

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 357**

51 Int. Cl.:

C08G 69/44 (2006.01)

C08L 77/12 (2006.01)

A61K 47/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2012 E 12729623 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2015 EP 2723800**

54 Título: **Micro- o nanopartículas que comprenden un copolímero de poliésteramida biodegradable para uso en el suministro de agentes bioactivos**

30 Prioridad:

23.06.2011 EP 11171191

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

03.02.2016

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**MIHOV, GEORGE y
ZUPANCICH, JOHN ANDREW**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 558 357 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).

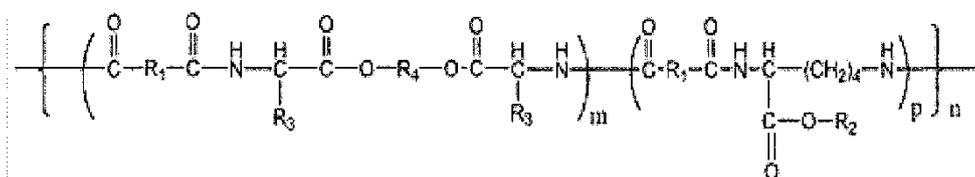
DESCRIPCIÓN

Micro- o nanopartículas que comprenden un copolímero de poliesteramida biodegradable para uso en el suministro de agentes bioactivos

5 La presente invención se refiere a partículas que comprenden copolímeros de poliesteramida. La presente invención también se refiere a las partículas para uso en aplicaciones médicas, especialmente para uso en el suministro de agentes bioactivos.

10 Las poliesteramidas biodegradables son conocidas en la técnica, en particular se conocen poliesteramidas (PEA) a base de diéster de α -aminoácido-diol a partir de G. Tsitlanadze, et al. J. Biomater. Sci. Polym. Edn. (2004) 15:1-24. Estas poliesteramidas proporcionan una variedad de propiedades físicas y mecánicas así como perfiles biodegradables que se pueden ajustar variando tres componentes en los bloques de construcción durante su síntesis: aminoácidos de origen natural y, por lo tanto, alfa-aminoácidos hidrófobos, dioles grasos no tóxicos y ácidos dicarboxílicos alifáticos.

El documento WO2002/18477 se refiere específicamente a copolímeros de poliesteramidas (PEA) a base de diéster de alfa-aminoácido-diol de fórmula I, denominados posteriormente como PEA-I,



15

Fórmula I

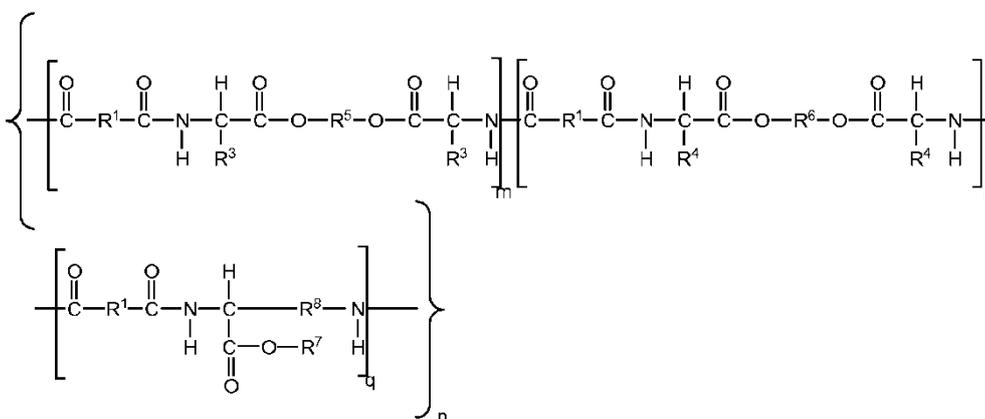
en la que

m varía de 0,1 a 0,9; p varía de 0,9 a 0,1; n varía de 50 a alrededor de 150;

- cada R1 es independientemente alquileo (C₁-C₂₀);
- 20 - cada R₂ es independientemente hidrógeno o aril (C₆-C₁₀)-alquilo (C₁-C₆);
- cada R₃ es independientemente hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alqueno (C₂-C₆), alquino (C₂-C₆), o aril (C₆-C₁₀)-alquilo (C₁-C₆);y
- cada R₄ es independientemente alquileo (C₂-C₂₀).

25 PEA-I es un copolímero al azar que comprende m unidades construidas sobre alfa-aminoácidos, dioles y ácidos dicarboxílicos alifáticos, que se copolimerizan con p unidades construidas sobre un ácido dicarboxílico alifático y L-lisina.

El documento WO2007035938 describe partículas basadas en copolímeros al azar de PEA según la Fórmula II que comprenden al menos dos restos diólicos alifáticos saturados o insaturados lineales en dos diésteres a base de bis(α -aminoácido)-diol.

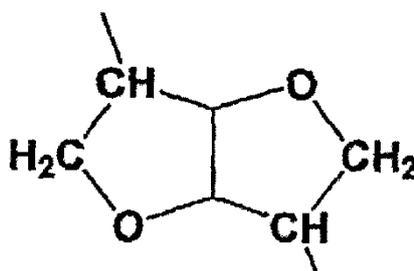


30

Fórmula II

en la que

- m es 0,01 a 0,99; p es 0,99 a 0,01; y q es 0,99 a 0,01; y en la que n es 5 a 100; en la que
- R₁ puede seleccionarse independientemente del grupo que consiste en alquileo (C₂-C₂₀), alquenileno (C₂-C₂₀), -(R₉-CO-O-R₁₀-O-CO-R₉)-, -CHR₁₁-O-CO-R₁₂-COOCR₁₁-, y combinaciones de los mismos;
- 5 - R₃ y R₄ en un comonomero individual m o p, respectivamente, se pueden seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alquenilo (C₂-C₆), alquinilo (C₂-C₆), arilo (C₆-C₁₀), alquilo (C₁-C₆), -(CH₂)SH, -(CH₂)₂S(CH₃), -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -(CH₂)₄NH₃⁺, -(CH₂)₃NHC(=NH₂⁺)NH₂, -CH₂COOH, -(CH₂)COOH, -CH₂-CO-NH₂, -CH₂CH₂-CO-NH₂, -- -CH₂CH₂COOH, CH₃-CH₂-CH(CH₃)-, (CH₃)₂-CH-CH₂-, H₂N-(CH₂)₄-, Ph-CH₂-, CH=C-CH₂-, HO-p-Ph-CH₂-, (CH₃)₂-CH-, Ph-NH-, NH-(CH₂)₃-C-, NH-CH=N-CH=C-CH₂-.
- 10 - R₅ se puede seleccionar del grupo que consiste en alquileo (C₂-C₂₀), alquenileno (C₂-C₂₀), alquiloxi u oligoetilenglicol;
- R₆ se puede seleccionar de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III);



Fórmula III

- 15 - R₇ puede ser hidrógeno, arilo (C₆-C₁₀), alquilo (C₁-C₆) o un grupo protector tal como bencilo o un agente bioactivo;
- R₈ puede ser independientemente alquilo (C₁-C₂₀) o alquenilo (C₂-C₂₀);
- R₉ o R₁₀ se puede seleccionar independientemente de alquileo de C₂-C₁₂ o alquenileno de C₂-C₁₂;
- 20 - R₁₁ o R₁₂ se puede seleccionar independientemente de H, metilo, alquileo de C₂-C₁₂ o alquenileno de C₂-C₁₂.

Si en el copolímero al azar de poliesteramida de Fórmula (II), m + p + q = 1, q = 0,25, p = 0,45, en el que R₁ es -(CH₂)₈; R₃ y R₄ en las unidades de la cadena principal m y p son leucina, -R₅ es hexano, y R₆ son fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III); R₇ es grupo bencilo y R₈ es -(CH₂)₄-; esta poliesteramida se denomina posteriormente como PEA-III-Bz. En el caso de que R₇ sea H, la poliesteramida se denomina posteriormente como PEA-III-H.

En el caso de que m + p + q = 1, q = 0,25, p = 0,75 y m = 0, en el que R₁ es -(CH₂)₄; R₃ es (CH₃)₂-CH-CH₂-, R₇ es bencilo, R₈ es -(CH₂)₄; y R₆ se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III), la poliesteramida se denomina posteriormente como PEA-IV-Bz; en el caso de que R₇ sea H, la poliesteramida se denomina posteriormente como PEA-IV-H.

El documento WO2007035938 describe adicionalmente que las poliesteramidas, y las partículas hechas de las mismas, facilitan la liberación *in vivo* de agentes bioactivos dispersados en el polímero, a una velocidad de liberación controlada, que es específica y constante durante un periodo prolongado. Se describe además que la PEA se rompe *in vivo* vía enzimas para producir α-aminoácidos biológicos con la ruptura de productos que son sustancialmente no inflamatorios. También, el documento WO2011045443 describe las poliesteramidas según la Fórmula II anterior en revestimientos.

Sin embargo, en algunas áreas médicas existe la necesidad de polímeros y formas de suministro de fármacos, tales como partículas que comprenden polímeros que se degradan hidrolíticamente en lugar de enzimáticamente. Esta necesidad existe, por ejemplo, en oftalmología, en la que el suministro de fármacos de manera intraocular es un problema particular. El ojo se divide en dos cámaras; el segmento anterior, que es la parte frontal del ojo, y el segmento posterior, que es la parte trasera del ojo. En la parte trasera del ojo, en el vítreo, hay pocas enzimas o ninguna, de manera que, por ejemplo, las partículas a base de poliesteramidas degradables enzimáticamente no se degradarán o se degradarán muy lentamente. Si las partículas se degradan muy lentamente, la liberación de los agentes bioactivos también estará influida negativamente.

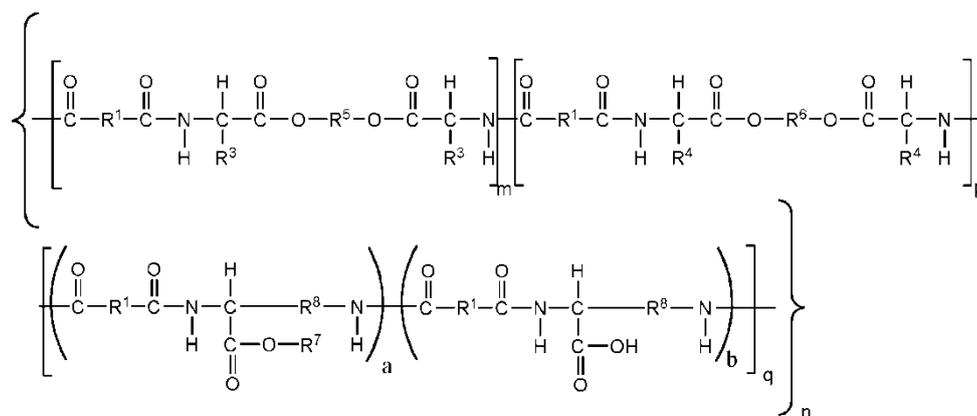
Además del aspecto de la degradación enzimática, se ha observado adicionalmente que las partículas, tales como

micro- y nanopartículas que comprenden las poliesteramidas mencionadas anteriormente, tales como PEA-III-Bz, tienden a agregarse cuando se exponen a un medio acuoso. Estas propiedades podrían tener un efecto negativo sobre la redispersabilidad e inyectabilidad de las partículas y, respectivamente, en la administración de tales partículas para los fines del suministro de fármacos. Además, la agregación y aglomeración de las partículas daría como resultado un cambio del área superficial eficaz de las partículas, impactando directamente sobre la velocidad de liberación del fármaco de una manera impredecible y apenas reproducible.

De este modo, todavía existe la necesidad en la técnica de un sistema de suministro de partículas nuevo y mejor que comprenda poliesteramidas biodegradables que proporcione el suministro continuado de agentes bioactivos durante un período de tiempo sostenido, y que además elimine las desventajas mencionadas anteriormente de la agregación de partículas.

El objeto de la presente invención es por lo tanto proporcionar micro- y nanopartículas que comprenden copolímeros de poliesteramidas biodegradables que eliminen las desventajas mencionadas anteriormente.

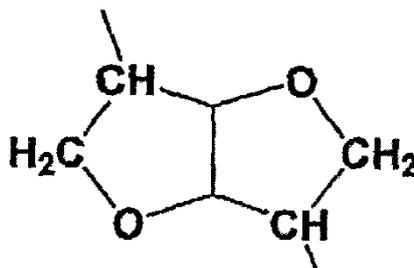
El objeto de la presente invención se logra proporcionando micro- y nanopartículas que comprenden un copolímero de poli(esteramida) (PEA) biodegradable según la fórmula estructural (IV),



Fórmula IV

en la que

- m + p varía de 0,9-0,1 y q varía de 0,1 a 0,9
- m + p + q = 1, en el que m o p podrían ser 0
- n es alrededor de 5 a alrededor de 300;
- R₁ se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquileo (C₂-C₂₀), alquenileno (C₂-C₂₀),
- R₃ y R₄ en una única unidad m o p de la cadena principal, respectivamente, se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alquenilo (C₂-C₆), alquililo (C₂-C₆), arilo (C₆-C₁₀), -(CH₂)SH, -(CH₂)₂S(CH₃), -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -(CH₂)₄NH₃⁺, -(CH₂)₃NHC(=NH₂⁺)NH₂, -CH₂COOH, -CH₂-CO-NH₂, -CH₂CH₂-CO-NH₂, -CH₂CH₂COOH, CH₃-CH₂-CH(CH₃)-, (CH₃)₂-CH-CH₂-, H₂N-(CH₂)₄-, Ph-CH₂-, CH=C-CH₂-, HO-p-Ph-CH₂-, (CH₃)₂-CH-, Ph-NH-, NH₂-CH=N-CH=CH-CH₂-;
- R₅ se selecciona del grupo que consiste en alquileo (C₂-C₂₀), alquenileno (C₂-C₂₀),
- R₆ se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III);



Fórmula III

30

- R₇ consiste en aril (C₆-C₁₀)-alquilo (C₁-C₆)
- R₈ es -(CH₂)₄-;

en la que a es al menos 0,05, b es al menos 0,05, y a + b = 1.

5 Sorprendentemente, se ha encontrado que las micro- o nanopartículas que comprenden las poliesteramidas biodegradables de fórmula IV, en las que están presentes tanto L-Lisina-H así como también L-Lisina-bencilo (en lo sucesivo denominadas PEA-H/Bz), proporcionan propiedades inesperadas en términos de propiedades de liberación, degradación y agregación. SE ha encontrado que las micro- o nanopartículas que comprenden copolímeros de PEA-H/Bz proporcionan una liberación sostenida de agentes bioactivos y se degradan hidrolíticamente en condiciones fisiológicas vía un mecanismo de erosión masivo, en contraste con los polímeros de PEA conocidos en la técnica anterior que se degradan solamente en presencia de ciertas clases de enzimas mediante erosión de la superficie.

10 Incluso es más inesperado que las micro- o nanopartículas de las poliesteramidas biodegradables de Fórmula IV no se agregan en entorno acuoso, incluso cuando se exponen a temperatura por encima de su T_g húmeda durante un período prolongado. La temperatura de transición vítrea (T_g) ("húmeda") es la temperatura de transición vítrea cuando la poliesteramida se expone a un entorno acuoso.

15 Por ejemplo, PEA-III-Bz de fórmula II, en la que m + p + q = 1, q = 0,25, p = 0,45 y m = 0,3, en la que R₁ es -(CH₂)₈; R₄ y R₃ son (CH₃)₂-CH-CH₂-, R₇ es bencilo, R₈ es -(CH₂)₄, y R₆ se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III), es un polímero con una "temperatura de transición vítrea húmeda" de alrededor de 24°C según se determina tras la exposición a un tampón de PBS 0,1 M a 37°C. Las partículas de este polímero se prepararon vía técnica de emulsión de agua/aceite/agua (w/o/w) estándar, se dispersaron en tampón de PBS 0,1 M y se conservaron a 37°C. Ya a las 24 horas las partículas comenzaron a formar agregados, se fusionaron en una etapa posterior y se convirtieron en una masa sin forma. Estas propiedades también son representativas para la poliesteramida de la técnica anterior como se describe, por ejemplo, en el documento WO2007035938.

20 Como alternativa, cuando se prepararon micro- o nanopartículas análogas a partir de copolímeros al azar de PEA-III-H/Bz 50%H de fórmula IV, en la que m + p + q = 1, q = 0,25, p = 0,45 y m = 0,3, a es 0,5, a + b = 1 y en la que R₁ es -(CH₂)₈, R₄ y R₃ son -(CH₃)₂-CH-CH₂-, R₇ es bencilo, R₈ es -(CH₂)₄, y R₆ se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III) con una temperatura de transición vítrea "húmeda" de 21°C, las partículas obtenidas no se agregaron en la disolución durante todo el tiempo experimental de 21 días.

25 Las T_g "húmedas" mencionadas anteriormente se determinaron llevando a cabo ensayos de rampa de temperatura desde 45 hasta 0°C (enfriamiento a 5°C/min.) a una frecuencia angular de 1 Hz (6,28 rad/s) y un esfuerzo variable (habilitado el control de autoesfuerzo) con un valor inicial de 0,1%. El espacio se controló manualmente para asegurar una fuerza axial constante (compresión) en la muestra (F_N ~30 gramos). Esta fuerza compresiva constante es necesaria para prevenir una pérdida de contacto entre la muestra y las placas paralelas. La Figura 5 da una representación esquemática de la geometría como se usó para la medida de la T_g "húmeda".

30 También las propiedades de degradación de las micro- o nanopartículas que comprenden los copolímeros de PEA-H/Bz según la presente invención son notablemente diferentes de las propiedades de degradación de los polímeros de la técnica anterior tales como PEA-I, PEA-III, PEA-IV o PLGA. Se ha encontrado que las micro- o nanopartículas que comprenden los copolímeros de PEA-H/Bz parecen degradarse hidrolíticamente y principalmente vía un mecanismo de erosión de la superficie, mientras que las partículas de PEA conocidas se degradan principalmente vía un proceso de degradación enzimática y vía un mecanismo de erosión masivo. También otros polímeros de la técnica anterior, tales como PLGA o PLLA, parecen degradarse principalmente vía un mecanismo de erosión masivo. Esto se confirma en la Figura 1.

35 Una desventaja adicional en la degradación de, por ejemplo, las partículas de PLGA y PLLA es el hecho de que a menudo dan como resultado una caída de pH que es indeseable debido a que puede influir en la estabilidad del agente bioactivo a liberar desde las micro- o nanopartículas. Tras cuatro semanas de degradación, las partículas de PLGA comienzan a liberar productos de degradación muy ácidos que dan como resultado una caída del pH. Por el contrario, el pH de las micro- o nanopartículas de PEA-I-H/Bz no cambia a lo largo de todas 13 semanas. Parece que los grupos carboxílicos libres de la lisina y las especies ácidas generadas durante la degradación están en un equilibrio correcto para catalizar la escisión de los enlaces a lo largo de la cadena de poliesteramida sin comprometer las condiciones fisiológicas óptimas. A partir de los experimentos, se ha encontrado sorprendentemente que las micro- o nanopartículas de PEA-H/Bz no muestran una caída significativa del pH.

40 Los hallazgos anteriores confirman que las micro- o nanopartículas que comprenden las poliesteramidas de fórmula IV, en las que están presentes tanto L-Lisina-H así como L-Lisina-bencilo en una cierta relación, proporcionan propiedades sorprendentes abordando mejor las necesidades de micro- y nanopartículas en el suministro de fármacos.

45 En las siguientes realizaciones de la presente invención, n en la Fórmula IV varía preferiblemente de 50-200 y puede ser al menos 0,15, más preferiblemente al menos 0,5, lo más preferible 0,75, incluso más preferiblemente al menos

0,8.

5 En una realización, las micro- o nanopartículas que comprenden el copolímero de poliesteramida biodegradable según la Fórmula (IV) comprenden $p = 0$ y $m + q = 1$, en el que $m = 0,75$, $a = 0,5$ y $a + b = 1$, R_1 es $(CH_2)_8$, R_3 es $-(CH_3)_2-CH-CH_2-$, R_5 es hexilo, R_7 es bencilo y R_8 es $-(CH_2)_4-$. Esta poliesteramida se denomina como PEA-I-H/Bz 50%H.

10 En otra realización preferida de la presente invención, las micro- o nanopartículas que comprenden el copolímero de poliesteramida biodegradable según la Fórmula (IV) comprenden $m + p + q = 1$, $q = 0,25$, $p = 0,45$ y $m = 0,3$, en el que a es $0,5$ y $a + b = 1$ y en el que R_1 es $-(CH_2)_8$; R_3 y R_4 son respectivamente $-(CH_3)_2-CH-CH_2-$, R_5 se selecciona del grupo que consiste en alquileo (C_2-C_{20}), R_6 se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III); R_7 es bencilo y R_8 es $-(CH_2)_4$. Esta poliesteramida se denomina PEA-III-H/Bz 50%H.

15 En todavía una realización preferida adicional de la presente invención, las micro- o nanopartículas que comprenden el copolímero de poliesteramida biodegradable según la Fórmula (IV) comprenden $m + p + q = 1$, $q = 0,25$, $p = 0,45$ y $m = 0,3$, en el que a es $0,75$ y $a + b = 1$, R_1 es $-(CH_2)_8$; R_4 es $(CH_3)_2-CH-CH_2-$, R_7 es bencilo, R_8 es $-(CH_2)_4-$ y R_6 se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III). Esta poliesteramida se denomina PEA-III-H/Bz 25%H.

20 En aún otra realización preferida de la presente invención, las micro- o nanopartículas que comprenden el copolímero de poli(esteramida) biodegradable según la Fórmula (IV) comprenden $m + p + q = 1$, $q = 0,1$, $p = 0,30$ y $m = 0,6$, en el que $a = 0,5$ y $a + b = 1$. R_1 es $-(CH_2)_4$; R_3 y R_4 son respectivamente $(CH_3)_2-CH-CH_2-$; R_5 se selecciona del grupo que consiste en alquileo (C_2-C_{20}), R_7 es bencilo, R_8 es $-(CH_2)_4-$ y R_6 se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III). Esta poliesteramida se denomina PEA-II-H/Bz 50%H.

Como se usa aquí, el término "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada que incluye metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-hexilo, y similar.

25 Como se usa aquí, el término "alquileo" se refiere a una cadena hidrocarbonada ramificada o no ramificada, divalente, que contiene al menos un enlace insaturado en la cadena principal o en una cadena lateral.

Como se usa aquí, el término "alquenilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada que contiene al menos un enlace insaturado en la cadena principal o en una cadena lateral.

30 Como se usa aquí, el término "alquenileno" se refiere a fórmulas estructurales aquí para significar una cadena hidrocarbonada ramificada o no ramificada, divalente, que contiene al menos un enlace insaturado en la cadena principal o en una cadena lateral.

Como se usa aquí, "alquínilo" se refiere a grupos hidrocarbonados de cadena lineal o ramificada que tienen al menos un triple enlace carbono-carbono.

35 El término "arilo" se usa con referencia a fórmulas estructurales aquí para representar un radical fenilo o un radical carbocíclico bicíclico condensado en orto que tiene alrededor de nueve a diez átomos anulares, en el que al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo, y nitrofenilo.

40 El término "biodegradable" se refiere a material que es capaz de ser degradado o erosionado completa o sustancialmente cuando se expone a un entorno in vivo o a un representante in vitro. Un polímero es capaz de ser degradado o erosionado cuando se puede romper gradualmente, reabsorber, absorber y/o eliminar, por ejemplo, mediante hidrólisis, enzimólisis, oxidación, procesos metabólicos, erosión masiva o superficial, y similar, en un sujeto. Los términos "bioabsorbible" y "biodegradable" se usan en esta solicitud de forma intercambiable.

La expresión "copolímero al azar", como se usa aquí, se refiere a la distribución de las unidades m , p y q de la poliesteramida de fórmula (IV) en una distribución al azar.

Como se usa aquí, las partículas incluyen micro- o nanopartículas.

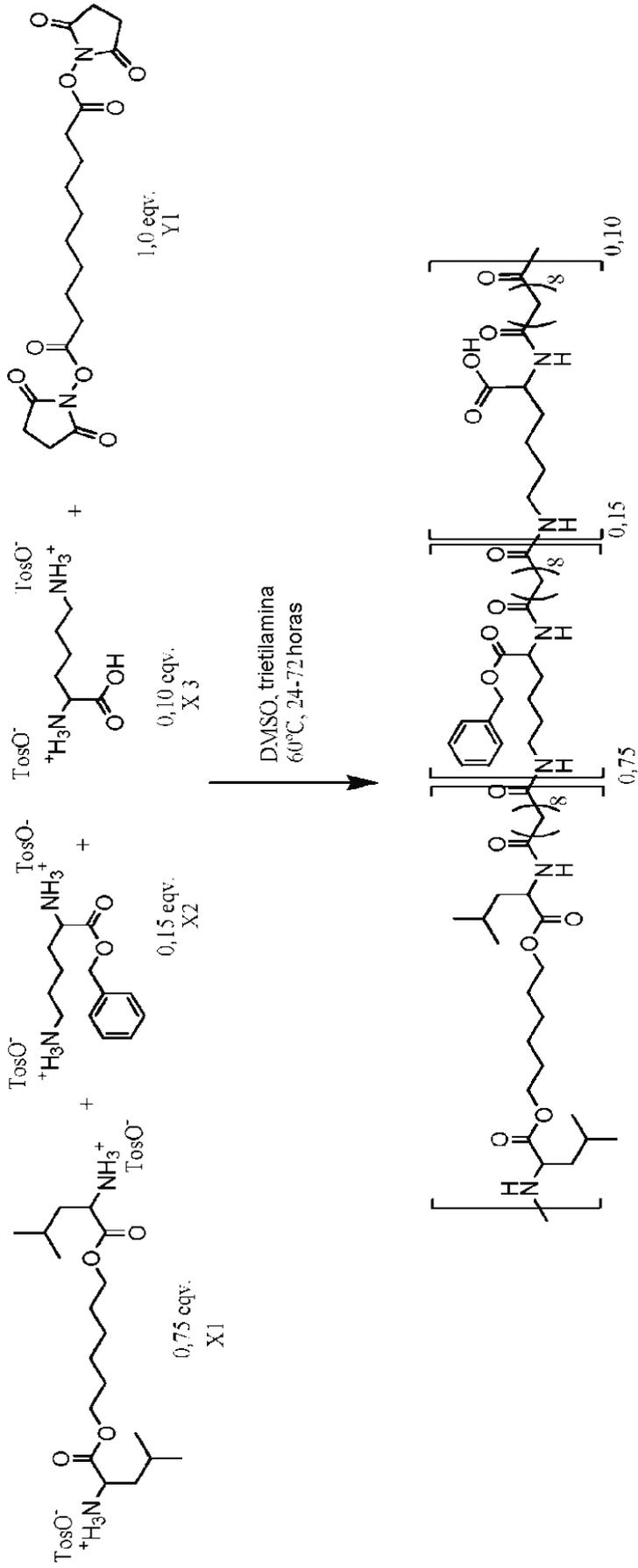
45 Al menos uno de los alfa-aminoácidos usados en los copolímeros de poliesteramida según la fórmula (IV) es un alfa-aminoácido natural. Por ejemplo, cuando los R_3 s o R_4 s son bencilo, el alfa-aminoácido natural usado en la síntesis es L-fenilalanina. En alternativas en las que los R_3 s o R_4 s son $-CH_2-CH(CH_3)_2$, el copolímero contiene el aminoácido natural leucina. Variando independientemente los R_3 s y R_4 s dentro de variaciones de los dos comonomeros como se describe aquí, también se pueden usar otros alfa-aminoácidos naturales, por ejemplo glicina (cuando el R_3 o R_4 son H), alanina (cuando el R_3 o R_4 son CH_3), valina (cuando el R_3 o R_4 son $-CH(CH_3)_2$), isoleucina (cuando el R_3 o R_4 son $-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$), fenilalanina (cuando el R_3 o R_4 son $CH_2-C_6H_5$), lisina (cuando el R_3 o R_4 son $(CH_2)_4-NH_2$), o metionina (cuando los R_3 s o R_4 s son $-(CH_2)_2S(CH_3)$, y mezclas de los mismos.

Los copolímeros de poliesteramida de Fórmula (IV) tienen preferiblemente un peso molecular medio numérico (M_n) que oscila de 15.000 a 200.000 Daltons. Los copolímeros de poliesteramida descritos aquí se pueden fabricar en una variedad de pesos moleculares y una variedad de proporciones relativas de las unidades m , p , y q en la cadena

principal. El peso molecular apropiado para un uso particular se determina fácilmente por un experto en la técnica. Un Mn adecuado estará en el orden de alrededor de 15.000 a alrededor de 100.000 Daltons, por ejemplo de alrededor de 30.000 a alrededor de 80.000, o de alrededor de 35.000 a alrededor de 75.000. Mn se mide vía GPC en THF con poliestireno como patrón.

- 5 El procedimiento de polimerización básico de poliesteramidas se basa en el procedimiento descrito por G. Tsitlanadze, et al. J. Biomater. Sci. Polym. Edn. (2004) 15:1-24; sin embargo, se usaron bloques de construcción y grupos activantes diferentes.

- 10 Las poliesteramidas de Fórmula (IV) se sintetizan, por ejemplo, como se muestra en el esquema 1; vía policondensación en disolución de sales diamínicas de para-toluenosulfonato (X1, X2, X3) con diácidos activados (Y1). Típicamente, como disolvente se usan dimetilsulfóxido o dimetilformamida. Típicamente, como base, se añade trietilamida, la reacción se lleva a cabo en una atmósfera inerte a 60°C durante 24-72 horas con agitación constante. Subsiguientemente, la mezcla de reacción obtenida se purifica vía una precipitación con agua, seguido de una precipitación y filtración orgánica. El secado a presión reducida produce la poliesteramida.



Esquema 1: representación esquemática del procedimiento de polimerización de PEA, incluyendo algunos monómeros típicos.

Típicamente, el diámetro medio de las micropartículas dado por la teoría de Fraunhofer en porcentaje en volumen oscila de 10 nm a 1000 μm . El diámetro medio preferido depende del uso pretendido. Por ejemplo, en el caso de que las micropartículas estén destinadas al uso como un sistema de suministro de fármacos inyectable, en particular como un sistema de suministro de fármacos intravascular, puede ser deseado un diámetro medio de 1-40 μm , más preferiblemente puede ser deseado un diámetro medio de 20-40 μm .

Se concibe que las partículas con un diámetro medio menor que 1000 nm sean nanopartículas. Típicamente, para los fines intracelulares, son útiles nanopartículas con un tamaño menor que 800 nm, en particular menor que 500 nm. Para tales fines, el diámetro medio oscila preferiblemente de 50-500 nm, más preferiblemente oscila de 100-300 nm.

En otras aplicaciones pueden ser deseables dimensiones más grandes, preferiblemente un diámetro medio en el intervalo de 1-100 μm , o incluso 1-1000 μm . Preferiblemente, el diámetro medio de las micropartículas oscila de 10-100 μm . Más preferiblemente, el diámetro medio de las micropartículas oscila de 20-60 μm . Incluso más preferiblemente, el diámetro medio de las micropartículas oscila de 20-40 μm . En particular, el diámetro de las partículas como se usa aquí es el diámetro según se determina mediante un Malven Mastersizer 2000. Las partículas se pueden definir y clasificar de diversas maneras diferentes, dependiendo de su estructura específica, tamaño, o composición; véase, por ejemplo, Encyclopaedia of Controlled drug delivery Vol2 M-Z Index, Chapter: Microencapsulation Wiley Interscience, página 493-496.

Si las partículas son demasiado pequeñas o no analizables mediante dispersión de luz, que puede ser el caso con nanopartículas debido a sus propiedades ópticas, entonces se puede usar la microscopía electrónica de barrido (SEM) o la microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Las micro- y nanopartículas de la presente invención se pueden usar como un sistema de suministro para agentes bioactivos, pero también para el suministro de auxiliares de diagnóstico o agentes formadores de imágenes.

Las micro- o nanopartículas según la presente invención pueden comprender uno o más agentes bioactivos. El agente o agentes bioactivos se pueden dispersar más o menos homogéneamente en las micro- o nanopartículas. El agente bioactivo también puede estar localizado en el núcleo o en la corteza de las micro- o nanopartículas.

En particular, el agente bioactivo se puede seleccionar del grupo de nutrientes, sustancias farmacéuticas, fármacos de pequeñas moléculas, proteínas y péptidos, vacunas, materiales genéticos (tales como polinucleótidos, oligonucleótidos, plásmidos, ADN y ARN), agentes de diagnóstico, y agentes formadores de imágenes. El agente bioactivo, tal como un ingrediente farmacológico bioactivo (API), puede demostrar cualquier tipo de actividad, dependiendo del uso pretendido.

El agente bioactivo puede ser capaz de estimular o suprimir una respuesta biológica. El agente bioactivo se puede escoger, por ejemplo, de factores de crecimiento (VEGF, FGF, MCP-1, PIGF, antibióticos (por ejemplo, penicilinas tales como B-lactamas, cloranfenicol), compuestos antiinflamatorios, compuestos antitrombogénicos, fármacos anti-claudicación, fármacos anti-arrítmicos, fármacos anti-ateroscleróticos, antihistaminas, fármacos contra el cáncer, fármacos vasculares, fármacos oftálmicos, aminoácidos, vitaminas, hormonas, neurotransmisores, neurohormonas, enzimas, moléculas de señalización y medicamentos psicoactivos.

Los agentes bioactivos pueden tener propiedades antiproliferativas o antiinflamatorias, o pueden tener otras propiedades tales como propiedades antineoplásicas, antiplaquetarias, anticoagulantes, antifibrina, antitrombóticas, antimitóticas, antibióticas, antialérgicas, o antioxidantes. Los ejemplos de agentes antiproliferativos incluyen rapamicina y sus derivados funcionales o estructurales, 40-O-(2-hidroxi)etil-rapamicina (everolimus), y sus derivados funcionales o estructurales, paclitaxel y sus derivados funcionales y estructurales. Los ejemplos de derivados de rapamicina incluyen ABT-578, 40-O-(3-hidroxi)propilrapamicina, 40-O-[2-(2-hidroxi)etoxi]etil-rapamicina, y 40-O-tetrazol-rapamicina. Los ejemplos de derivados de paclitaxel incluyen docetaxel. Los ejemplos de antineoplásicos y/o antimitóticos incluyen metotrexato, azatioprina, vincristina, vinblastina, fluorouracilo, hidrocortisona de doxorubicina (por ejemplo, Adriamicina(R) de Pharmacia AND Upjohn, Peapack NJ.), y mitomicina (por ejemplo Mutamicina(R) de Bristol-Myers Squibb Co., Stamford, Conn.). Los ejemplos de tales antiplaquetarios, anticoagulantes, antifibrinas, y antitrombinas incluyen heparina sódica, heparinas de bajo peso molecular, heparinoides, hirudina, argatroban, forscolina, vapirost, prostaciclina y análogos de prostaciclina, dextrano, D-phe-pro-arg-clorometilcetona (antitrombina sintética), dipiridamol, anticuerpo antagonista del receptor de glicoproteína Hb/nia de la membrana plaquetaria, hirudina recombinante, inhibidores de trombina tales como Angiomax (Biogen, Inc., Cambridge, Mass.), bloqueadores de los canales de calcio (tales como nifedipina), colchicina, antagonistas del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), aceite de pescado (ácido graso omega 3), antagonistas de histamina, lovastatina (un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un fármaco reductor del colesterol, marca Mevacor(R) de Merck AND Co., Inc., Whitehouse Station, NJ), anticuerpos monoclonales (tales como aquellos específicos para receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)), nitroprusuro, inhibidores de fosfodiesterasas, inhibidores de prostaglandinas, suramina, bloqueadores de serotonina, esteroides, inhibidores de tioproteasas, triazolopirimidina (un antagonista de PDGF), superóxido dismutasas, mimético de superóxido dismutasa, 4-amino-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oxilo (4-amino-TEMPO), estradiol, agentes contra el cáncer, suplementos dietéticos tales como diversas vitaminas, y una combinación de los mismos. Los ejemplos de agentes antiinflamatorios, incluyendo agentes antiinflamatorios

esteroideos y no esteroideos, incluyen biolimus, tacrolimus, dexametasona, clobetasol, corticosteroides, o combinaciones de los mismos. Los ejemplos de tales sustancias citostáticas incluyen angiopeptina, inhibidores de enzima convertidora de angiotensina tales como captoprilo (por ejemplo Capoten(R) y Capozida(R) de Bristol-Myers Squibb Co., Stamford, Conn.), cilazapril o lisinopril (por ejemplo Prinivilo(R) y Prinzida(R) de Merck AND Co., Inc., Whitehouse Station, NJ). Un ejemplo de un agente antialérgico es permirolast potásico. Otras sustancias o agentes terapéuticos que pueden ser apropiados incluyen alfa-interferón, pimecrolimus, mesilato de imatinib, midostaurina, y células epiteliales modificadas genéticamente mediante ingeniería.

Otros ejemplos de agentes bioactivos específicos son fármacos neurológicos (anfetamina, metilfenidato), antagonista de adrenorreceptores alfa1 (prazosina, terazosina, doxazosina, ketenserina, urapidilo), bloqueadores de alfa2 (arginina, nitroglicerina), hipotensivos (clonidina, metildopa, moxonidina, hidralazina minoxidilo), bradicinina, bloqueadores de receptores de angiotensina (benazeprilo, captoprilo, cilazeprilo, enalapril, fosinopril, lisinopril, perindopril, quinapril, ramipril, triolapril, zofenopril), bloqueadores de angiotensina-1 (ciesartán, eprosartán, irbesartán, losartán, telmisartán, valsartán), endopeptidasa (omapatrilato), agonistas de beta2 (acebutolol, atenolol, bisoprolol, celiprolol, esmodol, metoprolol, nebivolol, betaxolol), bloqueadores de beta2 (carvedilol, labetalol, oxprenolol, pindolol, propanolol) activos diuréticos (clortalidón, clortiazida, epitizida, hidroclortiazida, indapamida, amilorida, triamtereno), bloqueadores de canales de calcio (amlodipina, barnidipina, diltiazem, felodipina, isradipina, lacidipina, lercanidipina, nifedipina, nimodipina, nitrendipina, verapamilo), un agente activo antiarrítmico (amiodarona, solatol, diclofenaco, flecainida) o ciprofloxacina, latanoprost, flucloxacilina, rapamicina y análogos y derivados de limus, paclitaxel, taxol, ciclosporina, heparina, corticosteroides (acetónido de triamcinolona, dexametasona, acetónido de fluocinolona), anti-angiogénico (ARNi, antagonistas de VEGF: bevacizumab, ranibizumab, pegaptanib), factor de crecimiento, factor de transcripción de dedos de cinc, triclosán, insulina, salbutamol, estrógeno, norcantaridina, análogos de microlidilo, prostaglandinas, estatinas, condroitinasa, dicetopiperazinas, compuestos macrocíclicos, neuregulinas, osteopontina, alcaloides, inmunosupresores, anticuerpos, avidina, biotina, clonazepam. Las sustancias anteriores también se pueden usar en forma de profármacos o cofármacos de las mismas. Las sustancias anteriores también incluyen metabolitos de las mismas y/o profármacos de los metabolitos. Las sustancias anteriores se dan a título de ejemplo y no pretenden ser limitantes.

Según la presente invención, si está presente un agente bioactivo, la concentración de uno o más agentes bioactivos en las micro- o nanopartículas es preferiblemente al menos 1% en peso, basado en el peso total de las micro- o nanopartículas, en particular al menos 5% en peso, más en particular al menos 10% en peso. La concentración puede ser hasta 90% en peso, hasta 70% en peso, hasta 50% en peso, o hasta 30% en peso, según se desee.

También es posible funcionalizar al menos la superficie de las micropartículas, puesto que el polímero contiene de forma natural grupos carboxilo libres a lo largo de la cadena polimérica, en particular con una molécula de señalización, una enzima o una molécula receptora, tal como un anticuerpo. La molécula receptora puede ser por ejemplo una molécula receptora para un componente de interés, que se va a purificar o detectar, por ejemplo como parte de un ensayo de diagnóstico, haciendo uso de las partículas de la presente invención. Los métodos de funcionalización adecuados se pueden basar en un método conocido en la técnica. En particular, la molécula receptora se puede unir a la poliésteramida biodegradable de la cual se preparan las partículas vía un grupo reactivo disponible o introducido posteriormente.

Puesto que las micro- o nanopartículas comprenden grupos –COOH, es posible funcionalizar estos grupos –COOH con carbodiimida, que se puede hacer reaccionar posteriormente con un grupo hidroxilo o un grupo amino de un resto funcional diana a acoplar a las partículas.

Además de las poliésteramidas biodegradables como se representan por la fórmula IV, las micro- o nanopartículas de la presente invención pueden comprender adicionalmente uno o más polímeros adicionales seleccionados del grupo de polímeros biocompatibles.

Ejemplos de polímeros biocompatibles son poli(ortoésteres), poli(anhídridos), poli(ácido D,L-láctico), poli(ácido L-láctico), poli(ácido glicólico), copolímeros de poli(ácido láctico) y ácido glicólico, poli(L-lactida), poli(D,L-lactida), poli(glicolida), poli(D,L-lactida-co-glicolida), poli(L-lactida-co-glicolida), poli(fosfoésteres), poli(carbonato de trimetileno), poli(oxa-ésteres), poli(oxa-amidas), poli(carbonato de etileno), poli(carbonato de propileno), poli(fosfoésteres), poli(fosfazenos), poli(carbonatos derivados de tirosina), poli(arilatos derivados de tirosina), poli(iminocarbonatos derivados de tirosina), copolímeros de estos polímeros con poli(etilenglicol) (PEG), o combinaciones de los mismos.

En principio, las micro- o nanopartículas se pueden preparar de manera conocida en la técnica, con la condición de que los polímeros usados en la técnica anterior se sustituyen por las poliésteramidas biodegradables de Fórmula (IV). En general, las partículas se pueden preparar, por ejemplo, vía agregación con calor o ajuste de pH, vía coacercación (separación de fases), vía secado por pulverización, o vía extracción con disolventes. En J. Control Release, 102:313-332, en 2005 por Freitas S et al. se ha descrito un repaso de los métodos de preparación. Las micro- o nanopartículas de la presente invención se preparan preferiblemente vía un método de emulsión de aceite en agua. El método se describe con detalle en el Ejemplo I.

Si se desea, las micro- o nanopartículas se pueden cargar con uno o más agentes bioactivos. La carga se puede

lograr formando las micro- o nanopartículas en presencia del agente bioactivo o después. Para lograr micro- o nanopartículas con una cantidad elevada de agente bioactivo, generalmente se prefiere preparar las micro- o nanopartículas en presencia del agente bioactivo. En particular, en el caso de que el agente bioactivo sea sensible, se prefiere cargar las micro- o nanopartículas después de que se han formado. Esto se puede lograr poniendo en contacto las micro- o nanopartículas con el agente bioactivo, y permitiendo que el agente bioactivo se difunda al interior de las micro- o nanopartículas y/o se adhiera/adsorba a la superficie de las mismas.

Según la invención, es posible proporcionar micro- o nanopartículas con uno o más agentes bioactivos con una eficiencia de encapsulamiento satisfactoria (es decir, la cantidad de agente bioactivo en las partículas, dividida entre la cantidad de agente activo usado). Dependiendo de las condiciones de carga, es factible una eficiencia de al menos 20%, una eficiencia de al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% o más.

Se pueden preparar diversos tipos de estructuras de micro- y nanopartículas, incluyendo éstas estructuras sustancialmente homogéneas. Sin embargo, en el caso de que se haya de liberar más de un agente bioactivo, o en el caso de que se necesite una o más funcionalidad, se prefiere que las micro- o nanopartículas se proporcionen con una estructura que comprenda un núcleo interno y una corteza externa. La estructura de núcleo/corteza permite un modo de acción más múltiple, por ejemplo, en el suministro de fármacos de compuestos incompatibles o en formación de imágenes. La corteza se puede aplicar después de la formación del núcleo, usando una secadora por pulverización. El núcleo y la corteza pueden comprender los mismos polímeros o polímeros diferentes, con diferentes agentes activos. En este caso, es posible liberar los agentes bioactivos a diferentes velocidades. También es posible que el agente bioactivo esté presente solamente en el núcleo, y que la corteza esté compuesta de un polímero.

Las micro- o nanopartículas también se pueden usar para llenar una cápsula o tubo usando alta presión, o se pueden comprimir como un pelete, sin dañar sustancialmente las partículas. También se pueden usar en forma inyectable o pulverizable como una suspensión en una forma libre o en una formulación de gel que se forma in situ. Además, las micro- y nanopartículas se pueden incorporar, por ejemplo, en armazones (prototipado rápido), revestimientos, parches, materiales compuestos, geles, emplastos o hidrogeles.

Las micro- o nanopartículas según la presente invención se pueden inyectar, pulverizar, implantar o absorber.

En una realización preferida, las partículas según la presente invención están incluso esencialmente libres de crioprotectores. Un crioprotector es una sustancia que protege un material, es decir, partículas, del daño por congelación (daño debido a la formación de hielo). Los ejemplos de crioprotectores incluyen un glicol, tal como etilenglicol, propilenglicol y glicerol o dimetilsulfóxido (DMSO).

En todavía una realización adicional, las micro- o nanopartículas pueden comprender un núcleo magnético o magnetizable y una corteza que comprende las poliesteramidas biodegradables. Los materiales magnéticos o magnetizables adecuados son conocidos en la técnica. Tales micropartículas pueden ser útiles por la capacidad de ser atraídas por objetos que comprenden metal, en particular acero, por ejemplo un objeto implantado tal como un injerto o una endoprótesis. Tales micro- o nanopartículas pueden ser útiles además para fines de purificación o analíticos.

En todavía una realización adicional, las micro- o nanopartículas se pueden formar en imágenes mediante una técnica específica. Las técnicas de formación de imágenes adecuadas son MRI, CT, rayos X. El agente formador de imágenes se puede incorporar dentro de las micro- y nanopartículas, o se puede acoplar sobre su superficie. Tales micro- o nanopartículas pueden ser útiles para visualizar cómo migran las partículas, por ejemplo en la sangre o en las células. Un agente de formación de imágenes adecuado es, por ejemplo, gadolinio.

Las micro- o nanopartículas que comprenden los copolímeros de poliesteramida según la presente invención se pueden usar en el campo médico, especialmente en el suministro de fármacos en el campo del manejo de dolor, MSK, oftalmología, tratamiento del cáncer, composiciones de suministro de vacunas, dermatología, campo cardiovascular, campo ortopédico, medular, intestinal, pulmonar, nasal o auricular.

En una realización preferida, la invención proporciona micro- o nanopartículas de la presente invención para uso como un medicamento.

Además de en el campo médico, las micro- o nanopartículas según la invención se pueden usar entre otros en una aplicación agrícola. En ese caso, las micro- o nanopartículas pueden comprender un plaguicida o un nutriente vegetal.

La presente invención se refiere además a artículos que comprenden las micro- o nanopartículas de la presente invención. En otro aspecto, la invención proporciona un dispositivo que comprende micro- o nanopartículas. En el contexto de la presente invención, un artículo es un objeto o producto o elemento individual de una clase designado para servir a un fin o realizar una función especial, y tiene entidad por sí mismo.

En todavía otra realización preferida, la invención proporciona un dispositivo que comprende el artículo de la presente invención. Un artículo es un elemento de equipo o un mecanismo diseñado para servir a un fin especial, o

para llevar a cabo una función especial, y puede consistir en más de un artículo (ensamblaje de múltiples artículos).

Los ejemplos de dispositivos incluyen, pero no se limitan a, catéteres, endoprótesis, varillas, implantes.

La presente invención se describirá ahora con detalle con referencia a las siguientes Figuras y ejemplos no limitantes que son solamente a título ilustrativo.

- 5 FIG. 1: Degradación hidrolítica de PEA-I, PEA-III, PEA H/Bz y PLGA
- FIG. 2: Comportamiento de agregación de PEA-III-H/Bz en comparación con PEA-III-Bz.
- FIG. 3: Liberación de dexametasona a partir de micropartículas que comprenden PEA-III-Bz; PEA-III-H/Bz 25%H; PEA-III-H/Bz 50%H o PLGA 50:50.
- FIG. 4: pH del tampón durante el estudio de degradación de PEA-I-H/Bz 25%H, PEA-I-H/Bz 50%H y PLGA.
- 10 FIG. 5: reómetro ARES2 con geometrías desechables.
- FIG. 6: Montaje experimental del estudio de degradación.

Ejemplo I

El protocolo usó PEA-I-Bz, copolímeros de PEA-I-H/Bz 25%H, 50%H, PEA-IV-Bz, y PLGA 50/50, PLGA 75/25.

15 20 g de fase oleosa comprendieron 5% en peso de polímero, 0,5% en peso de fluoresceína, 9,45% en peso de dimetilsulfóxido (DMSO) y 85,05% en peso de diclorometano (DCM). Habitualmente, se disolvió 1 g de polímero en 9 g de DCM.

20 La fase acuosa comprendió 2,5% en peso de NaCl, 1% en peso de poliacetato de vinilo (PVA) (9-10 kDa, 80% hidrolizado) y 96,5% en peso de agua desmineralizada. El PVA se disolvió en agua caliente (80°C) y se dejó en agitación toda la noche a 75°C. La concentración usada fue 5% de PVA en agua. Se usaron 200 ml de fase acuosa fría por 20 g de fase oleosa.

25 Para la formación de partículas, la fase acuosa se vertió en un vaso de precipitados VWR de 300 ml, de 12 cm de altura, 6,7 cm de diámetro. El emulsionamiento se realizó con un Ultraturrax IKA T25 acoplado con un agitador S25NK-19G. La velocidad de agitación usada fue 4000 rpm. El polímero se inyectó vía una jeringuilla de 20 ml con una aguja doblada de 12 cm, de 0,80 mm de diámetro. La agitación se dejó funcionar 3 min. tras el final de la inyección. Después, la mezcla se dejó bajo agitación magnética toda la noche con una lámina de aluminio con orificios pequeños en la parte superior del vaso de precipitado, para permitir que el disolvente se evaporese.

La disolución usada contiene disolución de Tween 20 0,4 mg/ml en agua. Se usaron alrededor de 400 ml de disolución de lavado por 20 g de fase oleosa.

30 La mezcla previamente obtenida se dividió en cuatro tubos Falcon de 50 ml y se mantuvo en hielo. El vaso de precipitados se enjuagó con disolución de lavado, que se añadió a los tubos. Se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 min. El sobrenadante se eliminó y se substituyó por 40 ml de disolución de lavado. Las partículas se volvieron a dispersar mediante agitación suave. Los tubos se centrifugaron a 1000 rpm durante 2 min. Nuevamente, el sobrenadante se eliminó y se substituyó por 40 ml de disolución de lavado. Este lavado se repitió dos veces, y el sobrenadante se eliminó y se substituyó por 5 ml de disolución de lavado. Las fracciones se mezclaron en un tubo Falcon de 50 ml tarado. Los tubos se enjuagaron con disolución de lavado, que se añadió al tubo tarado.

35 Las partículas se volvieron a dispersar (se puede usar baño de ultrasonidos), y se congelaron en nitrógeno líquido. En esta etapa, el tubo se puede guardar en un congelador. Se taladraron orificios en una tapa que se ajusta al tubo Falcon. Después, el tubo Falcon tarado con la tapa taladrada se colocó en un liofilizador (0,04 mbares, -40°C) durante al menos cuatro días.

40 Ejemplo II

Este estudio se llevó a cabo con micropartículas preparadas según el ejemplo I, y las micropartículas se cargaron con fluoresceína. Se introdujeron muestras de alrededor de 25 mg de partículas secas en un tubo Falcon de 15 ml. Se usaron dieciocho tubos por polímero estudiado (seis puntos de datos por triplicado). A cada tubo se añadieron 12 ml de tampón de PBS 0,1 M, pH 7,4, con 0,05% de NaN₃. Después, los tubos se colocaron en una rejilla soporte de tubos con agitación en una cámara aclimatada, como se representa en la Figura 6.

45 Después, para cada punto de dato, el pH del tampón se midió, y 2 ml del tampón se filtraron y almacenaron en un vial de HPLC en un congelador. Después de eso, el tampón se eliminó, y las partículas se lavaron con agua desmineralizada. Las partículas se monitorizaron entonces mediante microscopía, y se secaron a vacío a 37°C toda la noche. La siguiente etapa fue disolver 5 mg de partículas en 2 ml de THF, para medir su distribución de pesos moleculares.

Las micropartículas cargadas con fluoresceína se estimularon en el estudio de degradación mientras se monitorizan los cambios del peso molecular del polímero y la capacidad de las partículas para retener la fluoresceína cargada. Se mostró que las partículas de PEA-H se hinchan rápidamente, liberando la molécula de colorante. Las partículas de PEA-Bz más hidrófobas no se hinchan, y retienen la fluoresceína cargada mucho mejor; sin embargo, los polímeros no muestran ningún signo de degradación durante el experimento (13 semanas).

En la Figura 1 se muestran los resultados del estudio de degradación.

Ejemplo III

Técnica de emulsión de W/O/W para la preparación de micropartículas de PEA.

Los polímeros usados en este estudio fueron PEA-III-Bz, PEA-III-H/Bz y PLGA.

10 Disolución acuosa 1 (W1): composición oleosa de 10 mg/ml de Fitc-BSA que contiene 100 mg/ml de trehalosa.2H₂O: se disolvieron 5% en peso del polímero correspondiente en cloroformo. Disolución acuosa 2 (W2): 80 gramos de PVA al 5% y 320 gramos de agua desmineralizada y 20 gramos de NaCl. Para la fabricación de las micropartículas, se usó un tubo Falcon (50 ml) y una jeringuilla (10 ml). Tras añadir la disolución W1 al aceite, la mezcla se sometió a vórtice durante 30 segundos. Tras eliminar el émbolo, se adjuntó una aguja a la jeringuilla, y la mezcla se vertió en la jeringa (10 ml). El émbolo se añadió cuando la aguja de la jeringa estaba en la capa W2. La mezcla de O/W se añadió en aproximadamente 60 segundos a 4000 RPM. La mezcla se agitó durante 3 minutos adicionales a 4000 RPM. Las partículas se agitaron toda la noche con un agitador magnético y caudal de nitrógeno.

20 Las partículas se suspendieron en una disolución madre de Tween 20 en H₂O a 0,4 mg/ml, que se preparó y se almacenó en un frigorífico. A continuación, la suspensión de partículas se añadió a 4 tubos Falcon. Los tubos se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 min., y se colocaron directamente en hielo. El sobrenadante se sustituyó por 5 ml de la disolución fría de Tween 20, y se recogieron 4 fracciones en un tubo Falcon. Las muestras se redispersaron inmediatamente mediante agitación suave y ultrasonidos corto cuando fue necesario. Entonces, las muestras se centrifugaron nuevamente y se sustituyó el sobrenadante. El procedimiento de lavado se repitió dos veces.

25 Tras una etapa de redispersión, las partículas se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido. A continuación, las tapas de los tubos se taladraron, y las muestras se llevaron al liofilizador.

30 Se pesaron con exactitud aproximadamente 20-40 mg de las micropartículas liofilizadas, y se transfirieron a viales de muestra de 5 ml. A continuación, se añadieron dos ml de disolución madre a cada vial que contiene tampón de PBS 0,1 M que contiene 0,05% en peso de NaN₃ y 0,05% en peso de Tween 20. Los viales se colocaron en una cámara climatizada a 37°C con agitación suave. Las muestras se evaluaron, y se hicieron fotografías después de 7 y 24 horas, 3, 4, 8, 21 días. Las partículas de PEA-III-H/Bz 50%H flotaban libremente en disolución, en contraste con las partículas de PEA-III-Bz, que ya formaron aglomerados en las primeras 24 horas.

Los resultados se muestran en la Figura 2.

35 Se puede observar que las micropartículas que consisten en PLGA 50:50 formaron agregados, que se pudieron redispersar tras agitación vigorosa. Las micropartículas que consisten en PEA-III-Bz formaron una pequeña cantidad de agregados; sin embargo, los agregados no fueron fácilmente redispersables. Sorprendentemente, las micropartículas de PEA-III-H/Bz 25%H y PEA-III-H/Bz 50% no mostraron aglomeración en absoluto.

Ejemplo IV

40 Se prepararon micropartículas vía una técnica de emulsión de sólido en aceite en agua (S/O/W). De forma breve, se dispersaron 100 mg de dexametasona en 20 g de disolución de polímero en CHCl₃ que contenía 5% de polímero (fase oleosa). Los polímeros usados fueron respectivamente PEA III Ac Bz, PEA III H/Bz 25%H, PEA III H/Bz 50%H y PLGA 50:50. Las dispersiones de la fase oleosa obtenidas se inyectaron en la fase acuosa que contenía 1% de PVA 9-10 kDa, 88% hidrolizado, y 2,5% de NaCl, bajo mezclado con Ultraturax. La suspensión de micropartículas obtenida se agitó durante 18 horas en condiciones ambientales antes de centrifugar a 1000 RPM durante 5 minutos. Después de eso, el sobrenadante se separó por decantación. El residuo de micropartículas se resuspendió en 10 ml de agua destilada que contenía 0,4 mg/ml de Tween 20. La suspensión se centrifugó nuevamente a 1000 RPM durante 5 minutos, y el sobrenadante se separó por decantación. El residuo de micropartículas se resuspendió en 10 ml de agua destilada que contenía 0,4 mg/ml de Tween 20. La suspensión de micropartículas obtenidas se liofilizó y se almacenó a -20°C. La carga de dexametasona se determinó con RMN 1H.

Carga de fármaco 5-7%, intervalo de tamaño de partículas 10-35 µm.

50 El tamaño de las partículas se determinó usando SLS (dispersión de luz estática).

Los resultados se dan en la Figura 3.

Por duplicado, se pesaron con exactitud aproximadamente 20 mg de micropartículas liofilizadas y se transfirieron a viales de muestra de 10 ml. A los viales se añadieron 4 ml de tampón de PBS que contiene 0,05% de NaN₃ y 0,05%

5 de Tween 20. Los viales se colocaron a 37°C bajo agitación suave. La toma de muestras tuvo lugar bisemanalmente, seguido de una toma de muestras semanal. Durante la toma de muestras, se permitió que las micropartículas sedimentaran durante al menos 1 hora, después de lo cual se sustituyeron 2 ml del tampón por tampón reciente. La concentración de dexametasona se determinó en el tampón de liberación usando un método de RP-HPLC con detección de DAD a 238 nm. La gráfica ilustra la liberación sostenida de dexametasona hasta 62 días a partir de las matrices de poliésteramida.

10 La liberación de PLGA siguió una curva de liberación bimodal asociada con la propiedad de degradación masiva del material. La liberación de dexametasona a partir de micropartículas de PEA no ilustró este comportamiento, y mostró una liberación sostenida durante el período de ensayo de 62 días. Los polímeros con un % de H creciente mostraron una mayor polaridad y propiedades de hinchamiento asociadas con la captación de agua. Sin embargo, sorprendentemente, la cinética de liberación no se correlacionó con el incremento de %H; se anticipó que PEA-III-H/Bz 50%H se liberaría de forma más rápida, y que PEA-III-Bz se liberaría de forma más lenta.

Ejemplo V

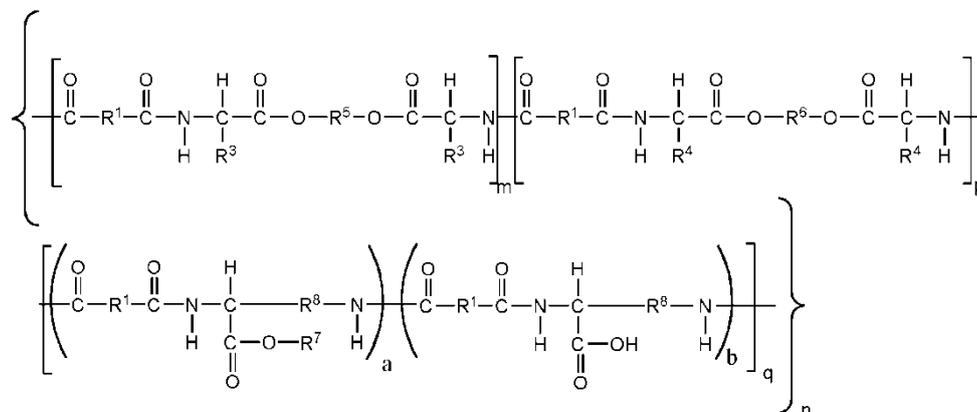
15 Este estudio se llevó a cabo con micropartículas obtenidas con el método de aceite en agua como se describe en el ejemplo I. Se introdujeron 20-25 mg de micropartículas en un tubo Falcon de 15 ml. Cada punto de dato estaba triplicado. Se introdujeron 12 ml de tampón de PBS con 0,05% de NaN_3 en cada tubo. El pH se midió con un Metrohm 848 Titrino plus. La calibración se comprobó antes de cada uso con tampones de pH de pH = 7 y pH = 2 o 4, y se llevó a cabo con pH = 2 y pH = 9.

20 Para cada punto de dato, el pH del tampón se midió, y se filtraron 2 ml del tampón y se almacenaron en un vial de HPLC en un congelador.

25 Después de eso, el tampón se eliminó, y las partículas se lavaron con agua desmineralizada. Las partículas se monitorizaron entonces mediante microscopio y se secaron a vacío a 37°C toda la noche. La siguiente etapa fue disolver 5 mg de partículas en 2 ml de THF, para medir su distribución de pesos moleculares. Algunos de los polímeros estudiados no se disolvieron en THF después de estar en tampón de PBS; se dan los problemas y las soluciones encontradas. Los resultados se muestran en la Figura 4.

REIVINDICACIONES

1. Micro- y nanopartículas que comprenden un copolímero al azar de poli(esteramida) (PEA) biodegradable según la fórmula estructural (IV),



Fórmula IV

5

en la que

- m + p varía de 0,9-0,1 y q varía de 0,1 a 0,9
- m + p + q = 1, en el que m o p podrían ser 0
- n varía de 5 a 300;

10

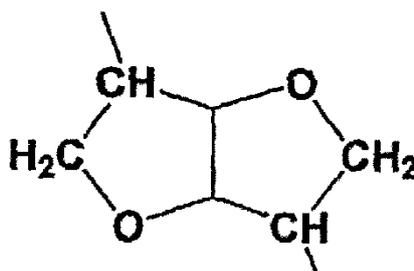
- R₁ se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquileo (C₂-C₂₀), alquenileno (C₂-C₂₀),

R₃ y R₄ en una única unidad m o p de la cadena principal, respectivamente, se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alquenilo (C₂-C₆), alquinilo (C₂-C₆), arilo (C₆-C₁₀), -(CH₂)SH, -(CH₂)₂S(CH₃), -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -(CH₂)₄NH₃⁺, -(CH₂)₃NHC(=NH₂⁺)NH₂, -CH₂COOH, -CH₂-CO-NH₂, -CH₂CH₂-CO-NH₂, -CH₂CH₂COOH, CH₃-CH₂-CH(CH₃)-, (CH₃)₂-CH-CH₂-, H₂N-(CH₂)₄-, Ph-CH₂-, CH=C-CH₂-, HO-p-Ph-CH₂-, (CH₃)₂-CH-, Ph-NH-, NH₂-CH=N-CH=CH-CH₂-;

15

R₅ se selecciona del grupo que consiste en alquileo (C₂-C₂₀), alquenileno (C₂-C₂₀),

R₆ se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III);



Fórmula III

20

R₇ consiste en aril (C₆-C₁₀)-alquilo (C₁-C₆)

R₈ es -(CH₂)₄;

caracterizada por que a es al menos 0,05, b es al menos 0,05, y a + b = 1.

2. Micro- o nanopartículas que comprenden un copolímero de poliesteramida según la reivindicación 1, en el que a es al menos 0,5.

25

3. Micro- o nanopartículas que comprenden un copolímero de poliesteramida según la reivindicación 1, en el que a es al menos 0,75.

4. Micro- o nanopartículas que comprenden un copolímero de poliesteramida según la reivindicación 1, en el que p = 0 y m + q = 1, m = 0,75

- a es 0,5 y $a + b = 1$.
- R_1 es $(CH_2)_8$, R_3 es $(CH_3)_2-CH-CH_2-$, R_5 es hexilo, R_7 es bencilo, R_8 es $-(CH_2)_4-$.

5. Micro- o nanopartículas que comprenden un copolímero de poliesteramida según la reivindicación 1, en el que $m + p + q = 1$, $q = 0,25$, $p = 0,45$ y $m = 0,3$

- 5
- a es 0,5 y $a + b = 1$
 - R_1 es $-(CH_2)_8$; R_3 y R_4 son respectivamente $(CH_3)_2-CH-CH_2-$, R_5 se selecciona del grupo que consiste en alquileo (C_2-C_{20}), R_7 es bencilo, R_8 es $-(CH_2)_4$;
 - R_6 se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III).

6. Micro- o nanopartículas que comprenden un copolímero de poliesteramida según la reivindicación 1, en el que:

10 $m + p + q = 1$, $q = 0,25$, $p = 0,45$ y $m = 0,3$

- $a = 0,75$, $a + b = 1$
- R_1 es $-(CH_2)_8$; R_4 es $(CH_3)_2-CH-CH_2-$, R_7 es bencilo, R_8 es $-(CH_2)_4$;
- R_6 se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III).

7. Micro- o nanopartículas que comprenden un copolímero de poliesteramida según la reivindicación 1, en el que:

15 $m + p + q = 1$, $q = 0,1$, $p = 0,30$ y $m = 0,6$

- a es 0,5 y $a + b = 1$
- R_1 $-(CH_2)_4$; R_3 y R_4 son respectivamente $(CH_3)_2-CH-CH_2-$; R_7 es bencilo, R_8 es $-(CH_2)_4-$; R_5 se selecciona del grupo que consiste en alquileo (C_2-C_{20}),
- R_6 se selecciona de fragmentos bicíclicos de 1,4:3,6-dianhidrohexitoles de fórmula estructural (III).

20 8. Micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprenden micropartículas con un diámetro medio en el intervalo de 1-1000 μm .

9. Micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprenden micropartículas con un diámetro medio menor que 1000 nm.

25 10. Micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprenden una estructura de núcleo interno y de corteza externa.

11. Micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprenden un agente bioactivo.

12. Micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, para uso como un medicamento.

13. Uso de las micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en aplicaciones de suministro de fármacos.

30 14. Composición que comprende las micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11.

15. Un artículo que comprende las micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o la composición según la reivindicación 14.

16. Un artículo según la reivindicación 15, seleccionado del grupo de películas, revestimientos, micelas o hidrogeles.

35 17. Un dispositivo, que se define como un ensamblaje de múltiples artículos, que comprende las micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o la composición según la reivindicación 14.

18. Un dispositivo, que se define como un ensamblaje de múltiples artículos, que comprende el artículo según una cualquiera de las reivindicaciones 15 o 16.

40 19. Uso de las micro- o nanopartículas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o la composición según la reivindicación 14, el artículo según las reivindicaciones 15-16 o el dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 17-18, en aplicaciones cardiovasculares terapéuticas, aplicaciones veterinarias, aplicaciones oftálmicas, aplicaciones de manejo del dolor, aplicaciones de MSK, tratamiento del cáncer y en composiciones para el suministro de vacunas.

FIG 1

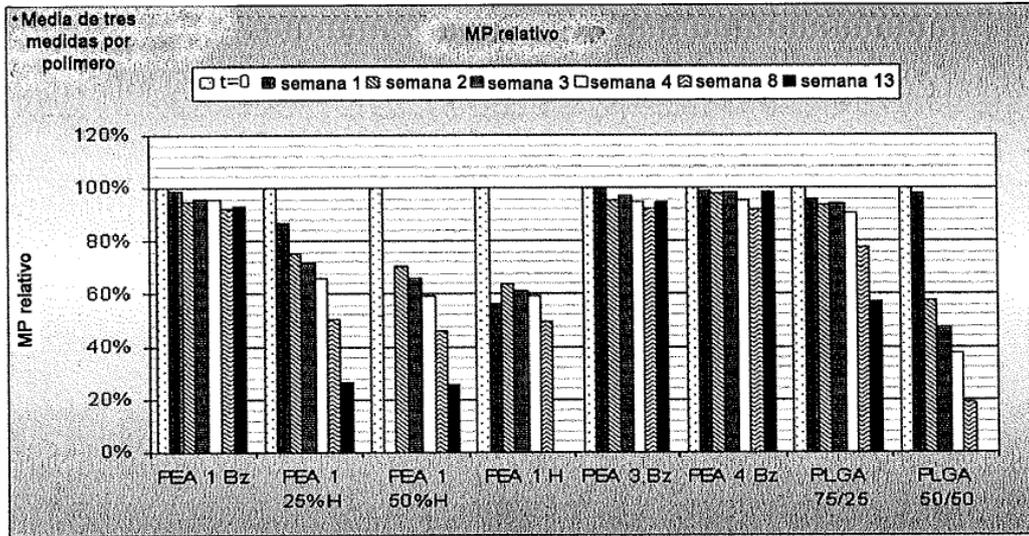


FIG 2

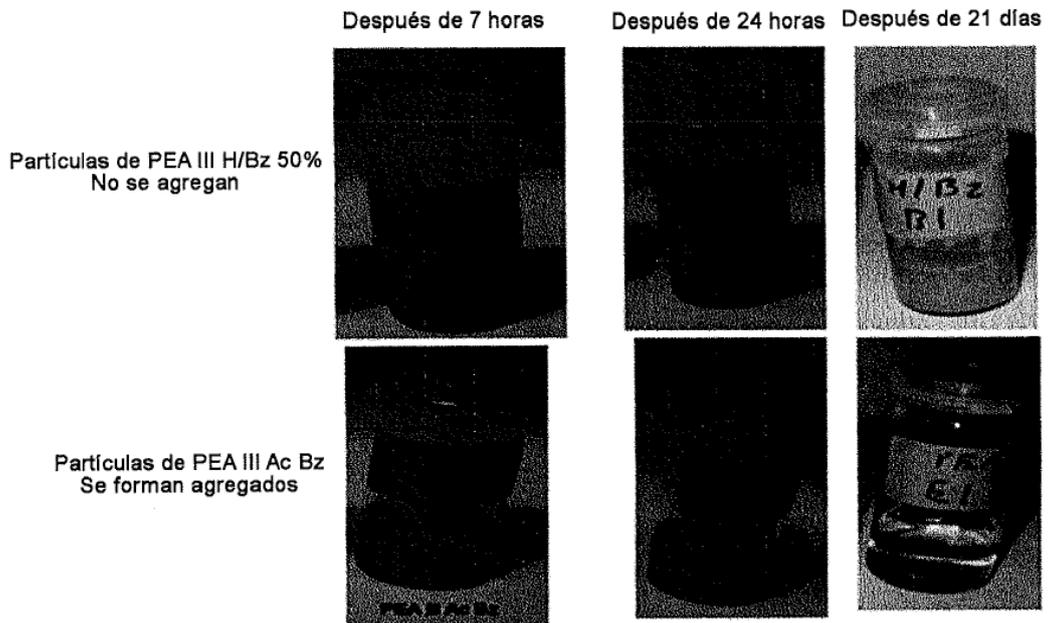


FIG 3

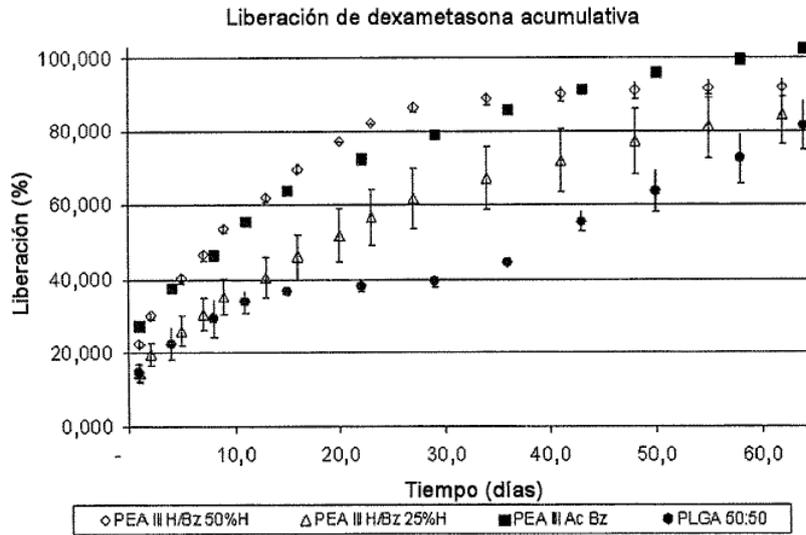


FIG 4

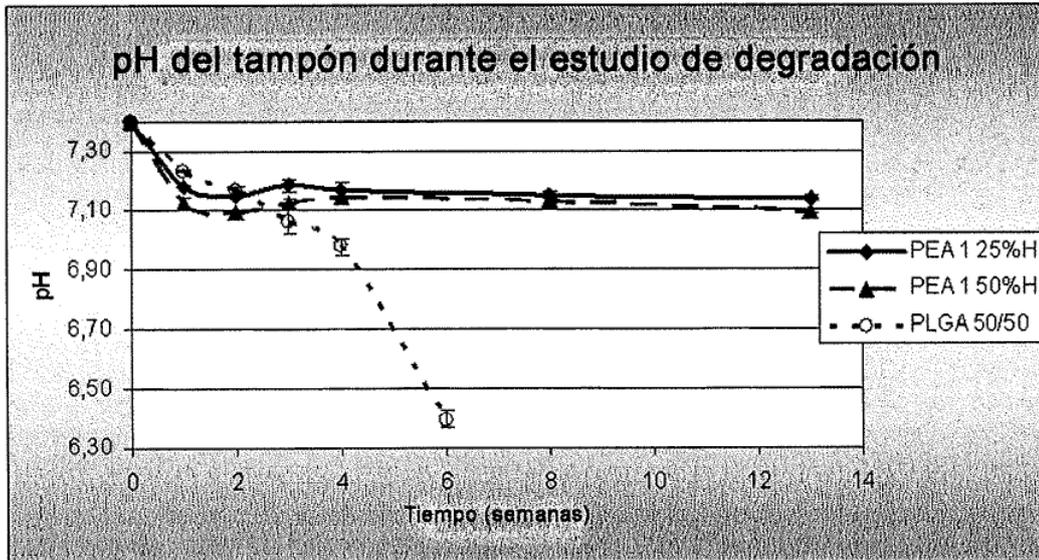


FIG 5

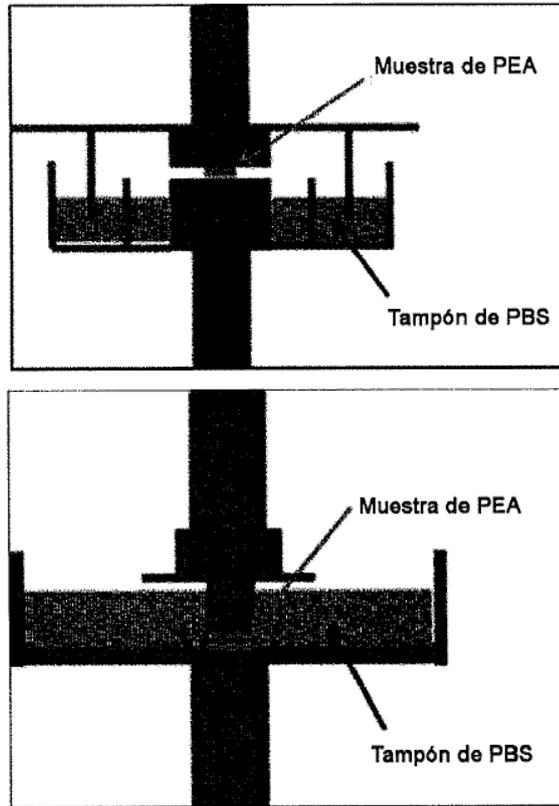


FIG 6

