

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 407 979**

51 Int. Cl.:

C08G 67/04 (2006.01)

C08G 81/00 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.12.2005 E 05853543 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2013 EP 1856179**

54 Título: **Copolímeros de bloques de poli(éter-anhídrido) funcionalizados**

30 Prioridad:

10.12.2004 US 635280 P

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

17.06.2013

73 Titular/es:

KALA PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)

135 Beaver Street, Suite 309

Waltham, MA 02452 , US

72 Inventor/es:

HANES, JUSTIN y

FU, JIE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 407 979 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Copolímeros de bloques de poli(éter-anhídrido) funcionalizados

Antecedentes de la invención

Recientemente, ha habido una revolución en biotecnología que está produciendo una abundancia de potentes nuevas proteínas, péptidos y fármacos basados en ADN. Sin embargo, se necesitan aún medios convenientes y efectivos para suministrar tales compuestos terapéuticos.

Los polímeros biodegradables se han usado para muchas aplicaciones en medicina, incluyendo los sistemas de suministro de fármacos de desprendimiento controlado, clavos y tornillos óseos reabsorbibles, y estructuras de soporte para células en ingeniería de tejidos. Los sistemas basados en polímeros biodegradables obvian la necesidad de retirada quirúrgica dado que sus productos de degradación son absorbidos o metabolizados por el cuerpo. Los microsistemas y los nanosistemas fabricados usando polímeros se pueden usar para suministrar cantidades precisas de fármacos, incluyendo pequeñas moléculas, proteínas y genes, durante periodos prolongados a tejidos locales o al sistema circulatorio. Es de particular interés el desarrollo de vehículos de suministro de fármacos que exhiben reducidos porcentajes de detección por el sistema inmune (por ejemplo, vehículos de prolongada circulación para administración intravenosa), o que se pueden administrar vía rutas de suministro no invasivas (tales como inhalación).

Se requieren para estas aplicaciones avanzadas polímeros biodegradables que se erosionan con seguridad en el cuerpo, preferentemente a una velocidad que coincide aproximadamente con la velocidad de suministro del fármaco.

A pesar de su amplia y creciente necesidad en medicina, se usan pocos polímeros biodegradables sintéticos actualmente rutinariamente en seres humanos, especialmente los copolímeros de éster de láctido y glicólido (familia de PLGA), y copolímeros de anhídrido de ácido sebácico (SA) y 1,3-bis(carboxifenoxi)propano (CPP). El PLGA es el más ampliamente usado debido a su historia de uso seguro como suturas quirúrgicas y en los actuales productos de suministro de fármacos como el Lupron Depot. Aunque el desarrollo del PLGA sigue estando entre los más importantes avances en biomateriales médicos, hay algunas limitaciones que restringen significativamente su uso. Primero, las partículas de PLGA típicamente tardan de unas pocas semanas a varios meses en degradarse completamente en el cuerpo, pero el dispositivo típicamente se queda sin fármaco más rápidamente. La dosificación repetida de tal sistema conduce a una acumulación no deseada de polímero sin fármaco en el cuerpo. Esto puede descartar el uso de PLGA para muchas aplicaciones, especialmente aquellas que requieren la inyección de vehículos de fármaco de polímero en la sangre o, alternativamente, su inhalación en los pulmones. Una segunda limitación es que los dispositivos de PLGA sufren una erosión masiva, que conduce a varios resultados indeseables que incluyen la exposición del fármaco sin desprender a un medio altamente ácido. Tercero, es difícil desprender fármacos de manera continua de partículas de PLGA debido al mecanismo de erosión masiva del polímero. En su lugar, se requieren métodos especiales de preparación con el PLGA para evitar el típico patrón intermitente de desprendimiento de fármaco (es decir, ráfagas de fármaco seguidas por un periodo de poco o ningún desprendimiento de fármaco, y a continuación por la aparición de una segunda fase de desprendimiento significativo de fármaco). Cuarto, las partículas de PLGA particularmente finas necesarias para la inyección intravenosa o la inhalación se pueden aglomerar significativamente, haciendo difícil la resuspensión para inyección o la aerosolización para inhalación. Finalmente, las partículas insolubles pequeñas con superficies hidrófobas, como aquellas hechas de PLGA, se retiran rápidamente y destruyen por el sistema inmune (debido a la rápida opsonización).

Los implantes compuestos de poli(CPP:SA) fueron aprobados para su uso en seres humanos en los 1990 para suministrar moléculas quimioterapéuticas directamente en el sitio de un tumor cerebral extirpado. Los copolímeros de CPP:SA se erosionan desde la superficie (denominada erosión superficial), conduciendo a deseables velocidades de suministro de fármaco constantes con el tiempo. La biocompatibilidad demostrada, el actual uso clínico, y los perfiles de suministro de fármaco constantes hacen los polímeros compuestos de CPP y SA buenos candidatos para nuevas aplicaciones de suministro de fármacos. Sin embargo, como las partículas de PLGA, las pequeñas partículas hechas de poli(CPP:SA) poseen superficies hidrófobas que conducen a la rápida retirada por el sistema inmune y a pobres propiedades de resuspensión y aerosolización.

Hanes et al. en el documento USPA 2003/0086895 describe copolímeros al azar de polietilenglicoles (PEG), ácido sebácico, y, opcionalmente, 1,3-bis(carboxifenoxi)propano. Estos copolímeros al azar tienen numerosos usos médicos (por ejemplo, suministro de fármaco biodegradable). Sin embargo, debido a la incorporación al azar de PEG en el copolímero, no hay extremo libre del PEG disponible para posterior manipulación. Tal extremo libre permitiría a uno de experiencia media en la técnica unir grupos con actividades deseables (por ejemplo, ligandos diana o fármacos anticáncer).

Sumario de la invención

La presente invención proporciona nuevos copolímeros de bloques de poli(éter-anhídrido) funcionalizados, en los que un extremo del copolímero es capaz de ser unido a un resto con una característica deseable (por ejemplo, un ligando diana, un fármaco, un anticuerpo monoclonal, etc.).

La presente invención proporciona también nuevos métodos de usar los copolímeros de la presente invención (por ejemplo, terapia, diagnóstico, obtención de imágenes, y como coadyuvante).

La presente invención proporciona también nuevas partículas (por ejemplo, microesferas y nanoesferas) formadas de los copolímeros de la presente invención. Estas partículas se pueden usar para encapsular agentes biológicamente activos y suministrarlos a un paciente que los necesite.

La presente invención proporciona también nuevas composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) que comprenden los copolímeros de la presente invención.

La presente invención proporciona también nuevos métodos para fabricar los copolímeros de la presente invención.

Estas y otras características de la presente invención, que serán evidentes durante la siguiente descripción detallada, han sido conseguidas por el descubrimiento de los inventores de que se pueden formar copolímeros de bloques de polietilenglicol por copolimerización con prepolímero de PEG funcionalizado.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 presenta el espectro de ^1H RMN de Biotina-NHS.

La Figura 2 presenta el espectro de ^1H RMN de Biotina-PEG.

La Figura 3 presenta el espectro de FT-IR de Biotina-PEG-SA (15:85).

La Figura 4 presenta el espectro de ^1H RMN de Biotina-PEG-SA (15:85).

La Figura 5 presenta el cromatograma de GPC de Biotina-PEG-PSA.

La Figura 6 presenta la gráfica de la distribución de tamaño de micropartículas de Biotina-PEG-PSA.

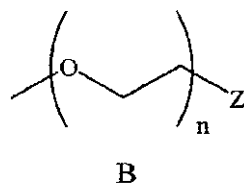
La Figura 7 presenta la gráfica de la distribución de tamaño de nanopartículas de Biotina-PEG-PSA.

La Figura 8 presenta el esquema de una partícula de Biotina-PEG-PSA que ha sido modificada con un ligando biotinilado.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona copolímeros de bloques de poli(éter-anhídrido), que pueden ser apropiados para la administración de agentes terapéuticos biológicamente activos, incluyendo la administración de desprendimiento sostenido, por medio de varias rutas, incluyendo microesferas y nanoesferas para inyección o inhalación. Los polímeros se pueden preparar usando monómeros clínicamente aprobados, que incluyen ácido sebácico (SA), 1,3-bis(carboxifenoxi)propano (CPP), y bloques funcionalizados de polietilenglicol (PEG) de varios pesos moleculares. Controlando la composición de los presentes copolímeros de bloques, se pueden optimizar las propiedades de las partículas cargadas con fármaco hechas con estos nuevos polímeros. Estas propiedades pueden proporcionar gran flexibilidad para el suministro de una amplia gama de fármacos.

La presente invención proporciona nuevos copolímeros de bloques de poli(éter-anhídrido), que comprenden: subunidades de un diácido y una subunidad de Fórmula B:



en la que:

Z es un grupo terminal que no se polimeriza con el diácido; y,

n es, independientemente para cada caso, un número entero de (a) 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000, hasta 10.000 (b) de 10 a 5.000; y, (c) de 200 a 6.000.

El material de partida o prepolímero de la subunidad de Fórmula B está formado por un polietilenglicol (por ejemplo, PEG) de varios pesos moleculares. Un extremo del PEG está funcionalizado con un grupo Z, que es un grupo final que no se polimeriza con el diácido. Z es un grupo que permite la unión de un grupo que tiene una propiedad deseable (por ejemplo, un péptido, proteína, antígeno, anticuerpo, enzima, ácido nucleico, lectina, o cualquier otro

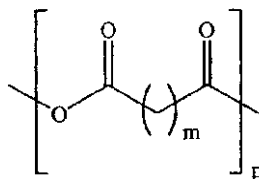
tipo de diana o resto de fármaco). Z puede permitir que la unión por si misma sea modificable, siendo parcial o totalmente escindible para exponer un grupo químico (por ejemplo, un grupo OH) que es capaz de ser funcionalizado. Modificando el grupo Z para incluir un resto químico que tiene una propiedad deseable, los copolímeros de bloques de la presente invención se pueden usar para terapias que se benefician de algún tipo de diana. Estos usos incluyen, pero no están limitados a, suministro de fármacos con diana, suministro de genes/oligonucleótidos diana, suministro de vacunas, obtención de imágenes médicas, diagnósticos, e ingeniería de tejidos.

Un ejemplo de un bien conocido y útil grupo Z es Biotina, que se puede unir a un ω -hidroxi- ω -imina-PEG vía química conocida para formar un grupo biotinamida-Z. Por ejemplo Z puede ser Biotina-NH. Esta biotinamida se puede unir a continuación a varios grupos vía un procedimiento de ligadura de avidinbiotina. Por ejemplo, el polímero Biotina-PEG se puede hacer reaccionar con neutravidina, y el producto resultante se puede hacer reaccionar a continuación con cualquier resto biotinilado.

Z puede ser también uno de muchos otros grupos conocidos por los expertos en la técnica, que incluyen OH, NH₂, COOH, y SH, que se pueden proteger primero con un grupo protector conocido (véase, por ejemplo, Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley and Sons, 1991), a continuación desproteger después de la polimerización para su modificación adicional como se discute aquí (por ejemplo, unión de un fármaco, péptido, o compuesto diana, tal como ácido fólico). El grupo protector seleccionado es uno que no se polimeriza con los otros monómeros que forman el copolímero de bloques. Los ejemplos típicos de grupos protectores se proporcionan a continuación. Todos los ejemplos proporcionados aquí no se deben considerar limitantes. Los ejemplos de grupos protectores de hidroxilo incluyen tetrahidropropanilo (THP), metoximetilo (MOM), β -metoxietoximetilo (MEM), metiltiomietilo, t-butilo, trifenilmetilo (trilito), bencilo, alilo, éteres de sililo (por ejemplo, trimetil-silil-éter y t-butildimetil-silil-éter), mesilato, tosilato, acetato, benzoato, N-acilimidazoles, y cloroformiato de tricloroetilo. Los ejemplos de grupos protectores de amino incluyen carbobenciloxi, t-butoxicarbonilo, ftaloilo, tricloroacetamida, y trifluoroacetilo. Los ejemplos de grupos protectores de ácido carboxílico incluyen ésteres (por ejemplo, éster t-butilico y éster bencilico) y 2-oxazolininas (de 2-amino-2-metil-1-propanol o 2,2-dimetilaziridina).

Los diácidos son conocidos por los expertos en la técnica. Corresponden a un resto químico que está terminado por dos ácidos carboxílicos (es decir, CO₂H) o uno de sus derivados (por ejemplo, éster, anhídrido, haluro de ácido, etc.). Los dos ácidos carboxílicos o sus derivados están separados por lo menos por cuatro carbonos alifáticos (por ejemplo, (CH₂)₄), por lo menos cuatro átomos de carbono aromáticos (por ejemplo, benceno 1,4-disustituido), o una de sus combinaciones (por ejemplo, (CH₂)₄₋₂₀, (CH₂)₁₋₂₀-fenil-(CH₂)₁₋₂₀). Los átomos de carbono alifático o aromático pueden estar sustituidos con 1-6 grupos que incluyen, pero no están limitados a, alquilo de C₁₋₆, bencilo, fenilo, F, Cl, Br, I, CF₃ y NO₂, con tal de que el sustituyente no prohíba la polimerización entre el diácido y la subunidad de Formula B. Los ejemplos de diácidos incluyen, pero no están limitados a, ácido hexanodióico (ácido adípico), ácido heptanodióico (ácido pimélico), ácido octanodióico (ácido subérico), ácido nonanodióico (ácido azelaico), ácido decanodióico (ácido sebáico), ácido undecanodióico, ácido dodecanodióico, ácido 1,11-undecanodicarboxílico, ácido 1,12-dodecanodicarboxílico, 1,3-bis(carboxifenoxi)propano (CPP), 1,3-bis(carboxifenoxi)hexano (CPH), ácido isoftálico (ácido 1,3-fenildicarboxílico), ácido tereftálico (ácido 1,4-fenildicarboxílico), ácido difénico (ácido 2,2'-bifenildicarboxílico), ácido 3,3'-dimetil-bifenil-2,2'-dicarboxílico, ácido bifenil-4,4'-dicarboxílico y ácido 1,2-ciclohexanodicarboxílico.

En otra realización, el diácido forma una subunidad de fórmula A:



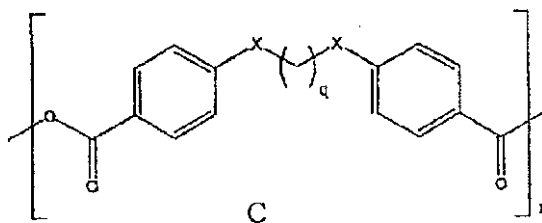
A

en la que:

m es, independientemente para cada caso, un número entero de (a) 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, a 20; (b) 4-12; y, (c) 8;

p es independientemente para cada caso, un número entero de (a) ≥ 1 , (b) 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000, a 10.000 (c) 1-5.000, (d) 5-10.000, y (e) 10-5.000.

En otra realización, el copolímero de bloques comprende adicionalmente subunidades de fórmula C:



en la que:

x está ausente, o independientemente para cada caso representa un heteroátomo seleccionado de NR, O y S;

r es, independientemente para cada caso, un número entero de (a) ≥ 1 , (b) 5-10.000; y

5 q es independientemente para cada caso, un número entero de (a) 1 a 20; y (b) 3 o 6.

Se menciona que los copolímeros de bloques de la presente invención están terminados en un extremo por Z y en el otro extremo por el extremo libre del diácido de Fórmula C, si está presente. El extremo no Z del copolímero puede ser el ácido libre, un grupo restante del prepolímero del diácido de Fórmula C, u opcionalmente un grupo que es el resultado de la funcionalización post-polimerización (por ejemplo, un éster alquílico de C_{1-8}). Los ejemplos de grupos terminales del prepolímero incluyen alquilo de C_{1-8} , alquilo de $C_{1-8}-C(O)-$ (por ejemplo, $CH_3C(O)-$, $HOOC-R-C(O)-$, grupos alquilamino (por ejemplo, $H_2NCH_2CH_2-$), o cualquier otro grupo que permite la reacción con los otros prepolímeros usados para formar los copolímeros de bloques de la presente invención. El grupo R incluye un grupo alifático (por ejemplo, alquilo de C_{1-8}), grupos aromáticos (por ejemplo, fenilo y bi-fenilo), o una mezcla de grupos alifáticos y aromáticos.

15 Los copolímeros de bloques de la presente invención se pueden procesar fácilmente con casi cualquier forma o tamaño y usar como los polímeros médicos previamente conocidos (por ejemplo, implantes, revestimientos o stents, etc.). Los copolímeros de bloques de la presente invención se pueden estar también en forma de partículas. Las partículas (por ejemplo, partículas biodegradables) hechas de copolímeros de bloques de la presente invención poseen un núcleo de polímero hidrófobo y una envoltura de PEG hidrófilo. Esto es debido a la distribución del resto de PEG funcionalizado en la superficie de la partícula. Como resultado, la superficie de las partículas de la presente invención se puede modificar fácilmente. La modificación de las presentes partículas puede producir partículas que cruzan las barreras biológicas más fácilmente (por ejemplo, son menos adhesivas a las mucosas). Además, las moléculas que están unidas al extremo de moléculas de PEG flexible, por lo tanto, se distribuyen selectivamente en la superficie de las partículas al formularlas, haciendo de este modo las moléculas unidas más fácilmente disponibles para el cuerpo.

Una amplia gama de moléculas (por ejemplo, ligandos, péptidos, proteínas, antígenos, anticuerpos, enzimas, ácidos nucleicos, lectinas, y fármacos diana (por ejemplo, anticáncer y antiinflamatorios) se pueden unir al extremo funcionalizado (es decir, extremo no polimerizado) del PEG en condiciones suaves para formar micro- o nano-esferas de poli(ácido diácido-co-PEG-Ligando) para aplicaciones biológicas, que incluyen, fármacos con diana y suministro de genes, obtención de imágenes médicas, diagnóstico, e ingeniería de tejidos. Las utilidades adicionales incluyen suministro sostenido y/o específico de células o tejido de agentes quimioterapéuticos para el tratamiento de cánceres (por ejemplo, cáncer de pecho, cáncer cerebral, cáncer de huesos, cáncer de pulmón, cáncer gastrointestinal, de hígado, de próstata, pancreático, cervical, de vejiga, vaginal, y de colon, etc.) y suministro de fármacos dirigido a endotelio inflamado para tratamiento de un conjunto de patologías, que incluyen enfermedad cardiovascular, artritis, enfermedad inflamatoria intestinal, y cáncer.

Una propiedad deseable de los presentes copolímeros de bloques es que se pueden preparar de tal modo que se degradan a una velocidad que coincide mucho con los tiempos de desprendimiento del fármaco. Otra propiedad favorable de las presentes partículas es que su tamaño se puede controlar fácilmente (por ejemplo, son fácilmente accesibles tamaños que varían de 30 nm a alrededor de 100 μm).

40 En los copolímeros de la presente invención, m, n y q, cada uno independientemente, pueden ser un valor constante en todo el copolímero, es decir, m, n y q no varían dentro de una subunidad de Fórmula A, B o C, o dentro de diferentes subunidades de la misma fórmula, dentro de una muestra de polímero o una cadena de polímero. Los copolímeros de la presente invención pueden comprender adicionalmente unidades monoméricas distintas de aquellas unidades representadas por el diácido (por ejemplo, Fórmula A) y Fórmula B y, opcionalmente, el diácido de Fórmula C. En otras realizaciones, sin embargo, el polímero consiste esencialmente en subunidades del diácido (por ejemplo, Fórmula A), y Fórmula B y opcionalmente Fórmula C.

El extremo sin terminar de los presentes polímeros se puede terminar (es decir, acabar) con H (para formar ácidos carboxílicos, grupos acilo (para formar anhídridos), grupos alcoxi (para formar ésteres), o cualquier otro grupo terminal apropiado.

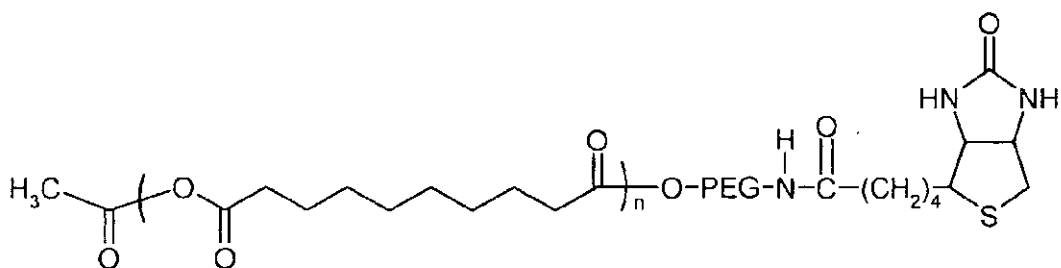
Los ejemplos de pesos moleculares para las subunidades de Fórmula B incluyen (a) 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000, 1.000, 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, 50.000, 100.000, 200.000, 300.000, 400.000, 500.000, 600.000, 700.000, 800.000, 900.000 a 1.000.000 dalton, (b) 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000, hasta 30.000 dalton. Las subunidades de Fórmula B pueden tener pesos moleculares que varían por todo el polímero (por ejemplo, entre 200 y 100.000 o más dalton). Alternativamente, las subunidades de Fórmula B pueden tener pesos moleculares que varían solo dentro de un estrecho intervalo (por ejemplo, 200-300 dalton o 2.000-3.000 dalton).

Los ejemplos de intervalos de peso para el diácido (por ejemplo, subunidad de Fórmula A) incluyen (a) entre 10-99% en peso del polímero y (b) entre 15-98% en peso del polímero. Los ejemplos de intervalos de peso para la subunidad de Fórmula B incluyen (a) entre 1-90% en peso del polímero y (b) entre 2-60% en peso del polímero.

Cuando está presente la subunidad C opcional, los ejemplos de intervalos de peso para el diácido (por ejemplo, subunidad de Fórmula A) incluyen entre 10-98% en peso del polímero. Los ejemplos de intervalos de peso para la subunidad de Fórmula B incluyen entre 1-80% en peso del polímero. Los ejemplos de intervalos de peso para la subunidad de Fórmula C incluyen entre 1-95% en peso del polímero.

Los copolímeros de bloques de la presente invención pueden tener pesos moleculares (M_w) que varían de (a) alrededor de 2.000 o menos hasta alrededor de 300.000, 600.000 o 1.000.000 o más dalton, (b) por lo menos alrededor de 10.000, 15.000, 20.000, 25.000, 30.000, 35.000, 40.000, 45.000 o 50.000 dalton, y (c) por lo menos alrededor de 100.000 dalton. Los copolímeros de bloques de la presente invención pueden tener un peso molecular promedio numérico (M_n) que también puede variar ampliamente, pero generalmente está dentro de los intervalos de (a) de alrededor de 1.000 a alrededor de 200.000 dalton, (b) de alrededor de 10.000 a alrededor de 100.000 dalton, (c) de alrededor de 8.000 a alrededor de 50.000 dalton, y (d) alrededor de 12.000 y 45.000 dalton.

En una realización los copolímeros de bloques de la invención tienen la fórmula



Preferentemente la relación en peso de poli(ácido sebácico) a PEG-Biotina en estos copolímeros se selecciona de 95:5, 85:15, 75:25, y 50:50.

En otra realización, la presente invención proporciona nuevas composiciones que comprenden los presentes copolímeros de bloques. Un tipo específico de composición es una composición farmacéutica, que puede ser para el suministro de agente biológicamente activo, por ejemplo, para la prevención o tratamiento de una enfermedad u otro estado en un paciente. La composición farmacéutica puede comprender adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, los copolímeros de bloques de la presente invención tienen forma de partículas (por ejemplo, microesferas o nanoesferas). Las micro- o nano-esferas de la presente invención se pueden usar para el desprendimiento sostenido de un agente encapsulado. Micropartículas y microesferas se usan intercambiabilmente aquí. Las microesferas y nanoesferas se pueden formar por una amplia variedad de técnicas conocidas por los expertos en la técnica. Se pueden emplear métodos diferentes para formar micro- o nano-esferas dependiendo de la aplicación deseada. Los métodos apropiados incluyen, pero no están limitados a, secado por pulverización, evaporación de disolvente, métodos de emulsión, separación de fases, liofilización, secado al aire, secado a vacío, secado en lecho fluidizado, molienda, coprecipitación y extracción con fluido crítico.

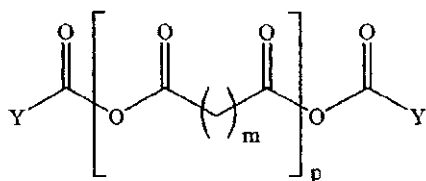
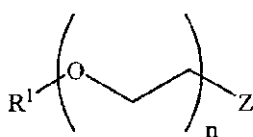
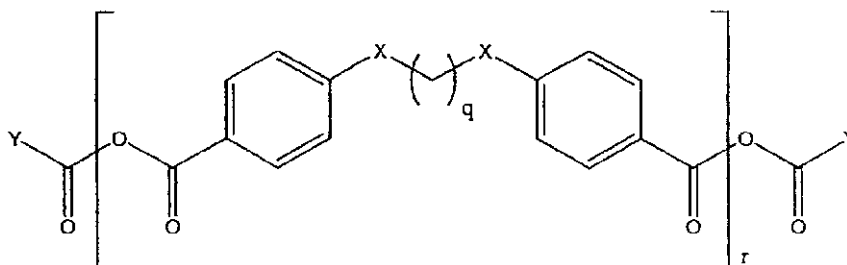
En otra realización, la presente invención proporciona nuevas composiciones que comprenden uno de copolímeros de bloques y un agente encapsulado (por ejemplo, agente terapéutico, agente de diagnóstico, agente de obtención de imágenes, y/o adyuvante). Los agentes que se pueden encapsular en las composiciones objetivo incluyen agentes de obtención de imágenes y de diagnóstico (tales como agentes radioopacos, anticuerpos marcados, sondas de ácido nucleico marcado, colorantes, etc.), adyuvantes (radiosintetizantes, moléculas inmunomoduladoras, agentes de mejora de la transfección (tal como cloroquina y sus análogos), agentes quimioestáticos y quimioatrayentes, péptidos (por ejemplo, partículas que modulan la adhesión celular y/o la movilidad celular, agentes de permeabilización celular, inhibidores de resistencia a múltiples fármacos y/o bombas de eflujo, etc.). La presente invención se refiere también a métodos de administrar tales composiciones, por ejemplo, como parte de un régimen de tratamiento, por ejemplo, por inhalación, o inyección (por ejemplo, subcutáneamente, intramuscularmente, o intravenosamente). Como se mencionó anteriormente, el copolímero de bloques que encapsula el agente puede

estar en la forma de una micro- o nano-esfera.

Las presentes composiciones farmacéuticas, en condiciones biológicas, por ejemplo, al contacto con fluidos corporales que incluyen sangre, fluido intersticial, mucosas, interiores celulares, fluido espinal, linfa o similares, desprenden el fármaco encapsulado durante periodos prolongados o sostenidos (comparado con el desprendimiento de una disolución salina isotónica). Tal sistema puede dar como resultado un suministro prolongado de cantidades efectivas (por ejemplo, de 0,0001 mg/kg/hora a 10 mg/kg/hora) del fármaco. Los tiempos de suministro pueden incluir (a) de 8, 16, 24, 48, 96, 120, 144, 168, 800, 1.600 a 2.400 o más horas o (b) de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 a 100 o más días.

Los copolímeros de bloques de la presente invención se pueden usar en presencia de un disolvente para facilitar la mezcla o para mantener la fluidez de la composición de polímero. Los ejemplos de disolventes biocompatibles apropiados incluyen, pero no están limitados a, N-metil-2-pirrolidona, 2-pirrolidona, etanol, propilenglicol, acetona, acetato de metilo, acetato de etilo, metiletilcetona, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, caprolactama, ácido oleico, y 1-dodecilazacicloheptanona.

Los polímeros de la presente invención se pueden preparar combinando una mezcla de compuestos de un prepolímero de un diácido (por ejemplo, Fórmula A₁) y Fórmula B₁ y opcionalmente Fórmula C₁, representadas a continuación, y calentando a una temperatura y durante un tiempo suficiente para formar un polímero. Por ejemplo, la mezcla se puede calentar a una temperatura suficiente para fundir los prepolímeros, por ejemplo (a) de alrededor de 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 a 200 o (b) alrededor de 140-190. La reacción se puede efectuar durante (a) de alrededor de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, a 1.440 o más minutos o (b) alrededor de 20-180 minutos. Cuando está presente el prepolímero, la mezcla se puede calentar a una temperatura de (a) alrededor de 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, a 220 o (b) alrededor de 140-200. Cuando está presente el prepolímero C₁, la reacción se puede efectuar durante (a) de alrededor de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, a 1.440 o más minutos. Como se entiende por los expertos en la técnica, los tiempos y temperaturas de reacción se pueden variar para conseguir polímeros de diferente peso molecular.

A₁B₁C₁

R¹ es un grupo que es capaz de reaccionar con los prepolímeros del diácido (por ejemplo, Fórmula A₁), el prepolímero de la subunidad opcional de Fórmula C (por ejemplo, Fórmula C₁), el prepolímero de cualquier otra subunidad presente, o una combinación de estos prepolímeros. Los ejemplos de grupos R¹ posibles incluyen H, alquilo de C₁₋₈-C(O)- (por ejemplo, CH₃C(O)-), HOOC-R-C(O)-, grupos aminoalquilo (por ejemplo, H₂NCH₂CH₂-). El grupo R incluye un grupo alifático (por ejemplo, alquilo de C₁₋₈), grupos aromáticos (por ejemplo, fenilo y bifenilo), o

una mezcla de grupos alifáticos y aromáticos.

Y es un grupo que permite que los prepolímeros A_1 (es decir, el prepolímero de diácido) y C_1 si está presente, reaccionen consigo mismos, entre sí, y con el prepolímero de PEG B_1 . Los ejemplos de Y incluyen H, alquilo de C_{1-8} (por ejemplo, metilo), O-alquilo de C_{1-8} , S-alquilo de C_{1-8} , y NH-alquilo de C_{1-8} . Además, Y, junto con el CO_2 al que está unido, puede formar un resto carbonato, carbamato o éster.

La polimerización se puede efectuar a vacío, por ejemplo, >1 Torr o $>0,1$ Torr. La polimerización se puede efectuar también en presencia de un disolvente (por ejemplo, un disolvente orgánico). Puede ser deseable que el disolvente tenga un punto de ebullición a una temperatura por encima de la temperatura de reacción, por ejemplo, por lo menos $10^\circ C$, o incluso por lo menos $30^\circ C$. Los ejemplos de disolventes orgánicos incluyen, pero no están limitados a, dimetilsulfóxido (DMSO) y sulfolano. Se puede usar un catalizador (por ejemplo, catalizador ácido de Lewis). Los ejemplos de catalizadores ácido de Lewis incluyen, pero no están limitados a, acetato de cadmio y un haluro o alcóxido de lantánido (por ejemplo, triisopropóxido de samario).

El agente biológicamente activo, tal como se usa aquí, incluye fármaco, agente terapéutico, medicamento, o sustancia bioactiva, que son sustancias biológicamente, fisiológicamente o farmacológicamente activas que actúan local o sistemáticamente en el cuerpo humano o de un animal. La expresión agente bioactivo incluye sin limitación, medicamentos; vitaminas; suplementos minerales; sustancias usadas para el tratamiento, prevención, diagnóstico, cura o mitigación de la enfermedad o dolencia; o sustancias que afectan a la estructura o función del cuerpo; o profármacos, que se vuelven biológicamente activos o más activos después de que se han colocado en un predeterminado medio fisiológico.

Alquilo, como se usa aquí, se refiere a una cadena hidrocarbonada saturada que tiene el número especificado de átomos de carbono (por ejemplo, 1-8). Una cadena de alquilo puede ser lineal (por ejemplo, n-butilo) o ramificada (por ejemplo, sec-butilo, isobutilo, o t-butilo). Los grupos alquilo pueden ser sin substituir o substituidos con de 1 a 4 substituyentes seleccionados de F, Cl, Br, I, haloalquilo (por ejemplo, CF_3), hidroxilo, y arilo (por ejemplo, fenilo, toliilo, alcoxifenilo, alcocarbonilfenilo, halofenilo).

Las partículas de la presente invención pueden tener varios revestimientos aplicados para modificar sus propiedades. Tres tipos ejemplares de revestimientos son revestimientos de sellado, de brillo y entéricos. Otros tipos de revestimiento que tienen varias propiedades de disolución o erosión se pueden usar para modificar adicionalmente el comportamiento de las matrices objetivo, y tales revestimientos son fácilmente conocidos por uno de experiencia media en la técnica. El revestimiento de sellado puede prevenir la captación de excesiva humedad por las matrices durante la aplicación de revestimientos entéricos basados en agua. El revestimiento de brillo generalmente mejora el manejo de las matrices acabadas. Se pueden usar materiales solubles en agua tales como hidroxipropilcelulosa para implantes de revestimiento de sellado y de revestimiento de brillo. El revestimiento de sellado y revestimiento de brillo se pulverizan generalmente sobre las matrices hasta que se ha obtenido un incremento de peso entre alrededor de 0,5% y alrededor de 5%, a menudo entre 1% para un revestimiento de sellado y alrededor de 3% para un revestimiento de brillo.

Los revestimientos entéricos consisten en polímeros que son insolubles en el bajo pH (menos de 3,0) del estómago, pero son solubles en el elevado pH (mayor de 4,0) del intestino delgado. Se pueden usar polímeros tales como EUDRAGIT, Rohm Tech, Inc., Malden, Mass., y AQUATERIC, FMC Corp., Philadelphia, Penn., y se depositan en capas en forma de delgadas membranas sobre los implantes en disolución acuosa o suspensión o por un método de secado por pulverización. El revestimiento entérico se pulveriza generalmente hasta un incremento de peso de alrededor de uno a 30%, preferentemente de alrededor de 10 a alrededor de 15% y puede contener adyuvantes de revestimiento tales como plastificantes, tensioactivos, agentes de separación que reducen la pegajosidad de los implantes durante el revestimiento, y ajustes de la permeabilidad del revestimiento.

Las presentes composiciones pueden contener adicionalmente uno o más aditivos opcionales tales como refuerzo fibroso, colorantes, perfumes, modificadores de caucho, agentes modificantes, etc. En la práctica, cada uno de estos aditivos opcionales debe ser compatible con el polímero resultante y su uso deseado. Los ejemplos de refuerzos fibrosos apropiados incluyen microfibrillas de PGA, microfibrillas de colágeno, microfibrillas celulósicas, y microfibrillas olefinicas. La cantidad de cada uno de estos aditivos opcionales empleados en la composición es una cantidad necesaria para conseguir el efecto deseado.

Los presentes copolímeros de bloques pueden ser útiles como sistemas de suministro biodegradables. En su forma más simple, un sistema de suministro biodegradable para un agente terapéutico consiste en una dispersión de tal agente terapéutico en una matriz polimérica. En otras realizaciones, se usa un artículo para la implantación, inyección o de otro modo colocación total o parcialmente dentro del cuerpo, comprendiendo el artículo los presentes copolímeros de bloques. Es particularmente deseable que tal artículo dé como resultado una mínima irritación del tejido cuando se implanta o inyecta en el tejido vascular.

Dosis y formulaciones

En la mayor parte de las realizaciones, los copolímeros de bloques incorporarán la sustancia a suministrar en una cantidad suficiente para suministrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente terapéutico

incorporado u otro material como parte de un tratamiento profiláctico o terapéutico. La concentración deseada de compuesto activo en la partícula dependerá de las velocidades de absorción, inactivación, y excreción así como de la velocidad de suministro del compuesto desde la composición objetivo. Se debe mencionar que los valores de dosificación pueden variar también con la severidad del estado que se va a aliviar. Se debe entender adicionalmente que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos se deben ajustar con el tiempo según la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones. Típicamente, la dosis se determinará usando técnicas conocidas por un experto en la técnica.

Los copolímeros de bloques de la presente invención se pueden administrar por varios medios, dependiendo de su uso deseado, como es bien conocido en la técnica. Por ejemplo, si las composiciones objetivo se van a administrar oralmente, se pueden formular como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes. Alternativamente, las formulaciones de la presente invención se pueden administrar parenteralmente como inyecciones (intravenosas, intramusculares, o subcutáneas), preparaciones para infusión a gotas, o supositorios. Para su aplicación por la ruta de la membrana mucosa oftálmica, las composiciones objetivo se pueden formular como gotas para los ojos, o pomadas para los ojos. Estas formulaciones se pueden preparar por métodos convencionales, y si se desea, las composiciones objetivo se pueden mezclar con cualquier aditivo convencional, tal como un aglomerante, un agente desintegrante, un lubricante, un corrector, un agente solubilizante, una ayuda de suspensión, un agente emulsionante o un agente de revestimiento.

Las formulaciones útiles en los métodos de la presente invención incluyen aquellas apropiadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal o sublingual), rectal, vaginal, aerosol y/o parenteral. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosis unitaria y se pueden preparar por cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. La cantidad de una composición objetivo que se puede combinar con un material de vehículo para producir un sola dosis puede variar dependiendo del sujeto que se está tratando, y del modo particular de administración.

Las formulaciones apropiadas para administración oral pueden estar en la forma de cápsulas, sellos, píldoras, tabletas, pastillas (que usan una base de sabor, usualmente sacarosa y acacia y tragacanto), polvos, gránulos, o en forma una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o en forma de una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite, o en forma de elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia), que contiene cada una una cantidad predeterminada de una composición objetivo como ingrediente activo. Tales composiciones de la presente invención se pueden administrar también en forma de bolo, electuario, o pasta.

En formas de dosificación sólida para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), la composición objetivo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables y/o cualquiera de lo siguiente: (1) cargas o diluyentes, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglomerantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, poli(vinilpirrolidona), sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la disolución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, y sus mezclas; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas pueden comprender también agentes tampón. Se pueden emplear también composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina llenas duras y blandas que usan lactosa o azúcares de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Se puede preparar un comprimido por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos se pueden preparar usando un aglomerante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (por ejemplo, almidón glicolato de sodio o carboximetilcelulosa de sodio reticulada), agente dispersante o tensioactivo. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina apropiada una mezcla de la composición objetivo humedecida con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólida, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, se pueden obtener o preparar con revestimientos y envolturas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica.

Las formas de dosificación líquida para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de las composiciones objetivo, las formas de dosificación líquida pueden contener diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolvente, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceite de semilla de algodón, aráquida, maíz, cacahuete, girasol, soja, oliva, ricino, y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, y sus mezclas.

Las suspensiones, además de las composiciones objetivo, pueden contener agentes de suspensión, por ejemplo, alcoholes estearílicos etoxilados, polioxietilenosorbitol, y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y sus mezclas.

5 Las formulaciones para administración rectal o vaginal se pueden presentar en forma de supositorio, que se puede preparar mezclando una composición objetivo con uno o más vehículos no irritantes apropiados que comprenden, por ejemplo, mantequilla de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios, o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en la cavidad corporal apropiada y desprenderá el analgésico encapsulado.

10 Las formulaciones que son apropiadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas, o formulaciones de pulverización que contienen tales vehículos como los que se sabe que son apropiados en la técnica.

15 Las formas de dosificación para administración transdérmica incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches, e inhalantes. Una composición objetivo se puede mezclar en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tampón, o propulsor que se pueda requerir. Para administración transdérmica, los complejos pueden incluir grupos lipófilos o hidrófilos para conseguir la deseada solubilidad en agua y propiedades de transporte.

20 Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de composiciones objetivo, otros vehículos, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido salicílico, talco y óxido de cinc, o sus mezclas. Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además de la composición objetivo, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de tales sustancias. Las pulverizaciones pueden contener adicionalmente propulsores habituales tales como clorofluorohidrocarbonos e hidrocarburos volátiles sin substituir, tales como butano y propano.

25 En un aspecto la invención proporciona un inhalador que comprende los copolímeros de la invención formulados en forma de microesferas.

30 Cuando se inhala, el tamaño de partícula del medicamento en partículas debe ser tal como para permitir la inhalación de tanto medicamento en los pulmones como sea posible en la administración de la formulación de aerosol y será de este modo deseablemente menos de 20 micrómetros, preferentemente en el intervalo de 1 a 10 micrómetros si se inhala en forma de polvo seco, por ejemplo, de 1 a 5 micrómetros. El tamaño de partícula del medicamento se puede reducir por medios convencionales, por ejemplo, por molienda o micronización. La formulación de aerosol final deseablemente contiene 0,005-90% peso/peso, preferentemente 5-80% peso/peso, especialmente 5-50% peso/peso, de medicamento con relación al peso total de la formulación.

35 Opcionalmente, las formulaciones de aerosol según la invención pueden comprender adicionalmente uno o más tensioactivos, que incluyen L- α -fosfatidilcolina (PC), 1,2-dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), ácido oleico, trioleato de sorbitol, monooleato de sorbitán, monolaurato de sorbitán, monolaurato de polioxietileno(20)sorbitán, monooleato de polioxietileno(20)sorbitán, lecitina natural, oleil-polioxietileno(2)-éter, estearil-polioxietileno(2)-éter, lauril-polioxietileno(4)-éter, copolímeros de bloques de oxietileno y oxipropileno, lecitina sintética, dioleato de dietilenglicol, oleato de tetrahidrofurilo, oleato de etilo, miristato de isopropilo, monooleato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, monoricinoleato de glicerilo, alcohol cetílico, alcohol estearílico, polietilenglicol 400, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de benzalconio, aceite de oliva, monolaurato de glicerilo, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, y aceite de semilla de girasol.

40 La cantidad de tensioactivo empleado para revestir el medicamento en partículas está deseablemente en el intervalo de 0,1 a 10% peso/peso, preferentemente de 1 a 10% peso/peso con relación al medicamento. Cuando está presente el tensioactivo como revestimiento superficial, la cantidad puede ser escogida ventajosamente tal que se forma un revestimiento sustancialmente monomolecular de sent. Sin embargo, es preferible que las formulaciones de la invención estén sustancialmente libres de tensioactivos, es decir, contengan menos de una cantidad estabilizante efectiva de un tensioactivo tal como menos de 0,0001% por peso de medicamento.

45 Las formulaciones de la invención se pueden preparar por dispersión del medicamento en un propulsor y/o copropulsor seleccionado en un recipiente apropiado, por ejemplo, con la ayuda de sonicación. Preferentemente el medicamento en partículas se suspende en co-propulsor y se introduce en un recipiente apropiado. A continuación se sella en su lugar la válvula del recipiente y se introduce el propulsor por llenado a presión a través de la válvula de una manera convencional. El ingrediente activo se puede suspender o disolver de este modo en un propulsor licuado, sellar en un recipiente con una válvula de medida y colocar en un activador. Tales inhaladores de dosis controlada son bien conocidos en la técnica. La válvula de dosificación puede dosificar de 10 a 500 μ l y preferentemente de 25 a 150 μ l. En ciertas realizaciones, se puede conseguir la dispersión usando inhaladores de polvo seco (por ejemplo, spinhaler) para las microesferas (que permanecen en forma de polvos secos). En otras realizaciones, se pueden suspender nanoesferas en un fluido acuoso y nebulizarlas en forma de gotas finas para ser aerosolizadas en los pulmones.

Se pueden usar nebulizadores sónicos porque minimizan la exposición del agente a la cizalladura, que puede dar como resultado la degradación del compuesto. Ordinariamente, un aerosol acuoso se prepara formulando una disolución acuosa o suspensión de los materiales poliméricos junto con vehículos y estabilizantes convencionales farmacéuticamente aceptables. Los vehículos y estabilizantes varían con los requerimientos del compuesto particular, pero típicamente incluyen tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic, o polietilenglicol), proteínas inocuas tales como seroalbúmina, ésteres de sorbitán, ácido oleico, lecitina, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares, o alcoholes de azúcar. Los aerosoles generalmente se preparan de disoluciones isotónicas.

Las formulaciones oftálmicas, pomadas para los ojos, polvos, disoluciones y similares se contempla también que están dentro del alcance de esta invención.

Ciertas composiciones farmacéuticas de esta invención apropiadas para administración parenteral comprenden una o más composiciones objetivo en combinación con una o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que se pueden reconstituir en forma de disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos, solutos que vuelven la disolución isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes espesantes o de suspensión.

Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos apropiados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polialcoholes (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y sus mezclas apropiadas, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, por el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula apropiado en el caso de dispersiones, y por el uso de tensioactivos.

Las composiciones de microesferas y/o nanoesferas se pueden suspender en una disolución farmacéuticamente aceptable tal como una disolución salina, disolución de Ringer, disolución de dextrano, disolución de dextrosa, disolución de sorbitol, una disolución que contiene poli(alcohol vinílico) (de alrededor de 1% a alrededor de 3%, preferentemente alrededor de 2%), o una disolución osmóticamente equilibrada que comprende un tensioactivo (tal como Tween 80 o Tween 20) y un agente mejorador de la viscosidad (tal como gelatina, alginato, carboximetilcelulosa de sodio, etc.). En ciertas realizaciones, la composición se administra subcutáneamente. En otras realizaciones, la composición se administra intravenosamente. Para el suministro intravenoso, la composición se formula preferentemente en forma de microesferas o nanoesferas en promedio menores de alrededor de 15 micrómetros, más particularmente menores de alrededor de 10 micrómetros, y aún más particularmente menores de alrededor de 5 micrómetros de diámetro medio.

La invención que se describe ahora generalmente, se entenderá más fácilmente con referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen meramente para propósitos de ilustración de ciertos aspectos y realizaciones de la presente invención, y no se desea que limiten la invención.

Ejemplos

Todos los productos químicos se compraron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) a menos que se mencione lo contrario. El ácido sebácico se recrystalizó tres veces en etanol. El ácido acético se purificó por destilación. El tolueno y cloroformo (J.T. Baker, Phillipsbur, NJ) se calentaron a reflujo y se destilaron en hidruro de calcio. La α -hidroxi- ω -amina-PEG se compró de EKTAR. El 1,3-bis(carboxifenoxi)propano (CPP) se sintetizó según el método descrito por Conix (Macromol. Synth. 1966, 2, 95). El acetato de cadmio, poli(alcohol vinílico) (88% en moles hidrolizado, Mw= 25 kDa, Polysciences Inc., Warrington, PA), seroalbúmina bovina (BSA), piridina, 1,2-dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), L- α -fosfatidilcolina (PC), anhídrido succínico, y otros reactivos se usaron tal como se recibieron sin purificación adicional.

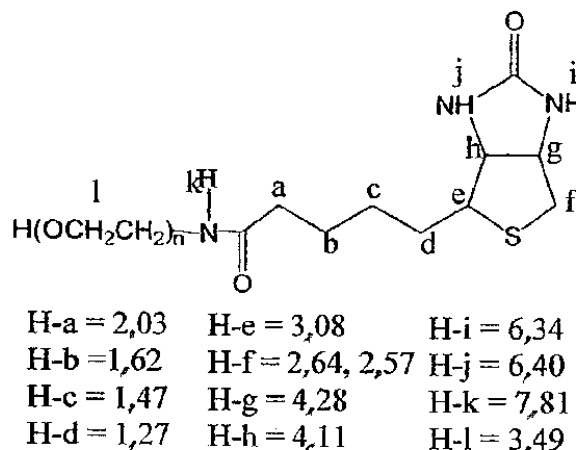
Los espectros de ^1H RMN se registraron en CDCl_3 en un espectrómetro Varian UNITY-400 MHz, y los espectros de FT-IR se obtuvieron en el espectrómetro Perkin-Elmer serie 1600 (pelets de KBr). El peso molecular del polímero se determinó por análisis de GPC en cloroformo (bomba de HPLC inteligente PU-980, columna termostatzada inteligente 1560, detector de RI inteligente RI-1530), con poliestireno como estándar. (JASCO GPC). Las microesferas se evaluaron para ver la morfología de la superficie por microscopía electrónica de barrido (SEM) con un microscopio AMRAY 1860 FE. Se realizó análisis térmico usando un SEKIO DSC220, en el que se calentó un peso medio de muestra de 5-10 mg a velocidades de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ de -100°C a 200°C .

Prepolímero de ácido sebácico (SA)

Se calentó a reflujo SA (10,0 g) en 100 ml de anhídrido acético en N_2 durante 15 min y se evaporó hasta sequedad. El prepolímero en bruto se recrystalizó en tolueno seco, se lavó con éter etílico anhidro/éter de petróleo (1:1), y finalmente se secó a vacío.

Prepolímero de Biotina-PEG-OH

Se sintetizó biotina-PEG-OH según un procedimiento previamente citado. Se disolvió α -hidroxi- ω -amina-PEG (1,0 g) en acetonitrilo (2 ml). Se añadieron cloruro de metileno (1 ml) y piridina (80 μ l) y la mezcla se agitó a continuación durante 1 minuto. Después de la adición de NHS-biotina (0,25 g), los reactantes se agitaron a continuación durante la noche en argón. La reacción se trató por la adición lenta de éter dietílico (40 ml) para precipitar el polímero, que se filtró a continuación en un embudo Buchner y se lavó con éter dietílico. El material aislado se disolvió a continuación en isopropanol caliente (70°C). El polímero se reprecipitó al enfriar. El polímero (350 mg) se disolvió en tolueno (70 ml) y se calentó a reflujo con una trampa de Dean-Stark y un condensador. El 70% del tolueno se retiró por destilación. El polímero se aisló en un evaporador rotatorio. Para retirar el disolvente residual, el polímero se secó a vacío durante 2 días. Este producto se analizó a continuación para ver la unión de la biotina por espectroscopia de ^1H -RMN (véase la estructura a continuación y las Figuras 1 y 2).



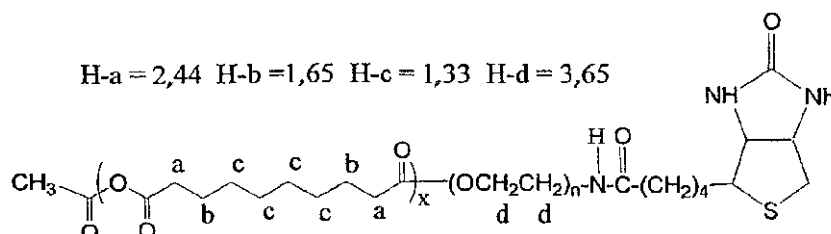
Los espectros de ^1H -RMN se registraron en un espectrómetro Varian UNITY-400 MHz. La aparición de un triplete a 2,03 ppm se puede asignar al metileno de la cadena de biotina "a" a la amida y la aparición de un singlete ancho que pertenece al protón amido libre a 7,81 ppm. Estas señales no estaban presentes en los espectros de RMN de NHS-biotina. El grupo biotina se identificó por medio de los dos protones de metino (H-g, H-h) de la estructura cíclica de biotina a 4,28 y 4,12 ppm y dos protones de urea (H-j, H-i) de la estructura cíclica de la biotina a 6,40, 6,34 ppm (ref. 5253). La ^1H RMN confirma la unión de biotina a la cadena de PEG.

Prepolímero de CPP

Se calentó a reflujo CPP (10,0 g) en 200 ml de anhídrido acético durante 30 min en N_2 , seguido de la retirada del diácido sin reaccionar por filtración y evaporación para retirar el disolvente. El residuo se recrystalizó en dimetilformamida (DMF) y éter etílico, a continuación se lavó con éter etílico seco y se secó a vacío.

Síntesis del polímero Biotina-PEG-PSA

Se preparó Biotina-PEG-PSA por policondensación en fundido de Biotina-PEG-OH y prepolímero de SA en alto vacío. Los polímeros se precipitaron en cloroformo en éter de petróleo y se secaron a vacío. La estructura de la PSA-PEG-Biotina se confirmó por FT-IR y ^1H -RMN (véase la estructura a continuación y las Figuras 3 y 4).



Los tres picos a 2,44, 1,65 y 1,33 ppm se atribuyeron a los protones del metileno del SA. La línea de resonancia de los protones del metileno de PEG apareció a 3,65 ppm, lo que indicaba que el PEG estaba incorporado en el polímero. La señal de biotina era muy débil debido a la baja cantidad de este compuesto en la PSA-PEG-biotina. Como los restos de biotina están unidos al grupo terminal de PEG, la aparición de unidades de etilenglicol en el polímero sugiere biotina disponible en el polímero. Los espectros de infrarrojos (IR) se obtuvieron usando un espectrómetro Perkin-Elmer serie 1600. Las muestras se molieron y comprimieron en forma de pellets de KBr para análisis. Los típicos picos dobles de IR de anhídrido aparecieron a ~ 1812 , $\sim 1742\text{ cm}^{-1}$, indicando la eficiente

conversión del SA en PSA. Se llevó a cabo una medida de cromatografía de premeación de gel (GPC) usando una bomba de HPLC inteligente JASCO PU-980, columna termostatzada inteligente 1560, detector de índice de refracción inteligente RI-1530. Las muestras se filtraron y efluyeron en cloroformo a través de una serie de columnas Styragel (columnas Waters Styragel HR3, HR4, y de guarda) con un caudal de 0,3 ml/min. Los pesos moleculares se determinaron con relación a estándares de poliestireno (Fluka, Milwaukee, WI). La GPC reveló un pico (Fig. 5), indicativo del polímero puro formado.

Preparación de micropartículas de Biotina-PEG-PSA

Se prepararon microesferas usando un método de disolvente de una sola emulsión. Se disolvieron 125 mg de PSA-PEG-biotina (15:85) en 5 ml de diclorometano para producir una disolución de 25 mg/ml. Se disolvió poli(alcohol vinílico) (PVA, Mw=250000) [88% hidrolizado] en agua destilada (0,25 g en 250 ml) para preparar una disolución de 0,1% peso/v. La disolución de PSA-PEG-biotina se añadió a continuación a una disolución de PVA homogeneizado. La mezcla se homogeneizó durante 3 minutos adicionales a 8.000 rpm y a continuación se dejó agitando 3 horas para que se evaporara el diclorometano. Las partículas se recogieron por centrifugación y se lavaron en agua destilada. Se realizó un análisis del tamaño de micropartícula con un Coulter Multisizer IIe (Bekman-Coulter Inc., Fullerton, CA) Las micropartículas se añadieron a 100 ml de disolución II isotónica hasta que la coincidencia de partículas era entre 8% y 10%. Se midió el tamaño de más de 100.000 partículas por cada lote de micropartículas para determinar el tamaño medio de partícula y la distribución de tamaños (Fig. 6).

Preparación de nanopartículas Biotina-PEG-PSA

Se prepararon nanoesferas usando un método de disolvente de una sola emulsión. Se disolvieron 50 mg de PSA-PEG-biotina (15:85) en 5 ml de diclorometano para producir una disolución de 25 mg/ml. Se disolvió PVA (Mw=250000) [88% hidrolizado] en agua destilada para preparar una disolución de 0,1%, y 5% peso/v. La disolución de PSA-PEG-biotina se añadió a continuación a PVA al 5%, se sonicó durante 3 minutos, se vertió en PVA al 0,1% y se dejó agitando 3 horas para que se evaporara el diclorometano. Las partículas se recogieron por centrifugación y se lavaron en agua destilada. Se realizó un análisis del tamaño de nanopartícula (Fig. 7) por Dynamic Light Scattering (DLS) usando un Zetasizer® 3000 (Malvern Instruments Inc. Southborough, MA) con la muestra diluida en agua destilada filtrada. Las medidas se realizaron a 25°C con un ángulo de dispersión de 90°.

Caracterización de PEG-SA

La biotina se unió al PEG por medio de la química de N-hidroxi-succinimida. La biotina-PEG con grupo terminal OH se polimerizó a continuación con el prepolímero de ácido sebácico a alto vacío por policondensación en fundido para obtener PSA-PEG-Biotina (estructura mostrada a continuación) (véase la tabla 1)

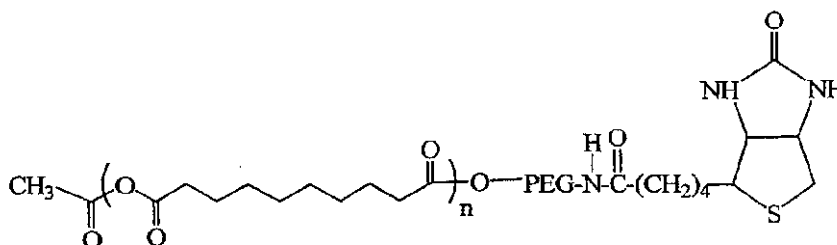


Tabla 1. Caracterización de PSA-PEG-Biotina

Polímero ^a	PSA-PEG-Biotina 95:5	PSA-PEG-Biotina 85:15	PSA-PEG-Biotina 75:25
Rendimiento (%)	85	86	72
PEG/SA (alimentación) Peso	5:95	15:85	25:75
^b PEG/SA (¹ H-RMN) Peso	5,4:94,6	16,3:83,7	25,8:74,2
^c DP _{PEG}	77	77	77
^d DP _{PSA}	354	104	58
Mw (kDa)	57,0	31,0	13,0
Mn (kDa)	16,4	14,2	5,7
PDI	3,5	2,2	2,2

^aLos polímeros se polimerizaron a 160°C, 0,05-0,06 torr durante 3 minutos.

^bEstimado de la altura integral de hidrógeno mostrada en los espectros de ¹H-RMN.

^cDP_{PEG}=(3400-17)/44=77

Los ^dDP_{PSA} se calcularon de ¹H-RMN.

5 Las microesferas se prepararon usando un método de disolvente de una sola emulsión. La separación de fases de PEG y PSA al formar las partículas asegura que la superficie de la partícula es rica en PEG modificado (por ejemplo, biotinilado) que permite la fácil unión de restos diana a las partículas a altas densidades. Se conjugó avidina Texas Red a micro- y nano-esferas y a continuación se obtuvieron imágenes de las partículas de PSA-PEG usando microscopía de fluorescencia. Los resultados mostraron que la avidina estaba unida con éxito a las partículas. De este modo, esta partícula se puede conjugar adicionalmente con biomoléculas deseables (por ejemplo, fármaco anticáncer) para proporcionar partículas con características deseadas (véase la Figura 8).

Referencias

10 Todas las publicaciones y patentes mencionadas aquí, se incorporan por ello como referencia en su totalidad como si cada publicación o patente individual se indicara específica e individualmente que se incorpora como referencia.

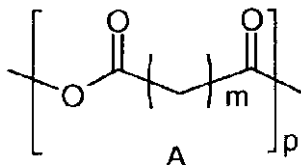
Equivalentes

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar, usando no más que experimentación rutinaria, muchos equivalentes de las realizaciones específicas de la invención.

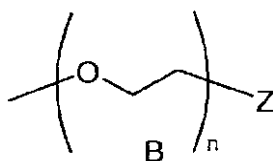
REIVINDICACIONES

1. Un copolímero de bloques de poli(éter-anhídrido) funcionalizado en un extremo, que comprende:

(a) un diácido de Fórmula A;



5 (b) un polietilenglicol (PEG) de Fórmula B;



y

(c) un grupo terminal Z en el PEG que no se polimeriza con el diácido;

en el que, n es, independientemente para cada caso, un número entero de 4-10.000;

10 y

m es, independientemente para cada caso, un número entero de 4 a 20;

y p es, independientemente para cada caso, un número entero ≥ 1 .

2. El polímero de la reivindicación 1, en el que:

m es, independientemente para cada caso, un número entero de 4 a 12; y,

15 p es, independientemente para cada caso, un número entero de 5-10.000.

3. El polímero de la reivindicación 1, en el que m es, independientemente para cada caso, 8.

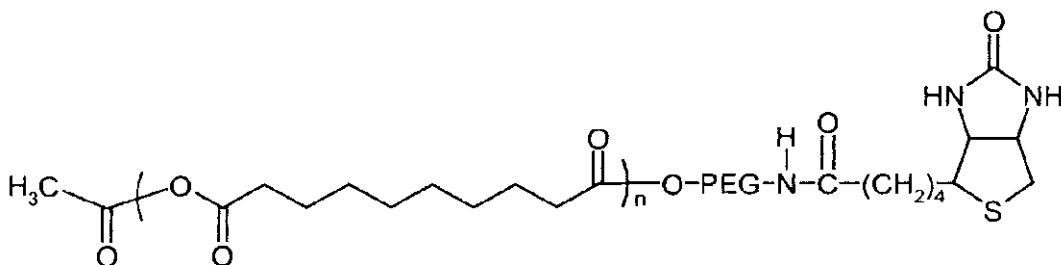
4. El polímero de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que Z es Biotina-NH.

5. El polímero de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que las subunidades de Fórmula A comprenden entre 10% y 99% en peso del polímero y la subunidad de Fórmula B comprende entre 1 y 90% en peso del polímero.

20

6. El polímero de la reivindicación 5, en el que las subunidades de Fórmula A comprenden entre 15-98% en peso del polímero y la subunidad de Fórmula B comprende entre 2-60% en peso del polímero.

7. El polímero de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:

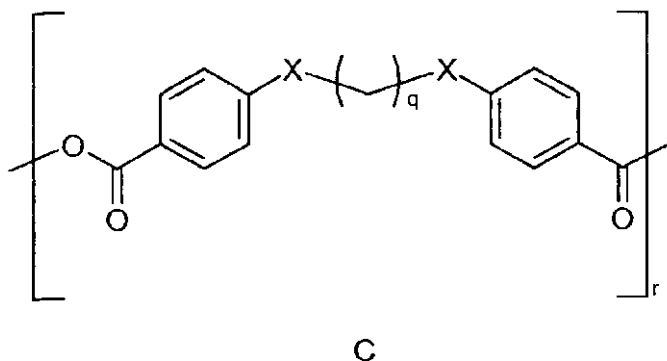


25 8. El polímero de la reivindicación 7, en el que la relación en peso de poli(ácido sebácico) a PEG-Biotina se

selecciona de 95:5, 85:15, 75:25, y 50:50.

9. El polímero de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente:

(c) subunidades de un diácido de Fórmula C:



5 en la que:

X está ausente o, independientemente para cada caso, representa un heteroátomo seleccionado de NR, O, y S;

q es, independientemente para cada caso, un número entero de 1 a 20; y

r es, independientemente para cada caso, un número entero ≥ 1 .

10. El polímero de la reivindicación 9, en el que:

10 X está ausente en cada caso;

q es 3 o 6; y

r es, independientemente para cada caso, un número entero de 5-10.000.

11. El polímero de la reivindicación 9, en el que las subunidades de Fórmula A comprenden entre 10-98% en peso del polímero, la subunidad de Fórmula B comprende entre 1-80% en peso del polímero, y la subunidad de Fórmula C comprende entre 1-95% en peso del polímero.

12. El polímero de la reivindicación 1, en el que el polímero tiene un Mw de por lo menos 10.000 dalton.

13. El polímero de la reivindicación 12, en el que el polímero tiene un Mw de por lo menos 25.000 dalton.

14. Un polímero de la reivindicación 1, en el que las subunidades de Fórmula B tienen un peso molecular de por lo menos 1.000 dalton.

15. Una partícula formada del polímero de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

16. Una partícula de la reivindicación 15 en la que dicha partícula es una microesfera o nanoesfera.

17. Una composición farmacéutica, que comprende: un polímero de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que el polímero encapsula un agente seleccionado de: un agente terapéutico, un agente de diagnóstico, un agente de obtención de imágenes, y un adyuvante.

18. Una composición farmacéutica, que comprende: un polímero de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

19. La composición farmacéutica de la reivindicación 18, en la que el polímero se formula como microesferas o nanoesferas.

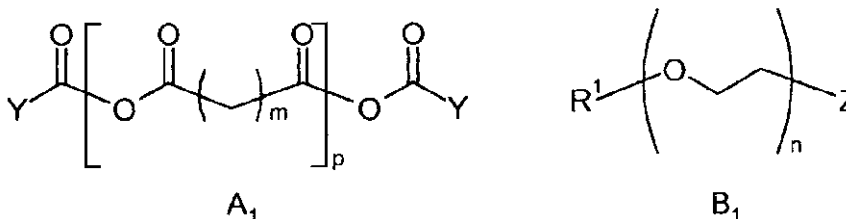
20. La composición farmacéutica de la reivindicación 19, en la que las microesferas son apropiadas para administración por inhalación.

21. Un inhalador, que comprende: la composición farmacéutica de la reivindicación 20.

22. La composición de la reivindicación 18 para su uso para tratar, prevenir o diagnosticar un estado de un paciente.

23. Un método para preparar un polímero de la reivindicación 1, que comprende:

(a) combinar monómeros de Fórmula A₁ y B₁; y



(b) hacer reaccionar la mezcla a una temperatura y tiempo suficientes para formar un polímero, en el que:

5 R¹, independientemente para cada caso, se selecciona de H;

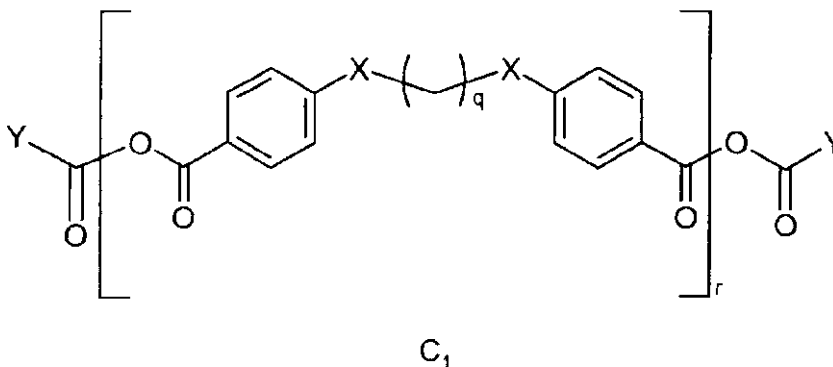
Y, independientemente para cada caso, se selecciona de H, y alquilo de C₁₋₈;

Z es un grupo funcional que no se polimeriza con el prepolímero de Fórmula A;

m es, independientemente para cada caso, un número entero de 4 a 20; n es, independientemente para cada caso, un número entero de 4 a 10.000; y, p es, independientemente para cada caso, un número entero ≥ 1.

10 24. El método de la reivindicación 23, en el que p es, independientemente para cada caso, un número entero de 5-10.000,

25. El método de la reivindicación 23, en el que (a) comprende adicionalmente: combinar monómero de Fórmula C₁ con monómeros de Fórmula A₁ y B₁;



15 en la que:

X está ausente o, independientemente para cada caso, es un heteroátomo seleccionado de NR, O, y S;

q es, independientemente para cada caso, un número entero de 1 a 20; y,

r es, independientemente para cada caso, un número entero ≥ 1.

20 26. El método de la reivindicación 25, en el que r es, independientemente para cada caso, un número entero de 5-10.000.

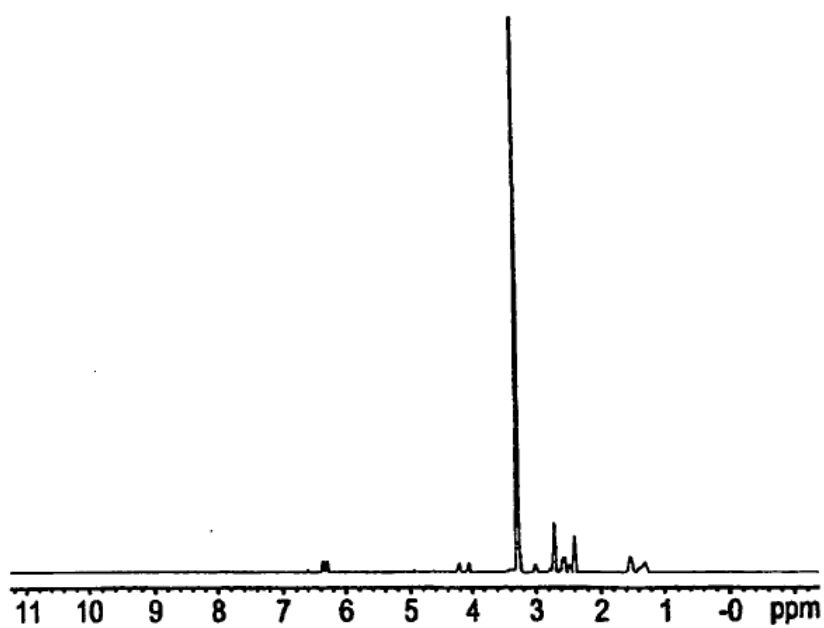


FIG. 1

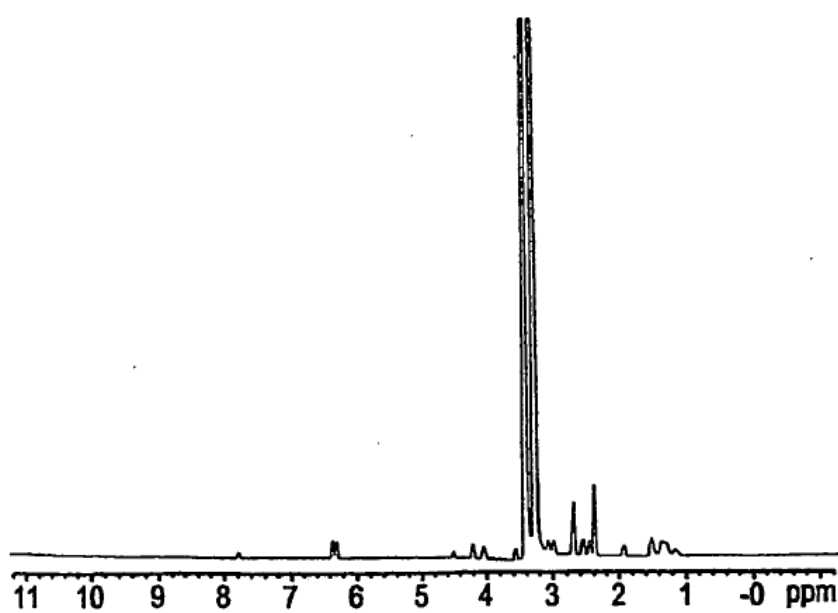


FIG. 2

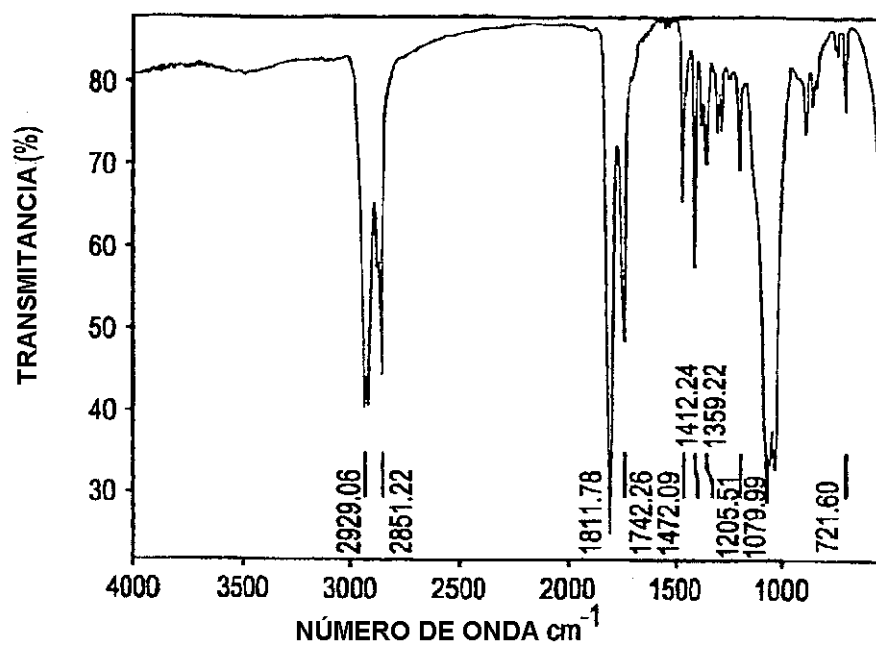


FIG. 3

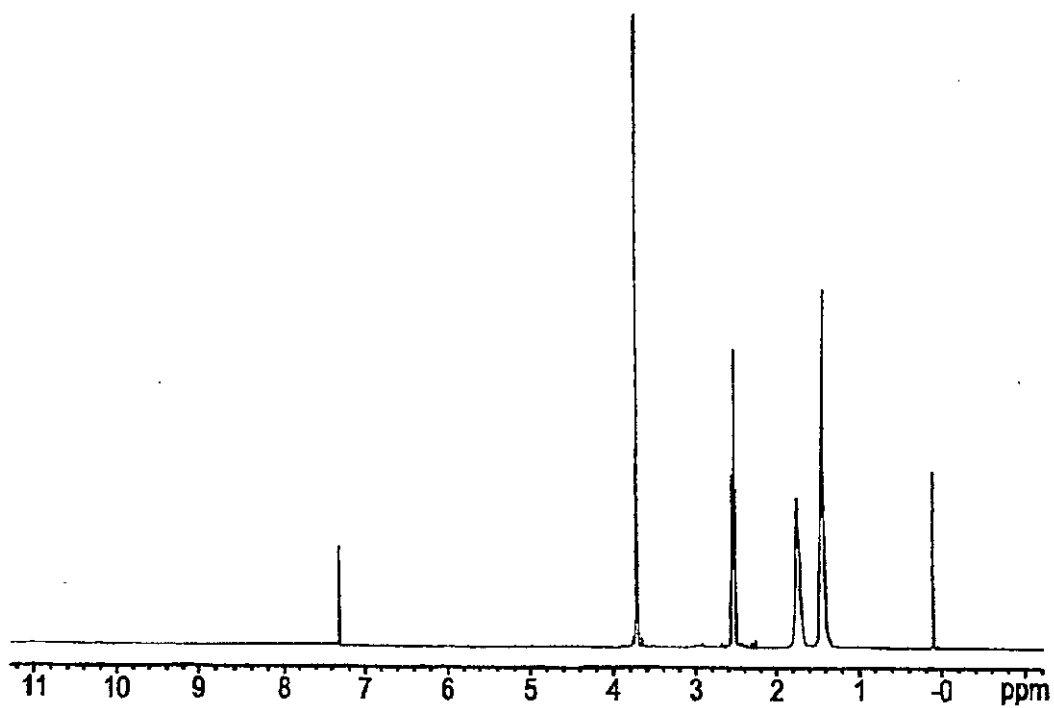


FIG. 4

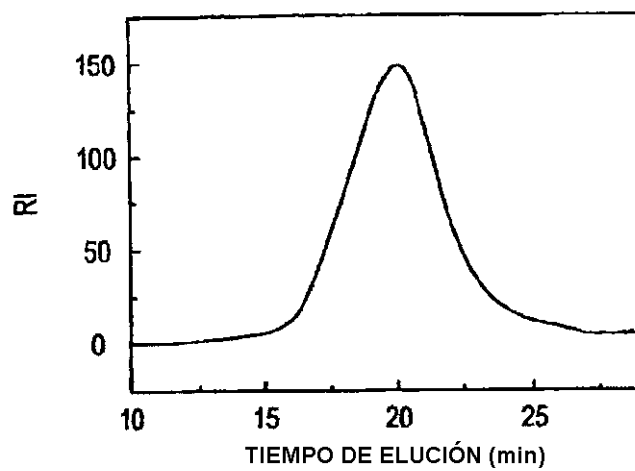


FIG. 5

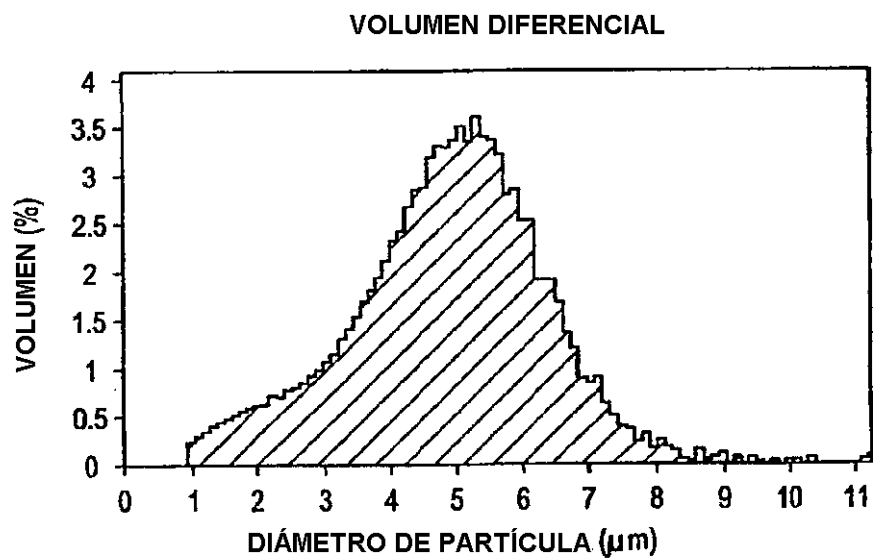


FIG. 6

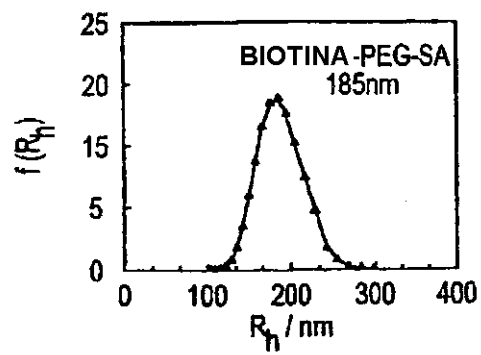


FIG. 7

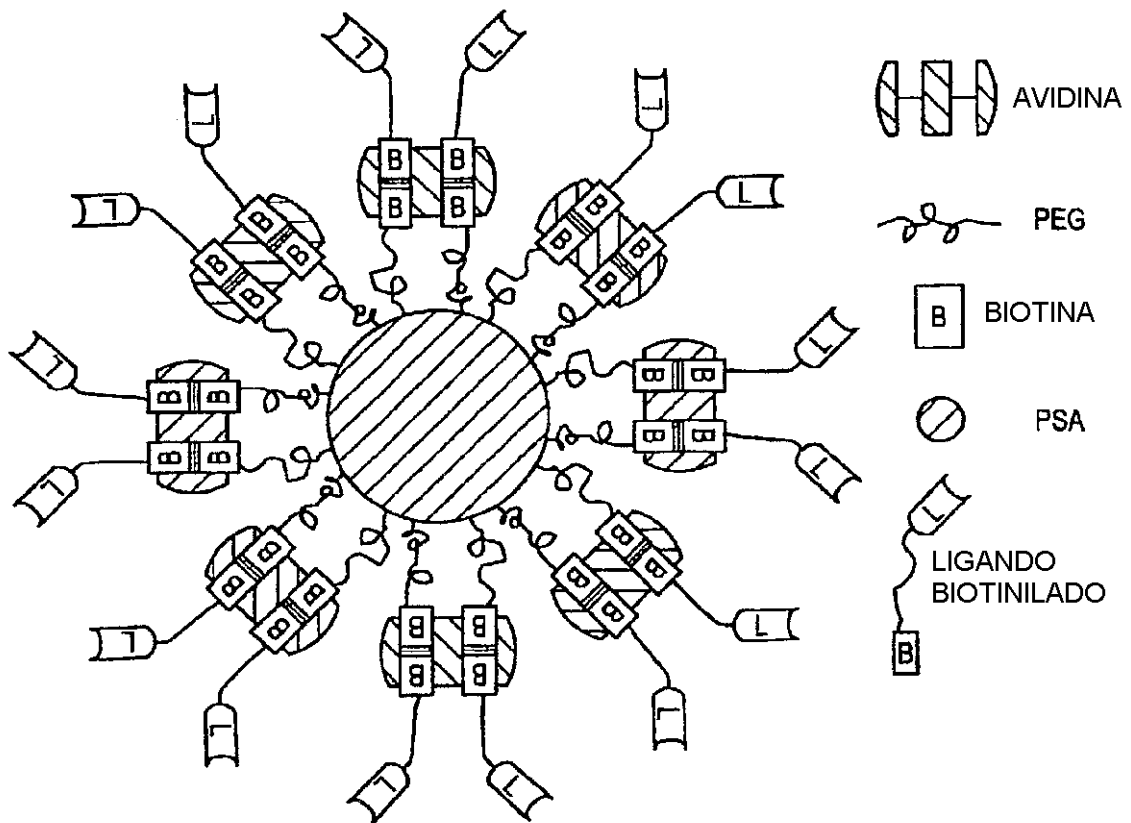


FIG. 8