Tales etapas de aislamiento, purificación y/o secado del producto respectivo son en principio conocidas por

la persona experta en la técnica y se pueden aplicar en cualquier modo apropiado. Esto también se ilustra mediante los ejemplos.

Cada una de estas etapas (a), (b) y (c) de la síntesis de los polímeros resultantes respectivos se puede caracterizar por técnicas conocidas en el estado de la técnica. Por ejemplo, el resultado de la etapa (a), el P(VS-VA), se puede caracterizar mediante FT-IR, RMN ^1H , DSC, GPC, viscosidad intrínseca, análisis elemental (azufre), RMN ^{13}C , o mediante cualquier otro método conocido por la persona experta que parezca ser apropiada. El resultado de la etapa (c), el P(VS-VA)-g-PLGA, se puede caracterizar por ejemplo mediante análisis elemental (azufre), FT-IR, RMN ^1H para determinar las unidades de PLGA por cadena), RMN ^{13}C , viscosidad intrínseca, DSC, o mediante cualquier otro método conocido por la persona experta que parezca ser apropiada.

Por ejemplo, los espectros de RMN ^1H se pueden usar para calcular la longitud lateral del PLGA de los polímeros según la invención (véanse los ejemplos 5 y 6).

El análisis de DSC se puede usar para la determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g) (véase el ejemplo 6).

Por ejemplo, el análisis de GPC se puede usar para determinar el valor de M_w así como el valor de M_n del polímero. M_w se define como el peso molecular medio ponderal, mientras que M_n se define como el peso molecular promediado a lo largo del número total de moléculas.

En la figura 1 se muestra un esquema de reacción típico para la síntesis de un poliéster según la invención. En el ejemplo 1 se describe un posible método de preparación. Ambos se mencionan aquí sólo con fines ilustrativos y sin limitar el alcance de la protección de ninguna manera.

Como se evidencia por los ejemplos de esta solicitud, la presente invención proporciona un método fácil para la introducción de un grupo de sustitución sulfónico en un poliéster anfifílico.

La naturaleza anfifílica y cargada negativamente de los poliésteres injertados permite el atrapamiento de fármacos mediante interacción electrostática en función de la modificación sulfónica, y se puede usar como una plataforma de polielectrolito cargado negativamente para el suministro de fármacos.

Adicionalmente, las relaciones de carga modificada por sulfónico de la cadena principal y de las longitudes laterales de PLGA se pueden modificar para ajustar la naturaleza anfifílica y la solubilidad de los polímeros. Esto proporciona un enfoque para manipular las propiedades superficiales de las partículas resultantes usando P(VS-VA)-g-PLGA con diferentes grados de sustitución sulfónica y longitudes de cadena de PLGA.

A fin de obtener diferentes cadenas principales sustituidas con sulfónico, se puede variar la alimentación de las relaciones de monómeros de vinilsulfónico y acetato de vinilo. Se pueden elegir, por ejemplo, como 2:8, 4:6, 6:4, y 8:2 VS frente a VAc (como se afirma en los ejemplos), o cualquier otra relación entre estos valores, o incluso inferiores o superiores, a fin de modificar y controlar la composición de la cadena principal, influyendo en las propiedades del polielectrolito y de la degradación. En detalle, estas variaciones influyen en la cantidad de cargas negativas en el polímero final y la velocidad de su degradación debido a la hidrólisis cuando se aplica por ejemplo a un paciente. Ambos valores suman hasta 10, lo que permite una definición precisa dando sólo el primer valor (compárese el ejemplo 2 y la figura 2).

Por ejemplo, a partir de los datos de viscosidad intrínseca en la tabla 1, se puede observar que el incremento de la relación VS:VA en la cadena principal conduce a una disminución de la viscosidad intrínseca del polímero resultante. Esto es un indicador de que la función de la modificación sulfónica incrementa la hidrofilia de la cadena principal.

El resultado del ejemplo 6 demuestra que las variaciones del método de síntesis según la invención permiten la producción de polímeros de injerto con diversas propiedades fisicoquímicas. De este modo, la invención proporciona un grupo de polímeros relacionados con propiedades definitivamente variables y diferencias sutiles que son especialmente útiles para los fines médicos mencionados anteriormente.

Las realizaciones preferidas de este aspecto de la invención, ya esquematizadas por la descripción anterior, se pueden resumir según lo siguiente:

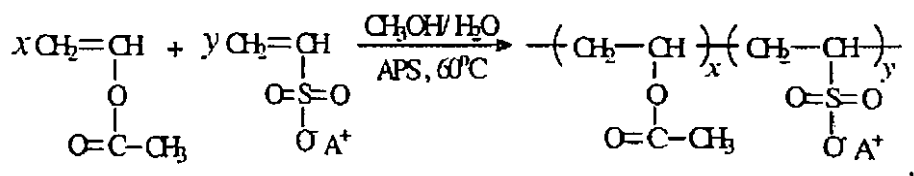
- un método de síntesis de un copolímero de injerto según la invención con un disolvente polar en la etapa (a), preferiblemente aquel que se selecciona de agua, metanol, etanol y/o isopropanol, más preferiblemente una mezcla de metanol y agua;
- un método de síntesis de un copolímero de injerto según la invención con un iniciador de la polimerización radicalica como catalizador en la etapa (a), preferiblemente APS;
- un método de síntesis de un copolímero de injerto según la invención con KOH/CH₃CH₂OH/H₂O o NaOH/CH₃CH₂OH/H₂O como reactivos en la etapa (b);

- un método de síntesis de un copolímero de injerto según la invención con octoato estannoso ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) como catalizador en la etapa (c).

Estas realizaciones se ejemplifican mediante el ejemplo 1 y los siguientes ejemplos, y resultan ser especialmente útiles para la síntesis de un copolímero de injerto según la invención.

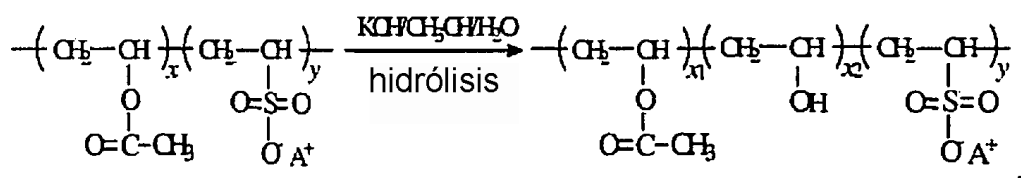
- 5 Basándose en las mismas experiencias, la siguiente combinación de características caracteriza una realización muy preferida de la invención; ésta es un método de síntesis de un copolímero de injerto según la invención, que comprende las etapas de:

a) La copolimerización radicalica de sal sódica del ácido vinilsulfónico y acetato de vinilo, según el siguiente esquema de reacción:



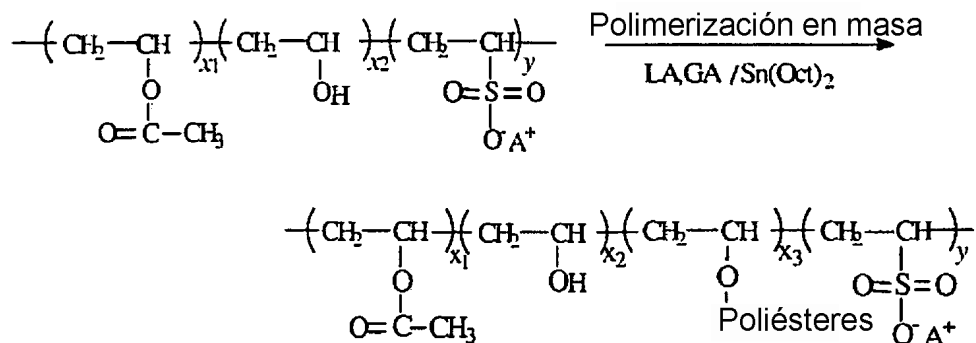
10

b) Hidrólisis para obtener poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico), según el siguiente esquema de reacción:



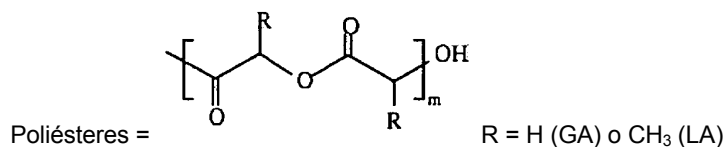
y

c) Injerto de PLGA (LA:GA = 50:50), según el siguiente esquema de reacción:



15

con



Una realización preferida de este aspecto de la invención es un método de síntesis del copolímero de injerto según la invención con una relación de alimentación de monómeros de vinilsulfónico frente a acetato de vinilo (VSA:VAc) en la etapa (a) entre 2:8 y 8:2, preferiblemente entre 4:6 y 6:4% en moles.

20

Como se describe anteriormente, esta variación se puede usar para modificar las propiedades fisicoquímicas del copolímero de injerto resultante. Los efectos de esta variación, así como el éxito a la hora de producir polímeros según la invención mediante este procedimiento, se describen en el ejemplo 2.

Una realización preferida de este aspecto de la invención es un método de síntesis de un copolímero de injerto según la invención con una relación de monómeros de injerto de ácido láctico frente a ácido glicólico (LA:GA) en la etapa (c) entre 0 a 100 y 100 a 0, preferiblemente entre 1 a 99 y 99 a 1, más preferiblemente entre 10 a 90 y 90 a 10, incluso más preferiblemente entre 30 a 70 y 70 a 30, y lo más preferible entre 45 a 55 y 55 a 45.

25

Como se describe anteriormente, esta variación se puede usar para modificar las propiedades fisicoquímicas, especialmente las propiedades de hidrofilia/hidrofobia del copolímero de injerto resultante, en un amplio intervalo.

Una realización preferida de este aspecto de la invención es un método de síntesis de un copolímero de injerto según la invención con una relación en peso de cadena principal a injerto (P(VS-VA):PLGA) en la alimentación en la etapa (c) entre 1:2 y 1:30, preferiblemente entre 1:3 y 1:20, más preferiblemente entre 1:5 y 1:15, incluso más preferiblemente entre 1:8 y 1:12, y lo más preferible 1:10.

Como se describe anteriormente, esta variación se puede usar para modificar las propiedades fisicoquímicas, especialmente las propiedades de hidrólisis y de biodegradación del copolímero de injerto resultante, en un amplio intervalo.

Como solución adicional al problema descrito anteriormente, la presente invención proporciona un vehículo farmacéutico coloidal, que comprende un copolímero de injerto según la invención.

En el sentido de la actual invención, los vehículos farmacéuticos son sustancias definidas por su actividad. Sirven como sustancias que mejoran el suministro y la eficacia de los fármacos en su aplicación biológica o farmacéutica. Se pueden aplicar en diferentes sistemas de suministro de fármacos con el objetivo de controlar la liberación del fármaco, la influencia del metabolismo o la toxicidad del fármaco respectivo, o para incrementar la eficacia del suministro de los fármacos a los sitios diana de acciones farmacológicas. También, los polímeros pueden servir como base para vehículos farmacéuticos. Otros componentes de un vehículo farmacéutico pueden ser otros polímeros, disolventes como agua, sales, tensioactivos, liposomas, microesferas, etc.

Debido a las propiedades descritas anteriormente, un copolímero de injerto según la invención puede servir como un componente en tal sistema vehículo. Especialmente debido a la hidrofilia de su cadena principal, se puede complejar con disolventes, especialmente agua, para formar un coloide, que a su vez es extremadamente muy adecuado para el diseño de vehículos farmacéuticos, especialmente para el uso de fármacos cargados positivamente.

Realizaciones preferidas de este aspecto de la invención son:

- un vehículo farmacéutico coloidal, que comprende un copolímero de injerto, sintetizado según la presente invención,
- un vehículo farmacéutico coloidal según la invención, que está sustancialmente libre de tensioactivos.

El segundo aspecto es extremadamente importante para una aplicación médica prevista vía membranas mucosas, especialmente vía los epitelios pulmonares. Especialmente, la formación de nanopartículas como se describe en el ejemplo 8 es posible sin la adición o uso de tensioactivos u otros excipientes, de manera que estos vehículos farmacéuticos son especialmente muy adecuados para la aplicación ideada.

Como solución adicional del problema descrito anteriormente, la presente invención proporciona nanopartículas que comprenden un copolímero de injerto según la invención con un tamaño medio de partículas entre 50 y 500 nm, preferiblemente entre 100 y 250 nm, más preferiblemente entre 120 y 160 nm.

Como se explica anteriormente, tales partículas son muy adecuadas para el suministro de fármacos biológica y/o farmacéuticamente activos. La preparación de tales partículas, partiendo de un copolímero de injerto según la invención, se puede llevar a cabo en principio con el conocimiento de una persona experta en la técnica. Se ejemplifica además mediante el ejemplo 8.

En una realización preferida, tales nanopartículas se caracterizan por un índice de polidispersidad entre 0,05 y 0,1.

Las partículas con este intervalo relativamente bien definido de tamaños son muy adecuadas para aplicaciones médicas, especialmente con respecto a las propiedades de absorción y de liberación de fármacos.

Otra realización preferida son nanopartículas según la invención con un potencial zeta entre -15 y -60 mV.

Este parámetro describe la carga superficial de las partículas respectivas. El valor negativo las hace muy adecuadas para la interacción con fármacos cargados positivamente. Este determinado intervalo ha resultado ser útiles para fármacos que se aplican en medicina. El ejemplo 8 ejemplifica cómo se pueden sintetizar tales partículas.

Consiguientemente, como una solución adicional del problema descrito anteriormente, la presente invención proporciona un método de síntesis de nanopartículas según la invención, que comprende las etapas de:

- a) disolver en un disolvente orgánico un copolímero de injerto según la presente invención y/o un copolímero de injerto sintetizado según la presente invención,
- b) inyectar la disolución resultante de la etapa (a) en una fase acuosa, y
- c) eliminar el disolvente orgánico.

Este método ha resultado ser exitoso para la preparación de nanopartículas según la invención.

En una realización preferida, tal método se caracteriza por el uso de acetona como disolvente orgánico y de agua con una conductividad por debajo de 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ como fase acuosa, que también se ejemplifica como exitoso por el ejemplo 8.

5 Como una solución adicional del problema descrito anteriormente, la presente invención proporciona composiciones que comprenden (a) un fármaco biológica y/o farmacéuticamente activo, y (b) un copolímero de injerto según la invención y/o un copolímero de injerto sintetizado según la invención y/o un vehículo farmacéutico coloidal según la invención y/o con nanopartículas de un copolímero de injerto según la invención y/o con nanopartículas sintetizadas según la invención.

10 Como se entenderá de las explicaciones anteriores, el copolímero de injerto según la invención se ha desarrollado para proporcionar un polímero con ciertas características. Estas características se pueden usar para preparar composiciones con ciertas características que son debidas a la presencia de tal polímero. Las mismas características caracterizan vehículos farmacéuticos coloidales y nanopartículas según la invención. Por lo tanto, es posible introducir todos estos tipos de material en composiciones respectivas.

15 Las características de tales composiciones se pueden entender igualmente mediante las explicaciones anteriores. Debido a las propiedades fisicoquímicas del copolímero de injerto según la invención, pueden incorporar fármacos (característica a) que se mezclan con estos posibles materiales (b). De este modo, los fármacos se adherirán a o se incorporarán en una red del polímero respectivo, se mantendrán almacenados y se liberarán en condiciones adecuadas que permitan una hidrólisis del polímero. Preferiblemente, ambos materiales interactúan sinérgicamente: 20 las propiedades de almacenamiento y de liberación permiten un perfil de actividad mejorado del fármaco capturado y liberado después.

Esto es extremadamente valioso para aplicaciones biológicas y/o farmacéuticas. En consecuencia, en una realización preferida, tal composición según la invención es una composición farmacéutica, especialmente para el tratamiento o profilaxis de una neumopatía, o para la administración mediante inhalación de fármacos que actúan 25 sistémicamente, especialmente para pacientes humanos.

Todas las sustancias farmacéuticamente activas están comprendidas por esta realización, para el tratamiento o profilaxis de básicamente todos los tipos de enfermedades, para seres humanos así como para animales. Sin embargo, como se explica anteriormente, los materiales según la invención están preferiblemente libres de tensioactivos, lo que también se aplica para tales composiciones farmacéuticas. Por lo tanto, son muy útiles para el 30 tratamiento de neumopatías, o en general para la administración mediante inhalación.

En una realización preferida, tal composición se diseña para ser administrada parenteralmente, mucosalmente o mediante inhalación, preferiblemente mediante inhalación.

Otros ingredientes de tales composiciones son en principio conocidos por una persona experta en la técnica. Se han desarrollado ciertos aparatos especialmente para la administración mediante inhalación, por ejemplo inhaladores o nebulizadores de polvo seco. Un ejemplo de tal inhalador se describe en Dalby, R., et al. (2004), Int. J. Pharm., vol. 35 283, páginas 1-9.

En una realización preferida, tal composición se caracteriza por el hecho de que el fármaco se selecciona de proteínas, péptidos, especialmente hormonas peptídicas, y/o moléculas orgánicas de pequeño peso molecular, especialmente con grupos más cargados positivamente que grupos cargados negativamente sobre la superficie de 40 la molécula farmacéutica.

Esto significa que el excipiente polimérico según la invención puede en principio usarse como un sistema general de liberación de fármacos. Sin embargo, se prefiere explotar su carga superficial negativa para interaccionar y de este modo unirse adicionalmente de forma electrostática a fármacos que están cargados positivamente.

En una realización preferida, tal composición se caracteriza por el hecho de que la hormona peptídica mezclada y/o 45 atrapada se selecciona de interleucinas (IL-1 a IL-15), interferones (IFN), neutrotrofinas (NT-1 a NT-3), factores estimulantes de colonias (CSF), factores de crecimiento epidérmico (EGF), factores de crecimiento neuronal, prolactina, hormona liberadora de la hormona luteinizante (LH-RH), insulina, somatostatina, glucagón, gastrina, pentagastrina, urogastrona, calcitonina, seretina, encefalinas, endorfinas, angiotensinas, renina, bradiquinina, tirocidina, gramicidinas, eritropoyetina (EPO), angiopeptina, hirudina, oxitocina, vasopresina, péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP), factores de crecimiento derivados de cerebro (BDGF), sus análogos sintéticos y 50 modificaciones, y/o sus fragmentos farmacológicamente activos.

En una realización alternativa, tal composición se caracteriza por el hecho de que la molécula orgánica de pequeño peso molecular mezclada y/o atrapada se selecciona de salbutamol, salmeterol, fenoterol, indacaterol, formoterol, 55 carmoterol, aclidinio, bromuro de ipratropio, o bromuro de tiotropio, opcionalmente en forma de una sal de adición de ácidos, debido a que son sustancias muy eficientes para curar ciertas neumopatías.

Otras soluciones del problema descrito anteriormente se proporcionan mediante los siguientes usos, que se pueden entender en base a la descripción anterior:

- uso de un copolímero de injerto según la invención para la preparación de un vehículo farmacéutico coloidal;
- 5 - uso de un copolímero de injerto según la invención para la preparación de nanopartículas y/o composiciones coloidales autoagregantes que comprenden además un ingrediente activo;
- uso de un copolímero de injerto según la invención y/o copolímero de injerto sintetizado según la invención y/o un vehículo farmacéutico coloidal según la invención y/o con nanopartículas de un copolímero de injerto según la invención y/o de nanopartículas sintetizadas según la invención, para la preparación de una
- 10 composición que comprende un fármaco biológica y/o farmacéuticamente activo para la liberación controlada, especialmente sostenida, de dicho fármaco.

Los siguientes ejemplos están destinados a explicar adicionalmente la invención subyacente, sin ninguna limitación con respecto al alcance de la protección.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

- 15 Síntesis de un copolímero de injerto de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico)-g-poli(lactida-co-glicolida) que contiene sustituyentes sulfónicos con propiedades de electrolito cargado negativamente (P(VS-VA)-g-PLGA)

Etapas (a)

Síntesis de una cadena principal de polielectrolito mediante polimerización radicalica de acetato de vinilo y vinilsulfónico

- 20 La copolimerización entre acetato de vinilo y la sal sódica de ácido vinilsulfónico se llevó a cabo en un medio acuoso/metanol usando como iniciador APS (5% en moles). El acetato de vinilo se añadió como disolución metanólica (0,2 g/ml), y el ácido vinilsulfónico se añadió como disolución acuosa al 30%. Por ejemplo, para una relación de alimentación molar de 4:6 (VS:VAc), se usaron 34,27 g de VS como disolución acuosa al 30%, 10 g de VA en 50 ml de metanol, y 2,21 g de APS. Para otras relaciones de alimentación, las cantidades se modificaron en consecuencia. La mezcla de reacción se mantuvo a 60°C en N₂ durante 24 h. Después, los copolímeros brutos se calentaron para eliminar el acetato de vinilo sin reaccionar (p.e. 72°C), que sería dañino para la reacción de hidrólisis subsiguiente. La sal sódica del ácido vinilsulfónico sin reaccionar se eliminó mediante ultrafiltración, lo que se hizo cuatro veces en cada muestra (concentración inicial: 200 mg de polímero en 10 ml de agua), usando una cuba de ultrafiltración agitada Amicon modelo 8010 (Amicon Corp., Beverly, Massachusetts, USA) equipada con una
- 25 membrana de filtro YM1 (Amicon, corte = 1.000 g/mol). Finalmente, las disoluciones de copolímero bruto se pueden condensar, por ejemplo mediante evaporación giratoria.
- 30

Etapas (b)

Hidrólisis parcial de poli(vinilsulfónico-co-acetato de vinilo), que conduce a poli(alcohol vinílico) modificado con sulfónico (P(VS-VA)).

- 35 Los copolímeros brutos (por ejemplo 2 g) como se producen mediante la etapa (a) se disolvieron en agua con agitación; se añadió gota a gota la cantidad requerida de disolución saturada de hidróxido potásico en metanol (por ejemplo 2 ml). Después, la mezcla se puso a reflujo toda la noche a 60°C, lo que está ligeramente por debajo del p.e. del metanol (64°C). Los copolímeros brutos se precipitaron entonces en agua a metanol, se lavaron con metanol varias veces hasta que ya no fue detectable el álcali. Finalmente, los polvos amarillos se secaron a vacío hasta peso constante.
- 40

Etapas (c)

Injerto de poli(lactida-co-glicolida) (PLGA) al poli(alcohol vinílico) modificado con sulfónico a través de una polimerización en fundido de apertura de anillo

- 45 En nitrógeno, el producto de la etapa (b) (P(VS-VA), por ejemplo 1 g de P(VS-VA)-2) se cargó en un matraz con nitrógeno secado rigurosamente, entonces se desgasificó a 80°C en una línea de vacío durante al menos 2 h para eliminar el agua en trazas en la cadena principal. Después, se añadió la cantidad requerida de monómero recientemente recristalizado (la lactona cíclica de LA/GA, por ejemplo 5,6 g de LA y 4,4 g de GA) y la disolución del catalizador SnOct₂ (por ejemplo 0,5 mg) en tolueno. Después de mezclar bien, el matraz se desgasificó a 60°C (debido a que el punto de fusión de GA es 80°C) en una línea de vacío durante al menos 2 h para eliminar el tolueno, y, mediante acción azeotrópica adicional, también el agua en trazas. Después, el matraz se sumergió en un baño de aceite previamente calentado (T = 130°C) para mezclar bien los monómeros fundidos y la cadena principal, incrementando finalmente la temperatura hasta 190°C, y la reacción se dejó transcurrir toda la noche con agitación.
- 50

Después de enfriar hasta la temperatura ambiente usando un baño de agua, los productos resultantes se disolvieron en acetona y se precipitaron en una gran cantidad de agua, y finalmente se secaron a vacío hasta peso constante.

Este procedimiento completo de 3 etapas se describe mediante la figura 1, sin limitar el alcance de las reivindicaciones.

5 Ejemplo 2

Variación de la relación de monómeros de la alimentación

El ejemplo 1 se ha llevado a cabo con cuatro relaciones diferentes de monómeros de la alimentación (a), (b), (c) y (d) de vinilsulfónico frente a acetato de vinilo, como se esquematiza en la tabla 1. Las propiedades determinadas de los polímeros según la invención que resultan de esta variación también se incluyen en la tabla 1. Las propiedades determinadas son:

- 10 S^a : análisis de azufre elemental tras la hidrólisis;
- S^b : contenido teórico de azufre calculado a partir de la alimentación suponiendo que el grado de hidrólisis es 100%;
- C: composición de copolímero, calculada a partir del resultado de RMN 1H (compárese el ejemplo 3);
- 15 V: viscosidad intrínseca, determinada con un viscosímetro Ubbelohde (Company Ubbelohde, Alemania) a partir de disoluciones acuosas 0,5N de $NaNO_3$ a 25°C con cinco concentraciones diferentes, dada en dl/g.

Tabla 1: Las propiedades de la cadena principal modificada con sulfónico P(VS-VA)-g-PLGA

	Relación de monómeros de alimentación (VS:VAc)	S^a (%)	S^b (%)	C (VS%)	V (dl/g)
(a)	2:8	9,9	10,4	37,8	0,162
(b)	4:6	15,4	16,3	51,8	0,065
(c)	6:4	17,2	20,1	71,8	0,053
(d)	8:2	19,7	22,7	85,9	0,040

20 A partir de los datos de viscosidad intrínseca en la Tabla 1, se puede ver que el aumento de la relación VS:VA en la cadena principal conduce a disminuir la viscosidad intrínseca. Esto es un indicador de que la función de la modificación sulfónica aumenta la hidrofilia de la cadena principal.

Ejemplo 3

Datos de RMN para confirmar la estructura de la cadena principal y calcular la composición de la cadena principal

25 La figura 2 muestra los espectros de RMN 1H de las cadenas principales de P(VS-VA) en D_2O , preparadas según los ejemplos 1 y 2. Los protones y las señales correspondientes se asignan en los espectros.

Merece la pena destacar que no hubo señales visibles de la cadena principal de PVA conectada con grupos acetato tras la hidrólisis (el $-CH-OCOCH_3$ esterificado en el intervalo de 4,9 ppm), indicando que el grado de hidrólisis fue casi 100%.

30 Para los protones metilénicos ($-CH_2-$), no fue posible integrar las señales debido a que solapan. Por tanto, no fue posible determinar la composición copolimérica a través de las integrales de los protones metilénicos.

Para los protones de metino ($-CH-$), la señal del grupo VS se dividió bien del grupo VA, así que la composición copolimérica de VS se calculó comparando las integrales de picos característicos del grupo $CH-OH$ y del grupo $CH-OCOCH_3$ cerca de $\delta = 3,8-4,4$ ppm, y del grupo $CH-SO_3Na$ $\delta = 2,8-3,6$ ppm.

Ejemplo 4

35 Espectros de FT-infrarrojos para intermedios del procedimiento de síntesis

Durante una síntesis de un P(VS-VAc) (VS:VAc = 8:2), según los ejemplos 1 y 2, se tomaron muestras y se analizaron mediante espectroscopía de FT-infrarrojos (KBr). Los espectros resultantes se recogieron en las figuras 3, 4 y 5.

Las señales principales se pueden adscribir a longitudes de onda específicas según lo siguiente:

- 3500 cm⁻¹ (-OH);
- 3000 cm⁻¹ (-CH₃);
- 1700 cm⁻¹ (C=O);
- 1200 cm⁻¹ (st sym CH₂);
- 1040 cm⁻¹ (st sym SO₂).

Como resultado, se puede afirmar que las tres etapas de la reacción se pudieron confirmar mediante espectroscopía de FT-IR. El pico de absorción del grupo -CH₂ y del grupo -SO₃ de la cadena principal está presente en los tres espectros. Después de la hidrólisis, aumentó la intensidad relativa de hidroxilo, y, cuando se injertó con PLGA, la intensidad de la absorción del grupo -OH disminuyó en consecuencia. Además, la intensidad del pico carbonílico se hizo más débil después de la hidrólisis con respecto a la pérdida de unidades de acetato, y se hizo más fuerte después de injertar la cadena principal con PLGA.

Ejemplo 5

Datos de RMN para confirmar la estructura de injerto del poliéster y calcular su composición

Otros polímeros según la invención se han preparado como se describe en el ejemplo 1. Para estos, se han elegido relaciones en peso P(VS-VA):PLGA de 1:5, 1:10 y 1:15 (otros detalles: véase el ejemplo 6).

Los análisis de RMN ¹H y los espectros de RMN ¹³C típicos para uno de estos productos de reacción se muestran en las figuras 6 y 7, respectivamente. Las señales correspondientes se asignan en los espectros.

En el espectro de RMN ¹H (figura 6), la señal de las unidades de lactida terminadas en hidroxilo indican el injerto exitoso de PLGA a la cadena principal de P(VS-VA) en el poliéster. Las unidades de PLGA por cadena se pueden obtener mediante comparación de intensidades de la cadena de PLGA y sus grupos terminales. La relación en moles LA/GA se puede obtener mediante comparación de intensidades de las unidades de LA y las unidades de GA.

$$\text{Longitud de la cadena lateral de PLGA} = \frac{I_{2+3} + I_{2'+3'}}{2I_{2'+3'}}$$

Relación de LA frente a GA:

$$\frac{\text{LA}}{\text{GA}} = \frac{2I_{1+1'}}{3I_{2+2''}}$$

En el espectro de RMN ¹³C (figura 7), las señales de PLGA situadas en 4', 5', 1' resultan del grupo terminal de la cadena lateral. La señal localizada en 30 ppm (a) procede del grupo CH₂ de la cadena principal, y la señal situada a 55 ppm procede del grupo -CHSO₃Na de la cadena principal.

Ejemplo 6

Propiedades fisicoquímicas de los poliésteres con diferentes relaciones de monómeros de la cadena principal y variación de la longitud de la cadena lateral de PLGA de injerto

Otros polímeros según la invención se han preparado como se describe en los ejemplos 1, 2 y 5. En este caso, las relaciones molares en peso de VAc frente a VS se han elegido como 8:2, 6:4, 4:6 y 2:8, y las relaciones de P(VS-VA):PLGA se han elegido como 1:5, 1:10 y 1:15 (también discutido en el ejemplo 5).

Las diversas relaciones así como las propiedades determinadas de los polímeros preparados según la invención que resultan de esta variación se resumen en la tabla 2.

Las propiedades determinadas son:

- | | |
|---------------|---|
| VAc:VS: | relación en moles de monómero de la cadena principal en la alimentación; |
| P(VS-VA):PLGA | relación en peso de monómeros de la cadena principal frente a PLGA en la alimentación; |
| PLGA: | unidades por cadena, a partir del análisis de RMN ¹ H mediante comparación de intensidades de la cadena de PLGA y los grupos terminales, como se describe en el ejemplo 5 y la figura 6; |

LA:GA^b: relación en moles de unidades monoméricas en la cadena principal a partir del análisis de RMN ¹H, como se describe en el ejemplo 5 y en la figura 6;

T_g: temperatura de transición vítrea (T_g) única en °C, como se determina a partir del análisis de DSC (calorimetría diferencial de barrido)

5 Tabla 2: Propiedades fisicoquímicas de los sistemas P(VS-VA)-g-PLGA

Nº	VAc:VS en alimentación (relación en moles)	P(VS-VA):PLGA en alimentación (relación en peso)	PLGA (unidades por cadena)	LA:GA (% en moles)	T _g (°C)
1	8:2	1:5	15,4	54,0:46,0	25,9
2	8:2	1:10	17,4	51,9:48,1	35,1
3	8:2	1:15	32,3	51,3:48,7	37,3
4	6:4	1:5	9,9	50,1:49,9	25,5
5	6:4	1:10	21,1	50,4: 49,6	35,0
6	6:4	1:15	20,4	51,3:48,7	35,5
7	4:6	1:5	14,1	50,5: 49,5	24,9
8	4:6	1:10	30,1	51,6:48,4	32,7
9	4:6	1:15	51,2	51,3:48,7	38,2
10	2:8	1:5	21,1	50,7:49,3	/
11	2:8	1:10	41,5	54,4:45,6	34,4
12	2:8	1:15	54,4	51,4: 48,6	38,3

Como se evidencia por estos datos, las variaciones del método de síntesis según la invención permiten de hecho la producción de polímeros de injerto con diversas propiedades fisicoquímicas.

Ejemplo 7

10 Análisis del comportamiento de degradación de los polímeros de injerto de P(VS-VA)-PLGA

A fin de analizar el comportamiento de degradación (erosión del polímero) de los polímeros de injerto de P(VS-VA)-PLGA según la invención, se seleccionaron películas poliméricas de estos 3 polímeros diferentes que difieren en su grado de sustitución sulfónica: P(VS-VA)-PLGA(2-10), P(VS-VA)-PLGA(4-10) y P(VS-VA)-PLGA(6-10). Se produjeron según los ejemplos anteriores, y se prepararon moldeándolos a partir de una disolución al 5% (p/v) en diclorometano usando moldes de TeflonTM. Después de 72 h de secado a una temperatura de 4°C, las muestras se recuperaron y se taladraron con un punzón discos de un diámetro de 17 mm a partir de las películas poliméricas en un estado semiseco usando un taladrador de corcho. Los disolventes residuales se eliminaron entonces *a vacío* a temperatura ambiente hasta que se obtuvieron pesos constantes.

Para determinar los perfiles de degradación *in vitro*, se colocaron en paralelo muestras de película pesadas (aprox. 30 mg cada una; 3 muestras en 10 ml de disolución salina tamponada con fosfato en viales de vidrio (PBS, pH 7,4, 0,15 M), y se mantuvieron a 37°C en una incubadora. Los viales de vidrio se agitaron suavemente una vez al día. El pH del tampón de degradación se monitorizó periódicamente, y se encontró que era > 6,8 después del período de estudio de 21 días para todos los polímeros ensayados. Después de 2, 7, 14 y 21 días, las muestras se recuperaron, se secaron con papel secante KimwipesTM, y el peso en húmedo se midió gravimétricamente. Las muestras húmedas se congelaron entonces a -80°C, se liofilizaron *a vacío* durante aprox. 72 h a temperatura ambiente hasta que se obtuvieron masas constantes. La pérdida de masa polimérica se calculó a partir de la siguiente fórmula: Pérdida de masa (%) = 100 – (masa (seca) x 100/masa original).

Los resultados se resumen en la tabla 3 y se muestran gráficamente en la figura 8. En esta figura, el valor de la masa que queda del 50% se muestra mediante una línea discontinua.

30 Tabla 3: Perfil de degradación *in vitro* de P(VS-VA)-g-PLGA. Pérdida de masa de los polímeros de injerto según la invención en función del tiempo, durante la incubación en PBS (pH 7,4; 37°C), dándose la desviación estándar como el segundo número.

Tiempo	P(VS-VA)-g-PLGA	P(VS-VA)-g-PLGA	P(VS-VA)-g-PLGA
--------	-----------------	-----------------	-----------------

(días)	(2-10)	(4-10)	(6-10)
0	100	100	100
2	91 / 2,1	86 / 1,4	61 / 6,5
7	81 / 2,5	75 / 1,5	52 / 7,8
14	69 / 6,4	63 / 8,1	40 / 9,4
21	65 / 6,3	42 / 8,4	35 / 3,0
28	40 / 9,5	7 / 10	3 / 11,5

Estos datos demuestran que el polímero con mayor grado de sustitución sulfónica, P(VS-VA)-PLGA(6-10), mostró la mayor erosión, con una semivida de degradación de alrededor de 8 días. P(VS-VA)-PLGA(4-10) tuvo una semivida de aprox. 18 días, mientras que P(VS-VA)-PLGA(2-10) tuvo una semivida de aprox. 25 días.

- 5 Los factores que contribuyen a las propiedades de degradación de esos poliésteres anfífilos son mediante escisión hidrolítica aleatoria del enlace de éster de la cadena lateral de PLGA por difusión o hinchamiento de la matriz. El balance hidrófilo/hidrófobo afectó al comportamiento de degradación, aumentando la hidrofilia de la matriz polimérica, la velocidad de difusión o hinchamiento de la matriz aumentó, lo que condujo a un tiempo de degradación acelerada.
- 10 La figura 9 ilustra los cambios estructurales que tienen lugar durante el proceso de degradación, ejemplificado mediante P(VS-VA)-PLGA(2-10): en el perfil de GPC, el pico principal debido al polímero intacto disminuye, mientras que el pico para el compuesto de bajo peso molecular aumenta durante el transcurso de las 4 semanas monitorizadas.

Ejemplo 8

- 15 Preparación de nanopartículas de P(VS-VA)-g-PLGA

Basándose en la anfifilia de los poliésteres de injerto, se prepararon nanopartículas mediante la técnica de desplazamiento de disolvente como se describe en lo siguiente. El principio de esta reacción, así como los métodos para analizar los productos, se describen, por ejemplo, en esta publicación: Jung T. et al. (2000); Sulfobutylated poly(vinyl alcohol)-graft-poly(lactide-co-glycolide)s facilitate the preparation of small negatively charged biodegradable nanospheres; J. Controlled Release; vol. 67, páginas 157-169.

- 20 Para este fin, en experimentos en paralelo, se tomaron 10,0 mg de 5 polímeros diferentes producidos según los ejemplos anteriores. Cada muestra de 10,0 mg se disolvió en 1 ml de acetona a 25°C. La disolución resultante se inyectó subsiguientemente a una fase acuosa agitada magnéticamente (500 rpm) de 5 ml de agua filtrada y doblemente destilada (pH 7,0, conductancia 0,055 μ S/cm, 25°C) usando una bomba de succión individual ajustable electrónicamente y una aguja de inyección (Sterican 0,55 x 25 mm), que funciona a caudal constante (10,0 ml/min.).
- 25 La velocidad de la bomba se reguló y se monitorizó de forma constante mediante un control de energía eléctrica. Después de la inyección de la fase orgánica, la suspensión coloidal resultante se agitó durante 8 h a presión reducida para eliminar el disolvente orgánico. Las partículas se caracterizaron y se usaron directamente después de la preparación. Las propiedades de las nanopartículas se evaluaron en términos de tamaño medio de partículas, distribución de tamaños (dada como índice de polidispersidad), potencial zeta en agua destilada, e imágenes de SEM (microscopía electrónica de barrido).
- 30

Las propiedades fisicoquímicas de las partículas resultantes se resumen en la tabla 4.

Tabla 4: Tamaño medio de partículas, índice de polidispersidad y potencial ξ de las nanopartículas

Nº	Tipo de polímero	Tamaño medio de partículas (nm)	Índice de polidispersidad	Potencial ξ (mV)
1	P(VS-VA)-g-PLGA(6-5)	151 \pm 2,340	0,091 \pm 0,017	-25,6 \pm 0,421
2	P(VS-VA)-g-PLGA(6-10)	138 \pm 1,240	0,085 \pm 0,015	-30,6 \pm 0,514
3	P(VS-VA)-g-PLGA(6-15)	134 \pm 0,455	0,080 \pm 0,016	-27,7 \pm 0,534
4	P(VS-VA)-g-PLGA(2-10)	120 \pm 0,898	0,072 \pm 0,003	-19,2 \pm 0,168
5	P(VS-VA)-g-PLGA(4-10)	139 \pm 0,478	0,087 \pm 0,013	-25,9 \pm 0,816

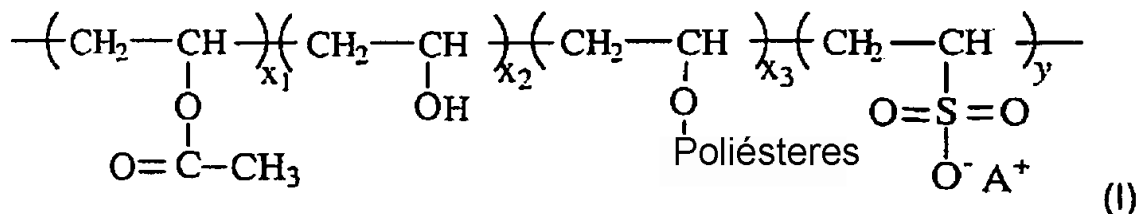
En la figura 10 se muestra una imagen de SEM del polímero P(VS-VA)-g-PLGA(6-10) como un ejemplo típico con respecto al tamaño medio de partículas.

5 Como se puede ver de la tabla 3, se obtuvieron suspensiones de nanopartículas estables con una distribución estrecha de tamaños con elevada reproducibilidad. El aumento del grado de sustitución sulfónica de P(VS-VA)-g-PLGA (compárese los números 1, 2 y 3) disminuyó el potencial zeta. Sin embargo, sólo se observaron pequeñas diferencias en el tamaño medio de las partículas. Los datos de los tamaños mostrados en la tabla 3 están de acuerdo con la observación de SEM, que también demuestra (figura 8) una morfología esférica regular de las partículas.

REIVINDICACIONES

1. Un copolímero de injerto de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico)-g-poli(lactida-co-glicolida) (P(VS-VA)-g-PLGA) con propiedades de electrolito negativamente cargado.

2. Un copolímero de injerto según la reivindicación 1, como se describe mediante esta fórmula (I):



en la que

A⁺ se selecciona de un catión monovalente,

el número de unidades monoméricas (x₁ + x₂ + x₃ + y) es igual o inferior a 1000,

la relación molar (x₁ + x₂ + x₃) frente a y es de 0,1 a 10,

la relación molar x₂ frente a x₃ es de 0 a 0,1,

la relación molar x₁ frente a x₃ es de 0 a 0,1, y

“Poliésteres” es un homo- o copolímero al azar descrito mediante esta fórmula (II):



en la que

R es H o CH₃, y

m es un número entero de 1 a 100.

3. Un copolímero de injerto según la reivindicación 2, en el que A⁺ se selecciona de Na⁺, K⁺, Li⁺, o NH₄⁺, preferiblemente Na⁺.

4. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 2 a 3, en el que el número de unidades monoméricas (x₁ + x₂ + x₃ + y) es igual o está por debajo de 300, preferiblemente de 20 a 100.

5. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 2 a 4, en el que la relación en moles (x₁ + x₂ + x₃) frente a y es de 0,2 a 5, preferiblemente de 0,5 a 1.

6. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 2 a 5, en el que la relación en moles x₂ frente a x₃ es de 0 a 0,05, preferiblemente de 0 a 0,01.

7. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 2 a 6, en el que la relación en moles x₁ frente a x₃ es de 0 a 0,05, preferiblemente de 0 a 0,01.

8. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 2 a 7, en el que la relación ponderal en moles de la cadena principal de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico), que consiste en todos los grupos x₁ y x₂ y x₃ sin “Poliésteres” e y según la fórmula (I), a PLGA injertado, que consiste en todos los grupos “Poliésteres” según las fórmulas (I) y (II), (expresada como P(VS-VA):PLGA) está entre 1:2 y 1:30, preferiblemente entre 1:3 y 1:20, más preferible entre 1:5 y 1:15, incluso más preferible entre 1:8 y 1:12, y lo más preferible 1:10.

9. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 2 a 8, en el que m es un número entero de 5 a 60, preferiblemente de 10 a 30.

10. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 2 a 9, en el que la relación en moles de LA (R = CH₃) frente a GA (R = H) está entre 0 a 100 y 100 a 0, preferiblemente entre 1 a 99 y 99 a 1, más preferiblemente entre 10 a 90 y 90 a 10, incluso más preferiblemente entre 30 a 70 y 70 a 30, y lo más preferible entre 45 a 55 y 55 a 45.

11. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 10, que tiene una temperatura de transición vítrea (T_g) entre 10 y 50°C, preferiblemente entre 20 y 40°C, lo más preferible entre 25 y 38°C.

12. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 11, que tiene una viscosidad intrínseca entre 0,01 y 1,0, preferiblemente entre 0,02 y 0,2, lo más preferible entre 0,04 y 0,18 dl/g.

13. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 12, que tiene un tiempo de degradación del 50% entre 2 y 28 días, preferiblemente entre 2 y 18 días, más preferible entre 2 y 10 días, medido en las siguientes condiciones:

- 5 a) captura de una película polimérica a partir de una disolución al 5% (p/v) del copolímero de injerto según unas de las reivindicaciones 1 a 11 en diclorometano, dando como resultado un conjunto de muestras iguales para ser tratadas en las siguientes etapas;
- b) secado durante 72 h a una temperatura de 4°C;
- c) eliminación de disolventes residuales *a vacío* a 25°C hasta peso constante;
- 10 d) incubación en disolución salina tamponada con fosfato (PBS) 0,15 M, pH 7,4, a 37°C y agitación suave una vez al día;
- e) recuperación de las muestras en varios puntos en el tiempo durante el transcurso de tiempo monitorizado;
- f) liofilización de las muestras recuperadas durante aprox. 72 h *a vacío* a 25°C hasta que se alcance una masa constante;
- g) y el siguiente cálculo:
- 15 Pérdida de masa (%) = $100 - (\text{masa (seca)} \times 100 / \text{masa original})$, con
masa (seca) = peso después de la etapa (f), y
masa original = peso después de la etapa (c).

14. Un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 13, que forma nanopartículas con un tamaño medio de partículas entre 50 y 500 nm, preferiblemente entre 100 y 250 nm, más preferible entre 120 y 160 nm.

- 20 15. Método de síntesis de un copolímero de injerto de poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico)-g-poli(lactida-co-glicolida) (P(VS-VA)-g-PLGA) con propiedades de electrolito cargado negativamente, que comprende las etapas de:
 - a) sintetizar una cadena principal polielectrolítica mediante copolimerización radicalica de acetato de vinilo y una sal de ácido vinilsulfónico en presencia de un disolvente polar y un catalizador, opcionalmente seguido del aislamiento y/o purificación y/o secado del producto,
 - 25 b) hidrolizar total o parcialmente o producir la alcoholisis del poli(vinilsulfónico-co-acetato de vinilo) (producto de (a)) en condiciones alcalinas en presencia de un disolvente, opcionalmente seguido del aislamiento y/o purificación y/o secado del producto, y
 - c) injertar poli(lactida-co-glicolida) (PLGA) al poli(alcohol vinílico) modificado con sulfónico (producto de b) mediante polimerización de apertura de anillo en presencia de un catalizador, opcionalmente seguido del aislamiento y/o purificación y/o secado del producto.
- 30

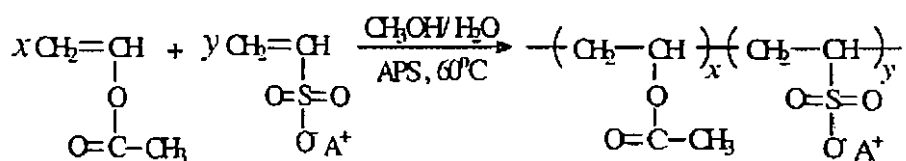
16. Método de síntesis de un copolímero de injerto según la reivindicación 15 con un disolvente polar en la etapa (a), preferiblemente aquel que se selecciona de agua, metanol, etanol y/o isopropanol, más preferiblemente una mezcla de metanol y agua.

- 35 17. Método de síntesis de un copolímero de injerto según la reivindicación 15 ó 16 con un iniciador de la polimerización radicalica como catalizador en la etapa (a).

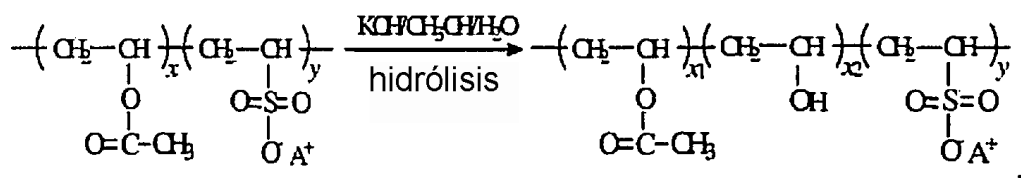
18. Método de síntesis de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 15 a 17 con KOH/CH₃CH₂OH/H₂O o NaOH/CH₃CH₂OH/H₂O como reactivos en la etapa (b).

19. Método de síntesis de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 15 a 18 con octoato estannoso (Sn(Oct)₂) como catalizador en la etapa (c).

- 40 20. Método de síntesis de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 15 a 19, que comprende las etapas de:
 - a) La copolimerización radicalica de sal sódica del ácido vinilsulfónico y acetato de vinilo, según el siguiente esquema de reacción:

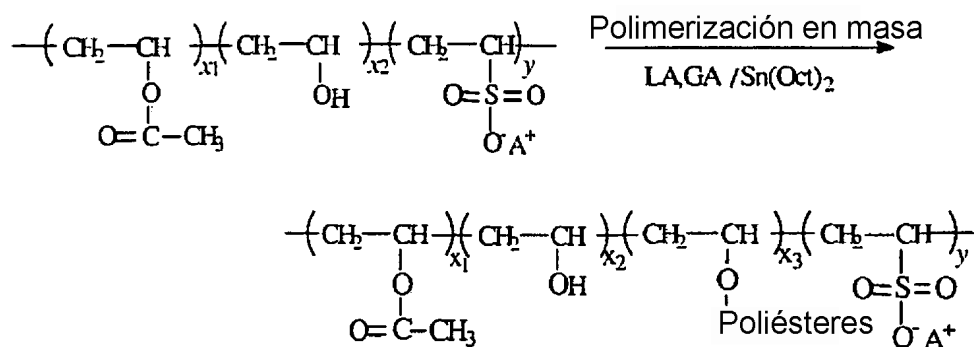


b) Hidrólisis para obtener poli(vinilsulfónico-co-alcohol vinílico), según el siguiente esquema de reacción:

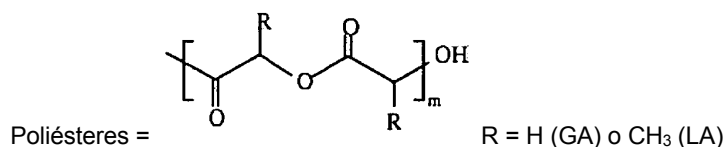


y

5 c) Injerto de PLGA (LA:GA = 50:50), según el siguiente esquema de reacción:



con



10

21. Método de síntesis de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 15 a 20 con una relación de alimentación de monómeros de vinilsulfónico frente a acetato de vinilo (VSA:VAc) en la etapa (a) entre 2:8 y 8:2, preferiblemente entre 4:6 y 6:4% en moles.

15

22. Método de síntesis de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 15 a 21 con una relación de monómeros de injerto de ácido láctico frente a ácido glicólico (LA:GA) en la etapa (c) entre 1 a 99 y 99 a 1, preferiblemente entre 10 a 90 y 90 a 10, más preferiblemente entre 30 a 70 y 70 a 30, y lo más preferible entre 45 a 55 y 55 a 45.

20

23. Método de síntesis de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 15 a 22 con una relación en peso de cadena principal a injerto (P(VS-VA):PLGA) en la alimentación en la etapa (c) entre 1:2 y 1:30, preferiblemente entre 1:3 y 1:20, más preferiblemente entre 1:5 y 1:15, incluso más preferiblemente entre 1:8 y 1:12, y lo más preferible 1:10.

25

24. Un vehículo farmacéutico coloidal, que comprende un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 14.

25. Un vehículo farmacéutico coloidal, que comprende un copolímero de injerto, sintetizado según una de las reivindicaciones 15 a 23.

26. Un vehículo farmacéutico coloidal según la reivindicación 24 ó 25, que está sustancialmente libre de tensioactivos.

27. Nanopartículas que comprenden un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 14 con un tamaño medio de partículas entre 50 y 500 nm, preferiblemente entre 100 y 250 nm, más preferible entre 120 y 160

nm.

28. Nanopartículas según la reivindicación 27 con un índice de polidispersidad entre 0,05 y 0,1.

29. Nanopartículas según la reivindicación 27 ó 28 con un potencial zeta entre -15 y -60 mV.

30. Método de síntesis de nanopartículas según una de las reivindicaciones 27 a 29, que comprende las etapas de:

- 5 a) disolver en un disolvente orgánico un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 14 y/o un copolímero de injerto sintetizado según una de las reivindicaciones 15 a 23,
- b) inyectar la disolución resultante de la etapa (a) en una fase acuosa, y
- c) eliminar el disolvente orgánico.

10 31. Método según la reivindicación 30 con acetona como disolvente orgánico y de agua con una conductividad por debajo de 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ como fase acuosa.

15 32. Una composición que comprende (a) un fármaco biológica y/o farmacéuticamente activo, y (b) un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 14 y/o un copolímero de injerto sintetizado según una de las reivindicaciones 15 a 23 y/o un vehículo farmacéutico coloidal como se define en una de las reivindicaciones 24 a 26 y/o con nanopartículas de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 27 a 29 y/o con nanopartículas sintetizadas según una de las reivindicaciones 30 a 31.

33. Una composición según la reivindicación 32, que es una composición farmacéutica, especialmente para el tratamiento o profilaxis de una neumopatía, o para la administración mediante inhalación de fármacos que actúan sistémicamente, especialmente para pacientes humanos.

20 34. Una composición según la reivindicación 32 ó 33, administrada parenteralmente, mucosalmente o mediante inhalación, preferiblemente mediante inhalación.

35. Una composición según una de las reivindicaciones 32 a 34, en la que el fármaco se selecciona de proteínas, péptidos, especialmente hormonas peptídicas, y/o moléculas orgánicas de pequeño peso molecular, especialmente con grupos más cargados positivamente que grupos cargados negativamente sobre la superficie de la molécula farmacéutica.

25 36. Una composición según la reivindicación 35, en la que la hormona peptídica se selecciona de interleucinas (IL-1 a IL-15), interferones (IFN), neutrotróficas (NT-1 a NT-3), factores estimulantes de colonias (CSF), factores de crecimiento epidérmico (EGF), factores de crecimiento neuronal, prolactina, hormona liberadora de la hormona luteinizante (LH-RH), insulina, somatostatina, glucagón, gastrina, pentagastrina, urogastrona, calcitonina, seretina, encefalinas, endorfinas, angiotensinas, renina, bradiquinina, tirocidina, gramicidinas, eritropoyetina (EPO), angiopeptina, hirudina, oxitocina, vasopresina, péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP), factores de crecimiento derivados de cerebro (BDGF), sus análogos sintéticos y modificaciones, y/o sus fragmentos farmacológicamente activos.

30 37. Una composición según la reivindicación 35, en la que la molécula orgánica de pequeño peso molecular se selecciona de salbutamol, salmeterol, fenoterol, indacaterol, formoterol, carmoterol, aclidinio, bromuro de ipratropio, o bromuro de tiotropio, opcionalmente en forma de una sal de adición de ácidos.

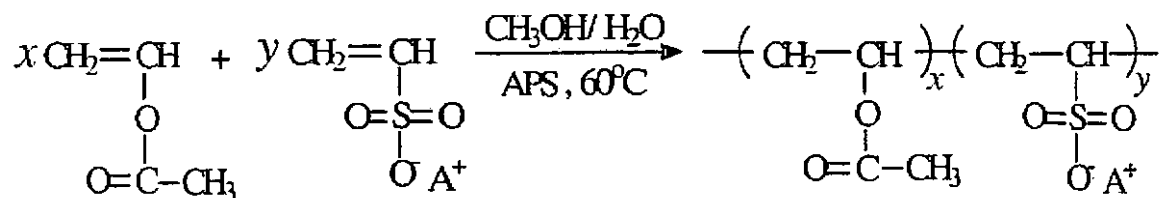
35 38. Uso de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 14, para la preparación de un vehículo farmacéutico coloidal.

39. Uso de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 14, para la preparación de nanopartículas y/o composiciones coloidales autoagregantes que comprenden además un ingrediente activo.

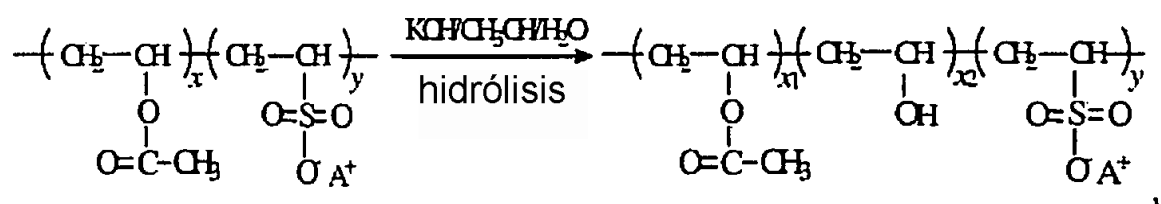
40 40. Uso de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 1 a 14 y/o copolímero de injerto sintetizado según una de las reivindicaciones 15 a 23 y/o un vehículo farmacéutico coloidal como se define en una de las reivindicaciones 24 a 26 y/o nanopartículas de un copolímero de injerto según una de las reivindicaciones 27 a 29 y/o con nanopartículas sintetizadas según una de las reivindicaciones 30 a 31, para la preparación de una composición que comprende un fármaco biológica y/o farmacéuticamente activo para la liberación controlada de dicho fármaco.

FIGURA 1

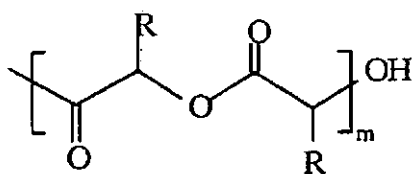
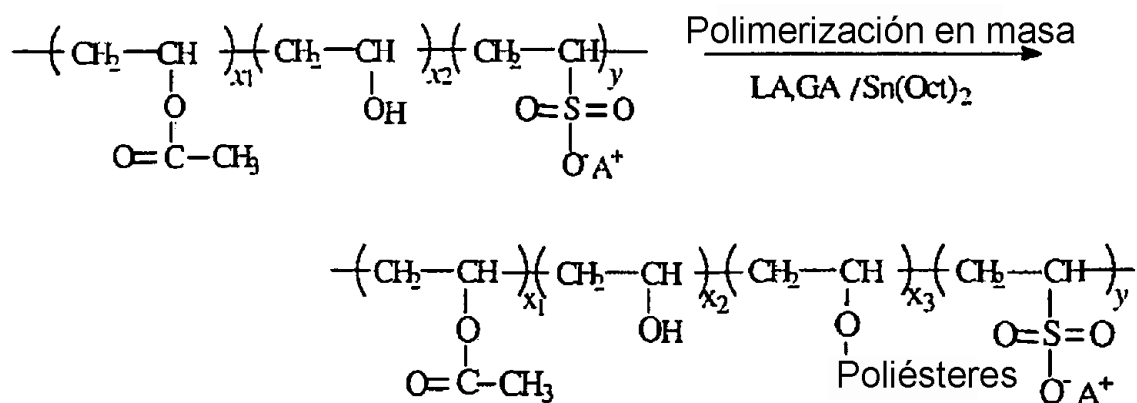
A. Copolimerización radicalica de sal sódica de ácido vinilsulfónico y acetato de vinilo



5 B. Hidrólisis para obtener poli(vinil sulfónico-co-alcohol vinílico)



C. Reacción de injerto de PLGA (LA:GA=50:50)



Poliésteres =

R = H(GA) o CH₃ (LA)

FIGURA 2

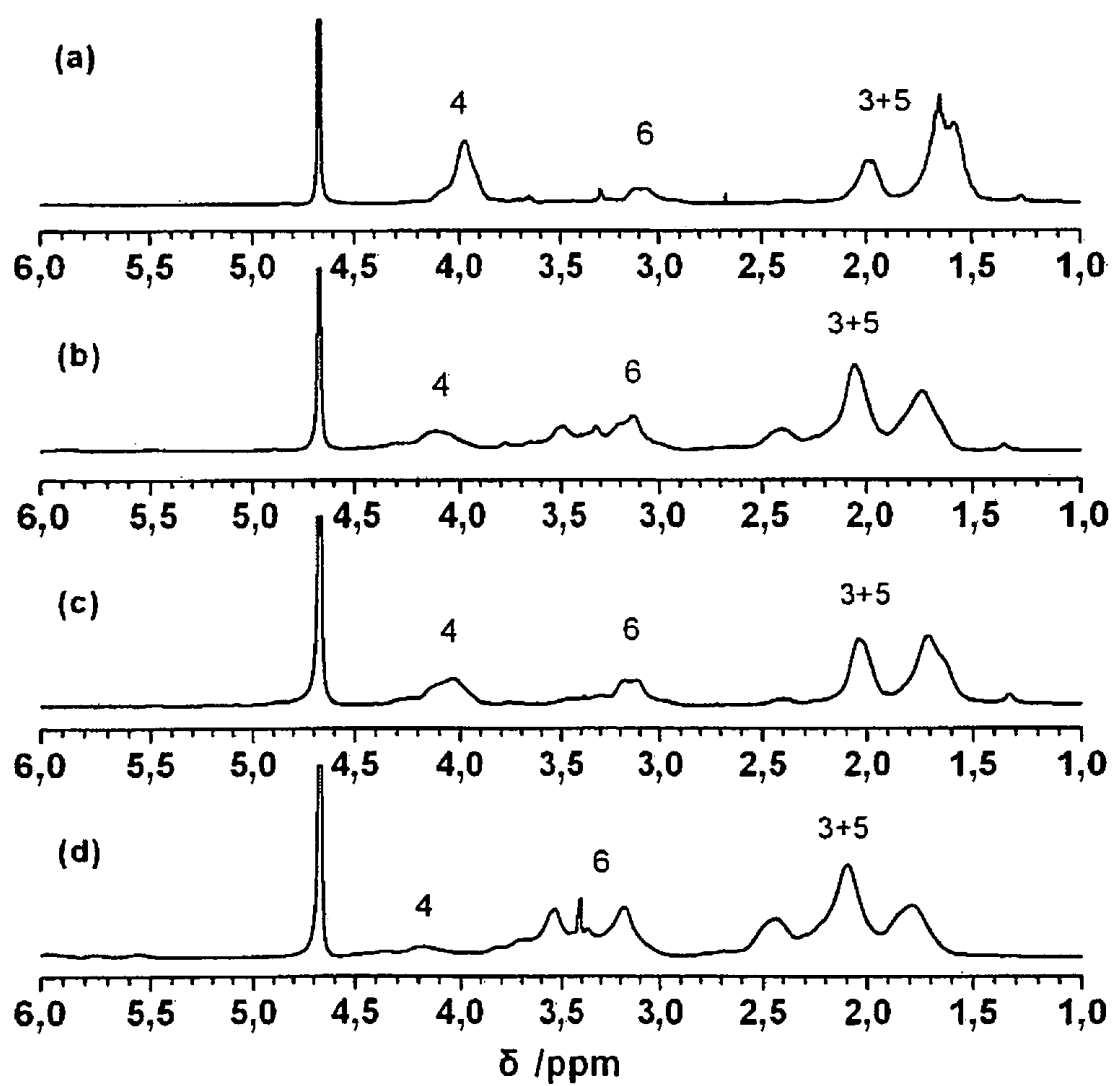
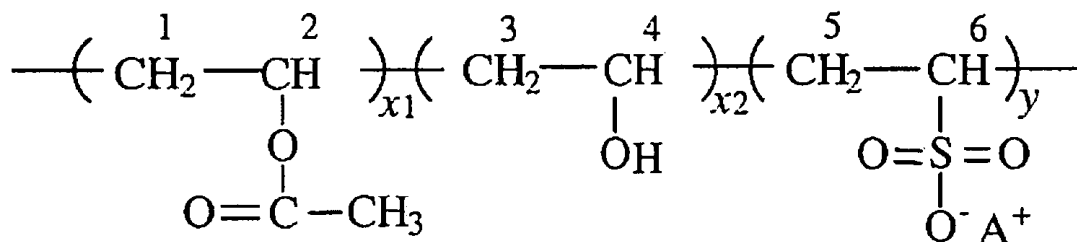


FIGURA 3

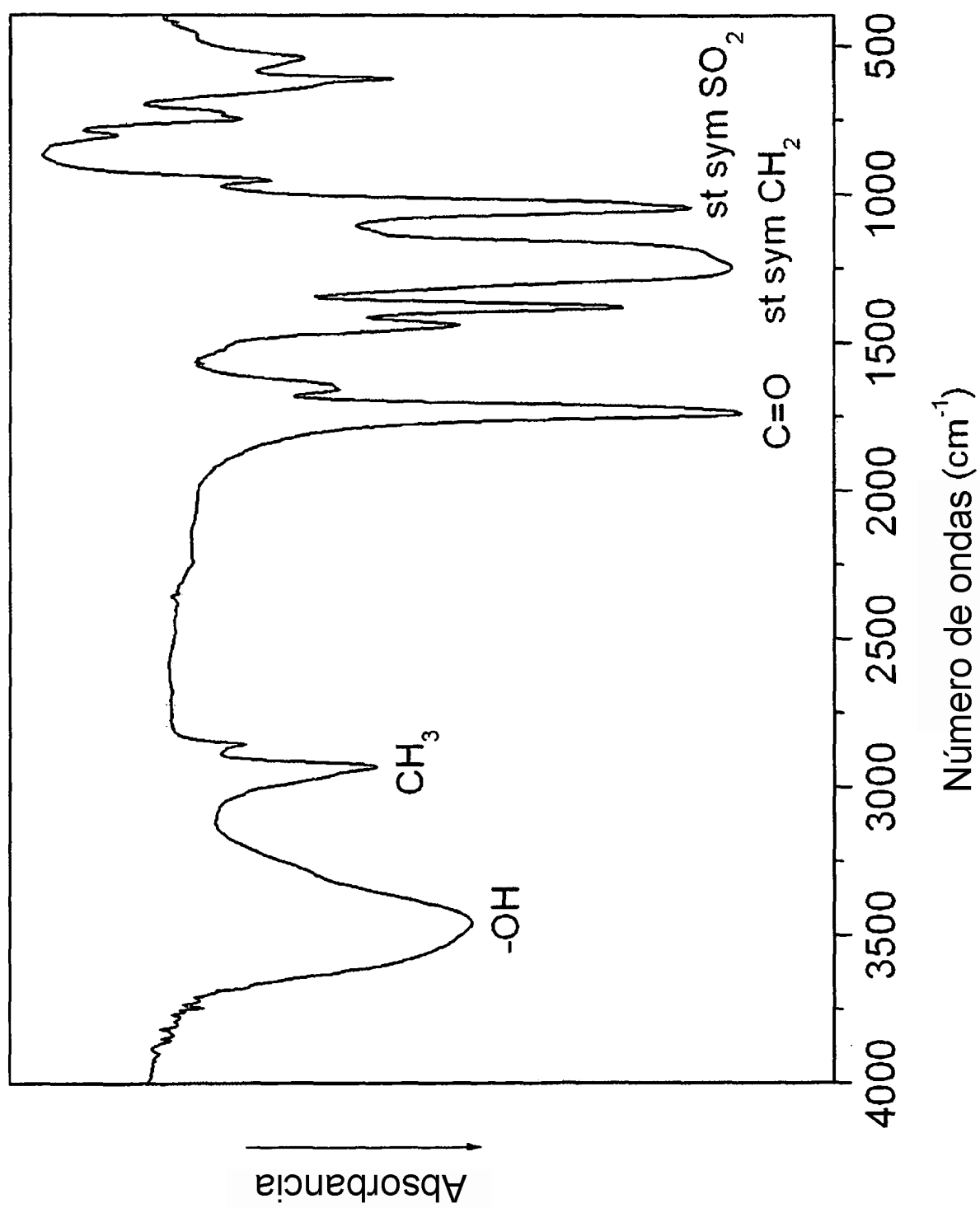


FIGURA 4

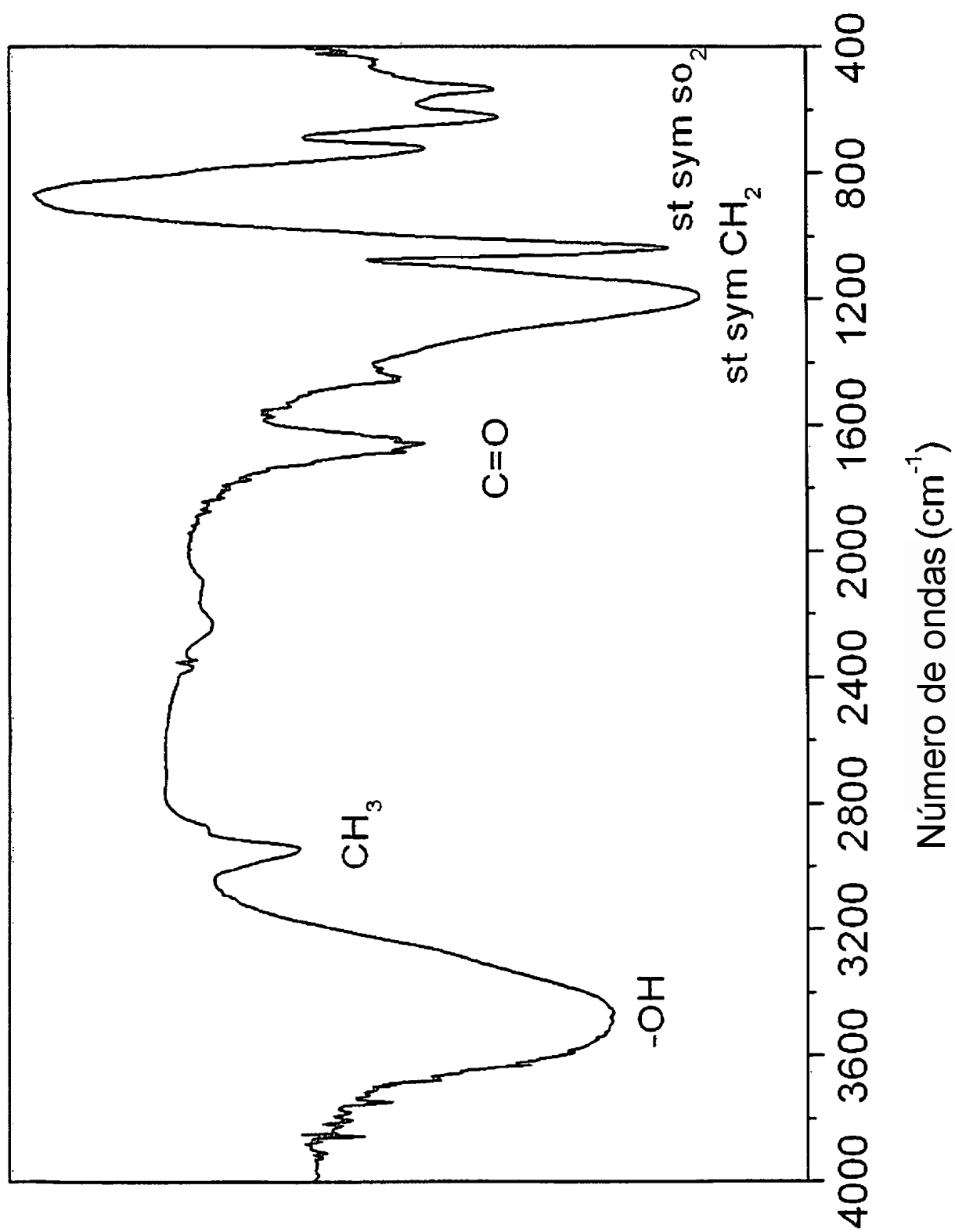


FIGURA 5

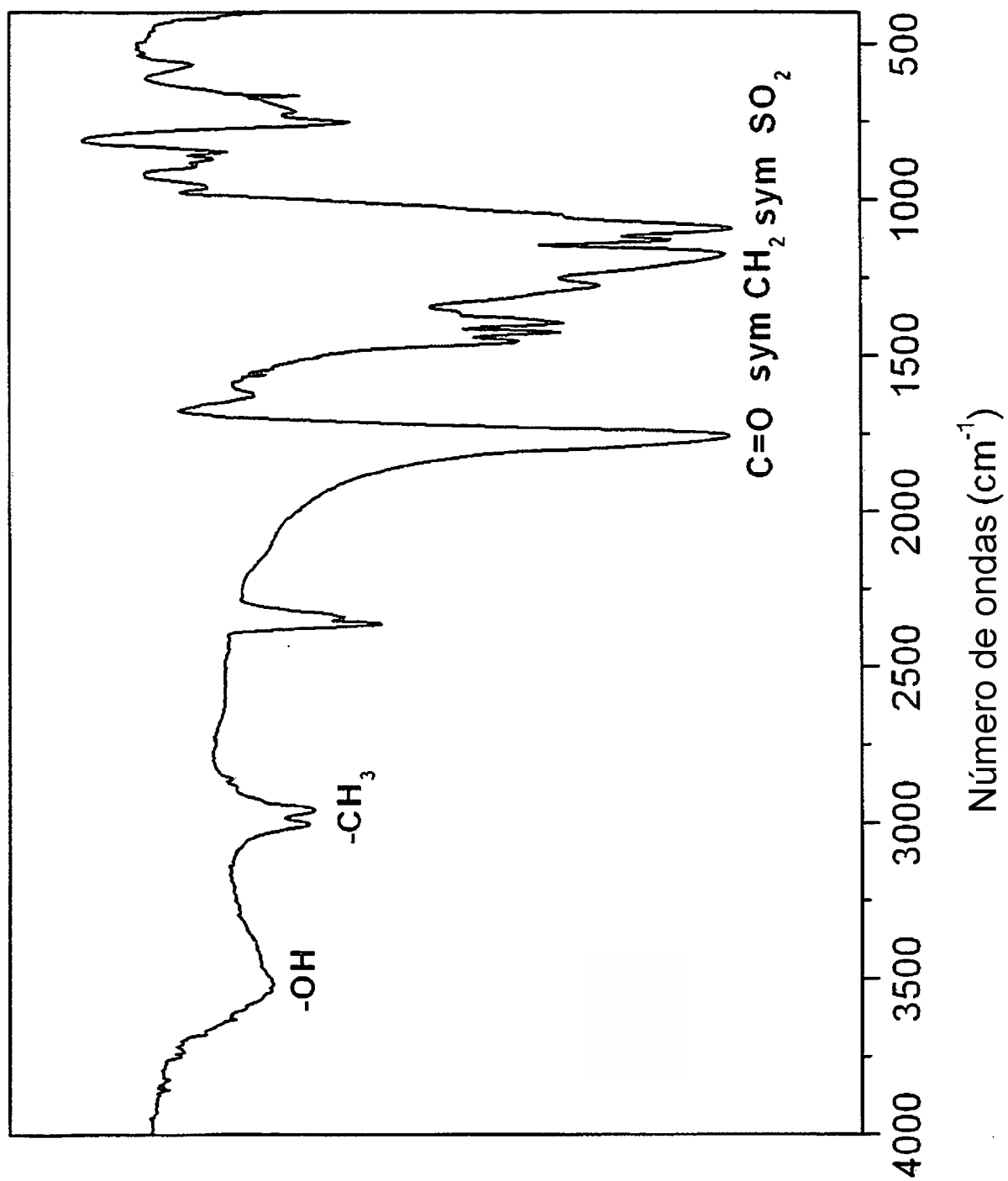
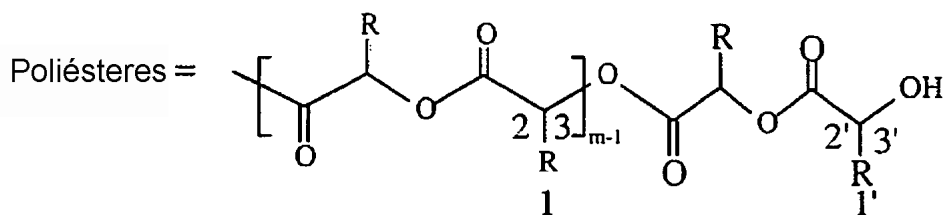
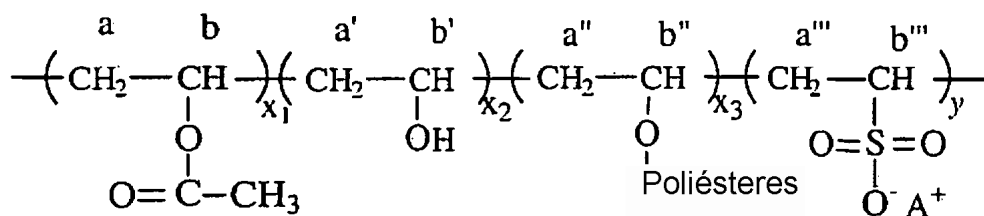


FIGURA 6



LA: R= CH₃, 1+1'+2+2'

GA: R= H, 3+3'

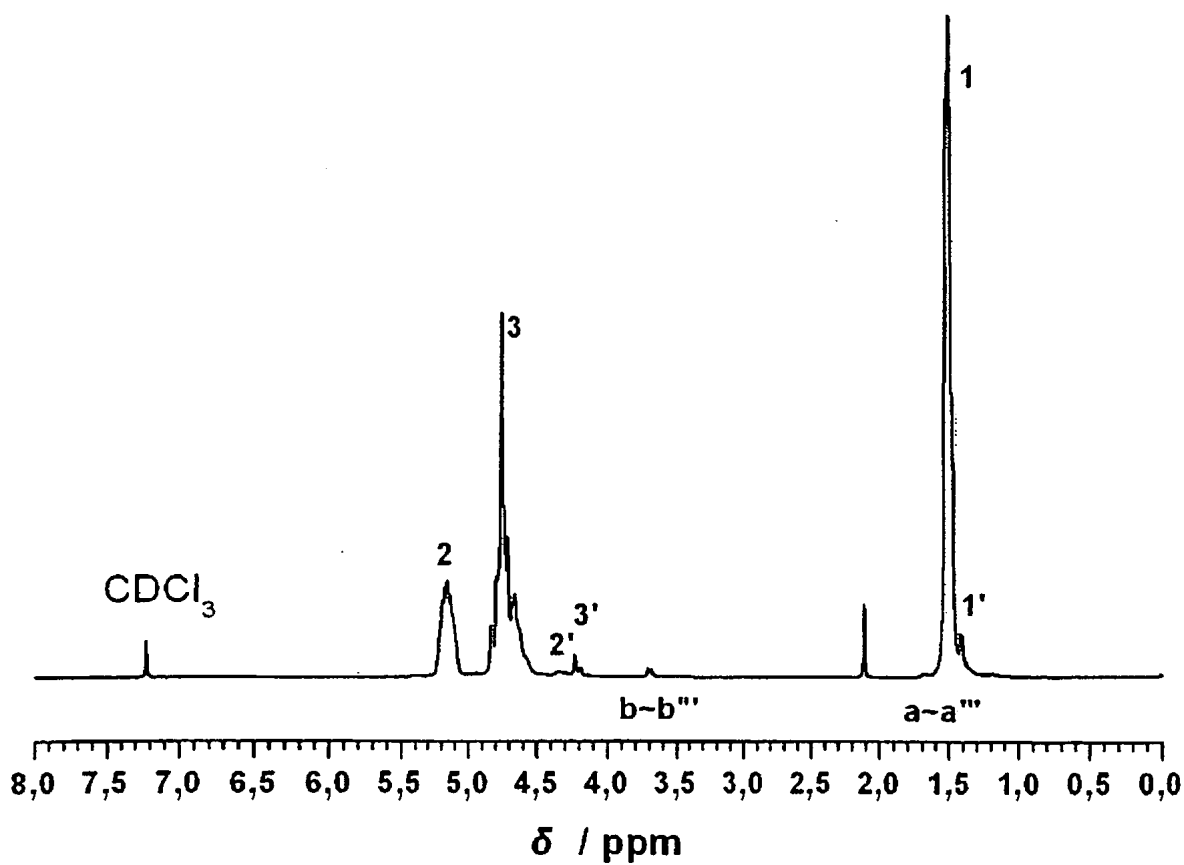
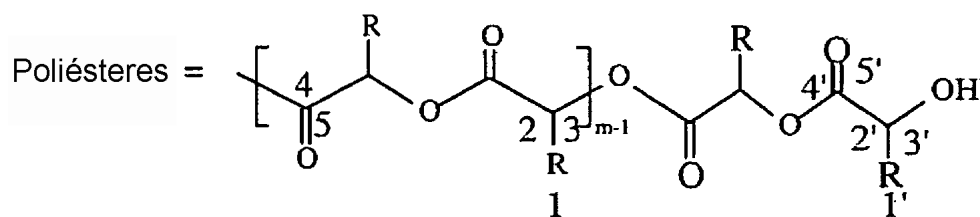
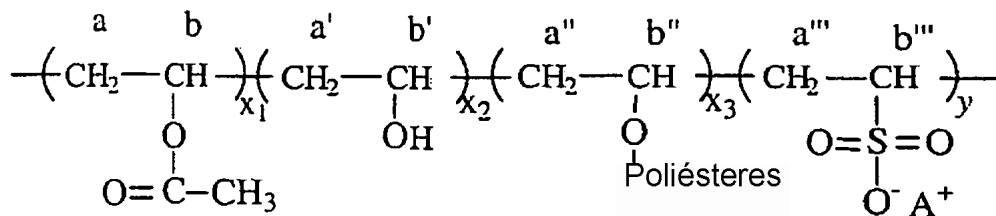


FIGURA 7



LA: R=CH₃, 1+1'+2+2'+4+4'

GA: R=H, 3+3'+5+5'

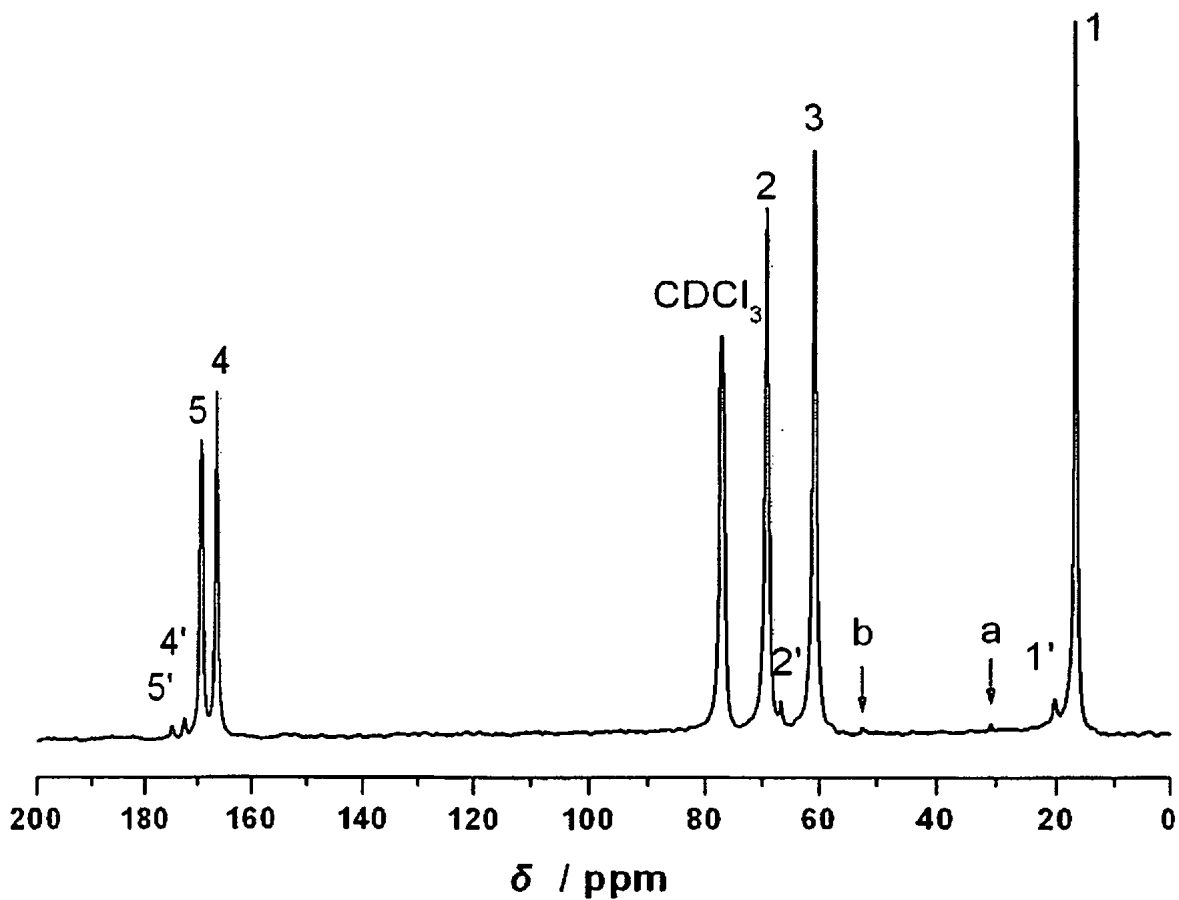


FIGURA 8

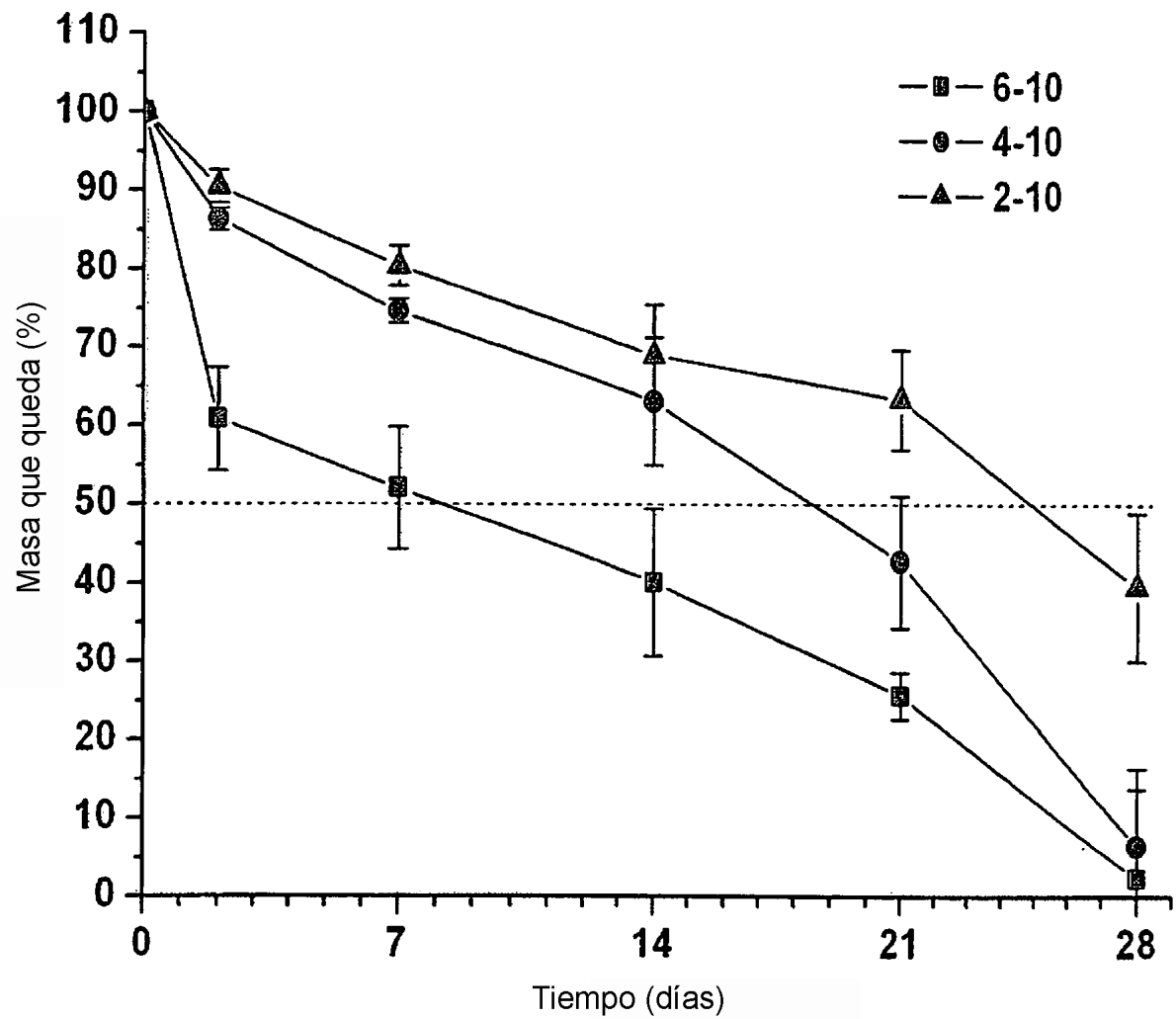


FIGURA 9

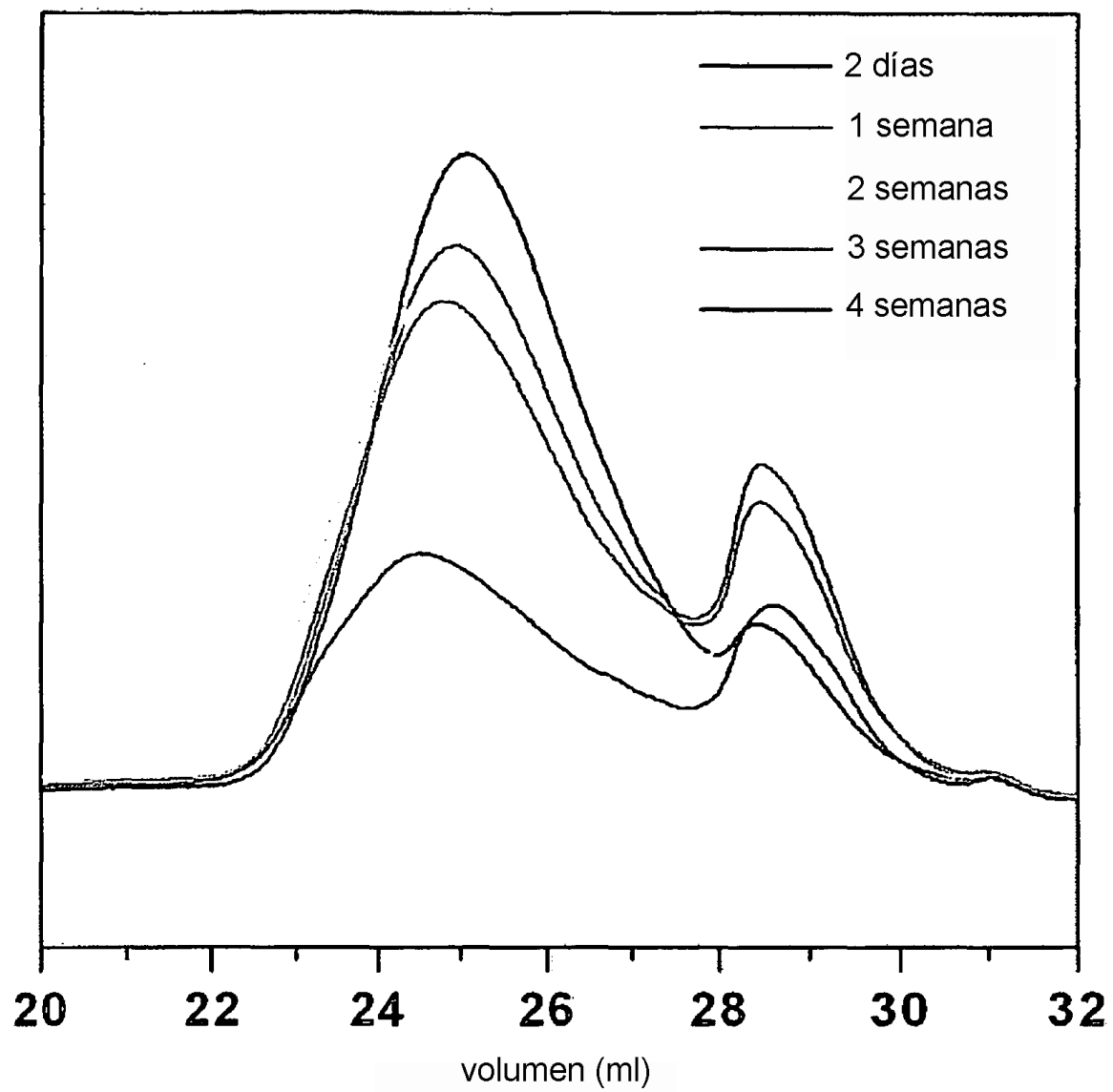


FIGURA 10

